

**Original Research Paper****The effect of copper nano-oxide feeding compared to copper sulfate and oxide on productive performance, intestinal morphology, red blood cell indices and serum antioxidant status in broiler chickens**

Malek Mansour Khoshkhoy Daylami, Hamidreza Mohammadian Tabrizi *, Mahboobeh Rostami Ankas

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

Key Words

Copper oxide
Copper sulfate
Broiler
Nano copper
Antioxidant stats

Abstract

Introduction: This experiment was done to compare nano copper oxide with copper sulfate and copper oxide on the productive performance, intestinal morphology, red blood cell indices and serum antioxidant status in broiler chickens.

Materials & Methods: This study was conducted on 300 chickens in a completely randomized design with four treatments, five replications and 15 chicken for each replication. Treatments include 1- control without copper supplementation; 2- nano copper oxide, 3- copper oxide and 4- copper sulfate (containing 30 mg/kg respectively). At the end of the experiment, the data were compared with the GLM procedure of SAS software (SAS, 2004) and Duncan's multiple range test used to compare means. Growth performance of chickens, intestinal morphology and serum antioxidant status were measured;

Results: The results showed that the growth performance of the bird was not affected by the experimental treatments. The productive performance and the viability were also not affected by the experimental treatments. The length of the intestinal villi of experimental chickens was significantly affected by the treatment; so that the use of nano-copper caused the lowest length of intestinal villi and had a significant difference with the control and copper sulfate treatment ($P < 0.05$). Mean corpuscular hemoglobin (MCH) was significantly lower in copper sulfate treatment than other treatments ($P < 0.05$). The effect of experimental treatments on serum antioxidant status showed that serum catalase level was not affected, but serum malondialdehyde level was significantly lower in nano copper treatment than other treatments ($P < 0.001$).

Conclusion: The results of the present research showed that there is no noticeable difference in terms of bird performance between nano copper treatments and other sources, which nano sources have a much higher price than the common sources of copper (sulfate and oxide), and to reduce costs, economic sources are preferred.

* Corresponding Author's email: hr_mohammadian@yahoo.com

Received: 2 July 2022; Reviewed: 5 August 2022; Revised: 8 October 2022; Accepted: 8 November 2022

(DOI): [10.22034/AEJ.2022.361481.2879](https://doi.org/10.22034/AEJ.2022.361481.2879)

مقاله پژوهشی

اثر تغذیه نانواکسیدمس در مقایسه با سولفات و اکسیدمس بر شاخص تولید، ریخت‌شناسی روده و وضعیت آنتی‌اکسیدانی سرم خون جوجه‌های گوشتی

ملک منصور خشخوی دیلمی، حمیدرضا محمدیان تبریزی*، محبوبه رستمی/انکاس

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

چکیده

کلمات کلیدی

مقدمه: این آزمایشی به منظور مقایسه نانواکسیدمس با سولفات و اکسیدمس بر شاخص تولید، ریخت‌شناسی روده، فراسنجه‌های گلبول‌های قرمز و وضعیت آنتی‌اکسیدانی سرم خون بر روی جوجه گوشتی انجام شد.

مواد و روش‌ها: این تحقیق، بر روی ۳۰۰ قطعه جوجه گوشتی در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تیمار و پنج تکرار در هر تیمار و ۱۵ قطعه جوجه به ازاء هر تکرار انجام شد. تیمارها شامل: ۱- شاهد بدون مکمل مس؛ ۲- نانو اکسیدمس، ۳- اکسیدمس و ۴- سولفات مس (به ترتیب شامل ۳۰ میلی گرم در کیلوگرم) بود. در پایان آزمایش، داده‌ها با رویه مدل خطی عمومی نرم افزار (SAS, ۲۰۰۴) و آزمون چند دامنه‌ای دانکن مقایسه میانگین شدند. عملکرد رشد جوجه‌ها، ریخت‌شناسی روده و وضعیت آنتی‌اکسیدانی سرم مورد اندازه‌گیری قرار گرفتند.

نتایج: نتایج نشان داد که عملکرد رشد پرند تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت. فراسنجه‌های شاخص تولید و ماندگاری نیز با تیمارهای آزمایشی تحت تاثیر قرار نگرفت. طول پرز روده جوجه‌های آزمایشی به طور معنی داری تحت تاثیر تیمار قرار گرفت؛ به طوری که استفاده از نانومس کم ترین طول پرز روده را ایجاد کرد و تفاوت معنی داری با تیمار شاهد و سولفات مس داشت ($P < 0/05$). میانگین هموگلوبین کورپوسکولار (MCH) به طور معنی داری در تیمار سولفات مس کم تر از دیگر تیمارها بود ($P < 0/05$). اثر تیمارهای آزمایشی بر وضعیت آنتی‌اکسیدانی سرم نشان داد که میزان کاتالاز سرم تحت تاثیر قرار نگرفت اما میزان مالون دی آلدئید سرم به طور معنی داری در تیمار نانومس کم تر از سایر تیمارها بود ($P < 0/001$).

بحث و نتیجه گیری: نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تفاوت محسوسی از نظر عملکرد پرند بین تیمارهای نانومس که دارای قیمت بسیار زیادتری از منابع معمول مس (سولفات و اکسید) هستند، وجود ندارد و برای کاهش هزینه‌ها می‌توان از منابع ارزان قیمت تر در جیره بهره برد.

