مقاله علمی پژوهشی/نشریه پژوهش‌های علوم دامی/ جلد ۲۹ شماره ۳/ سال۱۳۹۸/ صفحات ۱۷ تا ۳۰

اثرات نانوذرات اکسید روی و پروبیوتیک (*باسیلوس‌کوآگولانس*) بر پاسخ ایمنی، برخی خصوصیات لاشه و وزن اندام‌های داخلی جوجه‌های گوشتی

محمد خواجه بمی[1*] و محسن افشارمنش[2]

تاریخ دریافت: ۹۶/۸/۱۷ تاریخ پذیرش: ۹۸/٤/۲۲

[1] دانشجوی دکتری گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید باهنر کرمان

[2] دانشیار گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید باهنر کرمان

[*]مسئول مکاتبه: Email: mkhaje@agr.uk.ac.ir

چکیده

زمینه مطالعاتی: روی و پروبیوتیک‌ها نقش مهمی در عملکرد و سیستم ایمنی طیور دارند. **هدف**: این تحقیق به منظور بررسی اثرات نانوذرات اکسید روی و پروبیوتیک (*باسیلوس‌کوآگولانس*) بر پاسخ ایمنی، خصوصیات لاشه و وزن برخی اندام‌های داخلی جوجه‌های گوشتی انجام شد. **روش کار**: این پژوهش با ۲۸۸ قطعه جوجه گوشتی نر راس ۳۰۸ در قالب طرح کاملاً تصادفی با ٦ تیمار، ٤ تکرار و ۱۲ جوجه در هر تکرار به اجرا درآمد. تیمارها شامل: شاهد (حاوی ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم اکسید روی)، شاهد + ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم پروبیوتیک و جیره پایه بدون اکسید روی + ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم نانو اکسید روی با و بدون پروبیوتیک بودند. در این آزمایش فراسنجه‌های عملکردی (افزایش وزن بدن، مصرف خوراک و ضریب تبدیل خوراک)، ایمنی هومورال (تیتر آنتی‌بادی علیه گلبول قرمز گوسفند (SRBC)، فراسنجه‌های لاشه (وزن نسبی لاشه، سینه، ران، طحال، کبد، پانکراس، بورس فابریسیوس و همچنین وزن و طول نسبی دوازدهه، ایلئوم و سکوم) و pH روده و سنگدان محاسبه گردید. **نتایج**: استفاده از نانواکسید روی با پروبیوتیک سبب بهبود افزایش وزن بدن و ضریب تبدیل خوراک جوجه‌های گوشتی شد (P<۰/۰۵). وزن نسبی کبد و ران‌ها در جوجه‌های تغذیه شده با نانواکسید روی به‌همراه پروبیوتیک به ترتیب کمتر و بیشتر از جوجه‌های مربوط به گروه شاهد بود (P<۰/۰۵). تیتر آنتی بادی علیه گلبول قرمز گوسفند در جوجه‌های تغذیه شده با ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم نانواکسید روی با و بدون پروبیوتیک بیشتر از گروه شاهد بود (P<۰/۰۵). **نتیجه‌گیری نهایی**: به طورکلی استفاده از ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم نانواکسید روی به همراه پروبیوتیک سبب بهبود عملکرد، خصوصیات لاشه و تقویت پاسخ سیستم ایمنی شد.

واژگان کلیدی: پروبیوتیک، جوجه‌های گوشتی، سیستم ایمنی، نانو ذرات اکسید روی

مقدمه

روی یک عنصر ضروری کمیاب است که باید به جیره طیور اضافه شود زیرا نقش‌های بسیار مهمی در فعالیت‌های بیولوژیکی و فیزیولوژیکی دارد. اهمیت تغذیه‌ی روی مدت‌ها است که اثبات گردیده و در دهه‌های اخیر نقش مهم آن در سیستم ایمنی گزارش شده است (بناونتورا و همکاران ۲۰۱۵). روی به‌عنوان یک کوفاکتور مهم در افزایش تشکیل ایمنوگلوبولین‌ها و آنتی‌اکسیدان در بهبود یکپارچگی اپیتلیوم و خصوصیات لاشه نقش دارد (هوآنگ و همکاران ۲۰۰۷). گزارش شده است که افزودن مازاد روی به جیره، منجر به افزایش معنی‌دار تیتر آنتی‌بادی علیه SRBC می‌شود. همچنین روی با تاثیر بر

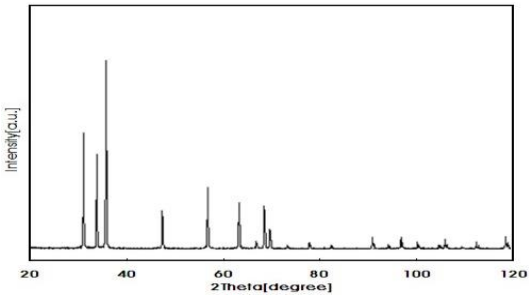
وزن اندام‌های لنفاوی جوجه‌های گوشتی بر پاسخ ایمنی نقش دارد به گونه‌ای که با افزایش سطح روی در جیره، وزن بورس و طحال افزایش می‌یابد (ساندر و همکاران ۲۰۰۸). پیشرفت‌های اخیر در زمینه فناوری نانو به ویژه توانایی ساخت نانوذرات در شکل‌ها و اندازه‌های مختلف، توجه زیادی را به خود جلب کرده است (ساسنیک و همکاران ۲۰۱۰). فرم نانوی مواد معدنی نسبت سطح به حجم بیشتری در مقایسه با ذرات بزرگتر با همان ترکیب شیمیایی دارند و همین امر منجر می‌شود تا از نظر بیولوژیکی فعال‌تر باشند و امکان استفاده از سطوح پایین‌تر آن‌ها در جیره فراهم گردد (چو و همکاران ۲۰۰۷). تحقیقات در این زمینه نشان داده است که اثرات استفاده از نانو کروم بیشتر از فرم عادی بود به گونه‌ای که باعث افزایش سطوح ایمنوگلوبولین در جوجه‌های گوشتی شده است (راجندران ۲۰۱۳). همچنین گزارش شده است که نانو ذرات اکسید روی می‌توانند جذب روی را در لایه‌های روده در مقایسه با اکسید روی افزایش دهند (سای و همکاران ۲۰۱٦). به‌طور کلی در مورد اثرات نانو مواد از جمله نانو اکسید روی در علوم دامی تحقیقات اندکی صورت گرفته است. استفاده از نانو اکسید روی سبب بهبود ضریب تبدیل خوراک و کاهش مصرف خوراک نسبت به تیمار شاهد (فاقد روی) شده است (احمدی و همکاران ۲۰۱۳).

