

تأثیر منابع مختلف مس بر عملکرد، سیستم ایمنی و خصوصیات استخوان جوجه‌های گوشتی

• نوار احمد کاظم^۱، محسن دانشیار^۱ (نویسنده مسئول)، عباس نیکو^۲، غلامرضا نجفی^۳، سید میثم ابطحی فروشانی^۴

- ۱- گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ایران
- ۲- گروه شیمی آلی، دانشکده شیمی، دانشگاه ارومیه، ایران
- ۳- گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ایران
- ۴- گروه ایمنونولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ایران

تاریخ دریافت: فروردین ۱۴۰۴ تاریخ پذیرش: تیر ۱۴۰۴

شماره تماس نویسنده مسئول: ۰۹۱۴۱۴۰۲۷۵۹

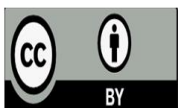
Email: daneshyar@urmia.ac.ir

شناسه دیجیتال (DOI): 10.22092/ASJ.2025.368584.2465

چکیده

تحقیق حاضر با هدف بررسی اثر منابع مختلف مس (سولفات مس، مس متیونین، دی هیدروژن فسفات مس، کربوهیدرات مس و نانوذرات مس) بر عملکرد، خصوصیات لاشه، سیستم ایمنی و خصوصیات استخوان جوجه‌های گوشتی انجام شد. سیصد قطعه جوجه گوشتی نر یک روزه سویه راس ۳۰۸ در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با ۵ تیمار و ۶ تکرار ۱۰ قطعه‌ای استفاده گردید. تغذیه جیره حاوی مس متیونین، دی هیدروژن فسفات مس و نانوذرات مس باعث افزایش وزن بدن در مقایسه با تیمار شاهد شد. همچنین تغذیه با جیره حاوی مس متیونین و دی هیدروژن فسفات مس، ضریب تبدیل خوراک پایین‌تری نسبت به تیمار شاهد داشتند. وزن بورس فابریوس در جوجه‌های گوشتی که با جیره حاوی مس متیونین، دی هیدروژن فسفات مس و نانوذرات مس تغذیه شدند، به‌طور معنی‌دار بیشتر از تیمار شاهد بود. استفاده از مس متیونین در تغذیه جوجه‌های گوشتی باعث افزایش وزن و قطر استخوان درشت‌نی نسبت به سایر تیمارهای آزمایشی شد. استفاده از جیره حاوی دی هیدروژن فسفات مس و کربوهیدرات مس باعث افزایش ازدیاد حساسیت تأخیری در مقایسه با تیمار شاهد، مس متیونین و نانوذرات مس شد. پاسخ SRBC در پرندگان تغذیه شده با مس متیونین، دی هیدروژن فسفات مس و کربوهیدرات مس بیشتر از پرندگان تغذیه شده با جیره شاهد و نانوذرات مس بود. با توجه به اثر مثبت مس متیونین بر عملکرد و خصوصیات استخوان و اثر دی هیدروژن فسفات مس بر بهبود سیستم ایمنی، جایگزینی سولفات مس با این منابع آلی در تغذیه جوجه‌های گوشتی توصیه می‌شود.

واژه‌های کلیدی: استخوان درشت‌نی، پاسخ ایمنی، جوجه گوشتی، عملکرد، مس آلی.



Research Journal of Livestock Science No 151 pp: 3-14

The effect of different copper sources on performance, immune system and bone properties of broiler chickensBy: Navar Ahmad Kazem¹, Mohsen Daneshyar¹, Abas Nikoo², Gholamreza Najafi³, Seyyed Meysam Abtahi Froushani⁴

1: Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran

2: Department of Organic Chemistry, Faculty of Chemistry, Urmia University, Urmia, Iran

3: Department of Basic Science, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran.

4: Division of Immunology, Department of Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran

Received: April 2025**Accepted: July 2025**

A total of 300 one-day-old male broilers (Ross 308) were used in present study to investigate the effect of different copper sources (copper sulfate, copper methionine, copper dihydrogen phosphate, copper carbohydrate and copper nanoparticles) on performance, carcass characteristics, immune system and bone characteristics of broiler chickens. The results showed that feeding broilers with diets containing copper methionine, copper dihydrogen phosphate, and copper nanoparticles increased body weight compared to the control treatment ($P<0.05$). Also, broilers fed diets containing copper methionine and copper dihydrogen phosphate had lower feed conversion ratios than the control treatment ($P<0.05$). Carcass weight, breast and thigh weights, and internal organs were not affected by the experimental treatments, but the weight of the bursa of Fabricius in broilers fed diets containing copper methionine, copper dihydrogen phosphate, and copper nanoparticles was significantly higher than the control treatment ($P<0.05$). The use of copper methionine in broiler feeding increased tibia bone weight and diameter compared to other experimental treatments ($P<0.05$). Feeding broilers with diets containing copper dihydrogen phosphate and copper carbohydrate increased delayed hypersensitivity compared to control, copper methionine, and copper nanoparticles ($P<0.05$). SRBC responses in birds fed copper methionine, copper dihydrogen phosphate, and copper carbohydrate were significantly higher than in birds fed control and copper nanoparticles ($P<0.05$). In general, considering the positive effect of copper methionine on bone function and properties and the effect of copper dihydrogen phosphate on improving the immune system, replacing copper sulfate with these organic sources in broiler diets is recommended.

Key words: Tibia bone, Immune response, Broiler, Performance, Organic copper**مقدمه**

مس یک عنصر کم نیاز ضروری برای نگهداری، رشد، سلامت و بقای طیور است. مس به عنوان عاملی برای چندین متالوآنزیم، در بسیاری از فرآیندهای بیولوژیکی، مانند تنفس میتوکندری، تولید گلبول‌های قرمز خون، بلوغ بافت همبند، مهار رادیکال‌های آزاد، مسیرهای ترشح هورمون، سیستم ایمنی و غیره درگیر است (Gaetke و همکاران، ۲۰۱۴). کمبود مس اهداف عملکرد و پاسخ ایمنی را به خطر می‌اندازد (Prohaska و Lukasewycz، ۱۹۹۰) و منجر به اختلالات سیستم اسکلتی در جوجه‌های گوشتی در حال رشد می‌شود (Muszyński و همکاران، ۲۰۱۸). جیره غذایی با

کمبود مس منجر به کاهش استحکام استخوان و در نتیجه شکستگی می‌شود (Gau و همکاران، ۲۰۲۱). این پدیده به کاهش فعالیت استوبلاست‌ها نسبت داده می‌شود در حالی که فعالیت استئوکلاست‌ها طبیعی باقی می‌ماند (Shen و همکاران، ۲۰۲۲). بنابراین، فرآیند تشکیل استخوان نیاز به تامین مناسب مس در طول زندگی پرنده دارد (Palacios، ۲۰۰۶). در آخرین ویرایش تجدید نظر شده نیازهای غذایی طیور (NRC، ۱۹۹۴)، نیاز جوجه‌های گوشتی به مس ۸ میلی گرم بر کیلو گرم جیره برای جلوگیری از علائم کمبود و حمایت از رشد تخمین زده شد. علی‌رغم اهمیت آن به عنوان یک مرجع، این

