

تأثير إضافة مستويات مختلفة من ميثيونين - الزنك النانوي إلى العليقة في الصفات الكيموحيوية والمناعية لفروج اللحم

رشا فجر الجبوري * ⁽¹⁾ وفاضل رسول الخفاجي ⁽¹⁾

(1). قسم الانتاج الحيواني، كلية الزراعة، جامعة القاسم الخضراء، العراق.

(*للمراسلة: م. رشا فجر الجبوري، البريد الإلكتروني: Rsha.fajer1989@agre.uoqasim.edu.iq)

تاريخ القبول: 2023/12/24

تاريخ الاستلام: 2023/10/21

الملخص:

أجريت هذه التجربة في حقل شركة الانوار للدواجن في محافظة بابل/ المرامية، للمدة من 2023/7/25 إلى 2023/8/29 حيث استخدم 300 فرخ فروج لحم (Ross 308) قسمت إلى 5 معاملات و بواقع 3 مكررات لكل معاملة و كل مكرر 20 فرخاً، و أضيف الميثيونين - زنك النانوي إلى العليقة بتركيز 0، 1، 2، 3، 4 ملغم/ كغم علف للمعاملات T1 و T2 و T3 و T4 و T5 على التوالي، وتعرضت جميع طيور المعاملات لإجهاد حراري (1 ± 35 درجة مئوية) طوال مدة التجربة (35 يوم). أظهرت النتائج حصول انخفاض معنوي في معاملات إضافة نانو ميثيونين - الزنك في تركيز الكلوكوز والكوليسترول وحامض اليوريك والدهون الثلاثية و MDA (Malondialdehyde) مقارنة مع معاملة السيطرة، حصول تحسن معنوي للمعاملات T3 و T4 و T5 في تركيز LDL (Low density lipoprotein)، كما تحسنت المعاملتان T4 و T5 في تركيز VLDL (Very low density lipoprotein) مقارنة مع معاملة السيطرة، تبين ارتفاع معنوي في تركيز الكلوتاثيون بيروكسيديز لصالح المعاملات T2 و T4 و T5 مقارنة مع معاملة السيطرة، ظهر ارتفاع معنوي في مستوى انزيمي AST (Aspartate aminotransferase) و ALT (Alanine aminotransferase) في دم طيور المعاملة T1 مقارنة ببقية معاملات الدراسة، حصل ارتفاع معنوي في مستوى الأجسام المضادة ضد مرض التهاب الشعب الهوائية المعدي لصالح طيور المعاملة T4 كما ارتفع مستوى الاجسام المضادة ضد مرض النيوكاسل في دم طيور المعاملتان T3 و T5 مقارنة مع معاملة السيطرة T1.

الكلمات المفتاحية: الأحماض الأمينية النانوية، الأجهاد الحراري، فروج اللحم، النانو تكنولوجيا.

المقدمة

يتسبب الإجهاد الحراري في خسائر اقتصادية فادحة في إنتاج فروج اللحم (Al-Jebory et al., 2023; AL-Jaryan et al., 2023)، إذ يسبب خفض في معدل إنتاج الطيور وخلل في أداءها الفسلجي ويعتمد معدل ذلك على طول فترة وشدة التعرض للإجهاد الحراري (Del vesco et al., 2015) كما تحدث العديد من التغيرات الفسيولوجية المتعلقة بجهاز المناعة، والإجهاد التأكسدي، وسلامة الأمعاء، والعديد من الاضطرابات الأخرى التي تبلغ ذروتها في انخفاض أداء نمو الطيور وارتفاع نسبة الهلاكات (Rostagno and Lara, 2013)، كما ثبت أن الإجهاد الحراري يمكن أن يؤثر على سلامة الأمعاء بسبب نقص

الأكسجة في ظاهرة الأمعاء (Dokladny et al., 2016). يمكن أن تتسبب سلامة الظهارة الضعيفة التي تحدث أثناء الإجهاد الحراري في حدوث التهاب معوي وزيادة نفاذية مسببات الأمراض وحدث خلل في توازن المجتمع المايكروبي للأمعاء (Burkholder et al., 2008 ؛ Deng and Zhang , 2012)، مما ينعكس على هضم المواد العلفية المستهلكة وبالتالي قلة توافر العناصر الغذائية للطائر (Del Vesco et al., 2015 and 2017 ؛ Gasparino et al., 2017). تقانة النانو هي تقانة جديدة في الأبحاث العلمية إذ يتم تحويل جزيئات المواد التي حجم يتراوح بحدود 1- 100 نانومتر مما يزيد من المساحة السطحية والتي تزيد من تفاعلاتها الكيميائية ، وهذه الصفات جعلت من المواد والعناصر النانوية ذات كفاءة عالية في الانتقال والامتصاص (Gopi وآخرون، 2017). أشارت الدراسات إلأن إضافة الميثيونين إلى عليقة فروج اللحم يمكن أن تخفف من آثار الإجهاد من خلال العمل على زيادة النشاط الكبدي لإنتاج المركبات مضادات الأكسدة (Del Vesco وآخرون، 2015؛ Gasparino وآخرون، 2017)، كما وجد ان للميثيونين دوراً في حماية أغشية الخلايا من ضرر الاجهاد لأنه بالإضافة إلى مشاركته في تخليق الجلوتاثيون بيروكسيداز، فإن الميثيونين ، جنباً إلى جنب مع مركب thioredoxin ، له أيضاً تأثير مباشر على التخلص من أنواع الأكسجين التفاعلية (ROS) (Levine وآخرون ، 2000). تقلل درجة الحرارة البيئية المرتفعة من تناول العلف بغية تنظيم درجة حرارة الجسم، وتقلل من الزيادة الوزنية اللاحقة وقابلية الهضم وكفاءة التغذية (Gonzalez-Esquerria و Leeson، 2006) بالإضافة إلى ذلك تزيد العلائق التي بها اختلال في توازن الأحماض الأمينية أو نقص الميثيونين من إنتاج حرارة الجسم وتحدث تأثيراً سلبياً أكثر للإجهاد الحراري عندما تكون درجة الحرارة البيئية مرتفعة (Bunchasak وآخرون، 2009). يعتبر النانو زنك مهماً في تكاثر الخلايا وزيادة النمو وتحسين الخصوبة والمناعة والتعبير الجيني وكذلك كونه جزءاً أساسياً في نشاط العديد من الأنزيمات ، ويشارك بشكل مباشر في المسارات الأيضية وهو أحد المكونات الأساسية للدفاع الخلوي ضد الإجهاد التأكسدي كجزء أساسي لأنزيم superoxide dismutase (Zago و Oteiza ، 2001 ؛ Mc Dowell ، 2003) ، إن الزنك يؤثر إيجاباً في الاستفادة من الغذاء من خلال مشاركته في أيض الكربوهيدرات والبروتينات والدهون (Mac Donald ، 2000). نتيجة لما تقدم تهدف الدراسة الحالية وبعد تحويل الحامض الاميني الميثيونين إلى جزيئات نانوية وتحميله على عنصر الزنك النانوي إلى:

- 1- تقييم فعالية الزنك- ميثيونين النانوي كإضافة علفية عند تربية فروج اللحم في ظروف الاجهاد الحراري.
- 2- دراسة تأثير الزنك- ميثيونين النانوي في تحسين الأداء الإنتاجي والفسلجي لفروج اللحم المربي في ظروف الاجهاد الحراري.
- 3- تحديد أفضل مستوى من الإضافة والتي يمكن ان يوصى بها.