امروزه با توجه به ممنوعیت استفاده از آنتی‌بیوتیک‌های محرک رشد به علت امکان باقی ماندن در محصولات دامی مانند گوشت و همچنین مقاومت پاتوژن‌ها، توجه به استفاده از پروبیوتیک‌های مختلف در حال افزایش است (اردوغان و همکاران ۲۰۱۰). پروبیوتیک‌ها، میکروارگانیسم‌های زنده‌ای هستند که می‌توانند سبب بهبود عملکرد رشد طیور (قیصر و همکاران ۲۰۱٦ و رستمی و همکاران ۲۰۱۹)، تقویت سیستم ایمنی (درستی و همکاران ۲۰۱٦ و رستمی و همکاران ۲۰۱۹) و بهبود کیفیت لاشه (پارک و کیم ۲۰۱٤) شوند. استفاده از باکتری‌های تشکیل دهنده اسپور به‌عنوان پروبیوتیک فواید کاربردی و مهمی دارد. تشکیل اسپور به پروبیوتیک‌ها توانایی مقاومت بیشتر در برابر تنش‌های تکنولوژیکی طی مراحل تولید و ذخیره (هیرونیموس و همکاران ۲۰۰۰) و همچنین توانایی مقاومت بیشتر در برابر آنزیم‌های هضمی، تغییرات pH معده و شرایط محیطی روده (هانگ و همکاران ۲۰۰۵) می‌بخشد. *باسیلوس کوآگولانس* یکی از مناسب‌ترین باکتری‌های تشکیل دهنده اسپور به‌عنوان یک ماده پروبیوتیک است. این باکتری در تحقیقات محدودی از جمله برای طیور (زو و همکاران ۲۰۱۰) و گاو (ریپامونتی و همکاران ۲۰۰۹) به‌عنوان پروبیوتیک استفاده شده است. اخیراً در تحقیقی استفاده همزمان پروبیوتیک با نانوذرات سلنیوم سبب بهبود عملکرد جوجه‌های گوشتی شد (صالح ۲۰۱٤). همچنین تحقیقات نشان داده است که استفاده از پروبیوتیک‌ها سبب تولید اسیدهای چرب زنجیر کوتاه، کاهش pH دستگاه گوارش و در نتیجه سبب افزایش حلالیت مواد معدنی، تشکیل کمپلکس با مواد معدنی و تحریک اپیتلیوم روده و افزایش جذب و بهبود عملکرد می‌شود (سولز آرنز و همکاران ۲۰۰۷). با توجه به موارد ذکر شده به نظر می‌رسد که استفاده همزمان نانوذرات اکسید روی و پروبیوتیک سبب بروز اثرات افزایشی بین این دو ماده شده و با افزایش قابلیت دسترسی روی، تقویت سیستم ایمنی و بهبود عملکرد جوجه‌های گوشتی همراه باشد. بنابراین این مطالعه به منظور بررسی اثرات پروبیوتیک *باسیلوس کوآگولانس*، نانوذرات اکسید روی (در سطوح ۲۵ و ۵۰ درصد میزان روی توصیه شده توسط راهنمای راس) و اثرات هم‌افزایی نانو ذرات اکسید روی و پروبیوتیک بر پاسخ ایمنی، خصوصیات لاشه و وزن برخی اندام‌های داخلی جوجه‌های گوشتی بررسی شد.

مواد و روش‌ها

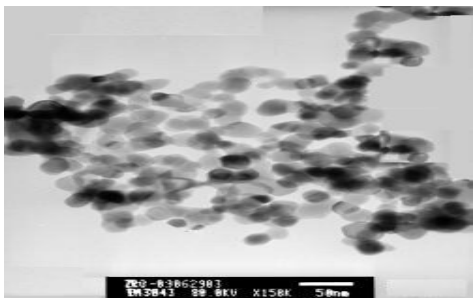
اکسید روی مورد استفاده در این تحقیق از شرکت مرک آلمان (شماره سریال ۲-۱۳-۱۳۱٤) و دارای خلوص ۹۹/۹ درصد بود. نانو اکسید روی از شرکت پیشگامان نانو مواد

ایرانیان تهیه شد که توزیع کننده محصولات شرکت Us-nano (آمریکا، شماره سریال Us۳۵۹۰) است. این محصول شامل ترکیبات و خصوصیات: $ZnO \geq \%\ 99$، $Cu \leq 3$ ppm، $Mn \leq 5$ ppm، $Pb \leq 9$ ppm و $Cd \leq 9$ ppm، اندازه نانوذرات ۲۰nm، درصد خلوص ۹۹+، چگالی حقیقی g/cm^3 ۵/۶۰۶ و به صورت پودر سفید رنگ بود. در تعیین ساختار نانوذرات اکسید روی از آزمون پراش پرتو ایکس (XRD) با دستگاه Phillips X'Pert با اشعه دارای طول موج 0.15406 nm استفاده شد (شکل ۱). همچنین شکل، ساختار و اندازه نانوذرات اکسید روی به وسیله میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) تعیین شد (شکل ۲). پروبیوتیک باسیلاکت (بیواکسیر®) حاوی سویه‌های مختلف از باکتری *باسیلوس کوآگولانس* (10^{11} CFU/gr) بود. این آزمایش با ۲۸۸ قطعه جوجه گوشتی نر سویه‌ی تجاری راس ۳۰۸ در قالب طرح کاملاً تصادفی با ٦ تیمار، ٤ تکرار و ۱۲ جوجه در هر تکرار در دوره‌ای ٤۲ روزه انجام شد. جیره پایه بر اساس نیازهای توصیه شده در دفترچه راهنمای پرورش سویه راس ۳۰۸ و با استفاده از مکمل معدنی بدون روی خریداری شده از شرکت توان مهر تهیه شد (جدول۱). تیمارهای (جیره‌های) آزمایشی شامل : جیرهٔ شاهد (جیرهٔ پایه + ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم اکسید روی)، جیرهٔ شاهد + ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم پروبیوتیک، جیرهٔ پایه (حاوی مکمل معدنی بدون روی) + ۲۵ میلی‌گرم در کیلوگرم نانو اکسید روی، جیرهٔ پایه + ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم نانو اکسید روی، جیرهٔ پایه + ۲۵ میلی‌گرم در کیلوگرم نانو اکسید روی + ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم پروبیوتیک و جیرهٔ پایه + ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم نانو اکسید روی + ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم پروبیوتیک بودند. جیره‌های آزمایشی بر پایهٔ ذرت و کنجالهٔ سویا در دورهٔ آغازین (۲۱-۱روزگی) و رشد (٤۲-۲۲روزگی) تنظیم شدند (جدول۱).



شکل۱- نمای پراش اشعه ایکس نانوذرات اکسید روی

Fig 1- X-ray Powder Diffraction of zinc oxide nanoparticles



شکل۲- نمای میکروسکوپ الکترونی نانوذرات اکسید روی

Fig 2- Scanning electron microscope of zinc oxide nanoparticles

فراسنجه‌های عملکردی شامل وزن بدن، مقدار مصرف خوراک و ضریب تبدیل خوراک بود. ضریب تبدیل خوراک با استفاده از داده‌های افزایش وزن و مصرف خوراک با احتساب تلفات روزانه محاسبه شد. به‌منظور بررسی ایمنی همورال در جوجه‌های گوشتی، در روزهای ۲۱ و ۳۵ به دو قطعه پرنده از هر تکرار، ۱ میلی‌لیتر سوسپانسیون ۰/۵ درصد گلبول قرمز گوسفندی (SRBC) شسته شده در بافر فسفات استریل از طریق عضله سینه تزریق گردید. هفت روز پس از هر بار تزریق گلبول قرمز (روزهای ۲۸ و ٤۲)، از همان پرنده‌ها از طریق ورید بال حدود یک میلی‌لیتر خون گرفته شد (خلجی و همکاران ۲۰۱۱). بعد از لخته شدن خون، سرم به کمک سانتریفیوژ (سرعت ٤۰۰۰ دور در دقیقه و زمان ۱۵ دقیقه) جمع آوری و تا زمان اندازه‌گیری تیتر آنتی‌بادی در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد ذخیره گردید. جهت تعیین تیتر آنتی‌بادی علیه SRBC از روش هماگلوتیناسیون میکروتیتر استفاده شد

(وگمان و اسمیت ۱۹٦٦). در پایان آزمایش (روز ٤۲) دو قطعه جوجه از هر تکرار با وزن مشابه میانگین آن تکرار انتخاب و پس از توزین، کشتار شد. بعد از اندازه‌گیری وزن نسبی لاشه وزن قسمت‌های سینه، ران، طحال، کبد، پانکراس، بورس فابریسیوس، دوازدهه، ایلئوم و سکوم با استفاده از ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۰۱ گرم اندازه‌گیری و به صورت درصدی از وزن بدن بیان شد. همچنین طول دوازدهه، ایلئوم و سکوم محاسبه گردید. به‌منظور اندازه‌گیری pH ایلئوم و سنگدان ابتدا محتویات آن‌ها به نسبت ۱ به ۱۰ با آب مقطر مخلوط گردید و سپس pH به کمک دستگاه pH متر دیجیتالی (ELMETRON، مدل CP103) قرائت شد. داده‌های آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی با استفاده از نرم افزار آماری SAS (نسخه ۹/۱) با رویه GLM مورد آنالیز قرار گرفت. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح آماری ۵ درصد استفاده شد.