Daylami و همکاران (۲۰۲۲) تغذیه جوجه‌های گوشتی با ۳۰ میلی گرم بر کیلو گرم سولفات مس باعث افزایش وزن بدن در مقایسه با اکسید مس، نانوذرات اکسید مس شد. در مقابل نشان داده شده است که ضریب تبدیل خوراک در جوجه‌های تغذیه شده با جیره حاوی پروپیونات مس در مقایسه با گروه سولفات مس بهتر بود و غلظت منگنز و روی در استخوان درشت نی پرندگان تغذیه شده با پروپیونات مس بیشتر بود (Ferreira Júnior و همکاران، ۲۰۲۲). به طور مشابه در مطالعه Ibrahim و همکاران (۲۰۲۲) جوجه‌های تغذیه شده با ۱۲۵ میلی گرم بر کیلو گرم مس آلی (نیترات مس) به طور قابل توجهی عملکرد رشد را در مقایسه با سولفات مس بهبود بخشید. از سویی دیگر Deo و همکاران (۲۰۲۳) گزارش کردند که منابع مختلف مس (سولفات مس، کلرید مس و مس پروپیونات) تأثیری بر عملکرد جوجه‌های گوشتی ندارند، با این حال پروپیونات مس باعث کاهش دفع روی و آهن در فضولات و افزایش میزان مس درشت نی نسبت به سولفات مس و کلرید مس شد. با توجه به این که سطوح توصیه شده مس برای جوجه‌های گوشتی بر حسب سولفات مس بیان شده است، استفاده از منابع آلی به دلیل زیست فراهمی بالاتر احتمالاً پاسخ‌های متفاوتی را نشان می‌دهد. بنابراین، مطالعه حاضر با هدف بررسی اثرات منابع مختلف مس در جیره جوجه‌های گوشتی بر عملکرد، خصوصیات لاشه، کیفیت استخوان و پاسخ ایمنی انجام شد.

مواد و روش‌ها

جهت انجام این تحقیق از تعداد ۳۰۰ قطعه جوجه گوشتی نر یک روزه سویه راس ۳۰۸ با میانگین وزن یک روزگی $42/75 \pm 0/47$ گرم استفاده شد. این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۵ تیمار و ۶ تکرار در هر تیمار اجرا شد و در هر تکرار (قفس) ۱۰ قطعه جوجه به طور تصادفی قرار داده شد. تیمارهای آزمایشی بر پایه ذرت-کنجاله سویا و شامل (۱) جیره حاوی ۱۶ میلی گرم سولفات مس (جیره شاهد)، (۲) جیره حاوی ۱۶ میلی گرم مس متیونین، (۳) جیره حاوی ۱۶ میلی گرم دی هیدروژن فسفات مس، (۴) جیره حاوی ۱۶ میلی گرم کربوهیدرات مس و (۵) جیره حاوی ۱۶ میلی گرم نانوذرات مس بودند. جیره‌ها بر اساس جداول احتیاجات غذایی نژاد راس ۳۰۸ سال ۲۰۱۹ تنظیم و توسط نرم‌افزار جیره نویسی UFFDA فرموله شدند.

تخمین مورد انتقاد می‌باشد زیرا داده‌های منابع چهار دهه پیش نشان می‌دهد که نیاز پرندگان و عملکرد تولیدی آن‌ها بسیار متفاوت از پرندگان مدرن امروز است (Day, McNaughton, ۱۹۷۹).

مکمل مس به طور معمول به صورت سولفات مس ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) یا به میزان کمتر، به شکل سایر نمک‌های معدنی مانند اکسیدها و کربنات استفاده می‌شود. پیوندهای یونی عناصر کم‌نیاز معدنی بسیار ضعیف هستند و یون فلز را قادر می‌سازد تا در تماس با آب به طور کامل از مولکول سولفات یا اکسید جدا شود (Nguyen و همکاران، ۲۰۲۱). این واقعیت باعث تعامل با سایر اجزای جیره غذایی می‌شود و جذب آن‌ها را محدود می‌کند و در نتیجه عناصر کم‌نیاز دفع شده در محیط را افزایش می‌دهد (Olukosi و همکاران، ۲۰۱۸). از این رو، در صنعت طیور بر اساس زیست فراهمی بالاتر اشکال آلی، تمایل به سمت عناصر کم‌نیاز آلی تغییر کرده است (Olgun و همکاران، ۲۰۲۴). عناصر کم‌نیاز آلی کمپلکس‌ها یا کیلات‌هایی هستند که توسط عناصر کم‌نیاز معدنی و کمپلکس‌های آلی مانند پروتئین‌ها، اسیدهای آمینه، اسیدهای آلی، پپتیدهای کوچک، پلی ساکاریدها و مشتقات این ترکیبات تشکیل می‌شوند. عناصر کم‌نیاز آلی قابلیت دسترسی زیستی بالاتری نسبت به عناصر کم‌نیاز معدنی دارند زیرا می‌توانند از راه‌های انتقال دیگر مانند کانال‌های انتقال اسید آمینه جذب شوند (Bai و همکاران، ۲۰۰۸). این مزیت را می‌توان به دلیل ساختار کریستالی که توسط پیوندهای کووالانسی قوی‌تر بین گروه‌های هیدروکسیل متعدد و یون‌های کلرید به جای لیگاند‌های حاوی کربن در اشکال یونی ایجاد می‌شود، توضیح داد (Nguyen و همکاران، ۲۰۲۱). در نتیجه، حلالیت عناصر کم‌نیاز آلی در محلول‌های خنثی یا آب، کمتر و در محلول‌های اسیدی، مانند قسمت بالایی روده کوچک، بیشتر است (Villagómez-Estrada و همکاران، ۲۰۲۱). این منجر به واکنش پذیری کمتر عناصر کم‌نیاز آلی با سایر مواد غذایی در مقایسه با منابع یونی می‌شود (Nguyen و همکاران، ۲۰۲۱؛ Yu و همکاران، ۲۰۲۱). از این رو عناصر کم‌نیاز آلی با تأخیر از دستگاه گوارش انتشار پیدا می‌کنند و منجر به بهبود جذب و در نتیجه کاهش دفع آن‌ها در محیط می‌شود (Olukosi و همکاران، ۲۰۱۹).

در رابطه با پاسخ جوجه‌های گوشتی به منابع مختلف مس نتایج متناقضی گزارش شده است. به طوری که بر اساس گزارش

مس متیونین، دی هیدروژن فسفات مس، کربوهیدرات مس و نانوذرات مس به ترتیب دارای غلظت مس ۱۷/۶۵، ۳۹/۸۳، ۱۳/۵۹ و ۷۹/۸۸ درصد بودند (جدول ۲). منابع مختلف مس از شرکت دانش پژوهان نوین خوراک تامین شد. برای اندازه گیری محتوای مس از آنالایزر فلورسانس اشعه ایکس (مدل XRF، Magix PRO-PW 2440، فیلیپس، آمستردام، هلند) استفاده شد.

