14(1) 113-120, Spring 2022

Journal of Animal Environment
(AEJ)
Journal homepage: http://www.aejournal.ir

Original Research Paper

The effect of three different sources of copper on the ileal digestibility of nutrients, biochemical indices of blood, liver and bone minerals in Ross 308 broiler chickens

Malekmansour Khoshkhoy Daylami, Hamidreza Mohammadian Tabrizi*, Mahboobeh Rostami Ankasi

Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture, Chalous Branch, Islamic Azad University, Chalous, Iran

Key Words

Nanoparticles
Copper
Broiler
Digestion
Copper oxide
Copper sulfate

Abstract

Introduction: Copper is one of the most important trace elements in broiler diets.

Materials & Methods: This experiment was performed to compare the effect of three different sources of copper on ileal digestibility of nutrients, biochemical indices of blood, liver and bone on 600 one-day-old broilers of Ross 308 strain up to 42 days of age in a completely randomized design with 10 treatments and 5 replications and 12 chicks for each replication. Environmental conditions were the same for all groups. Experimental treatments include: 1- control treatment at the rate of zero mg/kg of copper supplement; treatments 2, 3 and 4 contain copper Nano-oxide at 10, 20 and 30 mg/kg, respectively; treatments 5, 6 and 7 contain copper oxide at 10, 20 and 30 mg/kg; treatments 8, 9 and 10 contain copper sulfate at 10, 20 and 30 mg/kg. At the end of the experiment, the data were compared with the GLM procedure of SAS software (SAS, 2004) and Duncan's multiple range tests at a significance level of 5% were used.

Results: The results showed that the digestibility of dry matter, crude protein, ether extract and crude ash of the experimental diets were not significantly affected by the treatments and the type and source of copper in the diets. It was shown that the amount of copper in the tibia of experimental chickens was significantly affected by the treatments ($P<0.001$). So that the highest amount of copper in the tibia was observed in the sulfate 30 treatment, which was significantly different from other treatments ($P<0.05$).

Conclusion: In general, it can be concluded that the amount of copper in the diet can affect the accumulation of copper in the tibia and it seems that the use of cheap copper sources such as copper sulfate compared to new and expensive copper sources such as copper nanoparticles have no different on the performance of the birds.

* Corresponding Author's email: hr_mohammadian@yahoo.com
Received: 2 January 2021; Reviewed: 7 February 2021; Revised: 14 April 2021; Accepted: 20 May 2021
(DOI): 10.22034/AEJ.2021.276438.2478

مقاله پژوهشی

مقایسه اثر سه منبع متفاوت مس بر قابلیت هضم ایلئومی مواد مغذی، شاخص‌های بیوشیمیایی خون، کبد و املاح استخوان در جوجه‌های گوشتی سویه راس ۳۰۸

*ملک‌منصور خشخوی‌دیلمی، حمیدرضا محمدیان‌تبریزی**، محبوبه رستمی‌انکاسی*

گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، واحد چالوس، دانشگاه آزاد اسلامی، چالوس، ایران

کلمات کلیدی

نانو ذرات
مس
جوجه گوشتی
قابلیت هضم
اکسید مس
سولفات مس

چکیده

مقدمه: مس جزو مواد معدنی کم مصرف مهم در تغذیه جوجه‌های گوشتی است.

مواد و روش‌ها: بنابراین آزمایشی به‌منظورمقایسه منابع متفاوت مس بر قابلیت هضم ایلئومی مواد مغذی، شاخص‌های بیوشیمیایی خون، کبد و استخوان روی ٦۰۰ قطعه جوجه‌گوشتی درقالب طرح‌کاملاً تصادفی با ۱۰تیمار و پنج تکرار و ۱۲ جوجه به‌ازاء هر تکرار انجام شد. تیمارها شامل: ۱ شاهد بدون مکمل مس؛ تیمارهای ۲، ۳ و ٤ به‌ترتیب حاوی نانواکسید مس به‌میزان ۱۰، ۲۰ و ۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم؛ تیمارهای ٥، ٦ و۷ حاوی اکسید مس به‌میزان ۱۰، ۲۰ و ۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم؛ تیمارهای ۸، ۹ و۱۰ حاوی سولفات مس به‌میزان ۱۰، ۲۰ و ۳۰ میلی‌گرم درکیلوگرم بودند. درپایان آزمایش، داده‌ها با رویه GLM نرم‌افزارSAS و آزمون چند دامنه‌ای دانکن‌مقایسه شدند.

نتایج: میزان مس موجود در درشت نی جوجه‌ها به‌طور معنی‌داری تحت تاثیر تیمارها قرار گرفت ($P<۰/۰۰۱$)؛ به‌طوری‌که بیش‌ترین میزان مس در درشت نی در تیمار سولفات ۳۰ مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری با دیگر تیمارها داشت ($P<۰/۰٥$).

نتیجه‌گیری و بحث: می‌توان نتیجه گرفت که میزان مس درجیره می‌تواند بر تجمع مس در درشت نی تاثیر داشته باشد و به‌نظر می‌رسد استفاده از منابع ارزان‌قیمت مس مانند سولفات‌مس‌درمقایسه با منابع جدید و پرهزینه مس‌مانند نانوذرات مس تفاوت چندانی بربازدهی پرنده وقابلیت‌هضم‌نخواهد داشت.

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: hr_mohammadian@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳ دی ۱۳۹۹؛ تاریخ داوری: ۱۹ بهمن ۱۳۹۹؛ تاریخ اصلاح: ۲۵ فروردین ۱٤۰۰؛ تاریخ پذیرش: ۳۰ اردیبهشت ۱٤۰۰
(DOI): 10.22034/AEJ.2021.276438.2478