مقدمه

عبور از روده کوچک و توزیع در خون، مغز، قلب، کلیه، طحال، کبد و روده دارند (۱۵). به هر حال دانش کمی در خصوص سرنوشت ذرات نانو در دستگاه گوارش وجود دارد، اما این امکان وجود دارد که به علت حل شدن، لخته شدن، جذب، پیوند با سایر مواد خوراکی و واکنش با ترشحات درون زادی دستگاه گوارش (اسید، آنزیم) به فرم آزاد در لومن نمانند و ویژگی نانو خود را از دست بدهند (۹). در این راستا، آزمایشی را به جهت بررسی تغذیه نانو ذرات اکسید مس در مقایسه با اکسیدمس و سولفات مس در جوجه های گوشتی سویه راس ۳۰۸ طراحی کرده و عواملی نظیر عملکرد رشد، ریخت شناسی روده، فراسنجه های گلبول های قرمز و وضعیت آنتی اکسیدانی سرم مورد آزمون قرار گرفت. هدف از پژوهش حاضر، استفاده از نانو ذرات اکسید مس در مقایسه با اکسید و سولفات مس در جیره غذایی جوجه های گوشتی سویه راس ۳۰۸ است تا با تغییر اندازه در حد نانو مس، اثر حاصل از آن بر صفات عملکردی، مورفولوژی روده و وضعیت آنتی اکسیدانی سرم خون مورد مطالعه قرار بگیرد.

مواد و روش ها

این آزمایش بر روی ۳۰۰ قطعه جوجه گوشتی یک روزه سویه راس ۳۰۸ تا سن ۴۲ روزگی در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تیمار ۵ تکراری و ۱۵ جوجه به ازاء هر تکرار انجام شد. شرایط محیطی برای تمام گروه ها یکسان بود. تیمارهای آزمایشی شامل ۱- تیمار شاهد به میزان صفر میلی گرم در کیلوگرم مکمل مس؛ ۲- تیمار نانو اکسیدمس به میزان ۳۰ میلی گرم در کیلوگرم؛ ۳- تیمار اکسید مس به میزان ۳۰ میلی گرم در کیلوگرم؛ ۴- تیمار سولفات مس به میزان ۳۰ میلی گرم در کیلوگرم بودند. با استفاده از جداول احتیاجات غذایی راس ۳۰۸ و نرم افزار UFFDA جیره های مورد نیاز در طول دوره پرورش (۱۶) تنظیم شدند (جدول ۱). غلظت انرژی و پروتئین برای همه جیره های آزمایشی در هر مرحله یکسان بود. مصرف آب و خوراک به شیوه آزاد و شرایط محیطی برای تمام گروه ها یکسان بود. برای تهیه تیمارها ابتدا یک پیش مخلوط به میزان 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 اندازه گیری عملکرد جوجه های گوشتی افزایش وزن، خوراک مصرفی و ضریب تبدیل غذایی به صورت هفتگی و در پایان دوره شاخص تولید و ماندگاری نیز محاسبه شد. در دوره پایانی آزمایش یک پرنده از هر پن که به میانگین واحد آزمایشی نزدیک باشد انتخاب و پس از کشتار برای بررسی مورفولوژی روده یک نمونه از ژنوم پرنده کشتار شده (یک پرنده از هر تکرار) جدا و پس از غوطه ورسازی در فرمالین

ترکیبات نانو به صورت ترکیباتی با ابعاد کم تر از ۱۰۰ نانومتر تعریف می شوند. نانوتکنولوژی به عنوان یکی از پیشرفته ترین علوم در عصر حاضر، در تمام زوایای حیات جانوری، گیاهی، زیست محیطی و صنعتی نفوذ نموده و افق جدیدی را در علوم طبیعی باز کرده است. اندازه کوچک، نسبت سطح به جرم زیاد و واکنش پذیری زیاد از ویژگی های مهم ذرات نانو است که کاربردهای جدید برای آن ها ایجاد می کند. در مقایسه با ذرات بزرگ تر، در ذرات نانوکاهش اندازه ذره، سبب می شود سطح واکنش نانو ذرات به ازای واحد حجم افزایش یابد و به مقدار زیادی تاثیر سدها را برای نفوذ ذرات به بدن و حرکت در بدن کاهش می دهد (۱). بنابراین، می توان جذب مس را با استفاده از فناوری نانو افزایش داد. شورای پژوهش ملی آمریکا در سال ۱۹۹۴، مقدار لازم مس در جیره غذایی جوجه های گوشتی را ۸ میلی گرم در کیلوگرم عنوان کرد (۲)، چراکه کمبود مس اختلالات متابولیکی را ایجاد و ایمنی را کاهش می دهد (۳) و در مقابل، مصرف سطوح زیادتر از حد آن نیز سبب مسمومیت می شود (۴). هم چنین بیان شده است که دفع زیاد مس نیز می تواند اثرات مخرب زیست محیطی برای جانوران داشته باشد و موجب آلودگی محیط زیست شود (۵)، ۶؛ بنابراین، دانشمندان به دنبال جایگزین هایی مناسب با قابلیت زیستی بیش تری (مانند منابع نانومس) هستند (۶، ۷). نانومس دارای قابلیت زیستی بیش تر، قابلیت جذب بیش تر، بازده کاتالیزوری بیش تر، اثرات ضد میکروبی، صرفه جویی در انرژی، افزایش عمر مفید مواد غذایی و افزایش واکنش پذیری مواد، می باشد (۳، ۶، ۸). با این حال، سولفات مس کماکان در جیره طیور به طور گسترده مورد استفاده قرار می گیرد، زیرا قیمت کم تر و دسترسی آسان تری دارد (۹) و نسبت به اکسیدمس، قابلیت زیستی بیش تری دارد، اما باید توجه کرد که سولفات مس از املاح کم تری نسبت به اکسید مس برخوردار است، علاوه بر این از آن جاکه اهمیت مس برای توسعه آنتی بادی ها، گلبول های سفید، تولید آنزیم های آنتی اکسیدان (۱۰)، بهبود وضعیت آنتی اکسیدانی (۳، ۱۱، ۱۲، ۱۳) و اهمیت نانو ذرات معدنی نیز در کاهش آنتاگونیست معدنی روده و بهبود کارایی هضم و ایمنی تایید شده است (۱۴) و هم چنین به دلیل تغییر عملکرد مواد در اندازه نانو، به نظر می رسد بتوان عملکرد متفاوتی را در استفاده از نانو ذرات اکسید مس در مقایسه با اکسید مس و سولفات مس ایجاد کرد. بنابراین رویکرد این پژوهش، استفاده از نانو ذرات اکسیدمس در مقایسه با اکسید مس و سولفات مس در جیره غذایی جوجه های گوشتی سویه راس ۳۰۸ است تا با تغییر اندازه اکسید مس، اثر حاصل از آن مورد مطالعه قرار بگیرد. نانوذرات مس توانایی