جیره های تنظیم شده مورد استفاده در دوره های آغازین (۱-۱۰ روزگی)، رشد (۱۱-۲۴ روزگی) و پایانی (۲۵-۴۲ روزگی) در جدول ۱ ارائه شده است. در کل دوره پرورش خوراک و آب بصورت آزاد در اختیار پرندگان قرار گرفت. برنامه های مدیریت پرورش شامل نور، تهویه، دما، تراکم و بستر برای همه تیمارها یکسان و طبق استاندارد توصیه شده اجراء شدند.

جدول ۱- اجزاء و ترکیبات شیمیایی جیره های مورد استفاده در دوره آغازین، رشد و پایانی

اجزاء جیره (درصد)	آغازین (۱ تا ۱۰ روزگی)	رشد (۱۱ تا ۲۴ روزگی)	پایانی (۲۵ تا ۴۲ روزگی)
ذرت	۵۳/۳۷	۵۳/۹۸	۶۰/۸۴
کنجاله سویا	۳۹/۶۹	۳۹/۲۱	۳۳/۳۲
روغن سویا	۲/۳۱	۳/۱۷	۲/۵۲
دی کلسیم فسفات	۱/۸۷	۱/۴۵	۱/۱۵
کربنات کلسیم	۱/۰۸	۰/۸۱	۰/۷۷
لیزین	۰/۳۲	۰/۱۶	۰/۱۹
متیونین	۰/۲۵	۰/۱۹	۰/۱۸
ترئونین	۰/۱۹	۰/۱۱	۰/۱۰
بی کربنات سدیم	۰/۱۳	۰/۱۴	۰/۱۴
نمک	۰/۲۸	۰/۲۸	۰/۲۸
مکمل ویتامینی	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵
مکمل معدنی	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵
مواد مغذی محاسبه شده			
انرژی قابل متابولیسم (Kcal/Kg)	۲۹۰۰	۲۹۶۰	۳۰۱۰
پروتئین خام (%)	۲۱/۲۶	۲۰/۸۶	۱۸/۹۲
کلسیم (%)	۰/۹۲	۰/۷۳	۰/۶۳
فسفر قابل دسترس (%)	۰/۴۹	۰/۴۱	۰/۳۵
سدیم (%)	۰/۱۷	۰/۱۷	۰/۱۷
کلر (%)	۰/۲۰	۰/۲۰	۰/۲۰
متیونین قابل هضم (%)	۰/۵۶	۰/۴۹	۰/۴۷
متیونین + سیستئین قابل هضم (%)	۰/۹۷	۰/۹۰	۰/۸۴
لیزین قابل هضم (%)	۱/۲۸	۱/۱۴	۱/۰۵
ترئونین قابل هضم (%)	۰/۸۵	۰/۷۷	۰/۷۰
آرژنین قابل هضم (%)	۱/۳۶	۱/۳۵	۱/۲۰
والین قابل هضم (%)	۰/۹۹	۰/۹۹	۰/۹۰
تعادل الکترولیتی (mEq/kg)	۲۵۹/۹۳	۲۵۵/۹۶	۲۳۲/۲۲

مکمل ویتامینی به ازای هر کیلوگرم جیره غذایی موارد زیر را ارائه می کند: ۱۰۰۰۰ واحد بین المللی رتینول، ۴۵۰۰ واحد بین المللی کوله کلسیفرول، ۶۵ میلی گرم α-توکوفرول، ۳ میلی گرم منادین، ۲/۵۰ میلی گرم تیامین، ۶/۵۰ میکروگرم ریوفلاوین، ۳/۲۰ میلی گرم پیریدوکسین، ۱۷ میلی گرم سیانو کوبالامین، ۱/۹۰ میلی گرم اسید فولیک، ۱۸۰ میکروگرم بیوتین، ۱۸ میلی گرم کلسیم پانتوتات، ۶۰ میلی گرم اسید نیکوتینیک. مکمل معدنی به ازای هر کیلوگرم جیره غذایی موارد زیر را فراهم می کند: ۱۲۰ میلی گرم منگنز (سولفات منگنز)، ۱۱۰ میلی گرم روی (اکسید روی)، ۱/۲۵ میلی گرم ید (یدات پتاسیم)، ۲۰ میلی گرم آهن (سولفات آهن)، ۱۶ میلی گرم مس (سولفات مس)، ۰/۳۰ میلی گرم سلنیوم (سلنیت سدیم).

جدول ۲- غلظت مس جیره‌های آزمایشی ارائه شده توسط منابع مختلف

تیمار	غلظت (درصد)	مقدار مکمل (میلی گرم در کیلوگرم)	سطح مس ارائه شده (میلی گرم در کیلوگرم)
شاهد (سولفات مس)	۲۴/۰۰	۶۶/۶۷	۱۶/۰۰
مس متیونین	۱۷/۶۵	۹۰/۶۵	۱۶/۰۰
دی هیدروژن فسفات مس	۳۹/۸۳	۴۰/۱۷	۱۶/۰۰
کربوهیدرات مس	۱۳/۵۹	۱۱۷/۷۳	۱۶/۰۰
نانو ذرات مس	۷۹/۸۸	۲۰/۰۳	۱۶/۰۰

به منظور بررسی صفات عملکردی، خوراک مصرفی به صورت روزانه پس از وزن کشی در اختیار جوجه‌ها قرار گرفت. برای محاسبه میزان خوراک مصرفی هر تکرار مقدار خوراک باقیمانده در پایان هر مرحله پرورشی از کل خوراک داده شده در ابتدای هر دوره کسر می‌شد. برای محاسبه افزایش وزن هر تکرار در هر دوره زمانی، اختلاف وزن انتها و ابتدای دوره پرورش تعیین شد. در روزهای یک، ۱۰، ۲۴ و ۴۲ نیز همه جوجه‌های هر واحد آزمایشی به صورت جمعی وزن کشی شدند. ضریب تبدیل خوراک از تقسیم میانگین خوراک مصرفی بر میانگین افزایش وزن جوجه‌ها برای هر دوره محاسبه شد. در طول آزمایش، روزانه و قبل از تخصیص خوراک به هر واحد آزمایشی، تعداد تلفات در برهه‌های هر واحد آزمایشی ثبت و وزن تلفات آن روز یادداشت شد. از میزان تلفات روزانه در تعیین روز مرغ هر واحد آزمایشی استفاده شد.

جهت بررسی ویژگی‌های لاشه، در پایان آزمایش (۴۲ روزگی)، ۲ پرنده از هر تکرار (۱۲ پرنده در هر تیمار) با وزن بدن نزدیک به میانگین وزن تکرار انتخاب شدند و پس از ۴ ساعت گرسنگی، دوباره وزن کشی شده و به روش بریدن گردن کشتار شدند. پس از باز کردن حفره شکمی، کبد، بورس، قلب و طحال جدا و وزن آنها ثبت شد. همچنین سینه، ران و چربی محوطه شکمی توزین شدند. برای بررسی تأثیر تیمارهای آزمایشی بر پارامترهای استخوان، درشتنی پای چپ ۲ پرنده از هر تکرار پس از برداشتن تمام بافت‌های اطراف به فریزر منتقل شد. وزن استخوان با ترازوی دیجیتال (۰/۰۱ گرم؛ KEB 602، چین) و طول و قطر استخوان با کولیس دیجیتال (۰/۰۱ میلی‌متر؛ Baking Win، چین) اندازه‌گیری شد. پس از خونگیری سرم حیوانات جدا شد و تیر پادتن تولیدشده علیه

SRBC به شیوه میکروهماگلوتیناسیون تعیین شد. برای چالش سیستم ایمنی، تزریق گلوبول‌های قرمز گوسفندی در روزهای ۲۸ و ۳۵ روزگی به یک جوجه در هر پن تزریق شد و در سن ۴۲ روزگی، نمونه‌های خونی از جوجه‌های تزریق شده برای بررسی سیستم ایمنی استفاده شد. در روز تزریق، نمونه‌های خون یک گوسفند بالغ در لوله‌های EDTA دار جمع‌آوری شد و بعد از شستشو و سانتریفیوژ و مخلوط شدن با آب مقطر مورد تزریق قرار گرفت.