مقدمه

یکی از مواد معدنی ضروری کم مصرف برای پرندگان مس می‌باشد که در بسیاری از فرآیندهای گوارشی، فیزیولوژیکی، بیوسنتز داخل بدن و هم‌چنین در فرآیندهای بیولوژیکی، رشد جنین، تنفس میتوکندری و تنظیم مقادیر هموگلوبین فعال است(۱) بنابراین، رشد و فعالیت بدن را تنظیم می‌کند(۲، ۳)و در نتیجه باید به‌صورت روزانه و در غلظت‌های بهینه شده مورد استفاده قرار گیرد (۴). شورای پژوهش ملی آمریکا در سال ۱۹۹۴، الزامات مس در جیره غذایی جوجه‌های گوشتی را ۸ میلی‌گرم در کیلوگرم عنوان کرد (۵)، چراکه کمبود مس اختلالات متابولیکی را ایجاد و ایمنی را کاهش می‌دهد (۳) و در مقابل، مصرف سطوح بالا نیز سبب مسمومیت می‌شود (۶). در این‌خصوص، دفع آن نیز موجب آلودگی محیط‌زیست خواهد شد (۷، ۸، ۹). بااین‌وجود، حداقل احتیاجات مس نمی‌تواند با صحت بالا بیان شود، چراکه جذب مس و استفاده از آن به‌طور قابل توجه‌ای تحت تاثیر عناصر معدنی متعدد و عوامل جیره‌ای دیگر قرار می‌گیرد (۱۰). بنابراین بی‌دلیل نیست که از مس در سطوح بالاتر در تغذیه طیور استفاده می‌کنند. زیرا استفاده از مس در سطوح بالاتر از احتیاجات به‌عنوان یک محرک رشد مطرح می‌شود (۱۱، ۱۲، ۱۳، ۱۴)، به‌عنوان مثال استفاده از سطوح ۱۰۰ تا ۳۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم به‌عنوان محرک رشد مطرح شده است (۱۴). سولفات مس هم‌چنان در جیره جوجه‌های گوشتی به‌طور گسترده‌ای مورد استفاده قرار می‌گیرد، زیرا قیمت پایین‌تر و دسترسی آسان‌تری دارد(۱۵) و نسبت به اکسیدمس، قابلیت زیستی بالاتری دارد، اما باید توجه کرد که سولفات مس از املاح کم‌تری نسبت به اکسید مس برخوردار است (۱۶). به‌هر حال دانش کمی درخصوص سرنوشت ذرات نانو در دستگاه گوارش وجود دارد، اما این امکان وجود دارد که به‌علت حل شدن، لخته شدن، جذب، پیوند با سایر مواد خوراکی و یا واکنش با ترشحات درونزادی دستگاه گوارش (اسید، آنزیم) به فرم آزاد در لومن نمانند و ویژگی نانو خود را از دست بدهند (۱۵). مطالعات بسیاری جهت بررسی کارایی مس و قابلیت دسترسی آن در طیور صفات عملکردی، قابلیت هضم ایلئومی، شاخص‌های خونی و میزان مس و املاح معدنی ذخیره شده در استخوان درشت نی را مطالعه کرده و نشان داده‌اند مس به‌مقدار بسیار کمی در بدن ذخیره می‌شود و باید همواره منبعی دائمی و بیش‌تر از نیاز پرنده در جیره تامین گردد(۱۷). بنابراین قابلیت جذب مس و رقابت مواد مغذی دیگر می‌تواند متاثر از منبع ماده معدنی تامین‌شده باشد. اهمیت نانوذرات معدنی نیز در کاهش آنتاگونیست معدنی روده و بهبود کارایی هضم و ایمنی تائید شده است (۱۸) و هم‌چنین به‌دلیل تغییر عملکرد مواد در اندازه نانو (۱۹، ۲۰)، به‌نظر می‌رسد بتوان عملکرد متفاوتی را در استفاده از نانوذرات اکسیدمس در مقایسه با اکسید و سولفات‌مس ایجاد کرد؛ هدف از این پژوهش، استفاده از نانوذرات اکسیدمس در مقایسه با اکسید و سولفات مس در جیره غذایی جوجه‌های گوشتی سویه راس ۳۰۸ است تا با تغییر اندازه اکسید مس، اثر حاصل از آن مورد مطالعه قرار بگیرد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش بر روی ۶۰۰ قطعه جوجه گوشتی یک‌روزه سویه راس ۳۰۸ تا سن ۴۲ روزگی در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۱۰ تیمار و ۵ تکرار و ۱۲ جوجه به‌ازاء هر تکرار انجام شد. شرایط محیطی برای تمام گروه‌ها یکسان بود. تیمارهای آزمایشی شامل: ۱- تیمار شاهد به‌میزان صفر میلی‌گرم در کیلوگرم مکمل روی؛ ۲- تیمار نانو اکسیدمس به‌میزان ۱۰ میلی‌گرم در کیلوگرم؛ ۳- تیمار نانو اکسیدمس به‌میزان ۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم؛ ۴- تیمار نانو اکسیدمس به‌میزان ۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم؛ ۵- تیمار اکسیدمس به‌میزان ۱۰ میلی‌گرم در کیلوگرم؛ ۶- تیمار اکسیدمس به‌میزان ۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم؛ ۷- تیمار اکسیدمس به‌میزان ۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم؛ ۸- تیمار سولفات مس به‌میزان ۱۰ میلی‌گرم در کیلوگرم؛ ۹- تیمار سولفات مس به‌میزان ۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم؛ ۱۰- تیمار سولفات مس به‌میزان ۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم، بودند. با استفاده از جداول احتیاجات راس ۳۰۸ (۲۱) و نرم‌افزار UFFDA (نسخه ۲۰۰۰) جیره‌های مورد نیاز در طول دوره پرورش تنظیم شدند (جدول ۱). غلظت انرژی و پروتئین برای همه جیره‌های آزمایشی در هر مرحله یکسان بود. مصرف آب و خوراک به شیوه آزاد و شرایط محیطی برای تمام گروه‌ها یکسان بود. برای تهیه تیمارها ابتدا یک پیش مخلوط به‌میزان یک کیلوگرم تهیه و با ۱۰ کیلوگرم دان مخلوط شد. سپس مخلوط حاصل به کل مقدار جیره مورد نیاز برای هر تیمار و هر دوره پرورش افزوده شد. جهت اندازه‌گیری قابلیت هضم مواد مغذی از روش نمونه‌برداری از محتویات ایلئوم استفاده شد و از اکسیدکروم به‌عنوان مارکر غیرقابل هضم به‌میزان ۳ گرم در کیلوگرم جیره استفاده شد. طول دوره در مرحله اندازه‌گیری هضم ۶ روز بود که از سن ۳۸ روزگی آغاز شد. ۳ روز دوره عادت‌پذیری، ۲ روز مصرف خوراک حاوی اکسیدکروم و روز آخر کشتار بود. محتویات ایلئوم بلافاصله پس از کشتار از ابتدای زائده مکل تا ۲ سانتی‌متری سکوم جمع‌آوری شد و تا زمان تجزیه شیمیایی در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شد. نمونه‌های مواد هضمی در آون (۶۰ درجه سانتی‌گراد، ۷۲ ساعت) خشک، توزین و توسط آسیاب آزمایشگاهی آسیاب شد. مقادیر درصد قابلیت هضم مواد مغذی خاکستر خام نیز