روش فلوسایتومتری استفاده شد (۲۰). در پایان دوره برای ارزیابی وضعیت آنتی اکسیدانی پرده، یک پرده از هر تکرار انتخاب و پس از خونگیری و جداسازی سرم، فعالیت برخی آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در سرم با کیت‌های مخصوص و به روش فتومتریک طبق دستورالعمل شرکت سازنده کیت اندازه‌گیری شد (۲۰، ۲۱). در پایان آزمایش، داده‌ها با رویه GLM نرم‌افزار SAS (۲۰۰۴) و آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح معنی‌داری ۵ درصد مقایسه شدند. مدل آماری مورد استفاده جهت تجزیه و تحلیل داده به صورت 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.

۱۰ درصد، ثابت شدند. پس از فرایندهای آبیگری، قالب گیری با پارافین، برش دهی و رنگ آمیزی (۱۷) مورفولوژی روده شامل (طول پرز، عرض پرز، عمق کریپت و عمق لایه مخاطی) به وسیله میکروسکوپ نوری، با لنز ۱۰ و به کمک نرم‌افزار Motic Image Plus 2، اندازه گیری شدند (۱۸)، از داده‌های به دست آمده نسبت طول به عرض پرز، نسبت طول پرز به عمق کریپت و مساحت پرز محاسبه شدند (۱۹). در سن ۴۲ روزگی، از هر نمونه و از طریق سیاهرگ بال خون‌گیری در ویال‌های حاوی ماده ضد انعقاد صورت گرفت، سپس به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ و سرم از خون جدا شد. نمونه‌های سرم بعد از جداسازی و انتقال به میکروتیوب در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان ارزیابی آنزیم‌های آنتی اکسیدانی نگه‌داری شدند. برای ارزیابی شمارش گلبول‌های قرمز و پلاکت‌ها از

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

اقلام خوراک	آغازین	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 درصد)	۰/۲۴	۰/۲۲	۰/۱۹
لازین هیدروکلراید (۸۶ درصد)	۰/۱۵	۰/۱۱	۰/۱۲
ترئونین (۹۹ درصد)	۰/۰۲	۰/۰۳	۰/۰۴
دی کلسیم فسفات (۱۷/۵ درصد فسفر، ۲۴ درصد کلسیم)	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 کیلوگرم)	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

* پیش مخلوط ویتامین- مواد معدنی ارائه شده به ازای هر کیلوگرم جیره شامل ویتامین A ۱۱۰۰۰ واحد بین المللی، ویتامین D3 ۵۰۰۰ واحد بین المللی، ویتامین E ۷۵ واحد بین المللی، ویتامین K ۳ میلی گرم، تیامین ۳ میلی گرم، ریبوفلاوین ۳ میلی گرم، پیریدوکسین ۴ میلی گرم، نیاسین ۶۰ میلی گرم، پانتوتنیک اسید ۱۵ میلی گرم، بیوتین ۰/۱۵ میلی گرم، سیانوکوبالامین ۰/۱۶ میلی گرم، فولیک اسید ۲ میلی گرم، کولین ۷۰۰ میلی گرم، روی ۱۶، ید ۱/۲۵، آهن ۴۰، منگنز ۱۲۰، سلنیوم ۰/۳ و آنتی اکسیدان ۱۰ میلی گرم و میزان مس در مکمل مصرفی صفر بود.

نتایج

جوجه‌های آزمایشی در جدول ۲ ارائه شده است. نتایج به دست آمده نشان داد که مصرف غذا تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت ($P > 0.05$). علاوه بر این وزن بدن و افزایش آن و هم چنین ضریب تبدیل غذایی نیز تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت. افزودن

نتایج مربوط به اثر تیمارهای آزمایشی بر مصرف غذا، وزن بدن، افزایش وزن، ضریب تبدیل غذایی، شاخص تولید و ماندگاری

بر فراسنجه های گلبول های قرمز جوجه های گوشتی (جدول ۵) نشان داد که تنها میزان متوسط هموگلوبین خون جوجه ها به طور معنی داری تحت تاثیر تغذیه منابع سولفات قرار گرفت ($P > 0.05$)؛ به طوری که کمترین میزان متوسط هموگلوبین خون در تیمار سولفات مس مشاهده شد که تفاوت معنی داری با دیگر تیمارها داشت. نتایج هم چنین نشان داد تیمارهای آزمایشی بر وضعیت آنتی اکسیدانی سرم جوجه های آزمایشی (جدول ۶) در بخش مالون دی آلدئید سرم برای جوجه های تیمار شده با نانو مس کمترین بود و تفاوت معنی داری با دیگر تیمارها داشت ($P > 0.05$)؛ اما تفاوت سولفات و تیمار شاهد از نظر میزان مالون دی آلدئید غیر معنی دار بود. اثر تیمارهای آزمایشی بر میزان کاتالاز سرم نیز غیر معنی دار بود (جدول ۶).