تست انفجار تنفسی برای تعیین توانایی فاگوسیت‌ها جهت تولید واسطه‌های فعال اکسیژن (به عنوان یکی از مراحل مهم در محدود سازی عامل پاتوژن) به کار گرفته شد. قبل از انجام تست، محلول نیترو بلو تترازولیوم (NBT) در محیط کشت آر پی ام آی (RPMI) به میزان ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از پودر NBT و ۵ میلی-گرم بر میلی‌لیتر از زیموزان حل نموده و به خوبی همگن شد. از طرف دیگر، سوسپانسیون سلولی نوتروفیل (گروه تیمار و کنترل) با تراکم $10^6 \times 4\%$ در میلی‌لیتر در میکروتیوپ‌های جداگانه با سوسپانسیون مخمر اپسونیزه شده به مدت ۱ ساعت در ۳۷ درجه سلسیوس انکوبه شد. ۱۵ میکرولیتر از محلول آماده NBT با ۱۵ میکرولیتر سوسپانسیون سلولی مخلوط گردید. میکروتیوپ را به مدت یک ساعت در ۳۷ درجه سلسیوس انکوباسیون شد. به محتوی میکروتیوپ، ۴۰۰ میکرولیتر از ماده دی متیل فورماید اضافه شد. میکروتیوپ با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه و در دمای ۴ درجه سلسیوس سانتریفیوژ گردید. دانسیته نوری ۲۰۰ میکرولیتر از مایع رویی میکروتیوپ با دستگاه الیزا ریدر و طول موج ۴۹۲ نانومتر تعیین شد.

برای انجام تکثیر لنفوسیتی بعد از شمارش سلول‌ها، سوسپانسونی

درصد افزایش ضخامت کف پا طبق فرمول زیر اندازه گیری شد: [تورم بین انگشتان پای چپ) - (تورم بین انگشتان پای راست) * ۱۰۰ / (تورم بین انگشتان پای راست (Parmentier و همکاران، ۱۹۹۳).

داده های بدست آمده از مطالعه حاضر با استفاده از نرم افزار آماری SAS و رویه GLM آنالیز آماری شدند. به منظور مقایسه میانگین ها از آزمون توکی استفاده شد. مدل آماری پژوهش حاضر به شکل زیر بود:

$$y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij}$$

در این فرمول y_{ij} مقدار هر مشاهده، μ میانگین کل جامعه، T_i اثر تیمار و e_{ij} خطای آزمایشی را نشان می دهد.

نتایج

اثر منابع مختلف مس بر افزایش وزن، مصرف خوراک و ضریب تبدیل خوراک جوجه های گوشتی در جدول ۳ گزارش شده است. تغذیه جوجه های گوشتی با جیره حاوی متیونین-مس، دی هیدروژن فسفات مس و نانو ذرات مس باعث افزایش وزن بدن در مقایسه با تیمار شاهد شد ($P < 0.05$). همچنین جوجه های تغذیه شده با جیره حاوی متیونین-مس و دی هیدروژن فسفات مس ضریب تبدیل خوراک پایین تری نسبت به تیمار شاهد داشتند ($P < 0.05$).

جدول ۳- اثر منابع مختلف مس بر عملکرد کل دوره جوجه های گوشتی

تیمار	افزایش وزن بدن (گرم در روز)	مصرف خوراک (گرم در روز)	ضریب تبدیل خوراک
شاهد (سولفات مس)	۴۷/۷۵ ^c	۸۶/۳۹	۱/۸۱ ^a
مس متیونین	۵۳/۱۳ ^a	۸۷/۱۹	۱/۶۴ ^b
دی هیدروژن فسفات مس	۵۱/۴۷ ^{ab}	۸۶/۴۶	۱/۶۸ ^b
کربوهیدرات مس	۴۹/۵۹ ^{bc}	۸۷/۱۳	۱/۷۶ ^{ab}
نانو ذرات مس	۵۱/۰۲ ^{ab}	۸۶/۵۹	۱/۷۰ ^{ab}
SEM	۰/۵۰	۰/۳۰	۰/۰۲
سطح معنی داری	۰/۰۰۲	۰/۸۵	۰/۰۰۵

میانگین های هر ستون با حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی دار می باشند ($P < 0.05$). SEM: خطای استاندارد میانگین ها

جوجه های گوشتی که با جیره حاوی متیونین-مس، دی هیدروژن فسفات مس و نانو ذرات مس تغذیه شدند، به طور معنی دار بیشتر از تیمار شاهد بود ($P < 0.05$).

حاوی 1×10^6 تهیه و ۱۰۰ میکرولیتر از آن در هر یک از چاهک های پلیت ۹۶ خانه ای ته تخت ریخته شد. برای هر نمونه سه تکرار در حضور ۵۰ میکرولیتر از محلول فیتوهمگلوتنین ۱ میلی گرم بر میلی-لیتر و سه تکرار بدون حضور فیتوهمگلوتنین در نظر گرفته شد. به عنوان بلانک نیز در سه چاهک از محیط دی ام ای ام (DMEM) خالی استفاده گردید. بعد از ۷۲ ساعت گرمخانه گذاری در انکوباتور حاوی ۵% CO₂ به هر چاهک ۲۵ میکرولیتر محلول MTT ۵ میلی گرم بر میلی لیتر در PBS افزوده شده، به مدت ۴ ساعت دیگر گرمخانه گذاری گردید. در این مدت احیاء ماده MTT (۵۴ دی متیل تiazول ۲ وای ال ۵۲ دی فنیل تترا زولیوم بروماید) وسط سلول های زنده و در حال تکثیر سبب تشکیل بلورهای فورمازون گردید که با افزودن ۱۰۰ میکرولیتر DMSO به حالت محلول درآمد. سپس شدت رنگ در طول موج ۴۹۲ نانومتر تعیین و نمایه تحریک محاسبه گردید.