پس از سوزاندن مواد آلی و به‌دست آوردن خاکستر خام در نمونه‌ها به‌دست آمد (۲۲). نمونه‌ها از محتویات موجود در ایلئوم در فاصله زائده مکل تا دو سانتی‌متر مانده به سکوم برداشته شدند و تا زمان اندازه‌گیری قابلیت هضم پروتئین خام و چربی خام (براساس ماده خشک) منجمد شدند. برای اندازه‌گیری نشانگر، در نمونه‌های خوراک و ایلئوم، از دستگاه جذب اتمی (Shimadzu, Model AA ۶۷۰) با طول موج ۳۸۵ نانومتر استفاده شد. تری اکسیدکروم (Cr_2O_3) محصول شرکت مرک (Merck) آلمان به‌عنوان نشانگر غیرقابل هضم و جذب، سه روز آخر دوره پرورش به‌میزان ۰/۳ درصد به تمامی جیره‌ها اضافه شد. از رابطه‌های ۱، ۲ و ۳ برای محاسبه قابلیت هضم ظاهری، پروتئین، چربی و ماده خشک استفاده شد (۲۲).

(رابطه ۱) درصد گوارش پذیری پروتئین = 100- ((Cr2O3 جیره/ Cr2O3 ایلئوم)×(CP ایلئوم/CP جیره)×100)

(رابطه ۲) درصد گوارش پذیری چربی = 100 - ((Cr2O3 جیره / Cr2O3 ایلئوم)×(EE ایلئوم/ EE جیره)×100)

(رابطه ۳) درصد گوارش پذیری ماده خشک = 100 - ((Cr2O3 جیره / Cr2O3 ایلئوم)×(DM ایلئوم/ DM جیره)×100)

که CP: پروتئین خام، EE: عصاره‌ی اتری، DM: ماده خشک هستند.

جدول ۱: جیره غذایی سه مرحله‌ای استارتر (۱ تا ۱۰ روزگی)، رشد (۱۱ تا ۲۴ روزگی) و پایانی (۲۵ تا ۴۲ روزگی)

اقلام خوراک	استارتر	رشد	پایانی
ذرت	۵۶/۲۰	۶۰/۴۹	۶۵/۹۵
کنجاله سویا	۳۹/۶۰	۳۳/۵۰	۲۸/۵
روغن گیاهی	۱/۸۰	۲/۰۰	۱/۹۰
متیونین ۹۹%	۰/۲۴	۰/۲۲	۰/۱۹
لایزین هیدروکلراید ۸۶%	۰/۱۵	۰/۱۱	۰/۱۲
ترئونین ۹۹٪	۰/۰۲	۰/۰۳	۰/۰۴
دی کلسیم فسفات (۱۷/۵ ٪P، ۲۴ ٪Ca)	۰/۲۲	۰/۱۹	۰/۱۷
کربنات کلسیم	۰/۹۰	۰/۸۰	۰/۷۰
نمک	۰/۲۲	۰/۲۰	۰/۲۰
جوش شیرین	۰/۱۵	۰/۲۰	۰/۲۰
مکمل ویتامینی	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵
مکمل مواد معدنی	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵
انرژی متابولیسمی (کیلوکالری در کیلو گرم)	۲۸۶۰	۲۹۲۰	۳۰۰۰
پروتئین خام (درصد)	۲۲	۲۰	۱۸
کلسیم (درصد)	۱/۰۰	۰/۹۲	۰/۸۵
فسفر (درصد)	۰/۵۰	۰/۴۶	۰/۴۲

در سن ۴۲ روزگی، از هر نمونه و از طریق سیاهرگ بال خونگیری صورت گرفت. نمونه‌ها به‌مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق نگه‌داری شد، سپس به‌مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد و سرم از خون جدا شد. نمونه‌های سرم بعد از جداسازی و انتقال به میکروتیوب در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان ارزیابی پارامترها نگه‌داری شدند. مقادیر SGPT (Serum transaminase glutamic-pyruvic) و SGOT (Serum glutamic-oxaloacetic transaminase) توسط دستگاه اتوآنالایزر اندازه‌گیری شد (۲۳، ۲۴). این عمل به کمک دستگاه Cell Cunter، شرکت Sysmex، مدل KX-21N، انجام شد. در سن ۴۲ روزگی جوجه‌های گوشتی از طریق سیاهرگ بازو خونگیری انجام شد. سپس نمونه‌های خون برای تعیین هماتوکریت (PCV) و شمارش تفریقی لوکوسیت‌ها (هتروفیل‌ها، لنفوسیت‌ها و مونوسیت‌ها) به‌روش دستی (تهیه لام از نمونه‌های خون و شمارش چشمی سلول‌های خونی زیر میکروسکوپ) مورداستفاده قرار گرفتند (۲۵، ۲۶). برای اندازه‌گیری میزان کلسترول، تری‌گلسیرید، LDL، سرم پلاسما، در روز ۴۱ دوره پرورش جوجه‌های گوشتی، از طریق ورید بال خونگیری انجام خواهد شد. سپس نمونه‌های خون به‌مدت ۴ تا ۶ ساعت در دمای اتاق برای جدا شدن سرم از لخته، نگه‌داری می‌شود و سپس سرم در داخل میکروتیوب ریخته می‌شود. سپس در آزمایشگاه برای اطمینان از عدم باقی ماندن لخته در پلاسما در دور ۳۵۰۰ به‌مدت ۱۰ دقیقه عمل سانتریفیوژ صورت خواهد گرفت. سپس کلسترول، تری‌گلیسرید، LDL تعیین خواهد شد. این عمل به‌همراه تعیین میزان HDL با کمک دستگاه Cell Cunter، شرکت Sysmex، مدل KX-21N، انجام خواهد شد. نمونه‌های کبد قبل از آزمایش اندازه‌گیری غلظت مس در دمای ۲۰- در یخچال نگه‌داری شد. غلظت مس در کبد به این صورت بود که قبل از آنالیز، نمونه‌های کبد به‌مدت یک شب در دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد خشک شدند. ۱ گرم از نمونه‌های کبد خشک شده را با ۱۰ میلی‌لیتر از HNO_3 و ۵ میلی‌لیتر از $HClO_4$ در دمای کم و در یک فلاسک ۵۰۰ میلی‌لیتر کجلدال ادغام و تا زمانی که محلول رقیق شود (به‌صورت کامل حل شوند) نگه‌داری شدند. سپس نمونه‌ها از کاغذ فیلتر واتمن شماره ۴۲ به‌دقت صاف شد. سپس مواد صاف شده برای آنالیز غلظت مس استفاده شد (۲۷). هم‌چنین در این آزمایش از دستگاه اسپکتروفوتومتری (Perkin Elmer, Optima ۷۳۰۰ DV ICP-OES) استفاده شد و پلاسما و محتوای ویال‌ها برای تعیین سطوح مس به‌کمک اسپکتروفتومتری جذب اتمی اندازه‌گیری و ثبت شدند (۲۸). برای به‌دست آوردن استخوان درشت نی در ۴۲ روزگی پس از کشتار جوجه‌ها و جداسازی ران سمت چپ، درشت