مواد البحث وطرقه

أجريت هذه التجربة في حقل شركة الأنوار للدواجن في محافظة بابل/ المرافية، للمدة من 2023/7/25 إلى 2023/8/29 حيث استخدم 300 فرخ فروج لحم (Ross 308) قسمت إلى 5 معاملات و بواقع 3 مكررات لكل معاملة و كل مكرر 20 فرخاً، وزعت عشوائياً ضمن أكنان (pens) أبعاده 1.5×1 م. و أضيف الميثيونين- زنك النانوي إلى العليقة و حسب المعاملات الآتية :

T1 معاملة عليقة قياسية من دون أي إضافة.

T2 معاملة عليقة قياسية مضاف لها الميثيونين- زنك النانوي تركيز 1 ملغم / كغم علف.

T3 معاملة عليقة قياسية مضاف لها الميثيونين- زنك النانوي تركيز 2 ملغم / كغم علف.

T4 معاملة عليقة قياسية مضاف لها الميثيونين- زنك النانوي تركيز 3 ملغم / كغم علف.

T5 معاملة عليقة قياسية مضاف لها الميثيونين - زنك النانوي تركيز 4 ملغم / كغم علف.

غذيت الأفراخ على عليقة البادئ starter (نسبة البروتين 23.04% وكمية الطاقة 3027.1 كيلو سرعة/كغم علف) من عمر يوم لغاية الأسبوع الثالث من عمر الطيور، بعد ذلك استبدلت بعليقة النمو (نسبة البروتين 20.06% وكمية الطاقة 923195.3 كيلو سرعة/كغم علف) حتى نهاية الأسبوع الخامس و تم تقديم العلف و الماء بصورة حرة *ad libitum* و العليقة المستخدمة هي كما موضح بالجدول (1).

الجدول (1): يوضح النسب المئوية لمكونات العليقة المستعملة في الدراسة و تركيبها الكيميائي.

المواد العلفية	عليقة بادئ % 21-1 يوم	عليقة النمو % 22-35 يوم
ذرة صفراء	30	40
حنطة	28.25	24
كسبة فول الصويا (48 % بروتين)	31.75	24.8
مركز بروتيني *	5	5
زيت زهرة الشمس	2.9	4.4
حجر الكلس	0.9	0.6
ثنائي فوسفات الكالسيوم DCP	0.7	0.9
ملح الطعام	0.3	0.1
خليط فيتامينات و معادن	0.2	0.2
المجموع	100	100
البروتين الخام (%)	23.04	20.06
الطاقة الممثلة المحسوبة (كيلو سرعة/كغم علف)	3027.1	3194.92
لايسين (%)	1.16	1.07
ميثيونين (%)	0.41	0.38
سستين (%)	0.36	0.32
ميثايونين + سستين (%)	0.81	0.71
فسفور متاح (%)	0.47	0.48
C/P نسبة الطاقة:البروتين %	131.14	159.77

*المركز البروتيني نوع BROCON-5 SPECIAL W: صيني المنشأ، يحتوي كل كغم منه على: 40% بروتين خام، 3.5% دهن ، 1 % الياف ، 6 % كالسيوم ، 3% فسفور متاح ، 3.25 % لايسين ، 3.90 % ميثايونين + سستين ، 2.2 % صوديوم ، 2100 لاكيلو سرعة / كغم طاقة ممثلة ، 20000 وحدة دولية فيتامين A ، 40000 وحدة دولية فيتامين D3 ، 500 ملغم فيتامين E ، 30 ملغم فيتامين K3 ، 15 ملغم فيتامين B2+B1 ، 150 ملغم B3 ، 20 ملغم B6 ، 300 ملغم B12 ، 10 ملغم حامض الفوليك ، 100 مايكروغرام بيوتين ، 1 ملغم حديد ، 100 ملغم نحاس ، 1.2 ملغم منغنيز ، 800 ملغم زنك ، 15 ملغم يود ، 2 ملغم سيلينيوم ، 6 ملغم كوبلت ، 900 ملغم مضاد اكسدة (BHT).

** حسب التحليل الكيميائي للعليقة وفق NRC (1994).

المواد المستخدمة في التجربة

1- تحضير ميثيونين - الزنك النانوي

تم تحضير مادة ميثيونين - الزنك النانوي في مختبرات وزارة العلوم والتكنولوجيا العراقية وحسب طريقة (Elumalai et al., 2015) البيولوجية مع بعض التحويلات حيث تم إضافة 10 مل من محلول حامض الأميني الميثيونين (الصورة 1) بتركيز 10 % إلى 900 مل من ماء مقطر خالي من الايونات وتم تسخين المزيج لحين الوصول إلى درجة حرارة 80 درجة مئوية ثم اضيف محلول مائي لكبريتات الزنك (2.5 غم من كبريتات الزنك في 100 مل ماء مقطر) وترك المحلول مع التحريك والتسخين على جهاز المسخن والمحرك ثم اضيف محلول هيدروكسيد الصوديوم بتركيز 1 mol إلى المزيج بنسبة 2:1 مع التحريك المستمر لغاية

12 ساعة لغرض تكوين محلول راسب معلق ثم يترك المزيج إلى اليوم التالي في فرن هوائي بدرجة حرارة 60 درجة مئوية لغرض الترسيب، ثم يغسل بعد ذلك بالماء المقطر والكحول الأيثلي عدة مرات بعده يفصل الراسب عن الراشح باستخدام جهاز الطرد المركزي بسرعة دوران 10000 دورة/ دقيقة لمدة عشر دقائق ثم يؤخذ الراسب ويجفف في فرن كهربائي بدرجة حرارة 400 درجة مئوية لمدة ساعتين وحسب طريقة (Daneshvar et al., 2008) لغرض التجفيف ويطحن باستعمال طاحونة مختبرية ويحفظ في اقداح زجاجية لغرض الاستعمال والتشخيص.

تشخيص المركب القياسي لحامض الميثيونين بالأشعة فوق البنفسجية والمرئية ودقائق الزنك النانوي لحامض الميثيونين والمقارنة بينهما

طيف الأشعة فوق البنفسجية - المرئية جزء مهم في تشخيص المركبات الفعالة الموجودة في المواد المختلفة وذلك بدراسة الامتصاصات الظاهرة في أطيفها بسبب ألوان المواد منها حامض الميثيونين الذي تم فحصه على شكل مركب قياسي ومركب الزنك النانوي مع حامض الميثيونين، إذ أظهرت أطيف الأشعة فوق البنفسجية - المرئية لحامض الميثيونين قمم امتصاص عند 542 نانومتر و 224 نانو متر تُعزى القمتين الوجود مركبات عضوية وهذا طبيعي بالنسبة لحامض الميثيونين حيث تعود هذه القمم إلى $(\pi \rightarrow \pi^*)$ و $(\pi \rightarrow \pi^*)$ على التوالي والتي تكون موجودة ضمن المنطقة فوق البنفسجية (94 ، 95). عند مقارنة حامض الميثيونين مع المركب النانوي لنفس الحامض لوحظ وجود قمم عديدة عند 542، 284، وقمة أخيرة عند 222 نانومتر ، بالنسبة للقمم 284 و 222 التي تقع ضمن المنطقة فوق البنفسجية متقاربة مع قمة حامض الميثيونين 224 أُريحت نحو طول موجي أقصر بمقدار 60 نانومتر إزاحة زرقاء والقمم الأخرى ضمن المنطقة المرئية يمكن أن تُعزى إلى التكون المركب النانوي وتغير التركيب عما كان عليه (96).

