نشریه علوم دامی
(پژوهش و سازندگی)

شماره ۱۳۲، پاییـــز ۱۴۰۰
ص‌ص: ۱۲۵~۱۳۸

بررسی استفاده از نانو دی ال متیونین بر عملکرد رشد، فراسنجه‌های خونی و ریخت شناسی روده جوجه‌های گوشتی

• **بهنام احمدی پور[1*]، حسین ایمانی تبار[2]، فریبرز خواجعلی[3]، زینب توحیدیان[4]**

۱. استادیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران.
۲. دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران.
۳. استاد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران.
۴. گروه شیمی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران.

تاریخ دریافت : آبان ۱۳۹۹ تاریخ پذیرش : بهمن ۱۳۹۹

شماره تماس نویسنده مسئول: ۰۹۱۳۱۸۳۹۲۳۰
Email: behnam.ahmadipour@gmail.com

شناسه دیجیتال (DOI): 10.22092/ASJ.2021.352298.2107

چکیده

در تحقیق حاضر با تبدیل اسید آمینه دی ال متیونین به فرم نانو متیونین و تغذیه آن در جوجه‌های گوشتی تأثیر آن بر عملکرد رشد، خصوصیات لاشه، فراسنجه‌های خونی و ریخت شناسی روده کوچک مورد بررسی قرار گرفت. تعداد ۲۰۰ قطعه جوجه گوشتی مخلوط سویه آرین در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۵ تیمار، ٤ تکرار به مدت ٤۰ روز مورد استفاده قرار گرفتند. تیمارهای آزمایشی شامل ۱- شاهد (متیونین را به شکل دی ال متیونین) ۲- ۷۵ درصد دی ال متیونین گروه شاهد + ۲/۵ درصد نانو متیونین ۳- ۵۰ درصد دی ال متیونین گروه شاهد + ۵ درصد نانو متیونین ٤- ۲۵ درصد دی ال متیونین گروه شاهد + ۷/۵ درصد نانو متیونین ۵- ۱۰ درصد نانو متیونین بودند. نتایج نشان داد که کاهش متیونین جیره و استفاده از نانو متیونین بین تیمارها از نظر افزایش وزن بدن، ضریب تبدیل خوراک، وزن لاشه، ران، کبد و قلب ، غلظت آلانین آمینوترانسفراز، آسپارتات آمینوترانسفراز، آلکالین فسفاتاز، اسید اوریک سرم اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد، همچنین ارتفاع و عرض پرزها در دئودنوم و ژژنوم در بین تیمارها اختلاف معنی داری نداشتند. اما در تیمارهایی که ۷/۵ و ۱۰ درصد نانو متیونین استفاده شد افزایش معنی‌داری در وزن سینه و ارتفاع، عرض و سطح جذب پرزهای ایلئوم نسبت به تیمار شاهد مشاهده گردید (P<۰/۰۵). نتایج تحقیق حاضر نشان می‌دهد که شکل نانو دی ال-متیونین قادر است اثرات متیونین را در غلظت هایی به مراتب کمتر ایفا کند.

واژه‌های کلیدی: جوجه گوشتی، عملکرد، ریخت شناسی روده، نانومتیونین.

Animal Science Journal (Pajouhesh & Sazandegi) No 132 pp: 125-138

Assessment of using the nano DL-methionine in broiler chickens: Effect on growth performance, blood parameters and small intestine morphology

By: Behnam Ahmadipour[1]*, Hossein Imanitabar[2], Fariborz Khajali[3], Zeinab Tohidiyan[4]

1. 1: Assistant Professor, Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture, Shahrekord University, Shahrekord, Iran.
2. 2: Former M.Sc. Student, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Shahrekord University, Shahrekord, Iran.
3. 3: Professor, Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture, Shahrekord University, Shahrekord, Iran.
4. 4: Department of Chemistry, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran

Received: November 2020 **Accepted: February 2021**

In this experiment, DL-methionine (DLM) was transformed to nano particles and used in broiler diets to study its effects on growth performance, carcass characteristics, blood parameters and small intestine morphology. A total of 200 one-day-old broilers (Arian strain) were used in a completely randomized design with five treatments and four replicates of 10 birds from 1 to 40 days post-hatch. Dietary treatments included: 1) a control diet consisted of supplemental DLM, 2) a diet included 75% of supplemental DLM plus 2.5% nano DLM, 3) a diet consisted of 50% DLM plus 5% nano DLM, 4) a diet included 25% supplemental DLM plus 7.5% nano DLM, and 5) a diet included 10% nano DLM. The results showed that the inclusion of nano DLM at lower levels were comparable with DLM in terms of live responses, carcass characteristics and activities of alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, alkaline phosphatase. There was no significant difference between treatments with respect to the height and width of villi in duodenum and jejunum, with the exception that treatments with 7.5% and 10% nano DLM showed a significant increase ($P < 0.05$) in villus height and width and its absorptive surface area compared to the control. In conclusion, the use of DLM in nano particle form could mimic DLM properties at much lower dose.

Key words: Broiler chickens, performance, intestinal morphology, nano methionine.

مقدمه

اسید آمینه متیونین نقش مهمی در واکنش متیلاسیون، سنتز پروتئین، بهبود عملکرد رشد و افزایش پاسخ‌های ایمنی دارد. به طور کلی متیونین اولین اسید آمینه محدود کننده در رژیم غذایی طیور در نظر گرفته می‌شود. (kim و همکاران، 2019). دی ال متیونین پودری (DL-M)، و متیونین هیدروکسی آنالوگ مایع (Liquid MHA-FA)، بعنوان منابع متیونین سنتتیک در خوراک طیور، جهت متعادل سازی اسیدهای آمینه و تأمین نیاز پرنده مورد استفاده قرار می‌گیرند. تحقیقاتی که بر روی این دو منبع متیونین سنتتیک انجام گرفته‌است، بیشتر مربوط به قابلیت زیست فراهمی و تفاوت در مسیرهای متابولیکی را شامل می‌گردد (Xue و همکاران، 2017). در پرندگان مازاد اسیدآمینه‌ها در بدن به صورت اسید اوریک از بدن دفع می‌شود که مشکلاتی از قبیل اتلاف انرژی جهت دفع ازت مازاد از بدن، ایجاد گازهای سمی در سالن، رطوبت بالای بستر، افزایش جمعیت میکروبی بستر و رشد عوامل بیماری‌زا، تاول در عضلات سینه و ران، عفونت‌های دستگاه تنفس و فشار متابولیکی به کلیه‌ها می‌گردد. همچنین افزایش دفع ترکیبات ازته سبب تخریب و صدمات جدی در محیط زیست به همراه دارد (Ditscheid و همکاران، 2005). کمبود اسیدآمینه متیونین می‌تواند سبب آسیب جدی و تغییرات بسیاری در تیموس، کاهش شدید در جمعیت لنفوسیت‌های نوع

T، کاهش غلظت اینترلوکین ۲ در سرم خون و افزایش میزان مرگ سلولی شود (Ditscheid و همکاران، 2005). بر اساس مطالعاتی که انجام گرفته است درصدهای متفاوتی از میزان متیونین مورد نیاز برای سویه‌های مختلف برای رسیدن به بالاترین راندمان رشد در جوجه‌های گوشتی پیشنهاد شده است. بطوری که برای مرحله آغازین۰/۵۲-۰/۵۰ درصد، مرحله رشد ۰/۴۵-۰/۳۸ درصد و مرحله پایانی ۰/۵۲-۰/۵۰ درصد گزارش شده است (NRC، 1994؛ Cobb، 2012 و Ross، 2018). همچنین نیاز متیونین برای سویه آرین برای مرحله آغازین ۰/۵۵ درصد (جوزدانی و همکاران، ۱۳۹۳) و مرحله رشد ۰/۵۲ درصد (رحیمی طارمی و همکاران، ۱۳۹۴) گزارش شده است.