جدول۱- اجزا و ترکیب شیمیایی جیره‌های پایه

Table1- Composition and calculated nutrient contents of basal diets*

Ingredients (g/kg)	Starter (1 to 21 d)	Grower (22 to 42 d)
Corn	578.50	640.70
Soybean meal	338.70	284.30
Soybean oil	38.00	33.40
Dicalcium phosphate	23.50	19.00
Calcium Carbonate	10.50	12.50
DL-methionine	1.80	1.10
Vitamin premix*	2.50	2.50
Mineral premix**	2.50	2.50
Salt	4.00	4.00
Calculated composition		
Metabolizable energy (Kcal/kg)	2870	2980
Crude protein (%)	22.10	22.00
Calcium (%)	0.86	0.75
Available phosphorous (%)	0.49	0.44
Methionine + cysteine (%)	0.50	0.38
Lysine (%)	1.31	1.19

*Vitamin premix (each kg contained): vitamin A 9,000,000 IU; vitamin D3 2,000,000 IU; vitamin E 18,000 IU; vitamin B1 1,800 mg; vitamin B2 6,600 mg; vitamin B3 10,000 mg; vitamin B6 3,000 mg; vitamin B12 15 mg; vitamin K3 2,000 mg; vitamin B9 1,000 mg vitamin B5 30,000 mg; vitamin H2 100 mg; vitamin choline chloride 500,000 mg; antioxidant 1000 mg.

**Mineral premix (each kg contained): Mn, 4,800 mg; Fe, 16,000 mg; Cu, 6,400 mg; I, 500 mg; Se, 120 mg.

نتایج و بحث

نتایج مربوط به افزایش وزن، مصرف خوراک و ضریب تبدیل خوراک جوجه‌های گوشتی از ۱ تا ٤۲ روزگی در جدول ۲ ارائه شده است. افزودن پروبیوتیک به جیره حاوی نانو اکسید روی سبب بهبود افزایش وزن جوجه‌ها در مقایسه با تیمار حاوی ۲۵ میلی‌گرم در کیلوگرم نانو اکسید روی شد (P<۰/۰۵). اگرچه تیمار حاوی ۲۵ میلی‌گرم در کیلوگرم نانو اکسید روی در این زمینه، تفاوت معنی‌داری با جیره شاهد نداشت. جوجه‌های تغذیه شده با نانو اکسید روی به همراه پروبیوتیک (*باسیلوس‌کوآگولانس*) و جوجه‌های تغذیه شده با پروبیوتیک ضریب تبدیل خوراک بهتری در مقایسه با سایر گروه‌ها داشتند (P<۰/۰۵). مصرف خوراک تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت (P>۰/۰۵).

جدول۲- تأثیر نانوذرات اکسید روی و *باسیلوس کوآگولانس* بر عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی (۴۲-۱ روزگی)

Table 2- Effect of zinc oxide nanoparticles and *Bacillus coagulans* on growth performance of broilers (1–42 d)

*Experimental groups	Weight gain (g/d)	Feed intake (g/d)	Feed conversion ratio
Control (basal diet + zinc oxide)	53.08^{ab}	93.75	1.765^{a}
Control + 100 mg/kg probiotic	54.31^{ab}	91.44	1.683^{bc}
Basal diet + 25 mg/kg zinc oxide nanoparticles	51.67^{b}	91.76	1.776^{a}
Basal diet + 50 mg/kg zinc oxide nanoparticles	53.19^{ab}	93.24	1.752^{ab}
Basal diet + 25 mg/kg zinc oxide nanoparticles + probiotic	55.87^{a}	94.34	1.687^{bc}
Basal diet + 50 mg/kg zinc oxide nanoparticles + probiotic	55.68^{a}	91.72	1.646^{c}
Standard Error of Mean (SEM)	0.852	2.395	0.024
P-value	0.018	0.928	0.006

*.جیره پایه با استفاده از مکمل معدنی بدون روی تهیه شد در حالیکه جیره شاهد دارای ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم اکسید روی است.

*The basal diet was prepared using premix without zinc, while the control diet contains 100 mg/kg zinc oxide.

در توافق با این نتایج در مطالعه‌ای استفاده از سطوح مختلف *باسیلوس کوآگولانس* در جیره جوجه‌های نژاد محلی (*Guangxi Yellow chicken*) سبب بهبود ضریب تبدیل خوراک شد (زو و همکاران ۲۰۱۰). نتایج حاصل از مطالعه‌ای دیگر نشان داد که استفاده از پروبیوتیک سبب بهبود عملکرد (جواد و همکاران ۲۰۱٦) شد در حالی که استفاده از پروبیوتیک حاوی *انتروکوکوس فاسیوم* (*Enterococcus faecium*) عملکرد جوجه‌ها را تحت تأثیر قرار نداد (قیصر و همکاران ۲۰۱٦). در تحقیقی اثرات مکمل سازی جیره با سین بیوتیک (سطوح ۱ و ۱/۵ گرم در کیلوگرم جیره) و منابع مختلف روی (سطوح ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره) بر عملکرد جوجه‌های گوشتی بررسی شد. در نهایت بهترین شاخص کارایی تولید در جوجه‌های تیمار مکمل شده با ۱ گرم سین بیوتیک به اضافه‌ی ۱۰۰ میلی‌گرم اکسید روی مشاهده گردید (صحرائی و جانمحمدی ۱۳۹۳). در مطالعه حاضر بهبود عملکرد جوجه‌های تغذیه شده با پروبیوتیک حاوی *باسیلوس کوآگولانس* با و بدون نانوذرات اکسید روی می‌تواند به دلیل افزایش قابلیت هضم مواد مغذی و تعدیل جمعیت میکروبی روده در این جوجه‌ها باشد (زو و همکاران ۲۰۱۰). با افزایش باکتری‌های مفید در دستگاه گوارش از توسعه باکتری‌های بیماری‌زا مانند اشرشیا کلی (از طریق تولید اسیدهای آلی و باکتریوسین) جلوگیری شده و سموم حاصله از آن‌ها خنثی می‌شود، وجود این سموم در مجرای گوارشی باعث کاهش هضم پروتئین‌ها و شکستن آن‌ها به نیتروژن می‌شود (جین و همکاران ۱۹۹۸). همچنین نتایج حاصل از پژوهش حاضر نشان داد که افزایش وزن، مصرف خوراک و ضریب تبدیل خوراک جوجه‌های تغذیه شده با سطوح مختلف نانو اکسید روی (حاوی روی به میزان ۲۵ و ۵۰ درصد جیره شاهد) تفاوت معنی‌داری با تیمار شاهد نداشت. این مسئله احتمالاً به واسطه اندازه کوچکتر نانو اکسید روی و در نتیجه افزایش جذب روی است چرا که استفاده از فرم نانوی روی در مقادیر کمتر از روی توصیه شده توسط راهنمای مدیریت راس اثر منفی بر عملکرد جوجه‌ها نداشت. در تحقیقی دیگر استفاده از سطوح مختلف روی (۱۰، ۲۰، ٤۰، ۸۰، ۱٦۰ و ۳۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره)، تأثیر معنی‌داری بر ضریب تبدیل خوراک جوجه‌های گوشتی نداشت (ساندر و همکاران ۲۰۰۸). نتایج مربوط به تأثیر تیمارهای آزمایشی بر وزن نسبی اجزا لاشه و برخی اندام‌های داخلی در جدول ۳ نشان داده شده است.