- تشخيص حامض الميثيونين بالأشعة تحت الحمراء ومركب الزنك النانوي للحامض الاميني

تُعد تقنية الأشعة تحت الحمراء من التقنيات المهمة لتشخيص المركبات العضوية لتحديد المجاميع الفعالة ومتابعتها في حال حصول تغير ملحوظ عن طريق تناسقها مع العناصر أو حصول تغير ملحوظ في تركيبها قد يكون مركب جديد أو يتكسر المركب الأصلي. فقد تم مقارنة مركب الزنك النانوي مع حامض الميثيونين. ظهرت حزمة حامض الميثيونين عند 3932.86 سم⁻¹ مقارنة مع المركب النانوي التي ظهرت عند 3390.86 سم⁻¹ شكل الحزمة وموقعها يشير إلانها تعود إلى المجموعة OH وقد تغير في كلا المركبين بحدود 35 سم⁻¹ ، كذلك ظهور حزم عند 2951.09 سم⁻¹ في المستخلص ومقاربة لها في مركب الزنك النانوي عند 2920.23 سم⁻¹ حسب الأدبيات تُعزى إلى H-C الاليفاتية وكلا المركبين يحويان مركبات اليفاتية فضلاً عن ظهور حزم متقاربة عند 2725.42 و 2615.47 سم⁻¹ على التوالي للميثيونين والمركب النانوي حسب الدراسات السابقة يمكن أن تُعزى إلى H-C الالدهيدية فضلاً عن ظهور حزم عند 1653 سم⁻¹ و 1612.49 سم⁻¹ على التوالي (والتي تُعزى إلى الوجود مجاميع الكربونيل) (Obaid et al., 2020 ;Wilde et al., 2019).

- تحليل جهد الزيتا

فحص الزيتا لدقائق الزنك النانوي الأخضر هو مقياس للاستقرار وتشتت المواد الغروية ، إذ يُعرف بأنه فرق الجهد عبر حدود الطور بين المواد الصلبة والسائلة وهو القيمة الوحيدة التي يمكن استعمالها لوصف خصائص التشتت الغروي وتشير نتائج فحص الزيتا للجزيئات (-24.27) تبين هذه النتيجة درجة التآفر الأكتروستاتيكي بين الدقائق المتجاورة متماثلة الشحنة فضلاً عن انها توفر

الاستقرار للدقائق أي أنها تتحلل بشكل كافي وتصبح الدقائق أكثر مقاومة للتجميع ، بشكل عام فإن جهد زيتا للدقائق يفضل أن يكون أكثر من 30 ملي فولت وبما أن النتيجة (24.27-) فهذا يعني أن ثبات الجزيئات عالي.

- فحص المجهر الإلكتروني الماسح (SEM) Scanning Electron Microscope

المجهر الإلكتروني الماسح هو نوع من أنواع المجاهر الإلكترونية التي تنتج صورة عينة عن طريق مسح ذلك مع شعاع مركز من الإلكترونات مع الذرات في العينة وتنتج إشارات مختلفة تحوي معلومات حول تضاريس السطح وتكوينه، يتم مسح شعاع الإلكترون بشكل عام باستعمال المسح النقطي ويتم الجمع بين موقع الشعاع مع الإشارة لانتاج صورة ، يمكن تحقيق فصل أفضل من 1 نانو متر، يستعمل جهاز SEM للكشف عن المخلوقات الحية والمواد الصلبة الصغيرة جداً ويمكن من التحليل الكيميائي للعناصر الموجودة في العينة فضلاً عن تحديد كميتها، عند فحص عينة من الزنك النانوي مع حامض الميثيونين أظهرت نتائج تحليل الـ SEM دقائق كروية الشكل ضمن حجم نانوي يتراوح بين (23.89 ، 30.34 ، 41.79) نانومتر، شوهدت جسيمات نانوية كبيرة بسبب التجميع الذي حدث نتيجة وجود مكونات الخلية على سطح الدقائق النانوية وعمل كعامل حجز (Pirtarighat وآخرون ، 2018).

نتائج فحص التحليل الطيفي بالأشعة السينية المشتت للطاقة لدقائق الزنك النانوية الخضراء

أكد التحليل الطيفي للأشعة السينية (EDX) X-ray المشتت للطاقة إشارة الوجود عنصر الزنك ضمن الدقائق النانوية لمسحوق ميثيونين- الزنك النانوي إذ سجل طيف EDX قمة لعنصر الزنك أعلى من عنصري الاوكسجين والكربون مما يؤكد وجود الزنك بين الدقائق النانوية (Thambwani and Gnanasangeetha، 2013).

كذلك قدر تركيز الكلوكوز و الكوليسترول و انزيمات ALT ، AST في مصل دم الطيور عند عمر 35 يوماً حيث تم أخذ عينات الدم من الطيور مباشرة بعد عملية ذبحها وجمعت في أنابيب لا تحتوي على مادة مانعة للتخثر، وبعد ذلك تم فصل المصل من الدم باستخدام جهاز الطرد المركزي على سرعة 3000 دورة / دقيقة لمدة 15 دقيقة ومن ثم تم قياس الصفات المذكورة في مختبر علوم الحياة في كلية العلوم/جامعة بابل حيث قدر تركيز الكلوكوز باستخدام عدة قياس (Kit) من شركة Roche الألمانية و حسب طريقة (Coles، 1986)، وقدر تركيز الكوليسترول باستخدام عدة قياس (Kit) من شركة Roche الألمانية و حسب طريقة (Elias و Franey، 1968). أما تركيز انزيمات ALT ، AST فقد قدر باستخدام عدة قياس (Kit) من شركة Roche الألمانية و حسب طريقة (Frankel and Ritman، 1957). أما انزيم الكلوتاثيون بيروكسيداز فقد تم قياسه وفقاً لطريقة (Hafemann al., 1974) (1974)، و المألونديهايد فقد تم قياس تركيزه باستخدام عدة قياس (Kit) من شركة Roche استناداً إلى (Buege و Aust، 1978)، وقدر تركيز حامض اليوريك في مصل دم الطيور وبطريقة التحلل الانزيمي وحسب طريقة Henry وآخرون، (1982).

قياس المعيار الحجمي لأضداد امراض النيوكاسل والكمبورو والانفلونزا

تم قياس المعيار الحجمي للأجسام المناعية في مصل الدم والموجهة ضد مرض النيوكاسل Newcastle disease ومرض الكمبورو Infectious bursal disease ومرض الانفلونزا Influenza disease وذلك باختبار الأنزيم المناعي المتميز غير مباشر (ELISA) Enzyme Linked Immune Sorbent Assay وحسب الخطوات التي ذكرها (et al., 1984) Synder.

3-5 التحليل الإحصائي

تم تحليل البيانات باستعمال التصميم العشوائي الكامل (CRD) لدراسة تأثير المعاملات المدروسة في الصفات المختلفة ، وقورنت الفروق المعنوية بين المتوسطات باستخدام اختبار (Duncan، 1955) متعدد الحدود. استعمل البرنامج SAS (2012) في التحليل الإحصائي على وفق النموذج الرياضي الآتي:

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

إذ أن Y_{ij} : قيمة المشاهدات j العائدة للمعاملة i .

μ : المتوسط العام للصفة .

T_i : تأثير المعاملة i (إذ شملت الدراسة تأثير 6 معاملات الأنفة الذكر).

e_{ij} : الخطأ العشوائي الذي يتوزع طبيعياً بمتوسط يساوي صفر وتباين قدره e^2 .