۷۲ ساعت قبل از زمان خونگیری، 1×10^6 گلبول قرمز شسته شده گوسفند در ۵۰ میکرولیتر بافر فسفات به صورت زیر جلدی به کف پای چپ هر پرنده تزریق شد و همزمان همان حجم بافر فسفات به کف پای راست به عنوان کنترل منفی تزریق شد. ضخامت کف پا قبل از زمان خونگیری با کولیس عقربه ای اندازه گیری شد و میانگین

نتایج مربوط به اثر منابع مختلف مس بر خصوصیات لاشه جوجه های گوشتی در جدول ۴ گزارش شده است. نتایج نشان داد که بازده لاشه، وزن سینه و ران و اندام های داخلی (به جز بورس فابریوس) تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت. وزن بورس فابریوس در

جدول ۴- اثر منابع مختلف مس بر خصوصیات لاشه (گرم) جوجه‌های گوشتی

تیمار	لاشه	سینه	ران	چربی	کبد	بورس	قلب	طحال
شاهد (سولفات مس)	۱۵۲۲/۵۶	۶۲۰/۹۶	۴۵۰/۸۰	۲۶/۵۷	۴۸/۶۰	۲/۴۴ ^b	۱۳/۵۳	۲/۴۳
مس متیونین	۱۶۳۴/۴۰	۶۶۶/۰۰	۴۸۷/۲۰	۲۴/۰۰	۵۲/۲۰	۴/۲۵ ^a	۱۱/۲۰	۲/۸۴
دی هیدروژن فسفات مس	۱۵۲۴/۴۰	۵۸۸/۲۰	۴۶۴/۸۰	۳۱/۸۰	۴۸/۲۰	۴/۰۰ ^a	۱۱/۸۰	۲/۲۰
کربوهیدرات مس	۱۶۰۷/۲۰	۶۵۴/۲۰	۴۹۴/۰۰	۲۴/۰۰	۴۷/۰۰	۳/۸۴ ^{ab}	۱۱/۶۰	۲/۳۷
نانو ذرات مس	۱۵۶۰/۴۰	۵۸۹/۰۰	۴۹۲/۲۰	۳۶/۸۰	۴۶/۲۰	۵/۱۳ ^a	۱۱/۴۰	۲/۶۹
SEM	۶۶/۵۵	۳۳/۸۶	۱۹/۰۳	۳/۶۲	۲/۳۵	۰/۵۱	۰/۷۵	۰/۲۳
سطح معنی داری	۰/۶۹	۰/۳۶	۰/۴۲	۰/۲۱	۰/۴۵	۰/۰۲	۰/۲۲	۰/۳۴

میانگین‌های هر ستون با حروف غیرمشترک دارای اختلاف معنی دار می‌باشند ($P < 0.05$).

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها

جدول ۵ اثر منابع مختلف مس بر خصوصیات استخوان درشت‌نی را نشان می‌دهد. وزن و قطر استخوان درشت‌نی تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفتند و استفاده از مس متیونین در تغذیه جوجه‌های گوشتی باعث افزایش وزن و قطر استخوان نسبت به سایر تیمارهای آزمایشی شد ($P < 0.05$). طول استخوان درشت‌نی تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت ($P > 0.05$). استحکام استخوان توسط همه منابع مس (بجز مس کربوهیدرات) در مقایسه با شاهد افزایش یافت ($P < 0.05$).

جدول ۵- اثر منابع مختلف مس بر خصوصیات استخوان درشت‌نی جوجه‌های گوشتی

تیمار	وزن (گرم)	قطر (سانتی‌متر)	طول (سانتی‌متر)	استحکام (Kg/cm)
شاهد (سولفات مس)	۵/۶۳ ^b	۰/۷۸ ^b	۹/۵۰	۴۰/۱۰ ^b
مس متیونین	۶/۳۰ ^a	۰/۹۴ ^a	۹/۴۰	۵۰/۴۸ ^{ab}
دی هیدروژن فسفات مس	۵/۹۵ ^{ab}	۰/۸۶ ^b	۹/۷۰	۵۳/۲۳ ^a
کربوهیدرات مس	۵/۴۶ ^b	۰/۸۲ ^b	۹/۵۰	۴۱/۳۵ ^b
نانو ذرات مس	۵/۴۷ ^b	۰/۷۶ ^b	۹/۵۰	۵۱/۹۵ ^a
SEM	۰/۱۶	۰/۰۲	۰/۱۸	۱/۸۴
سطح معنی داری	۰/۰۴	۰/۰۰۱	۰/۸۴	۰/۰۳

میانگین‌های هر ستون با حروف غیرمشترک دارای اختلاف معنی دار می‌باشند ($P < 0.05$).

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها

اثر منابع مختلف مس بر سیستم ایمنی جوجه‌های گوشتی در جدول ۶ نشان داده شده است. تغذیه جوجه‌های گوشتی با جیره حاوی دی هیدروژن فسفات مس باعث افزایش تکثیر لنفوسیتی و جیره حاوی دی هیدروژن فسفات مس و کربوهیدرات مس باعث افزایش ازدیاد حساسیت تاخیری در مقایسه با تیمار شاهد، مس متیونین و نانو ذرات مس شد ($P < 0.05$). همچنین در جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با جیره حاوی نانو ذرات مس انفجار تنفسی به طور معنی دار پایین تر از سایر تیمارهای آزمایشی بود ($P < 0.05$). پاسخ SRBC در پرندگان که با مس متیونین، دی هیدروژن فسفات مس و کربوهیدرات مس تغذیه شده بودند به طور معنی داری بیشتر از پرندگان تغذیه شده با جیره شاهد و نانو ذرات مس بود ($P < 0.05$).

جیره حاوی نانو ذرات مس انفجار تنفسی به طور معنی دار پایین تر از سایر تیمارهای آزمایشی بود ($P < 0.05$). پاسخ SRBC در پرندگان که با مس متیونین، دی هیدروژن فسفات مس و کربوهیدرات مس تغذیه شده بودند به طور معنی داری بیشتر از پرندگان تغذیه شده با جیره شاهد و نانو ذرات مس بود ($P < 0.05$).

جدول ۶- اثر منابع مختلف مس بر پاسخ ایمنی جوجه های گوشتی

تیمار	تکثیر لنفوسیتی (نانومتر)	ازدیاد حساسیت تاخیری (درصد)	انفجار تنفسی (نانومتر)	SRBC (log 10)
شاهد (سولفات مس)	۱/۸۳ ^b	۱/۷۵ ^b	۱/۱۰ ^a	۱۰۲۴/۰ ^b
مس متیونین	۱/۷۹ ^b	۱/۷۶ ^b	۱/۱۳ ^a	۲۰۳۲/۰ ^a
دی هیدروژن فسفات مس	۲/۳۶ ^a	۲/۰۱ ^a	۱/۱۲ ^a	۲۰۴۸/۰ ^a
کربوهیدرات مس	۲/۰۶ ^{ab}	۲/۳۲ ^a	۱/۱۰ ^a	۲۰۴۸/۰ ^a
نانو ذرات مس	۱/۶۷ ^b	۱/۶۲ ^c	۰/۸۹ ^b	۴۲۶/۶ ^c
SEM	۰/۰۶	۰/۰۴	۰/۰۲	۳۸/۳۲
سطح معنی داری	۰/۰۰۲	<۰/۰۰۱	۰/۰۰۹	<۰/۰۰۱

میانگین های هر ستون با حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی دار می باشند ($P < 0.05$).