جدول۳- تأثیر نانوذرات اکسید روی و *باسیلوس‌کوآگولانس* بر وزن نسبی لاشه، اجزا لاشه و وزن اجزای داخلی جوجه‌های گوشتی در ۴۲ روزگی (درصد از وزن زنده)

Table 3- Effect of zinc oxide nanoparticles and *Bacillus coagulans* on the relative weight of carcass (% of live weight), various components of carcasses and digestive organs weight of 42 d broilers (% of live body weight)

*Experimental groups	Carcass	Breast	Legs	Liver	Pancreas	Bursa of Fabricius	Spleen
Control (basal diet + zinc oxide)	61.70	20.63	18.79^{b}	2.80^{a}	0.290	0.148	0.139
Control + 100 mg/kg probiotic	62.13	21.93	19.76^{ab}	2.55^{ab}	0.307	0.144	0.136
Basal diet + 25 mg/kg zinc oxide nanoparticles	61.41	21.49	18.78^{b}	2.75^{a}	0.291	0.144	0.135
Basal diet + 50 mg/kg zinc oxide nanoparticles	61.74	21.70	18.87^{ab}	2.54^{ab}	0.304	0.189	0.150
Basal diet + 25 mg/kg zinc oxide nanoparticles + probiotic	62.31	22.43	19.87^{ab}	2.35^{bc}	0.285	0.158	0.164
Basal diet + 50 mg/kg zinc oxide nanoparticles + probiotic	62.64	22.66	19.96^{a}	2.07^{c}	0.289	0.177	0.152
Standard Error of Mean (SEM)	1.519	0.843	0.343	0.099	0.022	0.016	0.008
P-value	0.993	0.603	0.046	0.007	0.975	0.122	0.229

^{a,b,c} Means within a column with different letters differ significantly (P< 0.05).

*The basal diet was prepared using premix without zinc, while the control diet contains 100 mg/kg zinc oxide.

با توجه به نتایج بدست آمده وزن نسبی لاشه، سینه، طحال، بورس فابریسیوس و پانکراس تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت ولی وزن نسبی ران‌ها و کبد متأثر از تیمارهای آزمایشی بود. در آزمایشی استفاده از پودر گیاهان دارویی (زردچوبه و دارچین) در جیره جوجه‌های گوشتی اثر معنی‌داری بر وزن نسبی سینه، ران، طحال، کبد، چربی حفره بطنی و پانکراس نداشت (باغبان کنعانی و همکاران ۱۳۹۵). در تحقیقی دیگر جایگزینی ید معدنی با ید آلی در جیره جوجه‌های گوشتی موجب افزایش بازده لاشه و وزن نسبی ران‌ها شد اما تاثیری بر وزن نسبی چربی حفره بطنی نداشت (بهروزلک و همکاران ۱۳۹۷). بر اساس نتایج بدست آمده مشخص گردیده است که عنصر روی با تأثیر بر وزن اندام‌های لنفاوی جوجه‌های گوشتی بر پاسخ ایمنی نقش دارد به گونه‌ای که در آزمایشی وزن طحال و بورس در جوجه‌های تغذیه شده با ٤٠ میلی‌گرم روی در هر کیلوگرم جیره در مقایسه با جوجه‌های تغذیه شده با سطوح کمتر روی به طور معنی‌داری بیشتر بود (ساندر و همکاران ۲۰۰۸). تفاوت‌ها در نتایج بدست آمده ممکن است به علت مقدار روی موجود در جیره پایه یا مقدار و نوع منبع روی اضافه شده به جیره پایه باشد. به علاوه حضور لیگاندهای جیره‌ای مانند فیتات، که با روی تشکیل کمپلکس غیرمحلول می‌دهد، مانع از جذب آن می‌شوند. همچنین مقدار بالای کلسیم جیره که باند شدن روی با فیتات را افزایش می‌دهد، در جذب روی دخالت دارد (روسی و همکاران ۲۰۰۷).

مشابه مطالعه حاضر، در آزمایشی دیگر استفاده از پروبیوتیک حاوی *انتروکوکوس فاسیوم* (*Enterococcus faecium*) در جیره جوجه‌های گوشتی، تأثیر معنی‌داری بر وزن نسبی طحال و بورس فابریسیوس نداشت (قیصر و همکارن ۲۰۱٦). وزن نسبی ران‌ها در جوجه‌های تغذیه شده با ٥٠ میلی‌گرم در کیلوگرم نانو اکسید روی به همراه پروبیوتیک به طور معنی‌داری بیشتر از گروه شاهد بود. همچنین وزن نسبی کبد در جوجه‌های تغذیه شده با نانو اکسید روی به همراه پروبیوتیک به طور معنی‌داری کمتر از گروه شاهد بود. در مطالعه‌ای، گزارش شد که استفاده از پروبیوتیک حاوی *لاکتوباسیلوس اسپورانژ* در جیره جوجه‌های گوشتی، باعث کاهش وزن کبد می‌شود. همچنین احتمالاً کاهش وزن نسبی کبد ناشی از وجود لاکتوباسیل‌ها و سایر میکروارگانیسم‌های مفید در پروبیوتیک‌ها باشد که ممکن است سبب ممانعت از کلنی سازی عوامل بیماری‌زا در دستگاه گوارش شوند. بنابراین با کاهش میکروارگانیسم‌های مضر روده محصولات سمی کمتری تولید خواهد شد و کبد برای سم‌زدایی این محصولات تحت فشار کمتری قرار می‌گیرد (وحدت پور و بابازاده ۲۰۱٦). استفاده از ترکیبات آنتی‌اکسیدان در جیره

جوجه‌های گوشتی، سبب کاهش وزن نسبی کبد شد و این مسئله به کاهش مالون دی آلدئید در کبد نسبت داده شد (اید و همکاران ۲۰۰۳). در آزمایش حاضر نیز کمتر بودن وزن نسبی کبد در جوجه‌های تغذیه شده با نانو اکسید روی به همراه پروبیوتیک می‌تواند به دلیل خاصیت آنتی اکسیدانی این دو ماده باشد. نتایج آزمایشی دیگر نشان داد که استفاده از پروبیوتیک حاوی *انتروکوکوس فاسیوم* (*Enterococcus faecium*) در جیره جوجه‌های گوشتی، اثر معنی‌داری بر وزن نسبی کبد، قلب و سنگدان نداشت ولی موجب افزایش خطی در وزن نسبی عضله سینه شد (قیصر و همکاران ۲۰۱۶). همچنین نتایج حاصل از مطالعه‌ای نشان داد که استفاده از سطوح مختلف مکمل روی (صفر، ۶۰، ۱۲۰ و ۱۸۰ میلی‌گرم در هر کیلوگرم جیره) به فرم‌های سولفاته، اسید آمینه‌ای و پروتئینی در جیره جوجه‌های گوشتی، تأثیر معنی‌داری بر وزن نسبی سینه، ران و چربی شکمی نداشت (لیو وهمکاران ۲۰۱۱). در تحقیقی دیگر نیز استفاده توام از روی آلی و پری‌بیوتیک در جیره بلدرچین‌های ژاپنی تأثیری بر وزن نسبی طحال، بورس و تیموس نداشت (عبدالسامی و همکاران ۲۰۱۳).