نی‌از استخوان‌ران جداشده سپس از گوشت و زائدات کاملاً پاکسازی گردید. سپس برای تعیین عناصر معدنی و آنالیزهای بعدی در پاکت‌های جداگانه‌ای در منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد فریز و نگه‌داری شد. در روز آزمایش پس از یخزدایی، کل استخوان درشت نی در کوره الکتریکی در دمای ۶۰۰ درجه سانتی‌گراد سوزانده شد تا خاکستر حاصل شود. سپس بار دیگر به خاکستر حاصل اسید نیتریک غلیظ افزوده شد و دوباره در دمای ۴۰۰ درجه سانتی‌گراد مجدداً سوزانده شد. خاکستر حاصل برای تعیین میزان مس، کلسیم، فسفر و منیزیوم استخوان مورد استفاده قرار گرفت. نمونه‌ها توسط دستگاه اسپکتروفتومتری جذب اتمی تجزیه و تحلیل شدند (۲۸). در پایان آزمایش، داده‌ها با رویه GLM نرم‌افزار SAS (۲۹) و آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح معنی‌داری ۵ درصد مقایسه شدند. مدل آماری مورد استفاده جهت تجزیه و تحلیل داده به‌صورت زیر بود:

$$X_{ij}=\mu+\delta_j+E_i$$

که در آن مقدار مشاهده شده= X_{ij}، میانگین جامعه= μ، اثر هر تیمار= δ_j و اثر خطای آزمایش= E_{ij} بود.

نتایج

نتایج مربوط به اثر تیمارهای آزمایشی بر قابلیت هضم ماده خشک، پروتئین خام، عصاره اتری و خاکستر خام جیره‌های آزمایشی در جدول ۲ ارائه شده است. نتایج به‌دست آمده نشان داد که میزان قابلیت هضم ماده خشک، پروتئین خام، عصاره اتری و خاکستر خام جیره‌های آزمایشی به‌طور معنی‌داری تحت تاثیر تیمارها و نوع و منبع مس در جیره‌ها قرار نگرفت (P>۰/۰۵). هم‌چنین نتایج مربوط به اثر تیمارهای آزمایشی بر میزان املاح و خاکستر استخوان درشت نی و میزان مس کبد در جدول ۳ ارائه شده است. نشان داده شد که میزان مس موجود در درشت نی جوجه‌های آزمایشی به‌طور معنی‌داری تحت تاثیر تیمارها قرار گرفت (P<۰/۰۰۱). به‌طوری‌که بیش‌ترین میزان مس در درشت نی در تیمار سولفات ۳۰ (۶/۴۴ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم) مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری با دیگر تیمارها غیر از تیمار سولفات ۲۰ داشت (P<۰/۰۵). تیمارهای نانو اکسیدمس دارای کم‌ترین میزان مس در درشت نی جوجه‌های گوشتی بودند. علاوه بر مس، میزان کلسیم درشت نی جوجه‌ها نیز به‌طور معنی‌داری تحت تاثیر تیمار قرار گرفت (P<۰/۰۵). بیش‌ترین میزان کلسیم در تیمار اکسید ۳۰ مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری با دیگر تیمارها داشت (P<۰/۰۵). برخلاف مس و کلسیم، میزان فسفر و منیزیم درشت نی تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت (P>۰/۰۵). میزان کل خاکستر خام استخوان درشت نی به‌طور معنی‌داری تحت تاثیر تیمارها قرار گرفت به‌طوری که کم‌ترین میزان خاکستر در تیمار سولفات مس ۳۰ مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری با دیگر تیمارها داشت (P<۰/۰۵). علاوه بر نتایج به‌دست آمده برای درشت نی میزان مس موجود در نمونه‌های کبد پرندگان آزمایشی تحت تاثیر تیمار قرار نگرفت (P>۰/۰۵). نتایج مربوط به اثر تیمارهای آزمایشی بر LDL، HDL، SGOT، SGPT و MDA جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با تیمارهای مختلف در جدول ۴ ارائه شده است. نتایج به‌دست آمده نشان داد که میزان LDL و HDL در جوجه‌ها به‌طور معنی‌داری تحت تاثیر تیمارها قرار نگرفت. هم‌چنین اثر تیمارهای آزمایشی بر میزان آنزیم‌های کبدی و میزان مالون دی آلدئید خون جوجه‌های آزمایشی نیز غیر معنی‌دار بود.

جدول ۲: اثر تیمارهای آزمایشی برقابلیت هضم ماده خشک، پروتئین خام، عصاره اتری و خاکستر خام جیره‌های آزمایشی

تیمار	قابلیت هضم (درصد)			
	ماده خشک	پروتئین خام	عصاره اتری	خاکستر خام
شاهد	۷۲/۰۱	۷۵/۶۵	۸۴/۹۳	۸۱/۸۰
نانو ۱۰	۷۲/۴۰	۷۵/۶۶	۸۵/۲۰	۸۲/۶۰
نانو ۲۰	۷۲/۱۲	۷۵/۶۴	۸۵/۶۰	۸۲/۲۵
نانو ۳۰	۷۳/۶۹	۷۸/۰۶	۸۷/۴۰	۸۴/۶۰
اکسید ۱۰	۷۲/۵۲	۷۷/۰۴	۸۵/۶۱	۸۲/۸۱
اکسید ۲۰	۷۲/۵۰	۷۶/۳۴	۸۶/۴۰	۸۴/۶۰
اکسید ۳۰	۷۴/۲۸	۷۴/۴۰	۸۵/۶۰	۸۲/۸۰
سولفات ۱۰	۷۳/۴۴	۷۸/۰۶	۸۴/۴۰	۸۳/۸۱
سولفات ۲۰	۷۴/۰۷	۷۳/۹۰	۸۵/۰۰	۸۴/۶۰
سولفات ۳۰	۷۱/۰۸	۷۵/۰۴	۸۷/۶۱	۸۴/۲۲
میانگین خطای استاندارد	۲/۰۱	۳/۵۴	۲/۲۷	۲/۲۹
سطح احتمال	۰/۲۲	۰/۱۶	۰/۴۷	۰/۱۹