منبع نانو هم چنین در مقایسه با منابع اکسید و سولفات تاثیری بر شاخص تولید و ماندگاری جوجه ها نداشت. نتایج مربوط به اثر تیمارهای آزمایشی بر وزن (گرم) بخش های مختلف روده کوچک و کور جوجه های گوشتی آزمایشی در جدول ۳ ارائه و نشان داده شد که بخش های مختلف روده از نظر وزنی تفاوتی را تحت تاثیر تیمار سازی نشان ندادند. اثر تیمارهای آزمایشی بر ریخت شناسی روده کوچک جوجه های گوشتی آزمایشی در جدول ۴ ارائه شده است. نتایج نشان داد که طول پرز روده به طور معنی داری در جوجه های گوشتی تغذیه شده با تیمار نانو مس کوتاه تر از جوجه های تیمار شده با سولفات مس و شاهد بود ($P > 0.05$)؛ اما با تیمار اکسید مس تفاوت معنی داری نداشت. هم چنین تفاوت بین تیمارها از نظر عرض پرز و عمق کریپت معنی دار نبود (جدول ۴). اثر تیمارهای آزمایشی

جدول ۲: اثر تیمارهای آزمایشی بر عملکرد رشد، شاخص تولید و ماندگاری جوجه های گوشتی در کل دوره پرورش

تیمار	مصرف غذا (گرم)	افزایش وزن بدن (گرم)	وزن بدن (گرم)	ضریب تبدیل غذایی	شاخص تولید	ماندگاری (درصد)
شاهد	۴۴۷۱/۷	۵۳۸/۸	۲۲۷۶/۹	۱/۹۶	۲۵۸/۳	۹۲
نانو	۴۶۳۲/۸	۵۷۲/۰	۲۳۳۷/۲	۱/۹۸	۲۷۴/۸	۹۸
اکسید	۴۶۵۸/۶	۵۵۸/۰	۲۳۲۰/۶	۲/۰۱	۲۶۶/۰	۹۶
سولفات	۴۶۴۰/۴	۵۳۰/۱	۲۳۵۸/۴	۱/۹۶	۲۵۷/۸	۹۰
SEM	۱۶۵/۶۸	۳۹/۸۰	۷۱/۴۸	۰/۰۸۸	۳۵/۶۱	۹/۳۱
P-Value	۰/۲۷۱	۰/۵۴۴	۰/۳۳۵	۰/۴۷۲	۰/۷۴۱	۰/۶۷۶

SEM: خطای معیار میانگین ها

جدول ۳: اثر تیمارهای آزمایشی بر وزن (گرم) بخش های مختلف روده کوچک و کور جوجه های گوشتی

تیمار	بخش های مختلف روده کوچک و کور			
	دئودنوم	ژوژنوم	ایلیوم	سکوم
شاهد	۱/۴۰	۴/۴۸	۳/۴۷	۰/۴۹
نانو	۱/۴۰	۴/۳۵	۳/۲۵	۰/۴۰
اکسید	۱/۴۴	۳/۹۴	۳/۵۱	۰/۴۶
سولفات	۱/۳۸	۴/۲۷	۳/۵۱	۰/۵۶
SEM	۰/۰۷۵	۰/۶۱	۰/۶۶	۰/۱۰۴
P-Value	۰/۶۷	۰/۰۸	۰/۹۵	۰/۶۴

SEM: خطای معیار میانگین ها

جدول ۴: اثر تیمارهای آزمایشی بر ریخت شناسی روده (طول و عرض پرز و عمق کریپت) جوجه های گوشتی

تیمار	طول پرز (میکرومتر)	عرض پرز (میکرومتر)	عمق کریپت (میکرومتر)
شاهد	۱۳۴۹ ^a	۱۸۱	۱۷۷
نانو	۱۳۳۹ ^b	۱۸۳	۱۷۲
اکسید	۱۳۴۷ ^{ab}	۱۸۰	۱۷۵
سولفات	۱۳۵۰ ^a	۱۷۹	۱۷۵
SEM	۲/۲۷	۰/۵۴	۰/۳۶
P-Value	۰/۰۰۳	۰/۲۹	۰/۱۱

SEM: خطای معیار میانگین ها، میانگین ها در یک ستون با اندیس لاتین غیر مشترک دارای تفاوت معنی دار هستند ($P < 0.05$)

جدول ۵: اثر تیمارهای آزمایشی بر فراسنجه‌های گلبول‌های قرمز جوجه‌های گوشتی

تیمار	RBC	HGB	HCT	MCV	MCH	MCHC	RDW	PLT	PDW
شاهد	۲/۴۰	۱۱/۰۶	۳۳/۲۸	۱۳۶/۷۶	۴۶/۲ ^a	۳۴/۱۳	۹/۶۶	۴/۶۱	۱۴/۰
نانو	۲/۳۷	۱۱/۵۱	۳۳/۱۱	۱۳۸/۴۰	۴۸/۰ ^a	۳۴/۴۰	۸/۸۰	۴/۰۰	۱۴/۲
اکسید	۲/۱۹	۱۰/۶۴	۳۵/۲۸	۱۳۴/۸۰	۴۸/۰ ^a	۳۴/۴۰	۸/۸۰	۳/۴۰	۱۴/۲
سولفات	۲/۱۹	۱۱/۸۳	۳۴/۶۰	۱۳۵/۸۰	۳۹/۲ ^b	۳۴/۴۰	۹/۶۰	۳/۷۰	۱۵/۰
SEM	۰/۳۱۷	۱/۷۱	۵/۳۸	۲/۴۱	۳/۷۶	۲/۱۷	۰/۶۶۴	۱/۴۲	۱/۹۳
P-Value	۰/۵۹۴	۰/۸۱۲	۰/۹۰۰	۰/۲۰۲	۰/۰۳۲	۰/۹۷۷	۰/۱۴۴	۰/۱۵۰	۰/۱۹۶

SEM: خطای معیار میانگین‌ها، میانگین‌ها در یک ستون با اندیس لاتین غیرمشترک دارای تفاوت معنی‌دار هستند ($P < 0.05$)

*RBC= گلبول قرمز خون (۱۰۶ در میکرو لیتر)؛ HGB= هموگلوبین (گرم در دسی لیتر)؛ HCT= هماتوکریت (درصد)؛ MCV= حجم متوسط گلبول قرمز خون (فمتولیتر)؛ MCH= مقدار متوسط هموگلوبین (پیکوگرم)؛ MCHC= غلظت متوسط هموگلوبین سلولی (گرم در دسی لیتر)؛ RDW= وسعت توزیع گلبول‌های قرمز (درصد)؛ PLT= پلاکت‌های خون (10^3) در میکرو لیتر)؛ PDW= توزیع پلاکت در جریان خون (درصد)