بر اساس داده‌های جدول ٤ مشخص گردید که وزن و طول نسبی دوازدهه، ایلئوم و سکوم تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت. موافق با این نتایج، در مطالعه‌ای استفاده از پروبیوتیک، تأثیر معنی‌داری بر طول نسبی دوازدهه، ایلئوم و سکوم جوجه‌های گوشتی نداشت ولی وزن نسبی دوازدهه و ژوژنوم در جوجه‌های تغذیه شده با پروبیوتیک در مقایسه با جوجه‌های گروه شاهد بیشتر بود (فرناندس و همکاران ۲۰۱٤). در تحقیقاتی دیگر نیز استفاده از انواع پروبیوتیک تأثیر معنی‌داری بر وزن و طول نسبی قسمت‌های مختلف روده جوجه‌های گوشتی نداشت (اکبرپور و همکاران ۱۳۹٤ و بهروزلک و همکاران ۲۰۱۵).

جدول۴- تأثیر نانوذرات اکسید روی و *باسیلوس کوآگولانس* بر طول و وزن نسبی قسمت‌های روده باریک جوجه‌های گوشتی در ۴۲ روزگی (درصد از وزن زنده)

Table 4- Effect of zinc oxide nanoparticles and *Bacillus coagulans* on weight and length of different parts of small intestine of 42 d broilers (% of live body weight)

*Experimental groups	Relative weight			Relative length		
	Duodenum	Ileum	Cecum	Duodenum	Ileum	Cecum
Control (basal diet + zinc oxide)	0.792	1.341	0.458	1.350	3.653	1.442
Control + 100 mg/kg probiotic	0.767	1.187	0.471	1.434	3.719	1.443
Basal diet + 25 mg/kg zinc oxide nanoparticles	0.795	1.259	0.463	1.340	3.099	1.464
Basal diet + 50 mg/kg zinc oxide nanoparticles	0.787	1.125	0.460	1.563	3.924	1.627
Basal diet + 25 mg/kg zinc oxide nanoparticles + probiotic	0.755	1.277	0.462	1.378	3.212	1.454
Basal diet + 50 mg/kg zinc oxide nanoparticles + probiotic	0.739	1.251	0.480	1.578	3.272	1.567
Standard Error of Mean (SEM)	0.030	0.096	0.030	0.115	0.434	0.088
P-value	0.732	0.698	0.995	0.509	0.717	0.587

*The basal diet was prepared using premix without zinc, while the control diet contains 100 mg/kg zinc oxide.

بر اساس نتایج پژوهش‌های انجام شده، pH محتویات دستگاه گوارش به عنوان عامل مهمی در تأمین سلامت و ماندگاری پرندگان و شاخصی برای ارزیابی وضعیت سلامتی جوجه‌ها در منابع علمی مورد تأکید قرار گرفته است (گراشورن ۲۰۱۰). با توجه به نتایج جدول ٥، pH ایلئوم و سنگدان جوجه‌های گوشتی تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت. یکی از اعمال پروبیوتیک‌ها این است که فراورده‌های حاصل از تخمیر آن‌ها منجر به تولید اسیدهای چرب زنجیر کوتاه و کاهش pH دستگاه گوارش

می‌شود و در نتیجه باعث افزایش قابلیت حل مواد معدنی و افزایش جذب می‌شوند (سولز آرنز و همکاران ۲۰۰۷). نتایج مربوط به تأثیر تیمارهای آزمایشی بر سیستم ایمنی هومورال جوجه‌های گوشتی در جدول ٦ نشان داده شده است. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که میزان تیتر آنتی بادی علیه گلبول قرمز گوسفند (SRBC) در سن ۲۸ و ٤۲ روزگی در جوجه‌های تغذیه شده با ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم نانو اکسید روی با و بدون پروبیوتیک به طور معنی‌داری بیشتر از گروه شاهد بود. میزان آنتی بادی‌های بوجود آمده بر علیه SRBC نشان دهنده وضعیت سیستم ایمنی هومورال است (گراشورن ۲۰۱۰). گلبول قرمز گوسفند به عنوان یک ماده خارجی نقش آنتی ژن را ایفا نموده و سیستم ایمنی را تحریک می‌کند. مواد معدنی جیره قادر هستند که تظاهر ژن‌های مسئول پاسخ ایمنی را از طریق ایجاد تغییر در میزان بلوغ سیستم ایمنی و همچنین میزان آنتی بادی‌های تولید شده در برابر عفونت‌ها تغییر دهند (اکبری و همکاران ۱۳۸۷). از بین این مواد معدنی، روی نقش بسیار مهمی در سیستم ایمنی ایفا می‌کند. در تحقیق حاضر نیز تأثیر و نقش روی بر سیستم ایمنی جوجه‌ها به خوبی مشخص است. روی با تاثیر بر عملکرد تیروزین کیناز (پروتئین ضروری در فعالیت لنفوسیت‌ها) باعث بهبود تولید و عملکرد لنفوسیت‌ها و در نتیجه تقویت سیستم ایمنی می‌شود (والش و همکاران ۱۹۹٤). همچنین روی یک کوفاکتور ضروری برای تیمولین است. تیمولین هورمونی تیموسی است که به گیرنده‌های سطح لنفوسیت‌های T چسبیده و باعث بلوغ و فعالیت لنفوسیت‌های T می‌شود. روی از طریق زنجیره‌های جانبی آسپارژین و گروه‌های هیدروکسیل به تیمولین باند می‌شود. باند شدن روی منجر به یک تغییر ساختاری می‌شود که فرم فعال تیمولین را تشکیل می‌دهد.

جدول ۵- تأثیر نانوذرات اکسید روی و *باسیلوس‌کوآگولانس* بر pH سنگدان و ایلئوم جوجه‌های گوشتی در ۴۲ روزگی

Table 5- Effect of zinc oxide nanoparticles and *Bacillus coagulans* on the pH of gizzard and cecum of 42 d of broilers

*Experimental groups	pH	
	Gizzard	Ileum
Control (basal diet + zinc oxide)	3.462	6.235
Control + 100 mg/kg probiotic	3.322	6.155
Basal diet + 25 mg/kg zinc oxide nanoparticles	3.342	6.207
Basal diet + 50 mg/kg zinc oxide nanoparticles	3.367	6.175
Basal diet + 25 mg/kg zinc oxide nanoparticles + probiotic	3.280	6.165
Basal diet + 50 mg/kg zinc oxide nanoparticles + probiotic	3.292	6.117
Standard Error of Mean (SEM)	0.054	0.037
P-value	0.269	0.145

*The basal diet was prepared using premix without zinc, while the control diet contains 100 mg/kg zinc oxide

بنابراین روی موجود در جیره ممکن است افزایش فعالیت تیمولین و به دنبال آن بلوغ و فعالیت مطلوب لنفوسیت‌های T را باعث شود که نتیجه این امر بالا رفتن تیتر آنتی بادی خواهد بود. فعالیت تیمولین در شرایط آزمایشگاهی و مزرعه‌ای در انسان و حیوانات به غلظت روی موجود در پلاسما وابسته است به طوری که تغییرات اساسی در مصرف یا در دسترس بودن روی بر فعالیت تیمولین اثر می‌گذارد (دردنن و همکاران ۱۹۸۲). در تحقیق حاضر نیز احتمالاً استفاده از فرم نانو باعث افزایش قابلیت دسترسی و جذب روی شده است (سای و همکاران ۲۰۱٦). همچنین استفاده توام از روی آلی و پری بیوتیک در جیره بلدرچین‌های ژاپنی، سبب بهبود تولید تیتر آنتی بادی در پاسخ به SRBC شده است (عبدالسامی و همکاران ۲۰۱۳). در پژوهشی دیگر گزارش شد که پاسخ‌های اولیه و ثانویه