فناوری ساخت ترکیبات نانو طرح‌های مختلفی برای تحقیقات بیولوژیک، درمانی و نیز جنبه‌های زیست محیطی ارائه می‌دهد. این تکنولوژی جدید دارای توان بالقوه برای ایجاد تغییرات وسیع در بخش کشاورزی و دامداری در سرتاسر جهان است. فناوری نانو را به‌عنوان تکنولوژی جدید در عرصه‌ی تبدیل و کنترل ماده در حدود تقریبی بین یک تا ۱۰۰ نانومتر (تبدیل مولکول‌های بزرگ‌تر به‌اندازه نانومتر) تعریف می‌نمایند (Shi و همکاران، 2011). در طی روند تبدیل مولکول‌های بزرگ به‌اندازه های کوچک تغییری در طبیعت شیمیایی ماده پایه به‌وجود نمی‌آید در حالی‌که به بهبود خواص آن می‌انجامد. تغییرات قابل توجه ای مانند تغییر خواص کوانتومی، میزان حلالیت، جذب، قابلیت نفوذپذیری، واکنش‌پذیری بالای سطح ماده، مکانیزم حمل و نقل، دفع و مهمتر از همه تغییر در عملکرد آنتاگونیسم‌ها ایجاد می‌شود. این تغییرات در زمینه‌های مختلف مانند تغذیه، تشخیص، درمان، بیوتکنولوژی، تولید واکسن، صنایع شیمیایی و غیره تأثیرگذار است (Bhupinder، 2010). از روش‌های متفاوتی مانند امولسیون کراس‌لینک، رسوب، اسپری و سونوشیمی برای تهیه نانو ذرات استفاده می‌شود (Esrafili و همکاران، 2020) در تغذیه دام و طیور، کاربرد فناوری نانو عمدتاً به شکل نانو ذرات مغناطیسی است. این موضوع از اهمیت زیادی برخوردار است زیرا باعث کاهش اثر آنتاگونیسمی در بین کاتیون‌های دو طرفه می‌شود. این استراتژی جدید را می‌توان در تغذیه دام و طیور برای جذب مواد مغذی مفید و استفاده بهتر از خوراک و مکمل‌های دیگر مورد بهره برداری قرار داد (Gopi و همکاران، 2017). خواص فیزیکی، شیمیایی، الکتریکی و مکانیکی مواد نانو متفاوت از مقیاس بزرگ است. نانوذرات به دسته آلی، غیر آلی و آمولسیون تقسیم بندی می‌گردند بطوری که امروزه از نانو ذرات در عرصه پزشکی و داروسازی جهت درمان بیماری‌های خاص استفاده می‌گردد (Panyam و Labhasetwar، 2003). با کپسوله کردن مواد آلی توسط نانو ذرات قابلیت زیست فراهمی این مواد افزایش و قابلیت زیست تخریبی آن‌ها کاهش پیدا می‌کند.همچنین نانوذرات آلی با تغییر عملکرد تغذیه‌ای باعث بهبود ارزش غذایی ماده می‌گردند (Shi و همکاران، 2011). در خصوص تبدیل اسیدهای آمینه به شکل نانو و تغذیه آنها در طیور اطلاعاتی وجود ندارد. این تحقیق با هدف تبدیل دی ال متیونین به نانو متیونین و کاهش مقدار دی ال متیونین جیره از سطح پیشنهادی منابع و استفاده از نانو متیونین با سطوح پایین‌تر در جیره جوجه‌های گوشتی انجام گردید. همچنین اثرات نانو متیونین از نظر عملکرد رشد، بازده لاشه، فعالیت آنزیم‌های کبدی و ریخت شناسی روده مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در ایستگاه تحقیقاتی دانشگاه شهرکرد اجرا گردید. در مجموع تعداد ۲۰۰ قطعه جوجه گوشتی مخلوط دوجنس سویه آرین با ۲۰ مشاهده آزمایش و تعداد ۱۰ قطعه در هر تکرار با میانگین وزنی ۱±۳۸/۵ گرم به‌صورت تصادفی پخش شدند و جیره‌های آزمایشی را دریافت کردند. جیره‌های مورد استفاده در این طرح بر پایه ذرت و کنجاله سویا بودند و برای دوره‌های آغازین، رشد و پایانی به‌وسیله نرم افزار جیره نویسی (UFFDA, 1992) تنظیم شدند. ترکیبات شیمیایی جیره‌های آزمایشی پایه در جدول ۱ آورده شده است.

جدول ۱. مواد خوراکی و ترکیب شیمیایی جیره‌های پایه (درصد)

مواد خوراکی (درصد)	آغازین (۱۰-۱ روزگی)	رشد (۲۴-۱۱ روزگی)	پایانی (۴۰-۲۵ روزگی)
ذرت	۵۴/۰	۵۹/۵	۶۴/۸
کنجاله سویا (۴۴ درصد پروتئین خام)	۴۰/۲	۳۴/۷	۲۹/۹
روغن سویا	۱/۲	۱/۶	۱/۵
دی کلسیم فسفات	۱/۸۴	۱/۶۴	۱/۴
پودر صدف	۱/۲	۱/۰۷	۱
نمک	۰/۳	۰/۳	۰/۳
دی ال متیونین *	۰/۳۸	۰/۳۲	۰/۲۶
ال لیزین	۰/۲۳	۰/۲۲	۰/۲۰
ترئونین	۰/۱	۰/۰۸	۰/۰۶
مکمل مواد معدنی[1]	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵
مکمل ویتامینی[2]	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵
کولین کلراید	۰/۰۵	۰/۰۷	۰/۰۸
جمع	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
ترکیبات شیمیایی محاسبه شده			
انرژی قابل متابولیسم (کیلوکالری بر کیلوگرم)	۳۰۰۰	۳۰۸۵	۳۱۷۰
پروتئین خام (درصد)	۲۱	۱۸	۱۷/۵
متیونین (درصد)*	۰/۵	۰/۴	۰/۳۸
متیونین +سیستین (درصد)	۰/۹	۰/۸	۰/۷۵
لیزین (درصد)	۱/۳۳	۱/۱۱	۰/۹۵
ترئونین (درصد)	۱	۰/۷۸	۰/۷۵
کلسیم (درصد)	۰/۹۵	۰/۹۰	۰/۸۸
فسفر قابل دسترس (درصد)	۰/۴۳	۰/۳۵	۰/۳۵
سدیم (درصد)	۰/۱۸	۰/۱۵	۰/۱۵

[1] مکمل مواد ویتأمینه در هر کیلوگرم خوراک. ویتامین A ۱۲۰۰۰ واحد بین‌المللی، ویتامین D_3 ۳۰۰۰ واحد بین‌المللی، ویتأمین E ۱۵ واحد بین‌المللی، ویتأمین K ۲/٤ میلی‌گرم، ویتأمین B12 ۰/۰۱ میلی‌گرم، ریبوفلاوین ۵ میلی‌گرم، نیاسین ۳۸ میلی‌گرم، اسید فولیک ۰/۷ میلی‌گرم، بیوتین ۰/۱٦ میلی‌گرم، پیریدوکسین ۳/۵ میلی‌گرم، اسید پنتوتنیک ۹ میلی‌گرم، کولین کلراید ۱۵۰ میلی‌گرم، بتائین ۱۷۰ میلی‌گرم.