جدول ۶: اثر تیمارهای آزمایشی بر وضعیت آنتی‌اکسیدانی سرم جوجه‌های آزمایشی

تیمار	مالون دی آلدهید (نانو مول در میلی لیتر)	کانالاز (واحد در لیتر)
شاهد	۶/۷۵ ^a	۱۲/۲۶
نانو	۶/۲۸ ^c	۱۲/۱۹
اکسید	۶/۳۶ ^b	۱۲/۲۰
سولفات	۶/۷۳ ^a	۱۲/۲۸
SEM	۰/۱۱	۰/۱۰
P-Value	۰/۰۰۱	۰/۳۲

SEM: خطای معیار میانگین‌ها، میانگین‌ها در یک ستون با اندیس لاتین غیرمشترک دارای تفاوت معنی‌دار هستند ($P < 0.05$)

بحث

با توجه به اثر غیرمعنی‌دار تیمارهای آزمایشی بر صفات عملکردی و شاخص تولید که به نظر محققین قابل انتظار نیز بود، اما در یک پژوهش دیگر بیان شده است که سطوح مختلف نانو ذرات اکسید مس تأثیر معنی‌داری برافزایش وزن بدن نداشته است (۲۲). گزارش‌های زیادی وجود دارد که از منابع و سطوح مختلف مس در جیره‌های طیور برای بررسی این‌که کدام منبع یا سطح تجویز برای عملکرد مناسب و مهار آلودگی مس در محیط زیست بهترین است، استفاده شده است (۱۰، ۲۳، ۲۴). اگرچه به دلایل تجاری و دسترسی راحت، منابع اولیه و ترجیحی توصیه شده توسط متخصصان تغذیه منابع سولفات و اکسید هستند، از سوی دیگر اخیراً نانوذرات مس به عنوان جایگزینی برای نمک‌های اکسید و سولفات در جیره جوجه‌های گوشتی استفاده شده است (۱۰، ۲۵). مشابه با نتایج تحقیق حاضر در مطالعه‌ای از سولفات مس در مقایسه با یک منبع مس به نام پروتئینات مس در سه سطح صفر، ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم در کیلوگرم استفاده کردند و نشان دادند که مصرف غذا تحت تأثیر معنی‌دار

منبع مس قرار نگرفت (۲۶). در مطالعه دیگری با در نظر گرفتن منابع و سطوح مختلف مس و روی در جیره جوجه‌های گوشتی نشان دادند که سطح و نوع مس دریافتی بر مصرف خوراک، افزایش وزن و ضریب تبدیل غذایی تأثیر معنی‌داری نداشت چه در صفر تا ۲۱ روزگی چه ۲۱ تا ۳۵ روزگی؛ اما در کل دوره سطح مس دریافتی بر افزایش وزن تأثیر معنی‌داری داشت (۲۷) که مخالف با نتایج تحقیق حاضر می‌باشد. در فعالیت علمی دیگری بیان شده است که استفاده از نانو ذرات مس در مقایسه با سولفات مس موجب افزایش سرعت رشد شده است (۲۸)؛ که نتایج این تحقیق مخالف یافته‌های به دست آمده از تحقیق حاضر است. یکی از علت‌های تفاوت نتایج می‌تواند به دلیل به کار بردن سطوح مختلف باشد و به نظر می‌رسد افزایش سطح به بیش از مقدار ۱۰۰ میلی گرم در کیلوگرم می‌تواند برای مس نقش‌های دیگری مانند محرک رشد داشته باشد. استفاده از مس در سطوح بالاتر از احتیاجات به عنوان یک محرک رشد مطرح می‌شود (۲۹، ۳۰، ۳۱)، به عنوان مثال استفاده از سطوح ۱۰۰، تا ۳۰۰ میلی گرم در کیلوگرم به عنوان محرک رشد مطرح شده است (۲۹) و یا حتی گزارش شده است که سطوح ۵۰، ۱۰۰ و ۲۵۰ میلی گرم در

کیلوگرم مس در جیره طیور گوشتی سبب افزایش وزن روزانه شده است که با بهبود راندمان غذایی همراه بوده است (۳۲). چنانچه مشاهده شد طول پرز روده به طور معنی داری در جوجه های گوشتی تغذیه شده با تیمار نانو مس کوتاه تر از جوجه های تیمار شده با سولفات مس و شاهد بود. یک دلیل برای این پدیده می تواند بیش تر بودن ضریب جذب منابع نانو و هم چنین زیاد بودن زیست فراهمی آن ها باشد که در لومن روده باریک نیاز پرزها را برای افزایش ارتفاع و سطح جذب کم تر می کند (۳۳، ۳۴). در مطالعه ای اثرات مکمل سازی نانوذرات مس بر رشد، مورفولوژی روده و وضعیت آنتی اکسیدانی جوجه های گوشتی در معرض تنش سرمای چرخه ای، نشان داده شد که جوجه هایی که مکمل نانو مس دریافت کرده بودند تحت شرایط استرس سرمایی ارتفاع پرز روده کم تری داشتند (۳۴). کوتاه شدن پرز های روده عموماً در زمان تغذیه منابع با زیست فراهمی بیش تر در جوجه های گوشتی نشان داده شده است و جذب بیش تر ممکن است از طریق افزایش تکثیر و تمایز سلولی بر رشد پرزهای روده تأثیر بگذارد (۳، ۶). علاوه بر این، نتایج چندین مطالعه، اثرات مفید نانو مس در جیره غذایی را بر توسعه و عملکرد دستگاه گوارش تأیید می کند (۳، ۱۴). البته به دلیل خصوصیات گاهاً سمی در مواد نانو، در یک پژوهش علمی دیگر نانو ذرات به عنوان یکی از عوامل آسیب سلولی نیز مطرح شده است (۳۵)؛ بنابراین ممکن است یکی از دلایل کوتاه شدن پرزهای روده تخریب سلولی نیز باشد که نیاز به تحقیقات بیش تری دارد. ذره های نانو می توانند از سلول های اپی تلایل روده از راه ترنس سیتوز به وسیله انتروسلایت ها (مانند گوارش طبیعی)، ترنس سیتوز به وسیله سلول های موجود در پلاک های پیر و یا به وسیله انتشار عبور کنند. ذرات کوچک تر سریع تر و راحت تر از ذرات بزرگ جذب می شوند. نرخ جذب نانوذرات در پلاک های پیر دستگاه گوارشی نسبت به انتروسلایت ها، ۲ تا ۲۰۰ بار بیش تر است. هم چنین نانو ذرات با روش های مختلفی می توانند وارد دستگاه گوارش شوند، هر چه قطر ذرات کوچک تر باشد، پخش آن از طریق مخاط برای رسیدن به سلول های پوششی روده سریع تر است. جذب از طریق انتشار غیر فعال در سلول های مخاطی، از طریق مکانیسم های حمل و نقل فعال و بین سلولی، متفاوت است. علاوه بر این، اندازه ذرات کوچک تر باعث جذب عمیق تر و بهتر به بافت ها می شود (۳۶). در تحقیق حاضر سولفات مس کم ترین میزان متوسط هموگلوبین خون را در بین تیمارها داشت و بقیه تیمارها تفاوت معنی داری با یکدیگر نداشتند؛ این مطلب ممکن است نشان دهنده کم خونی در پرندگان این تیمار باشد. میزان متوسط هموگلوبین خون شاخصی برای اندازه گیری کم خونی (آنمی) می باشد اما با توجه به این که در طیور محدوده طبیعی (Normal Range) برای متوسط هموگلوبین خون تعریف نشده است