النتائج والمناقشة

1- الصفات الكيموحيوية

1-1 الكلوكونز والكولسترول وحامض اليوريك والكلبيولين

يظهر الجدول (2) تأثير الدراسة في الكلوكونز والكولسترول وحامض اليوريك والكلبيولين، إذ بين التحليل الإحصائي حصول انخفاض معنوي ($P < 0.05$) لمستوى الكلوكونز في مصل دم طيور المعاملات T_2 و T_3 و T_4 و T_5 مقارنة مع المعاملة T_1 التي كانت الأعلى معنوياً، وفي الكولسترول وحامض اليوريك جاءت المعاملة T_1 الأعلى معنوياً ($P < 0.01$) مقارنة مع بقية المعاملات في حين كانت المعاملتان T_2 و T_4 هي الأقل معنوياً في الكولسترول والمعاملة T_3 هي الأقل معنوياً في حامض اليوريك على التوالي، ولم يحصل فرق معنوي بين معاملات التجربة في تركيز الكلبيولين.

الجدول (2): تأثير إضافة مستويات مختلفة من ميثيونين - الزنك النانوي في بعض الصفات الكيموحيوية لفروج اللحم المعرض للاجهاد الحراري (المتوسط $\pm$ الخطأ القياسي).

المعاملات	الكلوكوز	الكولسترول	حامض اليوريك	الكلبيولين
T1	a 15.21 $\pm$ 329.77	a 12.55 $\pm$ 264.58	a 0.09 $\pm$ 5.13	0.12 $\pm$ 1.30
T2	b 11.78 $\pm$ 293.55	c 5.60 $\pm$ 198.28	b 0.14 $\pm$ 4.65	0.02 $\pm$ 1.34
T3	b 1.60 $\pm$ 281.32	b 3.42 $\pm$ 226.67	c 0.12 $\pm$ 3.76	0.03 $\pm$ 1.33
T4	b 10.21 $\pm$ 271.38	c 5.10 $\pm$ 197.37	b 0.10 $\pm$ 4.60	0.04 $\pm$ 1.32
T5	b 10.44 $\pm$ 289.70	bc 3.28 $\pm$ 213.09	b 0.21 $\pm$ 3.77	0.03 $\pm$ 1.32
مستوى المعنوية	*	**	**	N.S
المتوسطات التي تحمل حروف مختلفة ضمن العمود الواحد تختلف معنوياً فيما بينها ** ($P < 0.01$) * ($P < 0.05$)، N.S: غير معنوي. المعاملات: T1 معاملة سيطرة (من دون إضافة)، T2، T3، T4، T5 هي إضافة 1 و 2 و 3 و 4 ملغم ميثيونين-الزنك النانوي/ كغم علف.				

1-2 صورة الدهون

يبين الجدول (3) تأثير المعاملات المدروسة في الدهون الثلاثية والبروتينات الدهنية واطئة الكثافة (LDL) والبروتينات الدهنية عالية الكثافة (HDL) والبروتينات الدهنية واطئة الكثافة جداً (VLDL)، ويلاحظ في الدهون الثلاثية حصول انخفاض معنوي ($P < 0.05$) للمعاملة T_4 مقارنة مع بقية المعاملات كما انخفضت معنوياً المعاملات T_2 و T_3 و T_5 مقارنة مع المعاملة T_1 ، أما في تركيز الـ LDL فقد انخفضت معنوياً ($P < 0.05$) المعاملات T_3 و T_4 و T_5 مقارنة مع المعاملة T_1 ولم يحصل اختلاف معنوي بين معاملات الدراسة في تركيز البروتين الدهني عالي الكثافة (HDL)، أما في مستوى الـ VLDL اظهر التحليل

الاحصائي انخفاض معنوي ($P<0.05$) للمعاملة T4 مقارنة مع بقية المعاملات تلتها المعاملة T5 مقارنة مع المعاملتان T1 و T3.

الجدول (3): تأثير إضافة مستويات مختلفة من ميثيونين - الزنك النانوي في صورة الدهون لفروج اللحم المعرض للاجهاد الحراري (المتوسط $\pm$ الخطأ القياسي).

المعاملات				الدهون الثلاثية	LDL	HDL	VLDL
T1	a 10.50 $\pm$ 194.48	a 0.62 $\pm$ 38.89	0.72 $\pm$ 88.68	a 1.43 $\pm$ 58.37			
T2	b 9.01 $\pm$ 172.64	ab 0.59 $\pm$ 34.52	4.52 $\pm$ 87.09	ab 1.68 $\pm$ 50.94			
T3	b 11.18 $\pm$ 166.85	b 0.50 $\pm$ 33.37	5.02 $\pm$ 87.34	a 4.12 $\pm$ 56.50			
T4	c 7.54 $\pm$ 144.28	b 0.42 $\pm$ 28.85	2.41 $\pm$ 85.49	c 5.32 $\pm$ 40.16			
T5	b 2.98 $\pm$ 165.34	b 0.19 $\pm$ 33.06	4.04 $\pm$ 76.10	b 2.46 $\pm$ 47.70			
مستوى المعنوية	*	*	N.S	*			

المتوسطات التي تحمل حروف مختلفة ضمن العمود الواحد تختلف معنوياً فيما بينها * ($P<0.05$), N.S: غير معنوي. المعاملات: T1 معاملة سيطرة (من دون إضافة)، T2، T3، T4، T5 هي إضافة 1 و 2 و 3 و 4 ملغم ميثيونين - الزنك النانوي / كغم علف.

1-3 مستوى مضادات الأكسدة وأنزيمات الكبد

يتضح من الجدول (4) تأثير المعاملات المدروسة في مستوى مضادات الأكسدة وأنزيمات الكبد، ويلاحظ في مستوى انزيم الكلوتاثيون بيروكسيداز حصول زيادة معنوية ($P<0.01$) للمعاملات T2 و T4 و T5 مقارنة مع المعاملة T1، وارتفع معنوياً ($P<0.01$) تركيز انزيم ALT في مصل دم طيور المعاملة T1 مقارنة مع المعاملات T2 و T3 و T5 أما في تركيز انزيم الـ AST فقد ظهرت زيادة معنوية ($P<0.01$) للمعاملة T1 مقارنة مع بقية المعاملات المدروسة كما ازدادت معنوياً المعاملة T2 مقارنة مع المعاملتان T3 و T4، أما في تركيز MDA فحصلت زيادة معنوية ($P<0.01$) للمعاملة T1 مقارنة مع بقية المعاملات كما ازدادت معنوياً المعاملة T3 مقارنة مع المعاملات T2 و T4 و T5 وازادت معنوياً المعاملة T5 مقارنة مع المعاملتان T2 و T4، وكانت المعاملة T4 اقل معنوياً من المعاملة T2.

الجدول (4): تأثير إضافة مستويات مختلفة من ميثيونين - الزنك النانوي في مضادات الأكسدة وأنزيمات الكبد لفروج اللحم المعرض للاجهاد الحراري (المتوسط $\pm$ الخطأ القياسي).