[2] مکمل مواد معدنی در هر کیلوگرم خوراک. منگنز (اکسید منگنز)، ۱۰۰ میلی‌گرم. آهن (سولفات آهن، $Feso_4$)، ۵۵ میلی‌گرم. روی (اکسید روی)،۹۵ میلی‌گرم. مس (سولفات مس، $Cuso_4$)، ۱۲ میلی‌گرم، ید (یدات کلسیم)، ۱/۵ میلی‌گرم. سلنیوم (سدیم سلنیت)، ۰/۳ میلی‌گرم.

*در تیمارهای آزمایشی ۲ ، ۳، ٤ و ۵ به ترتیب مقادیر ۲/۵، ۵، ۷/۵ و ۱۰ درصد نانو متیونین در جیره‌ها جایگزین متیونین سنتتیک شد.

تیمارهای آزمایشی عبارتند از

تیمار شاهد متیونین را به شکل دی ال متیونین تجاری دریافت نمود

تیمار دوم ۷۵ درصد دی ال متیونین گروه شاهد را به همراه ۲/۵ درصد نانو متیونین دریافت نمود

تیمار سوم ۵۰ درصد دی ال متیونین گروه شاهد را به همراه ۵

درصد نانو متیونین دریافت نمود

تیمار چهارم ۲۵ درصد دی ال متیونین گروه شاهد را به همراه ۷/۵ درصد نانو متیونین دریافت نمود

تیمار پنجم ۱۰ درصد نانو متیونین دریافت نمود.

میزان دی ال متیونین در تیمارهای ۲، ۳، ۴ و ۵ به ترتیب ۲۲/۵، ۴۵، ۶۷/۵ و ۹۰ درصد نسبت به جیره شاهد کاهش داده‌شد (جدول ۲). به طوری‌که بر اساس هدف طرح میزان کل متیونین در جیره کاهش پیدا نمود. جیره هر تیمار به طور آزاد در اختیار پرندگان قرار گرفت. در طول دوره پرورش، برنامه نوری و دمای سالن بر اساس توصیه نژاد تنظیم گردید.

جدول۲. سطوح نانو متیونین (درصد) استفاده شده براساس نیاز در این آزمایش.

منبع متیونین	شاهد	تیمار۲	تیمار۳	تیمار۴	تیمار۵
دی ال متیونین سنتتیک	۱۰۰	۷۵	۵۰	۲۵	۰
نانو متیونین	۰	۲/۵	۵	۷/۵	۱۰
جمع	۱۰۰	۷۷/۵	۵۵	۳۲/۵	۱۰

نانو ذرات دی ال متیونین به روش سونوشیمی با استفاده از دستگاه فرا صوت (OP-Sonic UPH-400 ،آلمان) در شرایط بهینه ۳۰۰ وات، سیکل ۱۵ درصد و دمای ۲۵ درجه سیلسیوس تهیه شد. ۱۰۰ گرم پودر دی ال متیونین (شرکت مرک، آلمان) در مقیاس بالک در حضور۱۰ گرم ستیل تری متیل آمونیوم برمید$C_{19}H_{42}BrN$ (شرکت مرک، آلمان) در ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر به تعلیق درآمد و به مدت ۱۰ دقیقه در معرض تابش امواج فراصوت قرار گرفت. رسوب به‌دست آمده به کمک سانتریفوژ (PIT 320، ایران) جدا گردید و در آون خلأ (YVO 500-32، ایران) تحت خلا در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد خشک شد. نانومتیونین بدست آمده آسیاب و مقدار مورد نیاز هر تیمار توسط میکسر افقی به مدت ۳۰دقیقه با جیره کاملاً مخلوط گردید. شکل میتونین درمقیاس نانو کاملا یکنواخت و کروی و توزیع اندازه ذرات ۴۰-۳۰ نانومتر می‌باشد(Tohidiyan و همکاران، 2017).

اندازه‌گیری مصرف خوراک و افزایش وزن به صورت دوره‌ای محاسبه شد. ضریب تبدیل غذایی نیز به‌صورت دوره‌ای محاسبه و بر اساس وزن تلفات تصحیح شد. در این تحقیق کلیه اصول اخلاقی مطابق اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی مصوب شورای پژوهشی دانشگاه شهرکرد انجام گرفت. در سن ۴۰ روزگی، با توجه به میانگین وزنی تکرارها دو پرنده از هر تکرار (هر تیمار هشت قطعه جوجه) خون‌گیری و سپس کشتار گردیدند. نمونه‌های خون (سه میلی‌لیتر) از سیاهرگ بال هر پرنده گرفته شد و سرم تهیه گردید. بلافاصله عملیات پرکنی و توزین لاشه‌ها و خارج کردن امعاء و احشاء صورت پذیرفت و وزن اندام‌ها داخلی اندازه گیری شد. همچنین با تجزیه لاشه وزن ران‌ها و سینه اندازه گیری شد. برای کشتار و تقسیم‌بندی اجزاء لاشه از رویه استاندارد توصیه شده در منابع علمی (Selle و همکاران، 2003). استفاده شد. همچنین، غلظت اسید اوریک سرم و فعالیت آنزیم‌های آلکالین فسفاتاز (ALP)، آلانین آمینو ترانسفراز (ALT) و آسپارتات آمینو ترانسفراز (AST) در سرم با دستگاه اتوانالایزر (BT 3000، ایتالیا) با استفاده از کیت‌های شرکت پارس آزمون (ایران) اندازه‌گیری گردید. پرندگان تلف شده در طول آزمایش نیز کالبدگشایی گردیده و دلیل تلف شدن مورد بررسی قرار می‌گرفت.