بنابراین نمی توان با قطعیت اظهار نظر کرد. در هر حال کم تر بودن میزان متوسط هموگلوبین در جوجه های تیمار شده با سولفات مس می تواند به دلیل کم بودن دسترسی زیستی منبع سولفات به نسبت منابع دیگر باشد، زیرا همان طور که اشاره شد کمبود مس یکی از دلایل کم بودن متوسط هموگلوبین خون می باشد (۳۷). کمبود مس می تواند موجب ناتوانی جذب آهن و برداشتن آن از بافت و استفاده از آن در ساخت هموگلوبین شود (۹)؛ بنابراین کم خونی در پی آن دور از انتظار نیست (۳۸، ۳۹). سولفات مس به واسطه واکنش های مختلف کانی های مس و یا فلز سولفریک تولید می شود و از نظر تجاری حاوی ۲۵ درصد فلز مس است و به عنوان قارچ کش نیز استفاده می شود. البته برخی از محققین کم خونی با مصرف مکمل مس را حاصل از مسمومیت مس می دانند و با اشاره به کاهش شمار حجم مجموعه سلول های متراکم (PCV) و کل هموگلوبین خون (WHB) با جذب زیاد مس و کاهش دریافت آهن مرتبط دانسته اند؛ اما به نظر نمی رسد در تحقیق حاضر تامین ۳۰ میلی گرم سولفات مس سبب مسمومیت شده باشد. هم چنین تأثیر کمبود مس بر سیستم آنتی اکسیدانی و آسیب اکسیداتیو اجزای سلولی در گونه ها و بافت های مختلف و هم چنین در سلول های کشت شده گزارش شده است (۴۰). در تحقیق حاضر جوجه های تیمار شده با نانو مس دارای کم ترین میزان مالون دی آلدئید در سرم بودند و تفاوت معنی داری با دیگر تیمارها داشتند که در توافق با این یافته در مطالعه ای با افزودن مس به جیره جوجه های گوشتی نشان دادند میزان مالون دی آلدئید پلاسما به طور معنی داری نسبت به شاهد کاهش یافت، البته در تحقیق مذکور پرندگان در ناحیه کویری و سرد در هند پرورش یافته بودند (۳۲). مالون دی آلدئید به عنوان فرآورده نهایی پراکسیداسیون لیپید توسط رادیکال های آزاد است و کاهش غلظت مالون دی آلدئید به عنوان یک نشانگر پراکسیداسیون در سرم (۴۱) نشان دهنده افزایش دفاع آنتی اکسیدانی می باشد که ممکن است در جوجه هایی که مکمل نانو مس دریافت کرده اند به خاطر زیاده تر بودن دسترسی زیستی بیش تر این عنصر و بهبود تولید شاخص های دفاع سلولی باشد. چندین مکانیسم که توسط آن مس می تواند اثر آنتی اکسیدانی خود را در یک سیستم بیولوژیکی اعمال کند توصیف شده است، اما یکی از مهم ترین عملکردهای آن مربوط به اثر آنتی اکسیدانی مس است که توسط فعالیت سوپراکسید دیسموتاز روی-مس (Cu/Zn SOD) واسطه می شود (۴۲). افزایش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز (SOD) در گلبول های قرمز و کاهش غلظت مالون دی آلدئید در جوجه های گوشتی تغذیه شده با جیره های حاوی مس-گلایسین مشاهده شده است (۴۳). بنابراین به صورت نتیجه گیری کلی می توان گفت اثرات تغذیه نانو مس در بهبود وضعیت آنتی اکسیدانی جوجه های گوشتی