نتایج مربوط به اثر تغذیه جوجه‌های گوشتی با تیمارهای مختلف، بر فراسنجه‌های گلبول‌های سفید، لمفوسیت، مونوسیت و هتروفیل جوجه‌های گوشتی، در جدول ۵ ارائه شده است. نتایج به‌دست آمده نشان داد که میزان گلبول‌های سفید خون در جوجه‌ها به‌طور معنی‌داری تحت تاثیر تیمارها قرار نگرفت. اثر تیمارهای آزمایشی بر میزان لمفوسیت‌ها در خون جوجه‌های آزمایشی معنی‌دار بود (P=۰/۰۲۴). بیش‌ترین میزان لمفوسیت مربوط به تیمار سولفات مس ۱۰ بود که تفاوت معنی‌داری با تیمار شاهد داشت (P<۰/۰۵). هم‌چنین نشان داده شد که تغذیه سطوح مختلف مس و منابع مختلف آن تاثیر معنی‌داری بر میزان مونوسیت‌های خون در جوجه‌های گوشتی داشت

(P<۰/۰۵)؛ به‌طوری‌که بیش‌ترین میزان مونوسیت در خون در تیمار سولفات ۳۰ مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری با تیمارهای نانو ۱۰ و ۲۰، اکسید ۱۰ و ۲۰ و سولفات ۱۰ داشت اما با دیگر تیمارها تفاوت معنی‌داری نداشت. هم‌چنین نشان داده شد که تغذیه تیمارهای مختلف تاثیر معنی‌داری بر میزان هتروفیل‌های خون در جوجه‌های گوشتی نداشت.

جدول ۳: اثر تیمارهای آزمایشی بر میزان املاح و خاکستر استخوان درشت نی و میزان مس کبد (قسمت در میلیون در ماده خشک) تیمارهای آزمایشی

تیمار	املاح و خاکستر درشت نی (میکروگرم در گرم ماده خشک استخوان)					مس کبد
	مس	کلسیم	فسفر	منیزیوم	خاکستر	
شاهد	۴/۹۶ cde	۳۲/۶۴ b	۱۳/۳۶	۰/۶۸	۴۲/۰۸ a	۲۳/۵۳
نانو ۱۰	۴/۲۸ f	۳۲/۷۰ b	۱۱/۹۰	۰/۷۳	۴۳/۴۲ a	۲۴/۱۰
نانو ۲۰	۴/۶۱ def	۳۲/۴ b	۱۳/۶۰	۰/۷۳	۴۳/۳۴ a	۲۳/۵۰
نانو ۳۰	۴/۷۴ def	۳۲/۳۱ b	۱۳/۲۰	۰/۶۸	۴۲/۱۶ a	۲۳/۶۰
اکسید ۱۰	۵/۰۱ cde	۳۲/۸۰ b	۱۳/۷۰	۰/۷۳	۴۴/۲۴ a	۲۳/۸۰
اکسید۲۰	۵/۰۵ cde	۳۱/۹۱ b	۱۲/۳۰	۰/۶۸	۴۲/۳۶ a	۲۶/۰۰
اکسید ۳۰	۵/۰۸ cde	۳۶/۸۰ a	۱۳/۱۱	۰/۵۶	۴۱/۲۴ a	۲۵/۰۰
سولفات ۱۰	۵/۵۱ bc	۳۳/۷۰ b	۱۳/۶۰	۰/۷۱	۴۱/۴۴ a	۲۵/۴۰
سولفات ۲۰	۵/۹۳ ab	۳۳/۷۰ b	۱۳/۸۰	۰/۶۶	۴۳/۷۶ a	۲۵/۲۰
سولفات ۳۰	۶/۴۴ a	۳۳/۹۰ b	۱۲/۴۰	۰/۶۱	۳۲/۵۴ b	۲۶/۶۰
میانگین خطای استاندارد	۰/۴۳	۱/۸۹	۱/۷۳	۰/۱۳	۳/۲۶	۲/۳۷
سطح احتمال	<۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۳۴	۰/۳۱	<۰/۰۱	۰/۲۰

میانگین ها در یک ستون با اندیس لاتین(a,..b) غیرمشترک دارای تفاوت معنی‌دار هستند(P<۰/۰۵).

جدول ۴: اثر تیمارهای آزمایشی بر LDL، HDL (میلی‌گرم در دسی‌لیتر) SGOT، SGPT (واحد بین‌المللی در لیتر) و MDA (نانومول در هر میلی‌لیتر) جوجه‌های گوشتی

تیمار	فراسنجه های خونی*				
	HDL	LDL	SGOT	SGPT	MDA
شاهد	۲۳۵/۲۱	۱۵۵/۷۳	۱۵۵/۷۳	۱۳۸/۲۰	۶/۴۵
نانو ۱۰	۲۳۷/۰۰	۱۳۱/۸۰	۱۶۲/۶۰	۱۳۵/۲۲	۶/۰۷
نانو ۲۰	۲۳۱/۲۰	۱۶۱/۶۰	۱۶۰/۶۱	۱۳۳/۶۰	۶/۶۵
نانو ۳۰	۲۲۹/۲۱	۱۳۴/۲۰	۱۶۰/۴۰	۱۳۵/۲۰	۵/۲۷
اکسید ۱۰	۲۶۱/۶۰	۱۳۶/۸۱	۱۶۹/۰۲	۱۳۵/۲۰	۵/۹۲
اکسید۲۰	۲۳۴/۴۱	۱۵۶/۶۰	۱۴۱/۰۰	۱۳۴/۴۲	۶/۰۱
اکسید ۳۰	۲۴۳/۲۰	۱۲۹/۸۰	۱۵۷/۴۰	۱۴۰/۸۰	۶/۱۳
سولفات ۱۰	۲۶۶/۸۱	۱۴۹/۶۱	۱۶۱/۴۰	۱۱۰/۸۱	۶/۰۱
سولفات ۲۰	۲۳۹/۶۰	۱۴۳/۰۰	۱۴۹/۸۰	۱۴۶/۸۰	۵/۷۴
سولفات ۳۰	۲۴۰/۰۶	۱۴۹/۴۱	۱۳۰/۰۰	۱۳۷/۰۰	۵/۳۲
میانگین خطای استاندارد	۳۰/۳۳	۳۰/۴۲	۱۹/۷۸	۲۱/۹۰	۱/۳۵
سطح احتمال	۰/۵۶	۰/۵۷	۰/۱۷	۰/۶۵	۰/۷۷

*HDL= High Density Lipoprotein, LDL= Low Density Lipoprotein, SGOT= Serum Glutamic-Oxaloacetic Transaminase, SGPT= Serum glutamic-pyruvic Transaminase, MDA= Malondialdehyde.