آنتی بادی به SRBC در جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با ۱۸۱ میلی‌گرم در کیلوگرم از منبع ترکیبات آلی روی، نسبت به سطوح پایین‌تر (۳٤ تا ٦۸ میلی‌گرم در کیلوگرم) افزایش یافت (اسمیت ۲۰۰۳). استفاده از نانو ذرات اکسید روی در جیره مرغ‌های مادر مسن، تأثیر معنی‌داری بر میزان تیتر آنتی بادی بر علیه گلبول قرمز بز نداشت (سای و همکاران ۲۰۱٦). در حالیکه تغذیه جوجه‌های گوشتی با نانو ذرات روی سبب افزایش تیتر آنتی‌بادی علیه گلبول‌های قرمز گوسفندی در سن ۲۱ روزگی شد (محمدی و اکبری ۲۰۱٦). در مطالعه‌ای مصرف پروبیوتیک پروتکسین تأثیر مثبتی بر واکنش سیستم ایمنی جوجه‌های گوشتی به آنتی ژن SRBC داشت به گونه‌ای که جوجه‌های تغذیه شده با پروبیوتیک، تیتر آنتی بادی بیشتری تولید کردند. همچنین گزارش شد که بهبود سیستم ایمنی تحت تأثیر پروبیوتیک‌ها از سه طریق افزایش آنتی بادی‌های عمومی، افزایش فعالیت ماکروفاژی و افزایش تولید آنتی بادی‌های موضعی در سطح مخاطی بافت‌هایی مثل دیواره روده انجام می‌شود (کبیر و همکاران ۲۰۰٤). گزارش شده است که تیتر آنتی بادی علیه SRBC در جوجه‌های تغذیه شده با ۰/۱ میلی‌گرم در کیلوگرم پروبیوتیک (پروتکسین) نسبت به گروه شاهد افزایش یافت (میربابایی لنگرودی و همکاران ۱۳۹۱). در توافق با نتایج تحقیق حاضر، در پژوهشی دیگر استفاده از پروبیوتیک تأثیر معنی‌داری بر میزان تیتر آنتی بادی علیه گلبول قرمز نداشت (طاهری و همکاران ۲۰۱٤). تفاوت‌ها در نتایج تحقیقات در مورد اثر پروبیوتیک‌ها بر پاسخ ایمنی جوجه‌ها، شاید به دلیل نوع، مقدار و زمان مصرف پروبیوتیک‌ها باشد.

جدول۶- تأثیر نانوذرات اکسید روی و *باسیلوس کوآگولانس* بر سیستم ایمنی جوجه‌های گوشتی (log2)

Table 6- Effect of zinc oxide nanoparticles and *Bacillus coagulans* on the immune system of broiler (log2)

*Experimental groups	antibody titers against sheep red blood cells	
	Primary (28 day)	Secondary (42 day)
Control (basal diet + zinc oxide)	4.12^{c}	4.87^{b}
Control + 100 mg/kg probiotic	4.62^{c}	6.12^{ab}
Basal diet + 25 mg/kg zinc oxide nanoparticles	4.25^{c}	5.00^{b}
Basal diet + 50 mg/kg zinc oxide nanoparticles	5.87^{ab}	6.75^{a}
Basal diet + 25 mg/kg zinc oxide nanoparticles + probiotic	5.12^{bc}	6.12^{ab}
Basal diet + 50 mg/kg zinc oxide nanoparticles + probiotic	6.25^{a}	7.37^{a}
Standard Error of Mean (SEM)	0.338	0.390
P-value	0.001	0.001

^{a,b,c} Means within a column with different letters differ significantly (P< 0.05)

*The basal diet was prepared using premix without zinc, while the control diet contains 100 mg/kg zinc oxide.

نتیجه‌گیری کلی

به‌طور کلی استفاده از نانو اکسید روی (۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) به همراه پروبیوتیک (۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) در جیره جوجه‌های گوشتی، سبب بهبود عملکرد رشد، تقویت سیستم ایمنی و بهبود برخی خصوصیات لاشه می‌شود. استفاده از منبع نانوذرات روی در سطوح پایین‌تر (۲۵ و ۵۰ درصد مقدار توصیه شده روی توسط راهنمای مدیریت راس) هیچ اثر منفی بر عملکرد جوجه‌های گوشتی ندارد لذا نانوذرات در سطوح پایین‌تر می‌توانند جایگزین اکسید روی در جیره جوجه‌های گوشتی شوند.

منابع مورد استفاده

Abd-El-Samee DL, El-Wardany I, Nematallah GA and Abo-El-Azab OM, 2013. Effect of dietary organic zinc and prebiotic on productive performance and immune response of growing quails. Iranian Journal of Applied Animal Science 3: 761-767.

Ahmadi F, Ebrahimnezhad Y, Maheri SN and Ghiasi GJ, 2013. The effects of zinc oxide nanoparticles on performance, digestive organs and serum lipid concentrations in broiler chickens during starter period. International Journal of Biosciences 3: 23-29.

Aliakbarpour HR, Karimi Torshizi MA, Yossefi Kelarikolaei K and Dozori R, 2015. Effetc of the type of the probiotic in broiler's diet on body growth, immune system organs and small intestine morphology in first week of growing .Veterinary Journal 107: 51-59 (In Persian).

Baghban Kanani P, Daneshyar M and Najafi R, 2016. Effects of cinnamon and turmeric powders supplementation on performance, carcass characteristics and some serum parameters of broiler chickens under heat stress condition. Journal of Animal Science Researches 26: 63-75 (In Persian).

Behroozlak M, Daneshyar M and Farhoomand P, 2019. The effects of dietary replacement of inorganic iodine with organic source on growth performance, carcass characteristics, meat iodine content, thyroid hormones and some blood indices in broiler chickens. Journal of Animal Science Researches 28: 141-164 (In Persian).

Behroozlak MA, Hasanabadi A, Behroozlak M and Beheshti Moghadam S, 2015. Effect of supplementation different levels of cinnamon powder, antibiotic and probiotic on performance and jejunum morphometric charasteristics of broiler chickens. Journal of Animal Science Researches 26: 173-183 (In Persian).

Bonaventura P, Benedetti G, Albarède F and Miossec P, 2015. Zinc and its role in immunity and inflammation. Autoimmunity Reviews 14: 277-285.

Chau CF, Wu SH and Yen GC, 2007. The development of regulations for food nanotechnology. Trends in Food Science & Technology 18: 269-280.

Dardenne M, Pleau JM, Nabarra B, Lefrancier P, Derrien M, Choay J and Bach JF, 1982. Contribution of zinc and other metals to the biological activity of the serum thymic factor. Proceedings of the National Academy of Sciences 79: 5370-5373.

Dorosti F, Najafi R and Aghazadeh AM, 2016. Effect of red grapes vinegar and Pidiococcus acidilactici bacteria supplementation on growth performance, immune system and some carcass traits of broiler chickens Journal of Animal Science Researches 27: 41-53 (In Persian).

Eid YZ, Ohtsuka A and Hayashi K, 2003. Tea polyphenols reduce glucocorticoid-induced growth inhibition and oxidative stress in broiler chickens. British Poultry Science 44: 127-132.