برای بررسی ریخت شناسی روده پس از کشتن پرنده‌ها از سه قسمت روده کوچک شامل دئودنوم (دو سانتی‌متر بعد از سنگدان)، ژژنوم (دو سانتی‌متر قبل از زائده مکل به طرف دئودنوم) و ایلئوم (دو سانتی‌متر قبل از روده‌های کور به طرف ژژنوم) قطعات دو سانتی‌متری برش داده شده و با محلول نمکی

(pH=۷) شستشو و جهت تثبیت به مدت ۴۵ دقیقه در محلول کلارک قرار داده شدند. سپس نمونه‌ها در داخل محلول اتانول ۵۰ درصد نگهداری و برای رنگ‌آمیزی، داخل پریدیک اسید شیف قرار داده شد. از نمونه‌های رنگ شده زیر دستگاه لوپ (استریو میکروسکوپ) مقطع بافتی به ضخامت حدود پنج میکرون گرفته شد و توسط میکروسکوپ مجهز به عدسی مدرج با بزرگ‌نمایی ۱۰۰ Sigma Scan, Jandel Scientific, San Rafael, CA, USA)، ارتفاع پرز، عرض پرز و عمق کریپت اندازه-گیری گردید. برای به دست آوردن سطح مقطع پرزها از رابطه ۱ استفاده گردید (Khajali و همکاران، 2014).

(رابطه ۱) عرض پرز × طول پرز × (۳/۱۴) عدد پی= سطح پرز (میلی متر مربع)

کلیه داده‌ها با استفاده از نرم افزار اکسل ویرایش و جهت تجزیه و تحلیل آماری در یک طرح کاملاً تصادفی با استفاده از روش GLM توسط نرم افزار آماری SAS (نسخه ۹/۱) انجام گردید. برای مقایسه میانگین تیمارها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ استفاده شد.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از تغذیه سطوح مختلف نانومتیونین بر عملکرد رشد، مصرف خوراک و ضریب تبدیل خوراک برای دوره‌های آغازین(۱ تا ۱۰ روزگی)، رشد (۱۱ تا ۲۳ روزگی)، پایانی (۲۴ تا ۴۰ روزگی) و (۱ تا ۴۰ روزگی)کل دوره پرورش در (جدول ۳) ارائه گردید. اختلاف معنی‌داری از نظر افزایش وزن در هیچکدام از دوره‌ها مشاهده نگردید (P>۰/۰۵) . خوراک مصرفی در مرحله آغازین، رشد و پایانی اختلاف معنی‌داری نشان نداد اما در کل دوره پرورش (۱ تا ۴۰ روزگی) تیمار حاوی ۱۰ درصد نانو متیونین در مقایسه با گروه شاهد کاهش معنی‌داری را از نظرمصرف خوراک نشان می‌دهد. به‌طوری که بیشترین مصرف خوراک مربوط به تیمار شاهد و کمترین ۱۰ درصد نانو متیونین است (P<۰/۰۵).از نظر ضریب تبدیل خوراک فقط در مرحله آغازین (۱ تا ۱۰ روزگی) اختلاف معنی‌داری بین تیمار ۱۰ درصد با ۵ درصد نانو متیونین وجوددارد و در سایر دوره‌ها اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید. بر اساس رکوردهای ثبت شده از این آزمایش کاهش میزان ۲۲/۵، ۴۵، ۶۷/۵ و ۹۰ درصدی دی ال متیونین نسبت به جیره شاهد در هر مرحله از تغذیه تأثیر منفی برعملکرد نداشته است. تحقیقات نشان داده‌است که در جیره‌هایی که مقدار اسیدآمینه متیونین از سطح پیشنهادی برای آن سویه کمتر باشد میزان خوراک مصرفی و ضریب تبدیل افزایش می‌یابد و جوجه‌گوشتی به وزن مطلوب نمی‌رسد (Dilger and Baker، 2007). در صورتی که در این آزمایش با کاهش مقدار متیونین جیره در تیمارها، این فراسنجه‌ها اختلاف معنی‌داری را با تیمار شاهد نشان نمی‌دهند.

جدول ۳. تاثیر نانومتیونین (درصد) بر روی افزایش وزن، مصرف خوراک و ضریب تبدیل در جوجه های گوشتی

فراسنجه	شاهد	۲/۵	۵	۷/۵	۱۰	SEM	P-Value
مصرف خوراک(گرم/پرنده/روز)							
۱ تا ۱۰ روزگی	۱۹/۶۴	۱۸/۱۸	۲۱/۵۴	۱۸/۳۲	۱۷/۶۶	۱/۲۷	۰/۲۴
۱۱ تا ۲۳ روزگی	۶۰/۰۰	۵۷/۶۴	۵۷/۷۶	۶۰/۴۲	۶۱/۳۲	۲/۳۷	۰/۷۴
۲۴ تا ۴۰ روزگی	۱۳۱/۵۴	۱۳۰/۶۲	۱۲۲/۲۲	۱۲۸/۸۴	۱۱۹/۳۶	۴/۲۰	۰/۱۹
۱ تا ۴۰ روزگی	۸۰/۳۲^{a}	۷۸/۸۰^{ab}	۷۶/۱۲^{ab}	۷۹/۰۰^{ab}	۷۵/۰۶^{b}	۱/۵۷	۰/۰۴
افزایش وزن(گرم/پرنده/روز)							
۱ تا ۱۰ روزگی	۱۳/۰۲	۱۲/۷۲	۱۲/۲۴	۱۲/۵۸	۱۳/۰۴	۰/۴۴	۰/۶۹
۱۱ تا ۲۳ روزگی	۳۶/۳۸	۳۴/۹۶	۳۳/۴۴	۳۳/۴۰	۳۶/۳۸	۱/۳۵	۰/۵۱
۲۴ تا ۴۰ روزگی	۶۴/۳۲	۶۳/۹۴	۶۰/۹۴	۶۲/۵۲	۵۹/۱۶	۱/۸۴	۰/۲۸
۱ تا ۴۰ روزگی	۴۲/۴۰	۴۱/۷۲	۳۹/۸۲	۴۰/۵۸	۳۹/۷۴	۰/۸۶	۰/۱۶
ضریب تبدیل خوراک							
۱ تا ۱۰ روزگی	۱/۵۱^{ab}	۱/۴۴^{ab}	۱/۷۵^{a}	۱/۴۵^{ab}	۱/۳۵^{b}	۰/۱	۰/۱۱
۱۱ تا ۲۳ روزگی	۱/۶۵	۱/۶۶	۱/۷۲	۱/۸۱	۱/۷۵	۰/۰۶	۰/۴۳
۲۴ تا ۴۰ روزگی	۲/۰۴	۲/۰۴	۲/۰۰	۲/۰۶	۲/۰۲	۰/۰۳	۰/۸۴
۱ تا ۴۰ روزگی	۱/۸۹	۱/۸۹	۱/۹۱	۱/۹۴	۱/۸۹	۰/۰۳	۰/۶۹

a-b: تفاوت میانگین‌ها در هرردیف با حروف غیر مشابه معنی‌دار است (P<۰/۰۵)

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها

متیونین به‌عنوان دهنده بنیان متیل در بسیاری از مراحل سوخت‌وساز درگیر می‌شود. این اسید آمینه در ساخت کارنیتین و کراتین نقش مهمی دارد (Zhao و همکاران، 2014). تبدیل ذرات به سطح نانو باعث می‌شود خواص آنها غیر قابل پیش بینی و متفاوت در مقایسه با مقیاس بزرگ باشد. تغییر ذرات غذایی به مقیاس نانو باعث کاهش اثر آنتاگونیستی در بین کاتیون‌های دو طرفه گردیده و موجبات جذب مواد مغذی مفید برای استفاده بهتر از خوراک را فراهم می‌آورد و بنابراین پرنده می‌تواند با دریافت نیاز از مصرف خوراک خود بکاهد (Gopi و همکاران، 2017). همچنین شکل نانوی ترکیبات آلی دارای قابلیت هضم، انتقال و زیست فراهمی بالاتری می‌باشند (Bunglavan و همکاران، 2014).