جدول ۵: اثر تیمارهای آزمایشی بر فراسنجه‌های گلبول‌های سفید، لمفوسیت، مونوسیت و هتروفیل (درصد)

تیمار	فراسنجه‌های خونی*			
	WBC	LYM (درصد)	MON (درصد)	HETRO (درصد)
شاهد	۱۴۶۷۶	۶۶/۳۱ abcd	۱۴/۵۲ ab	۲۶/۹۶
نانو ۱۰	۱۵۵۷۵	۶۷/۹۶ abcd	۷/۳۶ e	۲۴/۹۳
نانو ۲۰	۱۴۰۹۹	۶۲/۳۵ abcd	۹/۳۰ cde	۲۷/۹۱
نانو ۳۰	۱۵۲۲۲	۵۸/۶۹ abcd	۱۱/۵۰ abcde	۲۹/۶۷
اکسید ۱۰	۱۵۵۸۱	۶۹/۴۶ ab	۷/۷۰ de	۲۳/۸۸
اکسید ۲۰	۱۴۰۹۹	۶۵/۸۱ abcd	۹/۴۴ cde	۳۳/۶۰
اکسید ۳۰	۱۴۴۷۴	۵۵/۲۵ d	۱۲/۰۷ abcde	۲۵/۶۶
سولفات ۱۰	۱۵۳۶۲	۶۹/۵۰ ab	۹/۹۷ bcde	۲۴/۶۹
سولفات ۲۰	۱۵۳۴۶	۵۶/۳۶ cd	۱۲/۹۲ abcd	۲۷/۸۷
سولفات ۳۰	۱۴۵۵۲	۶۸/۱۹ abc	۱۶/۳۵ a	۳۳/۶۰
میانگین خطای استاندارد	۱۷۶۷	۸/۷۷	۳/۶۶	۵/۹۱
سطح احتمال	۰/۷۹	۰/۰۲	۰/۰۰۲	۰/۱۵

*WBC= White blood Cell, Lym= Lymphocyte, Mon= Monocyte, Hetro= Hetrophyle . (P<۰/۰۵) میانگین‌ها در یک ستون با اندیس لاتین (a,..b) غیرمشترک دارای تفاوت معنی‌دار هستند

بحث

همان‌طورکه مشاهده گردید تاثیر منابع و سطوح مختلف مس بر قابلیت هضم ایلئومی مواد مغذی معنی‌دار نبود. نشان داده شده است که با استفاده از منابع معدنی مس به‌میزان ۱۵۰ تا ۴۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره مس کبد تحت تاثیر نوع مس یعنی اکسید، کربنات و سولفات مس قرار نگرفت؛ اما میزان مس استخوان در جوجه‌هایی که کم‌ترین سطح مس را دریافت کرده بودند کاهش یافت (۱). هم‌چنین Bao و همکاران نیز نشان دادند که میزان ۴ میلی‌گرم از مس در جیره برای رشد استخوان و عملکرد پرنده کافی می‌باشد و استفاده بیش از حد از مواد معدنی باعث اتلاف آن‌ها می‌گردد (۳۰). Adegbenjo و همکاران نیز نشان دادند که میزان مس در استخوان درشت نی تحت تاثیر جیره‌هایی قرار گرفت که با سولفات مس و پروتئینات مس در سه سطح صفر، ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم در کیلوگرم جیره مکمل شده بودند (۳۱) که در تایید مطالعه حاضر می‌باشد. علاوه بر مس، میزان کلسیم درشت نی جوجه‌ها نیز به‌طور معنی‌داری تحت تاثیر تیمار قرار گرفت. برخلاف مس و کلسیم، میزان فسفر و منیزیم درشت‌نی تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت. میزان کل خاکستر خام استخوان درشت نی به‌طور معنی‌داری تحت تاثیر تیمارها قرار گرفت. علاوه بر نتایج به دست آمده برای درشت نی میزان مس موجود در نمونه‌های کبد پرندگان آزمایشی تحت تاثیر تیمار قرار نگرفت. در تحقیقی نشان داد شد که استفاده از سولفات مس و کلرید مس در سطوح صفر، ۱۵۰، ۳۰۰ و ۴۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره میزان مس کبد تحت تاثیر نوع و غلظت مس در جیره قرار گرفت که با نتایج تحقیق حاضر در تضاد بود (۳۲). نکته قابل توجه این است که کلسیم جیره حساسیت جوجه‌ها را نسبت به مس به‌طور معکوس تحت تاثیر قرار می‌دهد (۳۳). جوجه‌های گوشتی در شرایط کمبود در رژیم غذایی یا کلسیم کم حساسیت بیش‌تری نسبت به سمی بودن مس دارند که نرخ رشد کاهش یافته و غلظت مس کبد افزایش می‌یابد. تاثیر کلسیم بر مسمومیت مس از طریق جذب روده‌ای است و نه تاثیر آن بر دفع مس. جوجه‌های گوشتی که با ژلاتین کازئین تغذیه می‌شوند نسبت به جوجه‌هایی که با سویا، ذرت تغذیه می‌شوند به سمیت مس حساس‌ترند. اضافه کردن اسیدفیتیک به رژیم پایه ژلاتین کازئین سبب افزایش سمیت مس و اثرات آن بر میزان رشد و محتوای کبد مس می‌شود (۳۴). وجود ۴۸۰ میلی‌گرم در کیلوگرم مس در رژیم غذایی افزایش کم اما قابل توجه کلسیم پلاسما را داشته است (۳۴). در یک پژوهش دیگر بیان‌شده است که سطوح مختلف نانو ذرات اکسید مس تأثیر معنی‌داری بر کلسیم سرم خون داشته است (۳۵) که مشابه با تحقیق حاضر می‌باشد که نشان داده شد سطح ۳۰ اکسید مس سبب افزایش کلسیم خون شد. در تائید نتایج حاضر، نشان داده شد که اثر نانوذرات اکسید مس بر ترکیبات سرم خون و آنزیم‌های کبدی SGOT و SGPT اثر معنی داری نداشت (۳۵، ۳۶). در مطالعه Kumar و همکاران با بررسی افزودن مس به جیره جوجه‌های گوشتی میزان کل کلسترول، آلکالین فسفاتاز، گلوکز، پروتئین تام و میزان مالون دی آلدئید پلاسما به‌طور معنی‌داری