Erdogan Z, Erdogan S, Aslantaş O and Celik S, 2010. Effects of dietary supplementation of synbiotics and phytobiotics on performance, caecal coliform population and some oxidant/antioxidant parameters of broilers. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition 94: 40-48.

Fernandes BCS, Martins MRF, Mendes AA, Milbradt EL, Sanfelice C, Martins BB, Aguiar EF and Bresne C, 2014. Intestinal integrity and performance of broiler chickens fed a probiotic, a prebiotic, or an organic acid. Revista Brasileira de Ciência Avícola 16: 417-424.

Gheisar MM, Hosseindoust A and Kim IH, 2016. Effects of dietary Enterococcus faecium on growth performance, carcass characteristics, faecal microbiota, and blood profile in broilers. Veterinarni Medicina 61: 28-34.

Gilman J and Cashman KD, 2006. The effect of probiotic bacteria on transepithelial calcium transport and calcium uptake in human intestinal-like Caco-2 cells. Issues Intestinal Microbiol 7: 1–5.

Grashorn MA, 2010. Use of phytobiotics in broiler nutrition–an alternative to in feed antibiotics. Journal of Animal and Feed Science 19: 338-347.

Hong HA and Cutting SM, 2005. The use of bacterial spore formers as probiotics. FEMS Microbiology Reviews 29: 813-835.

Huang YL, Lu L, Luo GX and Liu B, 2007. An optimal dietary zinc level of broiler chicks fed a corn – soybean meal diet. Poultry Science 86: 2582 - 2589.

Hung TA, Lin S, Yang T, Chou C, Liu H, Lu J, Wang B, Chen S and Lien T, 2012. Effects of *Bacillus coagulans* ATCC 7050 on growth performance, intestinal morphology, and microflora composition in broiler chickens. Animal Production Science 52: 874–879.

Hyronimus B, Le Marrec C, Sassi AH and Deschamps A, 2000. Acid and bile tolerance of spore-forming lactic acid bacteria. International Jurnal of Food Microbiology 61: 193-197.

Jawad HS, Lokman IH, Naji SA, Zuki ABZ and Kassim AB, 2016. Effect of Soluble Probiotic on Production Performance of Akar Putra Chicken. International Journal of Poultry Science 15: 134.

Jin LZ, Ho YW, Abdullah N and Jalaludin S, 1998. Growth performance, intestinal microbial populations, and serum cholesterol of broilers fed diets containing Lactobacillus cultures. Poultry Science 77: 1259-1265.

Kabir SL, Rahman MM, Rahman MB, Rahman MM and Ahmed SU, 2004. The dynamics of probiotics on growth performance and immune response in broilers. International Journal of Poultry Science 3: 361-364.

Khalaji S, Zaghari M, Hatami KH, Hedari-Dastjerdi S, Lotfi L and Nazarian H, 2011. Black cumin seeds, Artemisia leaves (Artemisia sieberi), and Camellia L. plant extract as phytogenic products in broiler diets and their effects on performance, blood constituents, immunity, and cecal microbial population. Poultry Science 90: 2500-2510.

Liu ZH, Lu L, Li SF, Zhang LY, Xi L, Zhang KY and Luo XG, 2011. Effects of supplemental zinc source and level on growth performance, carcass traits, and meat quality of broilers. Poultry Science 90: 1782-1790.

Mirbabaie Langarodi1 N, Mohammadi M and Roostaei-Ali Mehr M, 2012. Effect of Protexin (probiotic) and formic acid on performance of broilers. Animal Production Research 1: 9-16 (In Persian).

Mirbabaie Langarooi N, Mohammadi M and Roostaei Alimehr M, 2013. Effect of Probiotic and Formic Acid on Immune System of Broilers. Iranian Journal of Animal Science 43: 456-459 (In Persian).

Mohammadi B and Akbari MR, 2016. Effects of zinc oxide nanoparticles on immune system function, antioxidant status, and performance of broiler chickens fed wheat-based diets. Journal of Animal Science Researches 27: 103-114 (In Persian).

Nel AE, Mädler L, Velegol D, Xia T, Hoek EM, Somasundaran P, Klaessig F, Castranova V and Thompson M, 2009. Understanding biophysicochemical interactions at the nano–bio interface. Nature Materials 8: 543–557.

Park JH and Kim IH, 2014. Supplemental effect of probiotic *Bacillus subtilis* B2A on productivity, organ weight, intestinal Salmonella microflora, and breast meat quality of growing broiler chicks. Poultry Science 93: 2054–2059.

Rajendran D, 2013. Application of Nano minerals in animal production system. Research Journal of Biotechnology 8: 1-3.

Ripamonti B, Agazzi A, Baldi A, Balzaretti C, Bersani C, Pirani S and Domeneghini C, 2009. Administration of Bacillus coagulans in calves: recovery from faecal samples and evaluation of functional aspects of spores. Veterinary Research Communications 33: 991-1001.

Rossi P, Rutz F, Anciuti MA, Rech JL and Zauk NHF, 2007. Influence of graded levels of organic zinc on growth performance and carcass traits of broilers. Journal of Applied Poultry Research 16: 219-225.

Rostami F, Taherpour K, Akbari-Gharaei M, Shirzadi H and Ghasemi HA, 2019. Effects of hydroalcoholic extract of Scrophularia striata in comparison with antibiotic, probiotic and a multivitamin and mineral supplement on growth performance and blood parameters of broilers. Journal of Animal Science Researches 28: 197-201 (In Persian).

Sahraei M and Janmohammadi H, 2014. Effect of dietary supplementation by synbiotic and different zinc sources on broiler chicken performance, immune system and intestinal morphology. Journal of Veterinary Research 69: 271-282.

Saleh AA, 2014. Effect of dietary mixture of *Aspergillus* probiotic and selenium nano-particles on growth, nutrient digestibilities, selected blood parameters and muscle fatty acid profile in broiler chickens. Animal Science Papers and Reports 32: 65-79.

Scholz-Ahrens K, Peter A, Marten B, Weber P, Wolfram T, Yahya A, Claus CG and Schrezenmeir J, 2007. Prebiotics, probiotics, and synbiotics affect mineral absorption, bone mineral content, and bone structure. Journal Nutrition 137: 838-846.

Shirmohammad F, Joezy-Shekalgorabi S and Moharrami V, 2015. Investigation of the effect of primalac and fermacto prebiotic on growth performance and carcass quality of broilers. Animal Production Research 4: 9-19 (In Persian).

Smith MO, 2003. Effects of different levels of zinc on the performance and immunocompetence of broilers under heat stress. Poultry Science 82: 1580-1588.

Song S, Qin Y, He Y, Huang Q, Fan C and Chen HY, 2010. Functional nanoprobes for ultrasensitive detection of biomolecules. Chemical Society Reviews 39: 4234–4243.

Sosnik A, Carcaboso AM, Glisoni RJ, Moretton MA and Chiappetta DA, 2010. New old challenge in tuberculos is: potentially effective nanotechnologies in drug delivery. Advanced Drug Delivery Reviews 62: 547-59.

Sunder GS, Panda AK, Gopinath NCC, Rao SR, Raju MVL, Reddy MR and Kumar CV, 2008. Effects of higher levels of zinc supplementation on performance, mineral availability, and immune competence in broiler chickens. The Journal of Applied Poultry Research 17: 79-86.

Taheri HR, Kokabi Moghadam M, Kakebaveh M and Harakinezhad T, 2014. Growth performance and immune response of broiler chickens fed diets supplemented with probiotic and (or) prebiotic preparations. Journal of Livestock Science and Technologies 2: 1-8.

Tsai YH, Mao SY, Li MZ, Huang JT and Lien TF, 2016. Effects of nanosize zinc oxide on zinc retention, eggshell quality, immune response and serum parameters of aged laying hens. Animal Feed Science and Technology 213: 99–107.