از عوامل موثر در بازدهی خوراک و تولید گوشت، ایجاد توازن مناسب بین اسیدهای آمینه خوراک است. ساخت پروتئین در بدن زمانی بهینه است که همه اسیدهای آمینه مورد نیاز به صورت متوازن در دسترس باشد و کمبود یک اسید آمینه موجب کاهش بازدهی سایر اسیدهای آمینه می‌گردد و به عنوان اسید آمینه محدود کننده شناخته می‌شود. با توجه به اینکه قابلیت هضم و جذب اسیدهای آمینه سنتتیک بالا می‌باشد و از طرفی میزان ذخیره‌سازی و ماندگاری اسیدهای آمینه در بدن پائین است در نتیجه موجب افزایش سرعت اکسید شدن و تجزیه اسیدهای آمینه سنتتیک به دلیل عدم توازن اسید آمینه‌ها جهت ساخت پروتئین در بدن می‌گردد (Han و Baker، 1993). وجود مقادیر بالای اسیدهای آمینه گوگرددار در جیره به دلیل افزایش چشمگیر سولفات پلاسما و کاهش بی‌کربنات پلاسما باعث ایجاد اسیدوز متابولیکی گردیده که موجب کاهش رشد می‌گردد (Baker، 2009). از طرفی ممکن است که میزان ابقا نانو متیونین در بدن بالا باشد و همچنین سرعت تجزیه و اکسید شدن آن پایین که در

مجموع موجب کاهش نیاز به اسید آمینه متیونین گردیده است.

تأثیر سطوح مختلف نانو متیونین بر بازده لاشه و اجزای لاشه نسبت به وزن زنده در ۴۰ روزگی در (جدول ۴) نشان می‌دهد که استفاده از سطوح مختلف نانو متیونین تأثیر معنی‌داری در بازدهی لاشه، ران‌ها، کبد، قلب و طحال نسبت به وزن زنده در مقایسه به تیمار شاهد ندارد (P>۰/۰۵). اما افزایش معنی‌داری در نسبت وزن سینه در تیمارهای تغذیه شده با ۷/۵ تا ۱۰ درصد نانو متیونین در مقایسه با تیمار شاهد مشاهده می‌شود (P<۰/۰۵). همچنین از نظر وزن سینه بین تیمارهای نانو متیونین اختلاف معنی داری وجود ندارد (P>۰/۰۵). به نظر می‌رسد ترکیبات نانو با بهبود پایداری و ابقاء مواد آلی در بدن و همچنین افزایش توان آنتی اکسیدانی و حذف رادیکال‌های آزاد (Gopi و همکاران، 2017) تأثیر مثبتی در رشد سینه داشته‌است. تحقیقات نشان داده‌است تغذیه فرم نانوی عناصری مانند سلنیم (Mohapatra و همکاران، 2014)، روی (Sahoo و همکاران، 2014) و کلسیم (Balakrishnan و Vijayakumar، 2014). در جوجه‌های گوشتی نه تنها موجب بهبود عملکرد رشد و افزایش بازده خوراک، بهبود سیستم ایمنی و توان آنتی اکسیدانی گردیده است، بلکه سطح استفاده از این عناصر را در جیره نسبت به شکل معدنی آن‌ها کاهش معنی‌داری داده‌است.

جدول ٤. تاثیر نانومتیونین (درصد) بر وزن نسبی اجزای لاشه و اندام‌های داخلی جوجه‌های گوشتی (درصدی از وزن زنده)

صفت	شاهد	۲/۵	۵	۷/۵	۱۰	SEM	P-Value
لاشه	٦٩/٨١	٧٠/٩٧	٦٩/٧١	٦٩/٥٨	٦٩/٣٥	۰/٧٣	۰/٥٧
سینه	٢٢/١٥^{b}	٢٢/٨٩^{ab}	٢٢/٩٠^{ab}	٢٣/٨٥^{a}	٢٣/١٧^{a}	۰/٤٥	۰/۰۰۲
ران	٢٦/٢٠	٢٦/٤٢	٢٦/٦٧	٢٦/١٧	٢٧/١١	۰/٥٩	۰/٧٩
کبد	٢/٥٦	٢/٦٨	٢/٥٥	٢/٦٨	٢/٦٤	۰/١	۰/٨٤
قلب	۰/٦٥	۰/٦٧	۰/٥٩	۰/٦٨	۰/٦٥	۰/۰٣	۰/٤١
طحال	۰/١٢	۰/١١	۰/١٠	۰/١٠	۰/١٠	۰/۰١	۰/٦٧

a-b: تفاوت میانگین‌ها در هر ردیف با حروف غیر مشابه معنی‌دار است (P<۰/۰۵)

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها

دی ال متیونین با کاهش تجمع چربی در کبد موجب کاهش وزن کبد نسبت به لاشه می‌گردد. در جیره‌هایی که کاهش متیونین وجود دارد، به دلیل افزایش ذخیره چربی در این عضو وزن کبد پرنده افزایش می‌یابد. متیونین به‌عنوان یک اسید آمینه دهنده گروه متیل و یک عامل لیپوتروپیک میزان تجمع چربی در کبد و محوطه بطنی را کاهش می‌دهد (Takahashi و Akiba، 1995). در این آزمایش علی رغم اینکه میزان کلی متیومین جیره کاهش پیدا کرد اما وزن کلی کبد اختلاف معنی داری را در تیمارها نشان نداد که به نظر می‌رسد تیمارهای حاوی نانو متیونین عملکردی شبیه به تیمار شاهد داشتند.

افزودن متیونین به جیره‌های جوجه‌های گوشتی که از نظر این اسید آمینه متعادل نیستند موجب بهبود وزن بدن و رشد عضله سینه و راندمان خوراک و کاهش مقدار چربی محوطهٔ بطنی می‌گردد که با نتایج آزمایش حاضر منطبق است (Virtanen و Rosi، 1995). متیونین به عنوان یک اسید آمینه گلوکوژنیک موجب افزایش فعالیت بسیاری از آنزیم‌های گوارشی در پانکراس و روده می‌گردد که قابلت هضم مواد خوراکی را افزایش داده و تأمین احتیاجات با خوراک کمتری فراهم می‌شود که با نتایج آزمایش حاضر تطبیق دارد (Tang و Shay، 2001). استفاده از نانو ذرات در تغذیه حیوانات آزمایشگاهی و انسان موجب افزایش توان سیستم دفاعی بدن می‌گردد (Gopi و همکاران، 2017). طحال در سامانه دفاعی

بدن طیور دارای نقش مهمی می‌باشد و توسعه این اندام به شدت تحت تاثیر اسیدهای آمینه از جمله متیونین قرار می‌گیرد. وزن نسبی این اندام در اثر کمبود متیونین کاهش می‌یابد که موجب ضعیف شدن سامانه ایمنی جوجه‌ها و افزایش بیماری‌ها می‌گردد (Schutte و Pack، 1995). در مطالعه حاضر اگر چه میزان دی ال متیونین تا حدود ۹۰ درصد نسبت به جیره شاهد کاهش داشته‌است ولی نانو متیونین مانع کاهش وزن طحال در مقایسه با تیمار شاهد شده‌است.