- Research. 12(2): 219-229. doi: 10.22075/JVLR.2021.21074.1026
10. **Scott, A., Vadalasetty, K.P., Chwalibog, A. and Sawosz, E., 2018.** Copper nanoparticles as an alternative feed additive in poultry diet: a review. *Nanotechnology Reviews*. 7(1): 69-93. doi:10.1515/ntrev-2017-0159
 11. **Refaie, A., Ghazal, M., Barakat, S., Morsy, W., Meshreky, S.A. and Younan, G., 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. doi: 10.21608/EJRS.2015.46697
 12. **Gaetke, L.M. and Chow, C.K., 2003.** Copper toxicity, oxidative stress, and antioxidant nutrients. *Toxicology*. 189(1-2): 147-163. doi: 10.1016/s0300-483x(03)00159-8
 13. **Guengerich, F.P., 2018.** Introduction to Metals in Biology 2018: Copper homeostasis and utilization in redox enzymes. *Journal of Biological Chemistry*. 293(13): 4603-4605. doi:10.1074/jbc.TM118.002255
 14. **Marappan, G., Beulah, P., Kumar, R.D., Muthuvel, S. and Govindasamy, P., 2017.** 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. doi: 10.3923/ijp.2017.724.731
 15. **Hillyer, J.F. and Albrecht, R.M., 2001.** Gastrointestinal persorption and tissue distribution of differently sized colloidal gold nanoparticles. *Journal of pharmaceutical sciences*. 90(12): 1927-1936. doi:10.1002/jps.1143.
 16. **Palizdar, M.H., Pourelmi, M., Mohammadian-Tabrizi, H. and Sepehr, Z., 2016.** The impact of Acidifier in the diet of broiler chickens grown in high stocking densities on growth performance, immune system and blood metabolites. *Animal Production*. 18(1): 95-106. doi: 10.22059/JAP.2016.57147
 17. **Zarei, H. and Faryabi, N., 2020.** Effect of garlic powder on morphological changes of intestinal villi in broiler chickens with *Eimeria tenella*. *Journal of Animal Environment*. 12(4): 217-224. doi: 10.22034/AEJ.2020.125457 (In Persian)
 18. **Cao, G., Zeng, X., Chen, A., Zhou, L., Zhang, L. and Xiao, Y., 2013.** Effects of a probiotic, *Enterococcus faecium*, on growth performance, intestinal morphology, immune response, and cecal microflora in broiler chickens challenged with *Escherichia coli* K88. *Poultry science*. 92(11): 2949-2955. doi: 10.3382/ps.2013-03366
 19. **Sakamoto, K., Hirose, H., Onizuka, A., Hayashi, M., Futamura, N. and Kawamura, Y., 2000.** Quantitative study of changes in intestinal morphology and mucus gel on total parenteral nutrition in rats. *Journal of Surgical Research*. 94(2): 99-106. doi: 10.1006/jsre.2000.5937
 20. **Pascariu, S., Pop, I., Simeanu, D., Pavel, G. and Solcan, C., 2017.** Effects of wine by-products on growth performance, complete blood count and total antioxidant status in broilers. *Brazilian Journal of Poultry Science*. 19: 191-202. doi: 10.1590/1806-9061-2016-0305
 21. **Mordi, M.K., Saleh, H. and Mirakzehi, M., 2021.** The effects of hydroalcoholic extract of *boerhavia elegans* and vitamin E on performance and antioxidant status of broilers in diets containing oxidized oil. *Journal of Animal Environment*. 13(3): 95-104. doi: 10.22034/AEJ.2020.254906.2393 (In Persian)
 22. **Ghazanfari, S., Ahmadpanah, M. and Sharifi, S.D., 2021.** The study on the effect of organic, mineral, and nano-copper sources on performance, blood biochemical and immune parameters, small intestinal microbial population and meat quality of broiler chicken. *Animal*

بیش تر از دیگر منابع تامین کننده مس در این تحقیق بود اما از نظر عملکرد پرنده تفاوتی بین منابع وجود نداشت؛ بنابراین به نظر می رسد برای اجتناب از هزینه های خرید نانو مواد، استفاده از منابع قدیمی با قیمت کم تر و دسترسی راحت تر منطقی باشد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان بر خود لازم می دانند تا از زحمات جناب آقای دکتر محمدحسین پالیزدار عضو محترم هیات علمی دانشگاه آزاد اسلامی واحد چالوس بابت همکاری های ایشان در بخش تحقیقات فارمی و اصلاح، تدوین و ویرایش مقاله حاضر تقدیر و تشکر داشته باشند.

منابع

1. **Bao, Y. 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): 269-282.
2. **Dozier Iii, W., Davis, A., Freeman, M. and Ward, T., 2003.** Early growth and environmental implications of dietary zinc and copper concentrations and sources of broiler chicks. *British Poultry Science*. 44(5): 726-731. doi: 10.1080/00071660310001643714
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. doi: 10.1016/j.jtemb.2018.03.017
4. **Christodouloupoulos, 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. doi: 10.1111/j.1751-0813.2007.00186.x
5. **Berwanger, E., Vieira, S., Angel, C., Kindlein, L., Mayer, A. and Ebbing, M., 2018.** Copper requirements of broiler breeder hens. *Poultry science*. 97(8): 2785-2797. doi: 10.3382/ps/pex437
6. **Uniyal, S., Dutta, N., Raza, M., Jaiswal, S., Sahoo, J. and Ashwin, K., 2017.** Application of nano minerals in the field of animal nutrition: A review. *Bull Environ Pharmacol Life Sci*. 6: 4-8.
7. **Ali, S., Masood, S., Zaneb, H., Faseeth-ur-Rehman, H., Masood, S. and Khan, M., 2017.** Supplementation of zinc oxide nanoparticles has beneficial effects on intestinal morphology in broiler chicken. *Pak Vet J*. 37(3): 335-339.
8. **Depner, R., Pontin, K., Depner, R., Flores Neto, A., Lucca, V. and Lovato, M., 2016.** Action of antimicrobial copper on bacteria and fungi isolated from commercial poultry hatcheries. *Brazilian Journal of Poultry Science*. 18: 95-97. doi:10.1590/1806-9061-2016-0277
9. **Heidari Miandoab, S., Navidshad, B., Hedayat Evrigh, N., Mirzaei Aghje Gheshlagh, F. and Mahdavi, A., 2020.** Effect of in ovo injection of copper nano particles on the performance and immune system parameters of broiler chickens. *Journal of Veterinary Laboratory*