SEM: خطای استاندارد میانگین ها

بحث

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که مس متیونین و دی هیدروژن فسفات مس باعث بهبود افزایش وزن بدن و ضریب تبدیل خوراک شدند. در ارتباط با شکل منابع مواد معدنی مورد استفاده در تغذیه طیور نتایج پژوهش های پژوهشگران بسیار متفاوت است. در تحقیقی نشان داده شد که با تغذیه جوجه های گوشتی با سه منبع مس از جمله سولفات مس، کلرید مس و پروپیونات مس اختلاف معنی داری در عملکرد مشاهده شد و جیره حاوی پروپیونات مس (۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم خوراک) به طور قابل توجهی افزایش وزن بدن و ضریب تبدیل خوراک را بهبود بخشید (Deo و همکاران، ۲۰۲۳). به طور مشابه El-Hady و Mohamed (۲۰۱۹) گزارش کردند که گروه های مکمل با ۱۰۰ میلی گرم مس آلی (مس-متیونین و مس-گلیسین) بهبود قابل توجهی در صفات عملکرد در مقایسه با گروه معدنی (سولفات مس) نشان دادند. نتایج فوق با تحقیقات حاضر همخوانی دارد. در مقابل پژوهشی دیگر تفاوتی در عملکرد جوجه های تغذیه شده با مکمل سولفات مس و مس-گلیسین مشاهده نکرد (Kwiecien و همکاران، ۲۰۱۴). علاوه بر این در آزمایشی، تغذیه جوجه های گوشتی با دو منبع معدنی و آلی عناصر کم نیاز سبب اختلاف معنی داری در عملکرد و خصوصیات لاشه نشد (Manangi و همکاران، ۲۰۱۲). چندین عامل انفرادی یا تجمعی می توانند بر پاسخ مشاهده شده از مکمل های عناصر معدنی کم نیاز

تأثیر بگذارند. پیشنهاد شده است که پاسخ به افزودن مس به جیره های بر پایه ذرت کنجاله سویا در مقابل جیره پایه گندم، کمتر است چون در این جیره ها بخش بیشتری از نیاز پرندۀ تأمین می شود (Mwangi و همکاران، ۲۰۱۷). به نظر می رسد روش تولید و نوع اسید آمینه یا پروتئین مورد استفاده در شکل آلی عناصر مس و به دنبال آن تفاوت خصوصیات فیزیکی و شیمیایی آنها موجب نتایج متفاوت شده است. علاوه بر آن نوع جیره پایه و طول دوره پرورش نیز مؤثر است. در ساختار عنصر -متیونین، این اسید آمینه عمل پوشش عنصر را انجام می دهد. کیلات عنصر - متیونین در مقایسه با سایر منابع، کمتر با ترکیبات موجود در دستگاه گوارش واکنش می دهد، در نتیجه با زیست فراهمی بیشتری به جایگاه های جذبی در روده می رسد. همچنین برخلاف برخی منابع آلی و معدنی که جایگاه های محدودی برای جذب دارند و برای دسترسی به جایگاه جذب با هم در رقابت هستند، این عناصر از محل جذب متیونین، جذب و وارد سیستم گردش خون می شوند. علاوه بر این در خون هم با روشی متفاوت با دیگر منابع انتقال یافته و هنگامی که به بافت هدف رسیدند، در صورت عدم نیاز، ذخیره می شوند تا در شرایط استرس و بیماری، نیاز بدن را تأمین کنند (Coa و همکاران، ۲۰۰۰).

در رابطه با نتایج نانوذرات مس نیز موافق با نتایج ما Abdullah و همکاران (۲۰۲۲) گزارش کردند که وزن نهایی بدن با استفاده از

پروپینونات مس و کلرید مس در مقایسه با سولفات مس باعث افزایش وزن استخوان درشتنی جوجه‌های گوشتی می‌شوند. یکی از دلایل افزایش وزن استخوان می‌تواند مربوط به زیست فراهمی بالاتر فرم آلی در مقایسه با فرم معدنی و نقش مس به عنوان کوفاکتور در برخی از آنزیم‌های درخیل در سنتز استخوان و افزایش رسوب مس در استخوان باشد (Solomon, 2010). به طوری که محققین افزایش استحکام استخوان درشتنی جوجه‌های گوشتی را به رسوب بهتر فرم آلی عناصر کم‌نیاز نسبت دادند (Dibner و همکاران، 2007). به طور مشابهی به تحقیق اخیر، مطالعه Manangi و همکاران (2015) نشان داد که استخوان درشتنی در مرغ‌های تخم‌گذار تغذیه شده با جیره‌های حاوی مواد معدنی آلی (به ترتیب 40، 10 و 4 میلی گرم روی، مس و منگنز) در مقایسه با مواد معدنی غیر آلی استحکام بیشتری داشت.

افزودن مس به مقدار توصیه شده می‌تواند سیستم ایمنی را تحریک کرده و سلامت بدن را ارتقاء دهد (Leeson, 2009). در عین حال، کمبود مس منجر به کاهش سلول‌های ایمنی (لنفوسیت‌های B، لنفوسیت‌های T، نوتروفیل‌ها و ماکروفاژها) می‌شود (Olivares و همکاران، 2019). در مطالعه حاضر مشخص شد که مکمل مس آلی (مس متیونین، دی هیدروژن فسفات مس و کربوهیدرات مس) می‌تواند سطح تکثیر لنفوسیتی، ازدیاد حساسیت تاخیری، انفجار تنفسی و پاسخ SRBC را در جوجه‌های گوشتی افزایش دهد. عوامل متعددی بر سیستم ایمنی پرنده مؤثر هستند. تغذیه تنش‌زا (کمبود مواد مغذی کم‌مصرف، مایکوتوکسین‌ها و فلزات سنگین) و شرایط محیطی تنش‌زا (دما، رطوبت و آلوده‌کننده‌ها) باعث تولید رادیکال‌های آزاد در بدن حیوانات می‌شوند. این رادیکال‌ها سبب آسیب به سلول‌های ایمنی می‌شود. کمبود عنصر مس پاسخ‌های مناسب به رادیکال‌های آزاد را کاهش می‌دهد (Dukare و همکاران، 2021) و سبب تشدید عفونت باکتریایی می‌شود (Djoko و همکاران، 2015). نتایج به دست آمده در این تحقیق، با فرضیه افزایش پاسخ ایمنی در صورت استفاده از کیلات همخوانی دارد و با پژوهش پژوهشگرانی مشابهت دارد که بیان کردند شکل آلی مواد معدنی بر سیستم ایمنی تأثیر مثبت معنی‌دار دارد. در تحقیقات پیشین پژوهشگران گزارش کردند، کیلات مس در جوجه‌های گوشتی سبب تعادل بین لنفوسیت T کمک‌کننده (Th 2 و Th 1) می‌شود

نانوذرات مس بهبود یافته است. افزایش عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی ممکن است به دلیل زیست فراهمی بالاتر نانوذرات مس به دلیل اندازه کوچک‌تر و توانایی انتشار از دستگاه گوارش و جذب خون باشد (Singh, 2016). نانوذرات مس از رشد چندین باکتری مانند استافیلوکوک اورئوس، باسیلوس سابتلیس و اشریشیاکلی جلوگیری می‌کند (Shobha و همکاران، 2014) و این ممکن است به کاهش بار باکتریایی و استفاده بهتر از جیره در جوجه‌های گوشتی کمک کند و منجر به افزایش عملکرد رشد شود. همچنین نانوذرات مس تغییر جمعیت میکروبی روده، تخمیر مواد مغذی را کاهش می‌دهند (Hojberg و همکاران، 2005). علاوه بر این، خواص آنتی‌اکسیدانی مس ممکن است به بهبود عملکرد جوجه‌های گوشتی کمک کند زیرا مس به عنوان یک عامل آنتی‌اکسیدانی در جیره عمل می‌کند (Pineda و همکاران، 2013).