المعاملات				كلوتاثيون بيروكسيداز	ALT	AST	MDA
T1	c 4.50 $\pm$ 101.37	a 1.85 $\pm$ 34.40	a 9.08 $\pm$ 271.81	a 0.57 $\pm$ 14.80			
T2	a 9.83 $\pm$ 141.08	b 2.54 $\pm$ 23.17	b 4.13 $\pm$ 242.69	d 0.47 $\pm$ 9.34			
T3	bc 4.48 $\pm$ 118.03	b 1.08 $\pm$ 25.05	c 6.01 $\pm$ 200.15	b 0.14 $\pm$ 13.52			
T4	ab 2.82 $\pm$ 126.21	ab 3.58 $\pm$ 30.26	c 3.39 $\pm$ 206.64	e 0.04 $\pm$ 7.09			
T5	ab 0.74 $\pm$ 135.55	b 1.49 $\pm$ 22.65	bc 13.48 $\pm$ 224.97	c 0.21 $\pm$ 10.46			
مستوى المعنوية	**	**	**	**			

المتوسطات التي تحمل حروف مختلفة ضمن العمود الواحد تختلف معنوياً فيما بينها ** ($P<0.01$). المعاملات: T1 معاملة سيطرة (من دون إضافة)، T2، T3، T4، T5 هي إضافة 1 و 2 و 3 و 4 ملغم ميثيونين - الزنك النانوي / كغم علف.

أشارت الدراسات إلى أن الاجهاد الحراري يسبب تدهوراً في الحالة الفسلجية للطيور إذ يسبب زيادة إفراز الكاتيكولامينات من لب الكظرية لغرض زيادة إفراز الكلوكون في الدم واستنفاد الكلايكوجين في الكبد وتقليل نسبة الكلايكوجين في العضلات وزيادة معدل التنفس وتوسع الأوعية الدموية الطرفية وزيادة الحساسية العصبية لمواجهة الإجهاد (Siegel, 1984؛ Naga et al., 2018)،

كما يحصل اثناء الاجهاد تنشيط محور غدة تحت المهاد - الغدة النخامية - الكظرية استجابة للإجهاد إذ يتم إفراز هرمون إفراز الكورتيكوتروفين (corticotrophin-releasing hormone) CRH من تحت المهاد مما يؤدي إلى إطلاق هرمون محفز القشرة الكظرية (adrenocorticotrophic hormone) ACTH من الغدة النخامية، يزيد الهرمون الموجه لقشرة الكظرية من إنتاج وإفراز الكورتيكوستيرون عن طريق الغدة الكظرية (Vale and Smith, 2006) يحفز الكورتيكوستيرون استحداث السكر لزيادة مستويات الكلوكوز في البلازما (Naga et al., 2018) وهذا ما يفسر الارتفاع المعنوي للكلوكوز في معاملة السيطرة، ان إضافة الميثيونين لها دور إيجابي في تقليل إفراز هرمون الكورتيكوستيرون إلناقل مستوى وهذا يقود إلى تقليل حصول عملية gluconeogenesis ويجعل هناك توازناً في سكر الكلوكوز في الدم أو انه يحفز إفراز هرمون الانسولين من خلايا بيتا البنكرياسية ، مما يزيد دخول الكلوكوز إلداخل الانسجة ويبقى مستواه طبيعياً في الدم (Sturkie, 2000)، كما للزنك دوراً في تنظيم افراز الانسولين الذي يساعد على خفض الكلوكوز في مصل الدم (Tomaszewska et al., 2017).

أن حصول انخفاضاً معنوياً في تركيز كولسترول والدهون الثلاثية والبروتينات الدهنية LDL و VLDL في مصل الدم لطيور معاملات ميثيونين- الزنك النانوي قد يكون سببه ان الميثيونين الذي خفف من آثار الاجهاد الحراري والذي قد كان سبباً لأقتران التورين وهو الناتج الوسطي من ايض الميثيونين مع الاحماض الصفراوية والتي عملت بدورها على تكوين عوامل الاستحلاب Emulsifying agent وحصول تحلل فيزيائي للدهون وتقليل الشد السطحي وزيادة المساحة السطحية لقطرات الدهون لعمل انزيم اللابيز Lipase (Jensen and Tufft, 1992)، كما قد يكون انخفاض تركيزي الكليسيريدات الثلاثية والكوليسترول لأن الميثيونين يساهم في منح مجموعة المثل CH_3 إلى الفوسفاتيديل ايثانول امين وتكوين كميات لابأس بها من الفوسفاتيديل كولين (الليسيثين) والذي عمل على خفض تركيزي الكليسيريدات الثلاثية والكوليسترول في مصل دم الطيور (Navder et al., 1997)، إذ يعمل الليسيثين على خفض الكوليسترول وفق ميكانيكة الاستحلاب (Rousset et al., 2009) كما يعمل الميثيونين على خفض مستويات الدهون في الدم عن طريق تثبيط الإفراز الكبدي للبروتين الدهني LDL والدهون الثلاثية (El- et al., 2022) (Shobokshy)، وان ارتفاع تركيز الكوليسترول والدهون الثلاثية و LDL و VLDL في دم طيور معاملة السيطرة قد يعود إلى التعرض إلى الإجهاد الحراري إذ أن ارتفاع درجة حرارة القاعة يؤدي إلى ارتفاع تركيز كولسترول مصل الدم مقارنة مع المعدلات الطبيعية ، وان سبب هذا الارتفاع قد يكون لانخفاض في معدل افراز هرمونات الدرقية الثايرونين ثلاثي اليود T_3 الثايروكسين T_4 أثناء تعرض الطيور لدرجات حرارة مرتفعة، إذ أن انخفاض نشاط الغدة الدرقية يؤدي في العموم إلى زيادة مستوى الكوليسترول بالدم وذلك عن طريق الانخفاض في كل من معدل تكوين الكوليسترول ومعدل طرحه في الصفراء (Al-Jebory et al., 2023)، او قد يعود التحسن في صورة الدهون إلى دور الزنك الاساسي في تحفيز تكوين هرمونات الدرقية والتي تعدل من مستوى الكوليسترول والدهون الثلاثية في مصل الدم (Hameed et al., 2023) كذلك دوره الوقائي كمضاد للأكسدة والذي يقلل من بيروكسيد الدهون (Fatima et al., 2023).

كما أظهرت الدراسات السابقة على الطيور الداجنة أن الإجهاد الحراري مرتبط بالإجهاد التأكسدي الخلوي (Estévez, 2015): (Surai et al., 2019) إذ تتسبب الجذور الحرة الزائدة الناتجة أثناء الإجهاد التأكسدي في إتلاف جميع مكونات الخلايا بما في ذلك البروتينات والدهون والحامض النووي وتعتمد تأثيرات الإجهاد التأكسدي على شدته وتتراوح من التغيرات الصغيرة القابلة للانعكاس إلى الموت الخلوي المبرمج وموت الخلايا في حالة الإجهاد التأكسدي الشديد (Lennon et al., 1991)، مما يحدث خلا في نظام مضادات الاكسدة في الجسم (Estévez, 2015)، وهذا ما يفسر التدهور الحاصل في تركيز الكلوتاثيون بيروكسيديز

والمانواليايد في معاملة السيطرة أما تحسن هاتين الصفتين في معاملات ميثيونين - الزنك النانوي فقد يعود إلى الميثيونين والذي يعتبر أحد مضادات الأكسدة غير الإنزيمية، بشكل مباشر على التخلص من أنواع الأكسجين التفاعلية من خلال دورة إنزيمية معقدة ومنسقة تشتمل على اختزال سلفوكسيد الميثيونين والثيوريدوكسين والثيوريدوكسين المختزل، مما يمنع الضرر التأكسدي للدهون والبروتينات والأحماض النووية (Levine and Luo, 2009)، كما يمكن أن يكون الميثيونين أيضًا بمثابة مقدمة للكلوتاثيون (Lu, 2013) يعمل الكلوتاثيون بشكل رئيسي عن طريق إزالة H_2O_2 ، مما يمنع جزيء الجذر الحر من التحول إلى الجذر الهيدروكسيل عالي التفاعل خلال هذه العملية يمر الكلوتاثيون من شكله المخفض (GSH) إلى شكله المؤكسد (ثاني كبريتيد الجلوتاثيون) عبر عمل GPx وبالتالي يمكن استخدام تركيز GSH كمؤشر لحالة الأكسدة الخلوية (Ballatori et al., 2009)، كما قد يعود التحسن في حالة مضادات الأكسدة إلى دور الزنك والذي يعمل كمضاد للأكسدة من خلال تعويض بعض الايونات المعدنية مما يقلل من الجذور الحرة كما يقوم بعملية تثبيط استنزاف الكلوتاثيون من خلال عمله في الوقاية من بيروكسيد الدهون (Mateen et al., 2023).