- cyclic cold stress. *Emirates Journal of Food and Agriculture*. doi:10.9755/ejfa.2022.v34.i5.2862
35. Zhang, H., Wu, X., Mehmood, K., Chang, Z., Li, K. and Jiang, X., 2017. Intestinal epithelial cell injury induced by copper containing nanoparticles in piglets. *Environmental toxicology and pharmacology*. 56: 151-156. doi: 10.1016/j.etap.2017.09.010
 36. Krupanidhi S, Sreekumar A, Sanjeevi C. 2008. Copper & biological health. *Indian Journal of Medical Research*.;128(4).
 37. Hegazy, A.A., Zaher, M.M., Abd el-hafez, M.A., Morsy, A.A. and Saleh, R.A., 2010. Relation between anemia and blood levels of lead, copper, zinc and iron among children. *BMC Research Notes*. 3(1): 133. doi: 10.1186/1756-0500-3-133
 38. Mroczek-Sosnowska, N., Batorska, M., Lukasiewicz, M., Wnuk, A., Sawosz, E. and Jaworski, S., 2013. Effect of nanoparticles of copper and copper sulfate administered in ovo on hematological and biochemical blood markers of broiler chickens. *Annals of Warsaw University of Life Sciences-SGGW Animal Science*. 52 p.
 39. Mroczek-Sosnowska, N., Łukasiewicz, M., Wnuk, A., Sawosz, E., Niemiec, J. and Skot, A., 2016. In ovo administration of copper nanoparticles and copper sulfate positively influences chicken performance. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 96(9): 3058-3062. doi: 10.1002/jsfa.7477
 40. Bories, G., Brantom, P., Barberà, J., Chesson, A., Cocconcelli, P.S. and Debski, B., 2007. Safety of Kokcisan 120G as a feed additive for chickens for fattening. Updated scientific opinion of the panel on additives and products or substances used in animal feed. *European Food Safety Authority. The EFSA Journal*. 547: 1-10. doi: 10.2903/j.efsa.2007.547
 41. Kucuk, O., 2008. Zinc in a combination with magnesium helps reducing negative effects of heat stress in quails. *Biological Trace Element Research*. 123(1): 144-153.
 42. Ivanišinová, O., Grešáková, L., Ryzner, M., Ocel'ová, V. and Čobanová, K., 2016. Effects of feed supplementation with various zinc sources on mineral concentration and selected antioxidant indices in tissues and plasma of broiler chickens. *Acta Veterinaria Brno*. 85(3): 285-291. doi: 10.2754/avb201685030285
 43. Winiarska-Mieczan, A., Kwiecień, M., Mieczan, T., Kwiatkowska, K. and Jachimowicz, K., 2021. The effect of Cu, Zn and Fe chelates on the antioxidative status of thigh meat of broiler chickens. *Animal*. 15(10): 100367. doi: 10.1016/j.animal.2021.100367
 23. Forouzandeh, A., Blavi, L., Abdelli, N., Melo-Duran, D., Vidal, A. and Rodríguez, M., 2021. Effects of dicopper oxide and copper sulfate on growth performance and gut microbiota in broilers. *Poultry Science*. 100(8): 101224. doi: 10.1016/j.psj.2021.101224
 24. Sharif, M., Rahman, M.A.U., Ahmed, B., Abbas, R.Z. and Hassan, F.U., 2021. Copper nanoparticles as growth promoter, antioxidant and anti-bacterial agents in poultry nutrition: prospects and future implications. *Biological Trace Element Research*. 199(10): 3825-3836. doi: 10.1007/s12011-020-02485-1
 25. Abedini, M., Shariatmadari, F., Torshizi, M.A.K. and Ahmadi, H., 2018. Effects of zinc oxide nanoparticles on performance, egg quality, tissue zinc content, bone parameters, and antioxidative status in laying hens. *Biological trace element research*. 184(1): 259-267. doi: 10.1007/s12011-017-1180-2
 26. Adegbenjo, A., Idowu, O., Oso, A., Adeyemi, O., Sobayo, R. and Akinloye, O., 2014. Effects of dietary supplementation with copper sulphate and copper proteinate on plasma trace minerals, copper residues in meat tissue, organs, excreta and tibia bone of cockerels. *Slovak Journal of Animal Science*. 47(3): 164-171.
 27. Olukosi, O.A., van Kuijk, S. and Han, Y., 2018. Copper and zinc sources and levels of zinc inclusion influence growth performance, tissue trace mineral content, and carcass yield of broiler chickens. *Poultry Science*. 97(11): 3891-3898. doi: 10.3382/ps/pey247
 28. Sizova, E., Korolev, V., Makaev, S.A., Miroshnikova, E. and Shakhov, V., 2016. Morphological and biochemical blood parameters in broilers at correction of diet with copper salts and nanoparticles. *Agricultural biology*.
 29. Sabet Sarvestany, S., Resvani, M., Zamiri, M.J., Shekarforoush, S., 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. doi: 10.22059/jvr.2016.57912
 30. Karimi, A., Sami, A. and Pour-Reza, J., 2000. Effect of copper and vitamin C excess of requirements on broiler performance. *Iranian Journal of Agricultural Sciences*. 31(1): 19-29. doi: 10.3382/japr.2010-00290
 31. 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): 58-67.
 32. Kumar, P., Biswas, A., Bharti, V. and Srivastava, R., 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.
 33. Zaghari, M., Pouraghaali, S., Zhandi, M. and Abbasi, M., 2022. Effect of Monovalent Copper Oxide and Potentiated Zinc Oxide on Growth Performance and Gut Morphology of Broiler Chickens Challenged with Coccidiosis. *Biological Trace Element Research*. 1-12. doi: 10.1007/s12011-022-03339-8
 34. Abdullah, S.S., Masood, S., Zaneb, H., Rabban, I., Akba, J. and Kuthu, Z.H., 2022. Effects of Copper nanoparticle supplementation on growth, intestinal morphology and antioxidant status in broilers exposed to