مقایسه آماری (جدول ۵) نشان می‌دهد که غلظت آنزیم‌های آلانین آمینوترانسفراز، آسپارتات آمینوترانسفراز، آلکالین فسفاتاز اختلاف معنی‌داری را در بین تیمارها نشان نمی‌دهد (P>۰/۰۵). در صورت آسیب سلول‌های هپاتوسایت کبدی آنزیم‌های آلانین آمینوترانسفراز، آسپارتات آمینوترانسفراز و آلکالین‌فسفاتاز سریعاً در جریان خون آزاد گردیده و جهت تشخیص سریع آسیب‌های کبدی از آن استفاده می‌گردد (Ahmadipour و همکاران، 2018). با توجه به نتایج آزمایش حاضر می‌توان گفت که شکل نانو متیونین تأثیر مخربی بر بافت‌ها خصوصاً بافت و سلول‌های کبدی ندارد. در صورت عدم توازن اسیدهای آمینه در جیره جوجه گوشتی و عدم شرکت آنها در فرایندهای طبیعی ساخت پروتئین، در سایر مسیرهای متابولیکی مورد اکسایش قرار گرفته که موجب افزایش غلظت اسید اوریک سرم می‌گردد (Ahmadipour و همکاران، 2018). نتایج آزمایش حاضر نشان داده است که با تغذیه نانو متیونین و کاهش مقدار دی ال متیونین جیره از نظر غلظت اسید اوریک سرم اختلاف معنی‌داری در بین تیمارها مشاهده نمی‌گردد.

جدول ۵. تاثیر نانومتیونین (درصد) بر فعالیت آنزیم‌های کبدی و غلظت اسید اوریک سرم جوجه‌های گوشتی

صفت	شاهد	۲/۵	۵	۷/۵	۱۰	SEM	P-Value
ALT (واحد بین‌المللی/لیتر)	۱۰/٦۵	۱۱/۵۵	۱۱/٤۳	۱۲/۲٤	۱۲/۲۳	۱/۰۷	۰/۸۲
ALP (واحد بین‌المللی/لیتر)	٦٦۳۳	۵۸٤۳	۷۷۳۷	۵٦۳۹	۵۷۱۱	۱۱۲۳	۰/٦٤
AST (واحد بین‌المللی/لیتر)	۳۹۱/۰۸	٤۲۹/۰۵	٤۳۰	٤۸۲/۰۵	۵۱۳/۳٦	٤٤/٤۵	۰/۳۳
Uric acid (میلی‌گرم/دسی لیتر)	٤/۷۳	٤/۵۳	۵/۱۵	٤/۹۹	٤/۵٦	۰/۲۳	۰/۲۷

ALT: آلانین آمینوترانسفراز، AST: ، آسپارتات آمینوترانسفراز، ALk: آلکالین فسفاتاز، Uric acid: اسید اوریک.

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها

تأثیر سطوح مختلف استفاده از نانو متیونین در ریخت شناسی روده کوچک جوجه‌های گوشتی در سن ۴۰ روزگی در (جدول ۶) نشان داده شده است. همان طور که نتایج نشان می‌دهد ارتفاع، عرض و عمق پرزها در قسمت دئودنوم و ژژنوم روده کوچک در تیمارها تفاوت معنی‌داری را نشان نمی‌دهد (P>۰/۰۵). اما سطح پرز در قسمت‌های دئودنوم و ایلئوم و ارتفاع، عرض و عمق کریپت در قسمت ایلئوم روده کوچک اختلاف معنی‌داری را بین تیمارها نشان می‌دهد(P<۰/۰۵). با کاهش ۶۷/۵ و ۹۰ درصدی متیونین سنتتک در جیره و استفاده از سطوح ۷/۵ و ۱۰ درصدی نانومتیونین ارتفاع، عرض و سطح پرز در قسمت ایلئوم افزایش و عمق کریپت کاهش می‌یابد. همچنین سطح پرز ناحیه دئودنوم در این سطوح افزایش پیدا کرده‌است.

جدول ٦. تاثیر نانومتیونین (درصد) بر ریخت شناسی روده جوجه‌ها

		شاهد	۲/۵	۵	۷/۵	۱۰	SEM	P-Value
دئودنوم	ارتفاع (میلی‌متر)	۱/۶۵	۱/۷۲	۱/۷۸	۱/۷۳	۱/۷۸	۰/۰۵	۰/۴۳
	عرض (میلی‌متر)	۰/۹۳	۰/۹۵	۰/۹۴	۰/۹۵	۱/۰۶	۰/۰۵	۰/۳۵
	عمق (میلی‌متر)	۱/۶۵	۱/۵۸	۱/۵۸	۱/۵۹	۱/۵۸	۰/۰۴	۰/۷۵
	سطح پرز (میلی‌متر مربع)	$۴/۸۲^{b}$	$۵/۱۴^{ab}$	$۵/۲۷^{ab}$	$۵/۲۱^{ab}$	$۶/۰۲^{a}$	۰/۳۴	۰/۰۳
ژژنوم	ارتفاع (میلی متر)	۱/۳۱	۱/۳۴	۱/۳۴	۱/۳۷	۱/۴۲	۰/۰۴	۰/۵۵
	عرض (میلی‌متر)	۰/۹۷	۰/۹۸	۱/۰۰	۱/۰۱	۱/۰۱	۰/۰۲	۰/۸۹
	عمق (میلی‌متر)	۱/۳۹	۱/۳۲	۱/۳۱	۱/۲۹	۱/۲۷	۰/۰۳	۰/۲۴
	سطح پرز (میلی متر مربع)	۴/۰۴	۴/۱۱	۴/۲۲	۴/۳۶	۴/۵۲	۰/۲۱	۰/۵۳
ایلئوم	ارتفاع (میلی‌متر)	$۰/۸۸^{b}$	$۰/۹۶^{ab}$	$۱/۰۳^{a}$	$۱/۰۵^{a}$	$۱/۰۶^{a}$	۰/۰۳	۰/۰۰۵
	عرض(میلی‌متر)	$۰/۶۴^{b}$	$۰/۶۹^{ab}$	$۰/۷۱^{ab}$	$۰/۷۵^{a}$	$۰/۷۵^{a}$	۰/۰۲	۰/۰۳
	عمق (میلی‌متر)	$۱/۰۵^{a}$	$۰/۹۹^{ab}$	$۰/۹۷^{ab}$	$۰/۹۳^{ab}$	$۰/۹۱^{b}$	۰/۰۳	۰/۰۱
	سطح پرز (میلی‌متر مربع)	$۱/۷۸^{c}$	$۲/۰۷^{bc}$	$۲/۲۷^{ab}$	$۲/۴۹^{a}$	$۲/۴۷^{a}$	۰/۱۲	۰/۰۰۰۴

a-b: تفاوت میانگین‌ها در هر ردیف با حروف غیر مشابه معنی‌دار است ($P<۰/۰۵$)