نتایج مربوط به خصوصیات لاشه نشان داد که منابع مختلف مس تأثیر معنی‌داری بر بازده لاشه ندارد و فقط وزن بورس فابریوس با منابع آلی مس در مقایسه با سولفات مس افزایش یافت. برخلاف مطالعه حاضر، El-Hady و Mohamed (2019) نشان دادند که جوجه‌های تغذیه شده با جیره مکمل شده با مس آلی (مس-متیونین و مس-گلیسین) به طور قابل توجهی درصد لاشه و طحال و چربی حفره شکمی کمتری نسبت به سولفات مس داشتند. در پژوهش دیگر Ellen و همکاران (2012) مشاهده کردند که درصد بازده لاشه در پرندگان تغذیه شده با 2/50، 11/25، 15 و 18/75 گرم در تن به ترتیب کلات اسید آمینه مس، روی، منگنز و آهن به طور قابل توجهی افزایش می‌یابد. اما موافق با نتایج حاضر Vladimir و همکارانش (2010) دریافتند که منابع مختلف عناصر کم‌نیاز تأثیر یکسانی بر خصوصیات لاشه جوجه‌های گوشتی دارند.

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که جایگزینی سولفات مس با مس متیونین باعث افزایش قطر و وزن استخوان درشتنی شد اما تأثیری بر طول استخوان نداشت. همچنین همه منابع مس بجر مس کربوهیدرات، استحکام بیشتر استخوان را باعث شدند. نتایج کنونی نتایج قبلی گزارش شده توسط Iqbal و همکاران (2020) تایید می‌کند که گزارش دادند منابع مس (پروپینونات مس و سولفات مس) تغییر قابل توجهی در طول استخوان درشتنی جوجه‌های گوشتی ایجاد نمی‌کند. در مقابل Deo و همکاران (2023) نشان دادند که

ایمنی جوجه‌های گوشتی هنوز نامشخص است و نیاز به بررسی بیشتر دارد.

نتیجه‌گیری

نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد که مس متیونین و دی هیدروژن فسفات مس با غلظت ۱۶ میلی گرم بر کیلوگرم منجر به افزایش وزن بدن و بهبود ضریب تبدیل خوراک در جوجه‌های گوشتی می‌شود. بعلاوه، همه منابع آلی مس بجر مس کربوهیدرات، استحکام استخوان درشت جوجه‌های گوشتی را نیز بهبود بخشید. پارامترهای سیستم ایمنی تحت تاثیر مس متیونین، مس کربوهیدرات و دی هیدروژن فسفات مس بهبود پیدا کرد.

که نقش فعال‌سازی ماکروفاژها و القای تولید آنتی‌بادی دارند و نشان دادند بیان ایمونوگلوبین‌های M و G را افزایش می‌دهند ولی مس، به شکل سولفات، باعث ایجاد التهاب موضعی در روده و ایجاد عفونت در بدن می‌شود (Jarosz و همکاران، ۲۰۱۷). Wang و همکاران (۲۰۱۱) دریافتند که پاسخ SRBC و شاخص اندام ایمنی با اضافه شدن مس به جیره جوجه‌های گوشتی افزایش می‌یابد. افزایش پاسخ SRBC در این مطالعه ممکن است به دلیل جذب مس در بدن برای تحریک سلول‌های فاگوسیتی باشد. علاوه بر این، افزایش سطح ایمنی در جوجه‌های گوشتی ممکن است به دلیل واکنش خود ایمنی باشد. تا به امروز، مکانیسم تاثیر مس بر ویژگی

منابع

- Abdullah, S. S., Masood, S., Zaneb, H., Rabbani, I., Akbar, J., Kuthu, Z. H. and Vargas-Bello-Pérez, E. (2022). Effects of copper nanoparticles on performance, muscle and bone characteristics and serum metabolites in broilers. *Brazilian Journal of Biology*, 84(5), 578-591.
- Bai, S. P., Lu, L., Luo, X. G. and Liu, B. (2008). Kinetics of manganese absorption in ligated small intestinal segments of broilers. *Poultry Science*, 87(12), 2596-2604.
- Cao, J., Henry, P. R., Guo, R., Holwerda, R. A., Toth, J. P., Littell, R. C. and Ammerman, C. B. (2000). Chemical characteristics and relative bioavailability of supplemental organic zinc sources for poultry and ruminants. *Journal of Animal Science*, 78(8), 2039-2054.
- Daylami, M. K., Tabrizi, H. M. and Ankas, M. R. (2022). Effect of different levels and sources of copper on growth performance, intestinal microbiota, immunity and tibial bone minerals in broiler chickens. *Animal Nutrition and Feed Technology*, 22(3), 627-640.
- Deo, C., Biswas, A., Sharma, D., Agashe, J. L. and Tiwari, A. K. (2023). Effects of Various Copper Sources and Concentrations on Performance, Skeletal Growth, and Mineral Content of Excreta in Broiler Chickens. *Biological Trace Element Research*, 201(12), 5786-5793.
- Dibner, J. J., Richards, J. D., Kitchell, M. L. and Quiroz, M. A. (2007). Metabolic challenges and early bone development. *Journal of Applied Poultry Research*, 16(1), 126-137.
- Djoko, K. Y., Cheryl-lynn, Y. O., Walker, M. J. and McEwan, A. G. (2015). The role of copper and zinc toxicity in innate immune defense against bacterial pathogens. *Journal of Biological Chemistry*, 290(31), 18954-18961.
- Dukare, S., Mandal, A. B., Mir, N. A., Dev, K., Biswas, A., Tyagi, P. K. and Tyagi, P. K. (2021). Effect of different levels and sources of dietary copper on the growth and immunity of broiler chicken: Copper in broiler chicken nutrition. *Letters In Animal Biology*, 1(2), 26-32.
- El-Hady, A. and Mohamed, A. (2019). Effect of dietary sources and levels of copper supplementation on growth performance, blood parameters and slaughter traits of broiler chickens. *Egyptian Poultry Science Journal*, 39(4), 897-912.
- Ellen, B., Merca, F. E., Angeles, A. A., Acda, S. P. and Luis, E. S. (2012). Effects of supplementing diets with amino acid chelates of copper, zinc, manganese and iron on the performance of broilers. *Philippine Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 38(1), 1- 10.
- Ferreira Júnior, H., da Silva, D. L., de Carvalho, B. R., de Oliveira, H. C., Cunha Lima Muniz, J., Junior Alves, W. and Hannas, M. I. (2022). Broiler responses to copper levels and sources: growth, tissue mineral content, antioxidant status and mRNA expression of genes involved in lipid and protein metabolism. *BMC*