Vahdatpour T and Babazadeh D, 2016. The effects of kefir rich in probiotic administration on serum enzymes and performance in male Japanese quails. The Journal of Animal and Plant Science 26: 34-39.

Walsh CT, Sandstead HH, Prasad AS, Newberne PM and Fraker PJ, 1994. Zinc: health effects and research priorities for the 1990s. Environmental Health Perspectives 102: 5-46.

Wegmann TG and Smithies O, 1966. A simple hemagglutination system requiring small amounts of red cells and antibodies. Transfusion 6: 67-73.

Zhang ZF and Kim IH, 2014. Effects of multi-strain probiotics on growth performance, apparent ileal nutrient digestibility, blood characteristics, cecal microbial shedding, and excreta odor contents in broilers. Poultry Science 93: 364–370.

Zhou X, Wang Y, Gu Q and Li W, 2010. Effect of dietary probiotic, Bacillus coagulans, on growth performance, chemical composition, and meat quality of Guangxi Yellow chicken. Poultry Science 89: 588-593.

Effect of Zinc oxide nanoparticle and probiotic (*Bacillus coagulans*) on immune responses, some carcass characteristics, and digestive organs weight of broiler chickens

M Khajeh Bami[1*] and M Afsharmanesh[2]

Accepted: November 8, 2017 Received: July 13, 2019

[1]PhD Student, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran
[2]Associate professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran
[*]Corresponding author: E mail: mkhaje@agr.uk.ac.ir

پژوهش‌های علوم دامی Animal Science Researches
Journal of Animal Science/vol.29 No.3/ 2019/pp 17-30
https://animalscience.tabrizu.ac.ir
OPEN ACCESS

© 2009 Copyright by Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran.
This is an open access article under the CC BY license (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0)

Introduction: Zinc (Zn) is an essential trace element for poultry nutrition, because of its important role in various biological functions. For decades, the nutritional importance of Zn has been known, but its vital roles in immune modulation and functioning has been arisen (Bonaventura et al. 2015). The forms of Zn in the diet of poultry could be as inorganic form like Zinc oxide (ZnO) and Zinc Sulphate and as organic shapes like Zn acetate (Zhao et al. 2014). A new form of this inorganic salt is zinc oxide nanoparticles (zno nanoparticles) that have produced by nanotechnology (Song et al. 2010). Nanoparticles have larger surface area that allows higher interactions with other molecules, and the larger surface area enhances the bioavailability and the intestinal absorption of these tiny structures (Nel et al. 2009; Tsai et al. 2016). In general, little studies have indicated that the application of nano minerals in broilers production, immune responses is promising. One of the most promising spore forming lactic acid-producing species is *Bacillus coagulans* (*B. coagulans*) (Hyronimus et al. 2000). *Bacillus coagulans* is a safe, unique gram-positive, spore-forming, microaerophilic, lactic acid producing bacillus that does not encode enterotoxin. It possesses a protective, spore-like protein coating, which allows it to resist high temperature and to survive stomach acid and bile salts, reach the small intestine, germinate, and multiply (Hyronimus et al. 2000). It has been demonstrated that supplementation of *B. coagulans* in chicken feed promotes their growth performance (Hung et al. 2012). Some previous studies reported that probiotics could effectively enhance immune functions of broiler chicks. Kabir et al. (2004) found that broiler chicks fed with probiotic improved antibody titers against sheep red blood cells (SRBC). In addition, researchers have used probiotics in combination with some nanoparticles, such as nano-selenium, to improve the growth performance and immunity in broiler chicks (Saleh, 2014). In addition, another research demonstrated that probiotics decreased intestine pH, hence it increased production of short-chain fatty acids because of the modification of the gut flora with a consecutive increased mineral solubility and absorbability (Gilman and Cashman 2006; Scholz-Ahrens et al. 2007). According to the above evidences, it appears that combination of zno nanoparticles with probiotic probably causes synergism effects between them through their impact on performance. Thus, in the current study, the synergistic effects of zno nanoparticle in combination with a probiotic on the growth performance and immune responses of broilers was studied. Therefore, the aims of current study were to evaluate the effects of *B. coagulans* and different levels of zno nanoparticles on growth performance, carcass characteristics, and immune responses parameters.

Material and methods: This trial was conducted with 288 male Ross broiler chicks in a completely randomized design with 6 dietary treatments and 4 replicates with 12 birds per replicate. The experimental treatments were included: control diet (100 mg/kg zno), control diet plus 100 mg/kg probiotic, basal diet without zno plus 25 and 50 mg/kg zno nanoparticles with or without probiotic. The basal diet was formulized according to the dietary requirements in accordance with the Ross guidelines. In this experiment the performance parameters (body weight gain, feed intake and feed conversion ratio), humoral immune (antibody titer against sheep red blood cells), carcass parameters (relative weight of carcass, breast, thigh, spleen, liver, pancreas, bursa of Fabricius and the relative weight and length of the duodenum, ileum and cecum) and intestinal and gizzard pH were measured. On day 42 of experiment, two birds from each replicate were selected, then weighed, were slaughtered and carcass parameters were weighed using a digital scale and their relative weight to body weight were calculated. The length of the various parts of the small intestine was measured after the separation from the mesenteric with the ruler. The collected data were compared using SAS software version 9.1.

Results and discussion: Using zno nanoparticles with probiotic improved body weight gain and feed conversion ratio of broiler chicks ($P<0.05$). It has been demonstrated that supplementation of *B. coagulans* in chicken feed promotes their growth performance (Hung et al. 2012). In other study, broiler chicks fed multi-strain probiotic diets have greater body weight gain and lower feed conversion ratio than those fed control diet (Zhang and Kim 2014). Jawad et al. (2016) were indicated that supplementation with probiotic improved body weight gain and feed conversion ratio. The possible mechanism for this improvement is that probiotic exert useful effect via retention of beneficial bacterial population in the digestive tract and improvement of feed digestion and absorption. In the present study, treatments had no significant effect on relative weight of carcass, breast, spleen, bursa of Fabricius, pancreas, and liver ($P>0.05$). The relative weight of liver and thighs in broiler fed with combination of zno nanoparticles and probiotic were lower and higher than control group, respectively ($P<0.05$). It was reported that using probiotic (Primalac) to the diet of broilers had no effect on growth performance, carcass quality, carcass weight, carcass traits, breast, heart, abdominal fat, spleen, and bursa of Fabricius (Shirmohammad et al. 2015). In addition, treatments had no significant effect on relative weight and length of different parts of small intestine (duodenum, ileum, and cecum) and pH of gizzard and cecum of broilers ($P>0.05$). The antibody titer against SRBC in chickens fed with 50 mg/kg of zno nanoparticles with or without probiotic were significantly more than the control group. In other study, the variation in Zn levels affected the antibody titers against SRBC inoculation and the amounts of humoral immune response. The highest antibody titers in broiler were observed at 80 mg/kg level compared with lower levels (Sunder et al. 2008). Changes in Zn status of body influenced the T cell functions and the balance between the different T helper cell subsets (Bonaventura et al. 2015).

Conclusion: In conclusion, the results showed that the use of 50 mg/kg of zinc oxide nanoparticle with probiotic (*Bacillus coagulans*) caused an improvement in growth performance, some carcass characteristics, and immune responses of broiler chickens. In addition, we concluded that substitution of the mineral form (zinc oxide) with zinc oxide nanoparticle in broiler diet did not affect the broiler performance.

Keywords: Broiler chicks, Immune system, Probiotic, Zinc oxide nanoparticle