نسبت به شاهد کاهش یافت (۳۷) که در تناقض با یافته‌های این تحقیق است. البته شرایط تحقیق Kumar و همکاران به این صورت بود که پرندگان در تحقیق آن‌ها در ناحیه کویری و سرد در هند پرورش یافته بودند (۳۷). گزارش‌شده است که افزایش قابل‌توجهی در میانگین روزانه و محتوای IgA، IgG و IgM براثر استفاده از مکمل جوجه‌های گوشتی تکمیل‌شده با ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ ppm مس اضافه‌شده به‌صورت نانو ذرات‌مس کیتوزان، مشاهده‌شده است. این مکمل موجب افزایش کل پروتئین و آلبومین سرم شده است (۹). Hafez و همکاران نشان دادند که جوجه‌های تغذیه شده با نانو ذرات اکسیدمس افزایش معنی‌داری در سطح IgY، کل لمفوسیت‌ها و ماکروفاژها داشتند (۲۰). هم‌چنین در مطالعه دیگری در جوجه‌های گوشتی، جیره حاوی ۵۰ یا ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم مکمل نانو مس، عملکرد رشد، تقویت سیستم ایمنی و افزایش سنتز پروتئین، بهبود یافت (۳۸). در یک پژوهش دیگر بیان‌شده است که با افزایش سطح نانو ذرات اکسیدمس در جیره در سن ۲۱ روزگی، میزان لنفوسیت خون افزایش و هتروفیل کاهش معنی‌داری یافت، اما سایر سلول‌های خونی تفاوتی را در آزمایش نشان نداده‌اند. هم‌چنین نانو ذرات اکسیدمس اثری در ترکیب ران، میزان ایمنوگلوبین‌های سرم خون و درصد تلفات نداشته‌اند (۳۵). همان‌طورکه مشاهده شد در تحقیق حاضر میزان لمفوسیت‌ها و مونسیت‌ها تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت. مشابه با تحقیق حاضر Kim و همکاران نشان دادند که میزان لمفو سیت‌ها، مونوسیت‌ها و هتروفیل‌ها با کاربرد منابع مس در جیره تمایل به معنی‌دار شدن دارند (۲۷). هم‌چنین میزان IgG نیز به‌طور معنی‌داری تحت‌تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت که با نتایج تحقیق حاضر در تضاد بود.

تقدیر و تشکر

نویسندگان بر خود لازم می‌دانند از کلیه عزیزانی که در این تحقیق ما را یاری‌نمودند کمال تشکر و قدردانی را داشته و از خداوند منان برای همه آن‌ها توفیق روز افزون را خواستاریم. هم‌چنین از زحمات دکتر محمدحسین پالیزدار و حمایت‌های ایشان برای انجام آزمایش فارمی و تصحیحات مقاله تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

1. **Ledoux, D.R., Henry, P.R., Ammerman, C.B., Rao, P.V.R. and Miles, R.D., 1991.** Estimation of the relative bioavailability of inorganic copper sources for chicks using tissue uptake of copper. J. Anim. Sci. 69: 215-222.

2. **Bakalli, R.L., Pesti, G.M., Ragland, W.L. and Konjufca, V., 1995.** Dietary copper in excess of nutritional requirement reduces plasma and breast muscle cholesterol of chickens. Poultry Science. 70(1): 177-179.

3. **Cholewińska, E., Juśkiewicz, J. and Ognik, K., 2018.** Comparison of the effect of dietary copper nanoparticles and one copper (II) salt on the metabolic and immune status in a rat model. Journal of Trace Elements in Medicine and Biology. 48: 111-117.

4. **Baker, D.H., Odle, J., Funk, M.A. and Wieland, T.M., 1991.** Research Note: Bioavailability of Copper in Cupric Oxide, Cuprous Oxide, and in a Copper-Lysine Complex. Poultry Science. 70(1): 177-179.

5. **Dozier, W.A., Davis, A.J., Freeman, M.E. and Ward, T.L., 2003.** Early growth and environmental implications of dietary zinc and copper concentrations and sources of broiler chicks. British Poultry Science. 44(5): 726-731.

6. **Christodoulopoulos, G. and Roubies, N., 2007.** Diagnosis and treatment of copper poisoning caused by accidental feeding on poultry litter in a sheep flock. Australian Veterinary Journal. 85(11): 451-453.

7. **Berwanger, E., Vieira, S.L., Angel, C.R., Kindlein, L., Mayer, A.N., Ebbing, M.A. and Lopes, M., 2018.** Copper requirements of broiler breeder hens. Poultry Science. 97(8): 2785-2797.

8. **Raje, K., Ojha, S., Mirshra, A., Munde, V.K., Rawat, C. and Chaudhary, M., 2018.** Impact of supplementation of mineral nano particles on growth performance and health status of animals: A review. Journal of Entomology and zoology studies. 6(3): 1690-1694.

9. **Uniyal, S., Dutta, N., Raza, M., Jaiswal, S.K., Sahoo, J.K. and Ashwin, K., 2017.** Application of nano minerals in the field of animal nutrition: A Review. Bull. Env. Pharmacol. Life Sci. 6(4): 4-8.

10. **Rezaei, M., Hajati, H., Monfardi, A., 2014.** The role of salt and mineral elements in the nutrition of livestock, poultry and other animals. Sari, Avai Masih. (In Persian)

11. **Karimi, A., Sami, A., Pourreza, J., 2000.** Effect of Copper and Vitamin C excess of requirements on broiler performance. Iranian Journal of Agricultural Sciences. 31(1): 19-29. (In Persian)

12. **Sabet Sarvestani, Sh., Rezvani, M.R., Zamiri, M.J., Shekarforoush, Sh., Atashi, H. and Mosleh, N., 2016.** The effect of nanocopper and mannan oligosaccharide supplementation on nutrient digestibility and performance in broiler chickens. Journal of Veterinary Research. 71(2): 153-161. (In Persian)

13. **Azimi Yualari, S., Farhoomand, P. and Peyvastegan, S., 2015.** The effects of treatment of canola meal with copper and supplementation of L-Arginine on body weight gain and susceptibility to ascites in broiler chickens which fed by canola meal based diet. Research letter in Poultry Science. 1(1): 58-68. (In Persian)

14. **Sabet Sarvestani, Sh., Rezvani, M.R., Zamiri, M.J., Shekarforoush, Sh., Atashi, H. and Mosleh, N., 2015.** The Effect of Nano Copper and Mannan Oligosaccharide Supplementation on Intestinal Microflora and Weight of Internal Body Organs in Broiler Chicks. Journal of Veterinary Microbiology. 11(1): 69-77. (In Persian)

15. **Heydari Miandoab, S., 2015.** The effect of intra-egg injection of copper nanoparticles on hatching, production and immune system parameters of broiler chickens, Master's thesis, Mohaghegh Ardabili University, Ardabil. (In Persian)

16. **Golian, A., Moini, M. and Mazhari, M., 2013.** Poultry feeding, Tehran, Kausar Agricultural Research and Development Company. (In Persian)

17. **Scott, A., Vadalasetty, K.P., Chwalibog, A. and Sawosz, E., 2018.** Copper nanoparticles as alternative feed additives in poultry diet: a review. Nanotechnology Reviews. 7(1): 69-93.