- Veterinary Research*, 18(1), 223-234.
- Gaetke, L. M., Chow-Johnson, H. S. and Chow, C. K. (2014). Copper: toxicological relevance and mechanisms. *Archives of toxicology*, 88, 1929-1938.
- Gau, J. T., Chavan, B., Li, Y., Clark, B. C. and Haile, Z. T. (2021). Association between serum zinc levels and basic physical functioning: secondary data analysis of nhanes 2011–14. *BMC Nutrition*, 7, 1-10.
- Højberg, O., Canibe, N., Poulsen, H. D., Hedemann, M. S. and Jensen, B. B. (2005). Influence of dietary zinc oxide and copper sulfate on the gastrointestinal ecosystem in newly weaned piglets. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(5), 2267-2277.
- Ibrahim, I. A., EL-Gendi, G. M., Nihad, A. A., Okasha, H. M. and El-Attrouny, M. M. (2022). Potential effects of different dietary copper sources to improve productive performance, plasma biochemical parameters and oxidative response activities of broiler chickens. *Journal of Animal and Poultry Production*, 13(8), 111-118.
- Iqbal, S., Deo, C. and Sharma, D. (2020). Effect of feeding different sources and concentrations of zinc and copper on bone morphometry and mineralization of tibia bone in broiler chickens. *Indian Journal of Poultry Science*, 55(3), 211-215.
- Kwiecien, M., Winiarska-Mieczan, A., Zawislak, K. and Sroka, S. (2014). Effect of copper glycinate chelate on biomechanical, morphometric and chemical properties of chicken femur. *Annals of Animal Science*, 14(1), 127-139.
- Leeson, S. (2009). Copper metabolism and dietary needs. *World's Poultry Science Journal*, 65(3), 353-366.
- Lukasewycz, O. A. and Prohaska, J. R. (1990). The Immune Response in Copper Deficiency a. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 587(1), 147-159.
- Manangi, M. K., Vazquez-Anon, M., Richards, J. D., Carter, S., Buresh, R. E. and Christensen, K. D. (2012). Impact of feeding lower levels of chelated trace minerals versus industry levels of inorganic trace minerals on broiler performance, yield, footpad health, and litter mineral concentration. *Journal of Applied Poultry Research*, 21(4), 881-890.
- Manangi, M. K., Vazques-Anon, M., Richards, J. D., Carter, S. and Knight, C. D. (2015). The impact of feeding supplemental chelated trace minerals on shell quality, tibia breaking strength, and immune response in laying hens. *Journal of Applied Poultry Research*, 24(3), 316-326.
- McNaughton, J. L. and Day, E. J. (1979). Effect of dietary Fe to Cu ratios on hematological and growth responses of broiler chickens. *The Journal of Nutrition*, 109(4), 559-564.
- Muszyński, S., Tomaszewska, E., Kwiecień, M., Dobrowolski, P. and Tomczyk, A. (2018). Effect of dietary phytase supplementation on bone and hyaline cartilage development of broilers fed with organically complexed copper in a Cu-deficient diet. *Biological Trace Element Research*, 182, 339-353.
- Mwangi, S., Timmons, J., Ao, T., Paul, M., Macalintal, L., Pescatore, A. and Dawson, K. A. (2017). Effect of zinc imprinting and replacing inorganic zinc with organic zinc on early performance of broiler chicks. *Poultry Science*, 96(4), 861-868.
- NRC. (1994). Nutrient Requirements of Poultry. 9th ed. Washington, DC: National Academies Press.
- Nguyen, H. T. T., Morgan, N., Roberts, J. R., Wu, S. B., Swick, R. A. and Toghyani, M. (2021). Zinc hydroxychloride supplementation improves tibia bone development and intestinal health of broiler chickens. *Poultry Science*, 100(8), 101254.
- Olgun, O., Gül, E. T., Kılınç, G., Gökmen, F., Yıldız, A., Uygur, V. and Sarmiento-García, A. (2024). Comparative Effects of Including Inorganic, Organic, and Hydroxy Zinc Sources on Growth Development, Egg Quality, Mineral Excretion, and Bone Health of Laying Quails. *Biological Trace Element Research*, 12(8), 1-10.
- Olivares, R. W. I., Postma, G. C., Schapira, A., Iglesias, D. E., Valdez, L. B., Breininger, E. and Minatel, L. (2019). Biochemical and morphological alterations in hearts of copper-deficient bovines. *Biological Trace Element Research*, 189, 447-455.

- 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.
- Olukosi, O. A., Van Kuijk, S. J. and Han, Y. (2019). Sulfate and hydroxychloride trace minerals in poultry diets—comparative effects on egg production and quality in laying hens, and growth performance and oxidative stress response in broilers. *Poultry Science*, 98(10), 4961-4971.
- Palacios, C. (2006). The role of nutrients in bone health, from A to Z. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 46(8), 621-628.
- Parmentier, H. K., Schrama, J.W., Meijer, F., Nieuwland, M.G.B. (1993). Cutaneous hypersensitivity responses in chickens divergently selected for antibody responses to sheep red blood cells. *Poultry Science*, 72 (9), 1679-1692.
- Pineda, L., Sawosz, E., Vadalasetty, K. P., & Chwalibog, A. (2013). Effect of copper nanoparticles on metabolic rate and development of chicken embryos. *Animal Feed Science and Technology*, 186(1-2), 125-129.
- Shen, Q., Qi, Y., Kong, Y., Bao, H., Wang, Y., Dong, A. and Xu, Y. (2022). Advances in copper-based biomaterials with antibacterial and osteogenic properties for bone tissue engineering. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 9(4), 425-436.
- Shobha, G., Moses, V. and Ananda, S. (2014). Biological synthesis of copper nanoparticles and its impact. *International Journal of Pharmaceutical Science Invention*, 3(8), 6-28.
- Singh, P. (2016). Use of nano feed additives in livestock feeding. *International Journal of Livestock Research*, 6(1), 1-14.
- Solomon, S. (2010). The eggshell: strength, structure and function. *British Poultry Science*, 51(1), 52-59.
- Villagómez-Estrada, S., Pérez, J. F., van Kuijk, S., Melo-Durán, D., Karimirad, R. and Solà-Oriol, D. (2021). Effects of two zinc supplementation levels and two zinc and copper sources with different solubility characteristics on the growth performance, carcass characteristics and digestibility of growing-finishing pigs. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 105(1), 59-71.
- Wang, C., Wang, M. Q., Ye, S. S., Tao, W. J. and Du, Y. J. (2011). Effects of copper-loaded chitosan nanoparticles on growth and immunity in broilers. *Poultry science*, 90(10), 2223-2228.
- Yu, L., Yi, J., Chen, Y., Huang, M. and Zhu, N. (2021). Relative Bioavailability of Broiler Chickens Fed with Zinc Hydroxychloride and Sulfate Sources for Corn-Soybean Meal. *Biological Trace Element Research*, 15(6), 1-12.