إن سبب زيادة نشاط أنزيم AST و ALT في المعاملة T1 قد يعود لتعرض الطيور للإجهاد وهذا التحفيز الخاص لتلك الزيادة قد يعزى إلى هرمون الكورتكوستيرون المرتفع بسبب الإجهاد الحراري الحاد الذي تعرضت له الطيور المعاملات المختلفة الذي يؤثر في العديد من أنزيمات الكبد ومن ضمنها ALT و AST مؤدياً إلى ارتفاع نشاطهما بالدم (Richard: Oriordan et al., 1982) وان هذا التحفيز الخاص لتلك الزيادة في نشاط ALT,AST قد يعزى إلى المتطلبات الخاصة بتوليد الكلوكونز من مصادر غير كربوهيدراتية (الأحماض الأمينية)، إذ تعمل هذه الأنزيمات على تحفيز انتقال مجموعته الأمين من الأحماض الأمينية نوع ألفا إلى الأحماض الكيتونية وان الأخيرة تكون مصدراً مهماً للطاقة تدخل ضمن دوره كريس لإنتاج الطاقة في المايوتوكندريا (Stryer, 2000) ويستدل على ذلك بوضوح من خلال ترافق زيادة نشاط هذه الأنزيمات مع الزيادة في معدل الكلوكونز في مصل الدم الطيور، كذلك هناك علاقة بين هرمونات الدرقية ونشاط أنزيم AST حيث ذكر Kaplan و Larsen، (1985) حصول انخفاض في نشاط الدرقية مترافقاً مع زيادة نشاط AST وبالتالي حصول انخفاض لتخليق البروتين، ومن الجدير بالذكر أن أنزيمي ALT,AST توجد بالأنسجة وتنتقل إلى المصل الدم بعد تحطيم الأنسجة وتوجد بتركيز عالية في الكبد والكلية (الدراجي وآخرون، 2008)، وان انخفاض تراكيز تلك الأنزيمات في دم طيور معاملات ميثيونين - الزنك النانوي قد يكون بسبب دور الميثيونين المضاد للأكسدة (Lu, 2013) بالإضافة إلى دوره الأساسي في موازنة الأحماض الأمينية في العليقة (Bunchasak et al., 2009)، وهذا قد خفف من حدة الإجهاد الحراري الذي تتعرض له الطيور، كما ان الدور المضاد للأكسدة الذي يمتلكه الزنك يعمل على تقليل محفزات عملية الأكسدة كأيونات المعادن وذلك بمنع انطلاقها من الأنسجة ومن ثم كسر السلسلة لتفاعل الجذور الحرة والتوقف عن إنتاج وتكوين هذه الجذور وخاصة الجذور الحرة لأنواع الأوكسجين التفاعلي مما يزيد من حماية أغشية الكبد وكذلك حماية الأحماض الدهنية غير المشبعة المتعددة أغشية الخلايا من ضرر الأكسدة وبالتالي الحفاظ على صفات النفاذية الاختيارية لغشاء الكبد مما يعمل على منع تسريب الأنزيمات من داخل الخلية إلى الخارجها (Dani et al., 2008).

2- الصفات المناعية

يشير الجدول (5) للتأثير معاملات الدراسة في مؤشرات المناعة لطيور التجربة، ويتبين في مستوى الأجسام المضادة لمرض التهاب الشعب الهوائية حصول تفوق معنوي ($P < 0.05$) للمعاملة T4 مقارنة مع المعاملة T1 ولم يحصل اختلاف معنوي بين المعاملات T2 و T3 و T5 والمعاملة T4 من جهة وايضا المعاملة T1 من جهة اخرى، أما في مستوى الاجسام المضادة

لمرض النيوكاسل فقد ظهر تفوق معنوي ($P < 0.05$) للمعاملتين T3 و T5 مقارنة مع المعاملة T1 والتي لم تختلف معنوياً مقارنة مع المعاملات T2 و T4، كما لم يحصل فرق معنوي بين المعاملات المدروسة في مستوى الاجسام المضادة لمرض الانفلونزا. ان التعرض للإجهاد الحراري يمكن ان يزيد من الاجهاد التأكسدي وبالتالي تلف الخلايا المناعية والتأثير على الحالة الصحية والمناعية للطائر (Eijkelkamp et al., 2019؛ Read et al., 2019)، وان الخلايا المناعية تكون حساسة للإجهاد التأكسدي بسبب وجود نسبة عالية الاحماض الدهنية المتعددة غير المشبعة في أغشية الخلايا المناعية وان إنتاج كميات كبيرة من الجذور الحرة تسبب أكسدة الدهون وتلف الغشاء الخارجي للخلايا ومن ثم حدوث الضرر لمستقبلات المستضدات الموجودة على غشاء الخلية (Yuan et al., 2014)، مما يقلل من إنتاج الاجسام المضادة، هذا ما يفسر الانخفاض المعنوي للمستضدات في معاملة السيطرة. الميثيونين بكونه احد مضادات الأكسدة غير الإنزيمية، إذ يعمل بشكل مباشر على التخلص من أنواع الأكسجين التفاعلية وتنشيط بروتينات الثيودوكسين المضادة للأكسدة، مما يمنع الضرر التأكسدي للدهون والبروتينات (Luo and Levine, 2009) كما يمكن أن يكون الميثيونين أيضاً بمثابة مقدمة للكلوتاثيون (Lu, 2013) مما يقلل من عبء الإجهاد الحراري على الطيور وبالتالي دعم مناعة الطير، حيث ان الميثيونين يمكن ان يزيد من وزن جراب فابريشيا وغدة التوتة في الدجاج ووجد ان نقص الميثيونين يسبب خلل في بناء انسجة الاعضاء المناعية وانخفاض وزن غدتي التوتة وفابريشيا (et al., 2017 Ruan)، كما يعمل الزنك على زيادة تصنيع بروتين metallothionein الذي يمتلك ادواراً مناعية (Oteiza وآخرون , 1996) أو من خلال تعويض بعض العناصر المعدنية كالحديد والنحاس في حالة نقصها بفعل الإجهاد الحراري (Prasad and Kucuk, 2002). كما يعد الزنك عنصراً ضرورياً لنمو وتطور وفعالية الجهاز المناعي للطيور من خلال ارتباطه ببعض الانزيمات الضرورية لسلامة وفعالية الخلايا المناعية (Kidd et al., 1996)، فضلا عن ذلك ان تحسن حالة مضادات الأكسدة في معاملات ميثيونين- الزنك النانوي وتحسن اغلب الصفات الفسلجية يمكن ان تحسن من مستوى عمل الجهاز المناعي مما يزيد من مستوى الاجسام المضادة في مصل دم الطيور المغذاة على ميثيونين- الزنك النانوي.