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها

به نظر می‌رسد افزایش سطح جذب پرزهای روده کوچک جوجه‌های تغذیه شده با نانو متیونین باعث افزایش جذب و درنتیجه افزایش قابلیت دسترسی مواد مغذی برای جوجه‌ها می‌شود که این عامل شاید دلیلی برای کاهش معنی‌دار خوراک مصرفی در تحقیق حاضر باشد. کاهش عمق کریپت نشان‌دهنده فرسایش کمتر پرزها است که انرژی ذخیره‌شده از کاهش میزان بازچرخش سلول‌های بافت پوششی می‌تواند توسط پرنده صرف تولید بافت-های دیگر و در نتیجه افزایش رشد شود (Bradley و همکاران، 1994). ترکیبات آنتی‌اکسیدانی از تخریب سلول‌های بافت پوششی روده جلوگیری نموده و درنتیجه باعث افزایش رشد سلول‌های بافت پوششی روده می‌گردند (Mille و همکاران، 2001). متیونین به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان عمل نموده و مانع از پراکسیداسیون لیپیدی می‌گردد و نقش مهمی در حفظ ساختار غشای سلولی ایفا می‌کند (Kim و همکاران، 2014). حیواناتی که از لحاظ متیونین کمبود داشته باشند نسبت به استرس اکسیداتیو حساس‌تر بوده و تراکم رادیکال‌های آزاد در بدن افزایش می‌یابد (Zhao و همکاران، 2014). همچنین ترکیبات نانو موجب افزایش توان آنتی اکسیدانی بدن می‌گردند (Gopi و همکاران، 2017). بر اساس تحقیقات مکانیسم‌های عمل ذرات نانو به گونه‌ای می‌باشد که موجب افزایش سطح دسترسی بیولوژیکی مواد، طولانی شدن زمان ماندگاری مواد در دستگاه گوارش، نفوذ عمیق به بافت از طریق مویرگ، جذب کار آمد توسط سلول و تحویل کارآمدتر ترکیبات در بافت هدف می‌گردند (Chen و همکاران، 2006). نکته قابل توجه در ریخت شناسی روده تأثیر مثبت نانو متیونین در قسمت ایلئوم روده است که به نظر می‌رسد نانو متیونین برخلاف دی ال متیونین ماندگاری بیشتری در روده کوچک داشته باشد.

تأمین سلامت دستگاه گوارش و به دنبال آن بهبود وضعیت پرزهای روده از مهمترین موارد مؤثر بر بهره‌وری مواد خوراکی و به دنبال آن رشد پرندگان می‌باشد که افزودن دی ال متیونین به جیره جوجه‌های گوشتی موجب افزایش غیر معنی‌دار طول پرز و نسبت طول پرز به عمق کریپت شد اما افزایش معنی‌دار عرض پرز را به همراه داشته است (Shen و همکاران، 2015). در مطالعه حاضر به‌وضوح دیده شد که جایگزینی دی ال متیونین با نانو متیونین سبب بهبود ساختار ریخت شناسی روده در راستای افزایش بازدهی خوراک در جوجه‌ها گردیده‌است.

جدول ۷. تاثیر نانومتیونین (درصد) بر تلفات و ماندگاری جوجه‌ها (یک تا ٤٠ روزگی).

صفت	شاهد	۲/۵	۵	۷/۵	۱۰	SEM	P-Value
درصد تلفات	۹	۸	۸	۷	۷	۱/۱۸	۰/۷۳
درصد ماندگاری	۹۱	۹۲	۹۲	۹۳	۹۳	۱/۱۸	۰/۷۳

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها

تأثیر نانومتیونین بر میزان تلفات و ماندگاری در (جدول ۷) نشان داده شده است که از نظر آماری دارای اختلاف معنی‌داری از نظر این صفات بین تیمارها وجود ندارد (P>۰/۰۵). با توجه به اینکه آزمایش در ارتفاع ۲۱۰۰ متری از سطح دریا انجام گرفت و بصورت طبیعی کمبود فشار اکسیژن در این ارتفاع موجب درگیری جوجه‌های گوشتی با ناهنجاری متابولیکی فشار خون ریوی می‌گردد (Ahmadipour و همکاران، 2018). براساس بررسی حدود ۵۰ درصد از تلفات تیمارها مربوط به عارضه‌ی آسیت بود.بنابراین هر چند در تیمارهای ۲ تا ۵ مقدار متیونین جیره کاهش یافته‌است، اما با استفاده از فرم نانو اختلافی از نظر تلفات بین تیمارها مشاهده نشد.

نتیجه گیری

به‌طور کلی با تیدیل دی ال متیونین به شکل نانو و استفاده از نانو متیونین در جیره جوجه‌های گوشتی سطح کلی متیونین جیره در تیمارها کاهش پیدا نمود. اما تأثیر منفی بر فراسنجه‌های عملکردی، سرمی و ریخت شناسی روده نداشت. بلکه موجب بهبود برخی از فراسنجه‌ها از جمله خوراک مصرفی، وزن سینه و سطح جذب پرزهای ایلئوم و کاهش متیونین مصرفی در جیره گردید. فرم نانوی این اسید آمینه از نظر نحوه جذب، قابلیت دسترسی و از نظرخارج شدن از دسترس با کتریها قابلیت بیشتری داشته باشد. لذا بر اساس این تحقیق استفاده از سطوح ۷/۵ و ۱۰ درصد فرم نانوی متیونین در جیره موجب کاهش سطح نیاز جوجه‌های گوشتی به اسید آمینه متیونین گردید و با استفاده از این فرم نیاز کلی متیونین در جیره کاهش پیدا نمود .

تشکر و قدردانی

بدینوسیله نویسندگان از حمایت‌های مالی دانشگاه شهرکرد سپاسگزاری می‌نمایند.

منابع

جوزدانی، ح.، حسینی، ع. و لطف الهیان، ه. (۱۳۹۳). تعیین نیاز متیونین جوجه‌های گوشتی آرین با استفاده از پاسخ‌های عملکردی در دوره آغازین. نشریه پژوهش و سازندگی. شماره ۱۰۵. ص ۱۲۸-۱۲۱.

رحیمی طارمی، م.، مهدیزاده، م. و حسینی، ع. (۱۳۹۴). تعیین نیاز متیونین جوجه‌های گوشتی سویه آرین در دوره رشد با استفاده از صفات عملکردی. نشریه پژوهش و سازندگی. شماره ۱۶. ص ۸۴-۷۷.

Ahmadipour, B., Sharifi, M. and khajali, F. (2018). Pulmonary hypertensive response of broiler chickens to arginine and guanidinoacetic acid under high-altitude hypoxia. *Acta Veterinaria Hungarica*. 66:116-24

Baker, D.H. (2009) Advances in protein–amino acid nutrition of poultry. *Amino Acids*. 37:29–41.