18. **Gopi, M., Pearlin, B., Dhinesh Kumar, R., Shanmathy, M. and Drabakar, G., 2017.** Review Article role of nanoparticles in animal and poultry nutrition: modes of action and applications in formulating feed additives and food processing. International Journal of Pharmacology. 13(7): 724-731.

19. **SimChi, A., 2016.** Introduction to nanoparticles (properties, production methods and application). Tehran Scientific Publishing Institute of Sharif University of Technology. (In Persian)

20. **Hafez, A., Nassef, E., Fahmy, M., Elsabagh, M., Bakr, A. and Hegazi, E., 2020**. Impact of dietary nano-zinc oxide on immune response and antioxidant defense of broiler chickens. Environ Sci Pollut Res. 27: 19108-19114. https://doi.org/10.1007/s11356-019-04344-6.

21. **National Research Council (NRC). 1994.** Nutrient Requirements of Poultry, 9th revised edn. National Academy Press, Washington, DC.

22. **Hooshmandi, A.M., Bojarpour, M., Yaghobfar, A., Salari, S. and Rokni, H., 2017.** Effect of diet physical form, barley variety and enzyme supplementation on growth performance, carcass characteristics and immune response of broiler chickens. Animal science Journal. 19(1): 159-174. (In Persian)

23. **Beheshti Moghadam, S., Kermanshahi, H., Vahad, R. and Nasiri Moghadam, H., 2014.** The protective effects of marigold (*Calendula officinalis*) extract in liver damage by CCl4 in broiler chicken. Veterinary Journal (Sazandegi & Pajouhesh) 109: 69-60. (In Persian)

24. **Shabani, R., Fakhraei, J., Mansoori Yarahmadi, H. and Seidavi, A., 2020.** The effects of various sources of selenium supplements on performance, carcass characteristics, the population of ileum bacteria, blood parameters, liver enzymes, hormonal activities, and antioxidant activities of blood plasma in broiler chickens. Journal of Animal Environment. 12(3): 85-97. (In Persian)

25. **Mokhtari, A., Akbari, M. and Asadi Khushi, A., 2015.** The effect of adding garlic powder and fresh garlic to the diet on the performance and immune response of broiler chickens. Research on Animal Production. 7(13): 24-31. (In Persian)

26. **Seif Devati, J., Seifzadeh, S., Ramezani, M., Bakshaish, S., Abdi Benmar, H. and Seyed Sharifi, R., 2018.** The effects of intraocular injection of propolis extract on the performance of chicks, counting Blood cells and carcass characteristics of broiler chickens. Journal of Animal Environment. 11(2): 133-138. (In Persian)

27. **Kim, J.S., Adamcakova-Dodd, A., O'Shaughnessy, P.T., Grassian, V.H. and Thorne, PS., 2011.** Effects of copper nanoparticle exposure on host defense in a murine pulmonary infection model. Particle and Fibre Toxicology. 8(1): 29.

28. **Koh, T.S., Peng, R.K. and Klasing, K.C., 1996.** Dietary Copper Level Affects Copper Metabolism during Lipopolysaccharide-lnduced Immunological Stress in Chicks. Poultry Science. 75(7): 867-872.

29. **SAS. 2004.** Statistical Analysis System, SAS Institute, Inc. Cary., N. C. USA.

30. **Bao, Y.M. and Choct, M., 2009.** Trace mineral nutrition for broiler chickens and prospects of application of organically complexed trace minerals: a review. Animal Production Science. 49(4): 269.

31. **Adegbenjo, A.A., Idowu, O.M.O., Oso, A.O., Adeyemi, O.K., Sobayo, R.A., Akinloye, O.A., Jegede, V., Osho, S.O. and Williams, G.A., 2014.** Effects of dietary supplementation with copper sulphate and copper proteinate on plasma trace mineral, copper residues in meat tissues, organs, excreta and tibia bone of cockerels. National Agricultural and Food center. 47(3): 164-171.

32. **Miles, R.D., O'Keefe, S.F., Henry, P.R., Ammerman, C.B. and Luo, X.G., 1998.** The effect of dietary supplementation with copper sulfate or tribasic copper chloride on broiler performance, relative copper bioavailability, and dietary prooxidant activity. Poult. Sci. 77: 416-425.

33. **Saeidi Kalvari, M., 2018.** The effect of different levels of organic and mineral sources of copper on performance, immune responses and blood components of broiler chickens, Master's thesis, Isfahan University of Technology, Faculty of Agriculture, Isfahan. (In Persian)

34. **Leach, R.M., Rosenblum, C.I., Amman, M.J. and Burdette, J., 1990.** Broiler Chicks Fed Low-Calcium Diets: to Increased Sensitivity to Copper Toxicity. Poultry Science. Vol. 69, No. 11, pp: 1905-1910.

35. **Ghobadi, Sh., 2014.** The effect of copper oxide nanoparticles on the qualitative parameters of the carcass, immune system organs and the titer of immunoglobulins in broiler chickens. master's thesis. Islamic Azad University, Sanandaj branch, Sanandaj.

36. **Fathi, M., Haydari, M. and Tanha T., 2016.** Effects of zinc oxide nanoparticles on antioxidant status, serum enzymes activities, biochemical parameters and performance in broiler chickens. J Livest Sci Technol. 4: 7-13.

37. **Kumar, P., Biswas, A., Bharti, V.K. and Srivastava, R.B., 2013.** Effects of dietary copper supplementation on performance and blood biochemical parameters in broiler chickens at cold desert region in India. J. Vet. Sci. Photon. 114: 166-172.

38. **Amira, M.R., Mervat, N.G., Fadila, M.E., Safaa, A.B., Morsy, W.A., Younan, G.E. and Eisa, W.H., 2015.** Nano-Copper as a new growth promoter in the diet of growing New Zealand white rabbits. Egyptian Journal of Rabbit Science. 25(1): 39-57.