الجدول (5): تأثير إضافة مستويات مختلفة من ميثيونين- الزنك النانوي في مستوى الاجسام المضادة لفروج اللحم المعرض للإجهاد الحراري (المتوسط $\pm$ الخطأ القياسي).

المتوسط $\pm$ الخطأ القياسي			المعاملات
الاجسام المضادة لمرض النيوكاسل	الاجسام المضادة لمرض التهاب الشعب الهوائية	الاجسام المضادة لمرض التهاب الشعب الهوائية	
74.24 $\pm$ 5267.67	b 118.14 $\pm$ 4323.33	b 0.57 $\pm$ 4323.30	T1
263.45 $\pm$ 5464.00	ab 122.61 $\pm$ 6342.33	ab 321.65 $\pm$ 4874.00	T2
100.78 $\pm$ 5796.00	a 105.84 $\pm$ 6599.67	ab 46.47 $\pm$ 4838.33	T3
149.88 $\pm$ 5756.67	ab 80.48 $\pm$ 6314.67	a 136.09 $\pm$ 5229.00	T4
152.64 $\pm$ 5488.67	a 146.06 $\pm$ 6654.00	ab 387.48 $\pm$ 5099.33	T5
N.S	*	*	مستوى المعنوية
المتوسطات التي تحمل حروف مختلفة ضمن العمود الواحد تختلف معنوياً فيما بينها * ($P < 0.05$), N.S: غير معنوي. المعاملات: T1 معاملة سيطرة (من دون إضافة)، T2، T3، T4، T5 هي إضافة 1 و 2 و 3 و 4 ملغم ميثيونين- الزنك النانوي/ كغم علف.			

الاستنتاجات

يستنتج أن نانو ميثيونين- الزنك حسن من الأداء الفسلجي ومستوى المناعة لفروج اللحم المعرض للإجهاد الحراري حيث جاءت التراكيز 3 و 4 ملغم/ كغم بأفضل النتائج ويوصى بإضافتها في علائق فروج اللحم.

المراجع

- الدراجي ، حازم جبار، وليد خالد الحياي و علي صباح الحسني . 2008 .
 فلسجة دم الطيور .وزارة التعليم العالي والبحث العلمي - جامعة بغداد - كلية الزراعة .
- AL-Jaryan, I.L., T.M. AL-Thuwaini and H.H. AL-Jebory (2023). Heat Shock Protein 70 and Its Role in Alleviating Heat Stress and Improving Livestock Performance. *Reviews in Agricultural Science*, 11: 234–242.
- Al-Jebory, H.H., M. K. I. Al-Saeedi., I. L. Al-Jaryan., and F.R.AL-Khfaji (2023). Impact of Neem (*Azadirachta Indica*) leaves powder on growth performance of broiler (Ross 308) exposed to heat stress. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*, 15(2): 1-5. DOI: 10.22587/rjabs.2023.15.2.1.
- Ballatori, N., S.M. Krance, S. Notenboom, S. Shi, K. Tieu, and C.L. Hammond (2009). Glutathione dysregulation and the etiology and progression of human diseases. *Biological Chemistry* 390, 191–214.
- Buege, J. A., and S. D. Aust (1978). Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol.* 52:302–310.
- Bunchasak, C. (2009). Role of Dietary Met in Poultry Production. *J Poult Sci.* 46: 169-179.
- Burkholder, K.M., K.L. Thompson, M.E. Einstein, T.J. Applegate, J.A. Patterson (2008). Influence of stressors on normal intestinal microbiota, intestinal morphology, and susceptibility to *Salmonella enteritidis* colonization in broilers. *Poult. Sci.* 87, 1734–1741. <https://doi.org/10.3382/ps.2008-00107>.
- Coles, E.H. (1986). *Veterinary Clinical Pathology*. W.Bsaunders. 4th. Ed. P.P. 279 – 301.
- Daneshvar, N., S. Aber, M.S. Sayed Dorraji, A.R. Khataee, M.H. Rasolifard (2008). preparation and investigation of photocatalytic properties of ZnO nanocrystals. effect of operational parameters and kinetic study. *Int. J. Chem.* 2008.
- Dani , C. , L.S.Oliboni , M.A.B.Pasquali , M.R.Oliveira , F.M.Umezu , M.Salvador , J.C.F.Moreira , and A.P.Henriques (2008). Intake of purple grape juice as a hepatoprotective agent in wistar rats. *J. Med . Food .* 11(1) : 127-132.
- Del Vesco A.P., .E Gasparino, A.R.O. Neto, R.M. Rossi, M.A.M. Soares, and S.C.C. da Silva (2013). Effect of Methionine supplementation on mitochondrial genes expression in the breast muscle and liver of broilers. *Livest Sci.* 151: 284-291.
- Del Vesco A.P., E. Gasparino, D.O. Grieser, V. Zancanela, M.A.M. Soares and A.R.O. Neto (2015). Effects of methionine supplementation on the expression of oxidative stress-related genes of acute heat stress-exposed broilers. *British Journal of Nutrition* 113, 549–559
- Del Vesco, A.P., A.d.S. Khatlab, T.P. Santana, P.C. Pozzab, M.A.M. Soares, C.O. Britoa, L.T. Barbosaa, E. Gasparino (2020). Heat stress effect on the intestinal epithelial function of broilers fed methionine supplementation. *Livestock Science* 240: 104-152.
- Deng, X., Li, Z., Zhang (2012). Transcriptome sequencing of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis under desiccation and starvation stress in peanut oil. *Food Microbiol.* 30, 311–315. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2011.11.001>.
- Dokladny, K., M.N. Zuhl, P.L. Moseley (2016). Intestinal epithelial barrier function and tight junction proteins with heat and exercise. *J. Appl. Physiol.* 120, 692–701. <https://doi.org/10.1152/japplphysiol.00536.2015>.
- Duncan, D.B. (1955). Multiple Rang and Multiple F-test. *Biometrics.* 11: 4-42.

Eijkelkamp, B. A., Morey, J. R., Neville, S. L., Tan, A., Pederick, V. G., Cole, and M.c. Devitt (2019). Dietary zinc and the control of *Streptococcus pneumoniae* infection. *PLoS pathogens*, 15(8), e1007957.

El-Shobokshy, S.A., M.I. Abo-Samaha, E.M. Abd El-Maksoud, S.A. Khatab, A.F. Khafaga, and G. Wirtu (2022). Influence of Nano-Methionine supplementation in drinking water on growth performance, lipid metabolism, and related gene expression in broiler chicken. *J Adv Vet Anim Res*. 9(4):743–753.

Elumalai, K., S. Velmurugan, S. Ravi, V. Kathiravan, and S. Ashokkumar (2015). Green synthesis of zinc oxide nanoparticles using *Moringa oleifera* leaf extract and evaluation of its antimicrobial activity. *Spectrochimica Acta Part A: Mol. Biomol. Spectro*. 143, 158-164.

Estévez, M. (2015). Oxidative damage to poultry: From farm to fork. *Poult. Sci*. 94, 1368–1378.

Fatima, A., Zaheer, T., Pal, K. R.O Abbas, T. Akhtar, S. Ali, and M.S Mahmood (2023). Zinc Oxide Nanoparticles Significant Role in Poultry and Novel Toxicological Mechanisms. *Biol Trace Elem Res* 20:23.