Bhupinder, S. (2010). Food nanotechnology – an overview. *Nanotechnology, Science and Applications*. 3: 1–15.

Bradley, G.L, Sgvage, T.F. and Timm, K.I. (1994). The effect of supplementing diets with *Saccharomyces cervisiae var. Boulardi* on male poult performance and ileal morphology. *Poultry Science*. 73: 1766-1770.

Chen, H., Weiss, J. and Shahidi, F. (2006). Nanotechnology in nutraceuticals and functional foods. *Food technology*. 3:30-36

Cobb 700. (2012). Broiler performance and nutrition supplement. Cobb- Vantress. [accessed 2018 Jan]. http://www.cobb-vantress.com/docs/default-source/cobb-700 guides/cobb700_broiler_performance_ nutrition_supplement_english9294AABB12 037B70EE475E39.pdf.

Dilger, R.N. and Baker, D.H. (2007). DL-Methionine is as efficacious as L-methionine, but modest L-cystine excesses are anorexigenic in sulfur amino acid-deficient purified and practical-type diets fed to chicks. *Poultry Science*. 86: 2367-2374.

Ditscheid, B., Funfstuck, R., Busch, M., Schubert, R., Gerth, J. and Jahreis, G. (2005). Effect of Lmethionine Supplementation on Plasma Homocysteine and other Free Amino Acids: a Placebo-Controlled Double-Blind Cross-Over Study. *European Journal of Clinical Nutrition*. 59: 768-775.

Esrafili, L., Gharib, M., Morsali, A. and Retailleau, P. (2020). Rational Morphology Control of Nano-Scale Amide Decorated Metal-Organic Frameworks by Ultrasonic Method: Capability to Selective and Sensitive Detection of Nitro Explosives, Ultrason Sonochem.

Gopi, M., Pearlin, B., DhineshKumar, R., Shanmathy, M. and Prabakar, G. (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: 724-731.

Han, Y. and Baker, D.H. (1993). Effects of Excess Methionine or Lysine for Broilers Fed a Corn-Soybean Meal Diet. *Poultry Science*. 72: 1070-1074.

Khajali, F., Heydary Moghaddam, M. and Hassanpour, H. (2014). An L-Arginine supplement improves broiler hypertensive response and gut function in broiler chickens reared at high altitude. *International Journal of Biometeorology*. 58: 1175-1179.

Kim, D., An, A., Oh, S., Keum, M.C., Lee, S., Um, J.S., Ayasan, T. and Lee, K.W. (2019). Effects of different methionine sources on growth performance, meat yield and blood characteristics in broiler chickens. Journal of Applied Animal Research. 47:230-235.

Kim, G., Weiss, S.J. and Levine, R.L. (2014). Methionine oxidation and reduction in proteins. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1840: 901-905.

Mille, M., Angeles, F., Reuter, B., Bobrowski, P and Sandoval, M. (2001). Dietary antioxidants protect gut epithelial cells from oxidant-induced apoptosis. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 1: 11-17

Mohapatra, P., R.K. Swain, S.K. Mishra, T. Behera, P. Swain, N.C. Behura, G. Sahoo, K. Sethy, B.P. Bhol and K. Dhama. (2014). Effects of Dietary Nano-Selenium Supplementation on the Performance of Layer Grower Birds. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances*. 9:641-652

NRC. (1994). Nutrient requirements of poultry. 9th rev. ed. Washington, DC: Natl. Acad. Press.

Panyam, J. and Labhasetwar. V. (2003). Biodegradable nanoparticles for drug and gene delivery to cells and tissue. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 55:329-47.

Ross 308. (2018). Ross 308 broiler: nutrition specifications. Aviagen. [accessed 2018 Jan]. http://en.aviagen.com/assets/Tech_Center/Ross_Broiler/Ross308BroilerNutritionSpecs2014-EN.pdf.

Sahoo, A., Swain R.K., Mishra. S.K. (2014). Effect of inorganic, organic and nano zinc supplemented diets on bioavailability and immunity status of broilers. *International Journal of Advanced Research*. 2: 828-837

SAS (2007) SAS User's Guide: Statistics. 9.1 Edition. SAS Institute Inc. Cary, NC.

Schutte, J.B. and Pack, M. (1995). Sulfur amino acid requirement of broiler chicks from fourteen to thirty eight days of age. *Poultry Science*. 74: 480-487.

Selle, P.H., Bryden, W.L., Pittolo, P.H., Ravindran, G. and Ravindran, V. (2003). Influence of phytase and xylanase supplementation on growth performance and nutrient utilisation of broilers offered wheat-based diets. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*. 16: 394-402.

Shen, Y.B., Ferket, P., Park, I., Malheiros, R.D. and Kim, S.W. (2015). Effects of feed grade L-methionine on intestinal redox status, intestinal development, and growth performance of young chickens compared with conventional DL-methionine. *Journal of Animal Science*. 93: 2977–2986.

Shi, L., Xun, W., Yue, W., Zhang, C., Ren, Y., Shi, L., Wang, Q., Yang, R. and Lei, F. (2011). Effect of sodium selenite, Se-yeast and nano-elemental selenium on growth performance. *Small Ruminant Research*. 96:49–52.

Takahashi, K. and Akiba, Y. (1995). Effect of methionine supplementation on lipogenesis and lipolysis in broiler chickens. *Japenese journal of Poultry Science*. 32: 99-106.

Tang, X. and Shay, N.V. (2001). Zinc has an insulin-like effect on glucose transport mediated by phosphoinosita3- kinase and Akt in 323-L1 fibroblast and adipocytes. *Nutrition*. 131: 1414-1420.

Tohidiyan, Z., Sheikhshoaie, I. and Khaleghi, M. (2017). A novel copper (II) complex containing a tetradentate Schiff base: Synthesis, spectroscopy, crystal structure, DFT study, biological activity and preparation of its nano-sized metal oxide. *Journal of Molecular Structure*. 1134: 706-714.

UFFDA (1992). User Friendly Feed Formulation. University of Georgia, Athens, GA.

Vijayakumar, M.P. and Balakrishnan, V. (2014). Effect of Calcium Phosphate Nanoparticles Supplementation on Growth Performance of Broiler Chicken. *Indian Journal of Science and Technology*. 7:1149–1154.

Virtanen, E. and Rosi, L. (1995). Effects of betaine on methionine requirement of broiler under various environmental conditions. in Processing of Australian Poultry Science Symposium, Uiversity of Sydney, Sydney NSW, Australia. Pages 88-92.

Xue, X., Yongxia, W., Weilong, .L, Tingting, J. and Xiuan, Z. (2017). Effects of different methionine sources on production and reproduction performance, egg quality and serum biochemical indices of broiler breeders. *Asian Australasian Journal of Animal Sciences*. 6:828-833.

Zhao, C.Y., Tan, S.X., Xiao, X.Y., Qiu, X.S., Pan, J.Q. and Tang, Z.X. (2014). Effects of dietary zinc oxide nanoparticles on growth performance and antioxidative status in broilers. *Biological Trace Element Research*. 160: 361–367.