Franey, R.J., and A. Elias (1968). Serum cholesterol measurement based on ethanol extraction and ferric chloride- sulfuric acid. *Clinical Chem.. Acta*. 21 : 255- 293.

Gasparino, E., A. P. Del Vesco, A. S. Khatlab, V. Zancanela, D. O. Grieser and S. C. C. Silva (2017). Effects of Methionine hydroxy analogue supplementation on the expression of antioxidant-related genes of acute heat stress-exposed broilers. *Animal*. 1-9 .

Gnanasangeetha, D., and D.S. Thambwani (2013). Biogenic production of zinc oxide nanoparticles using *Acalypha indica*. *J Chem Biol Phys*. 1:238–246.

Gonzalez-Esquerro, R., and S. Leeson (2006). Physiological and metabolic responses of broilers to heat stress implications for protein and amino acid nutrition. *World's Poult Sci J*. 2006; 62: 282-295.

Gopi, M., B. Pearlin, R.D. Kumar, M. Shanmathy and G. Prabakar (2017). Role of nanoparticles in animal and poultry nutrition: Modes of action and applications in formulating feed additives and food processing. *Int. J. Pharmacol.*, 13: 724-731.

Hafemann, D.G., R.A. Sunde, W.G. Houestra (1974). Effect of dietary selenium on erythrocyte and liver glutathione peroxidase in the rat. *J Nutr*. 104:580–584.

Hameed, H., S. Mahmood, and A. Al-Farha (2023). Nano-zinc Oxide and Zinc Sulfate in Broilers: Effect on Thyroid Hormones and Internal Intestinal Environments. *Egyptian Journal of Veterinary Sciences*, 54(3), 347-358.

Henry, A.J., C. Sobel, and J. Kim (1982). Determination of uric acid in : fundamental of clinical chemistry P.999.edt.Tietz, N.W., W. B. Saunders company Philadelphia, London, Toronto.

Kaplan, M.M., and P.R. Larson (1985). The medical clinics of north America (thyroid disease) Vol. 69. W.B. Saunders company. Philadelphia London Toronto Mexico city Riode Janeiro Sydney Tokyo.

Kidd, M.T. , P.R.Ferket and M.A.Qureshi (1996). Zinc metabolism with special reference to its role in immunity . *Worlds. Poult. Sci . J .* 52 : 309 – 324 .

Lara L.J., and M.H. Rostagno (2013) Impact of heat stress on poultry production. *Animals* 3, 356–369.

Lennon, S.V., S.J. Martin, and T.G. Cotter (1991). Dose-dependent induction of apoptosis in human tumour cell lines by widely diverging stimuli. *Cell Prolif*. 24, 203–214.

Levine, R.L, J. Moskovitz, and E.R. Stadtman (2000). Oxidation of Methionine in proteins: roles in antioxidant defense and cellular regulation. *International Union of Biochemistry and Molecular Biology Life* 50, 301–307.

Lu, S.C. (2013). Glutathione synthesis. *Biochimica et Biophysica Acta* 1830, 3143–3153.

Luo, S., and R.L. Levine (2009). Methionine in proteins defends against oxidative stress. *FASEB J.* 23: 464-472.

MacDonald , R.S. (2000). The role of zinc in growth and cell proliferation. *J.Nutr.* 130 (5) : 1500 – 1508 .

Mateen, S.Z.D., G. Sheikh, and Q. Sahib (2023). Impact of Dietary Inclusion of Organic Zinc and Chromium on Physiological Response of Broiler Chickens Exposed to Cold Stress. *Poultry Science Journal*, 11(2), 169-179.

Mc Dowell , L.R. (2003) . Zinc minerals in animal and human nutrition. Elsevier Sci. Amsterdam , Netherlands , pp. 357 – 395 .

Naga R.K.K., and N.D. Narendra (2018). Ameliorative measures to counter heat stress in poultry. *World's Poult. Sci. J.* 74, 117–130.

Navder, K.P., E. Baraona. and C. Lieber (1997). Polyenyphosphatidylcholine decreases alcoholic hyperlipemia without affecting the alcoholinduced rise of HDL cholesterol. *Life Sciences*; 61:1907.

NRC. (1994). *Nutrient Requirements of Poultry*, 9th Revised Edition. Nutrient Requirements of Domestic Animals, Nat. Res. Coun. Washington, DC: USA, National Academy Press.

Obaid, S.M., A.J. Jarad, A.A. Al-Hamdani (2020). Synthesis, characterization, and biological activity of mixed ligand metal salts complexes with various ligands. In *Journal of Physics: Conference Series* 2020;1660 (1):012028 .

Oriordan, J.L., H. P.G. Malan, and R.P. Gould (1982). *Essential of endocrinology*. Black well scientific publication, London, Edinburg, Boston.

Oteiza , P.L. (1996). Oxidant defense system in testes from zinc-deficient rats . *Proc . Soc . Exp. Biol. Med .* 213 : 85 – 91 .

Pirtarighat, S., G. Maryam, and B. Saeid (2018). Green synthesis of silver nanoparticles using the plant extract of *Salvia spinosa* grown in vitro and their antibacterial activity assessment. *Journal of Nanostructure in Chemistry* <https://doi.org/10.1007/s40097-018-0291-4>.

Prasad , A.S. , and O.Kucuk (2002). Zinc in cancer prevention . *Cancer Metastasis Rev.* 21 : 291 – 295.

Read, S. A., S.bObaid, C.nAhlenstiel, and G. Ahlenstiel (2019). The role of zinc in antiviral immunity. *Advances in nutrition*, 10(4), 696-710.

Reda, F.M., M. Alagawany, H.K. Mahmoud, S.A. Mahgoub, and S.S. Elnesr (2019). Use of red pepper oil in quail diets and its effect on performance, carcass measurements, intestinal microbiota, antioxidant indices, immunity and blood constituents. *Animal*. 14: 1025-1033.

Richard, A., and M.D. Preston (2006). Acid-base, fluids and electrolytes made ridiculously simple. University of miami school of Medicine med master, Inc., Miami. USA.

Ritman, S. and S. Frankel (1957). Acolorimetric method for the determination of serum glutamic oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminases. *AM. J. Clin. Path.* 28 : 56-63.

Rousset .X., B. Vaisman, M. Amar, A. A. Sethi, and A. T. Remaley (2009). Lecithin: cholesterol acyltransferase: from biochemistry to role in cardiovascular disease. *Current Opinion in Endocrinology, Diabetes and Obesity*, 16(2): 163–171.

- Ruan, T., L.J. Li, X. Peng, and B.Y. Wu (2017). Effects of Methionine on the Immune Function in Animals. *Health*, 9, 857-869. <https://doi.org/10.4236/health.2017.95061>
- SAS (2012). Statistical Analysis System, User's Guide. Statistical. Version 9.1th ed. SAS. Inst. Inc. Cary. NC. USA.
- Siegel, H.V., and M. Van Kampen (1984). Energy relationships in growing chickens given daily injections of corticosterone. *Br. Poult. Sci.* 25, 477–485.
- Smith, S.M., and W.W. Vale (2006). The role of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in neuroendocrine responses to stress. *Dialogues Clin. Neurosci.* 8, 383.
- Stryer, L. (2000). *Biochemistry* 9th Ed. Printer Stanford university, W.H. Freeman and company. New York.
- Sturkie, P.D. (2000). *Avian physiology* .5th ed . New York , Heider berg , Barlin, Springer , Verlag .
- Surai, P.F., I.I. Kochish, V.I. Fisinin, M.T. Kidd (2019). Antioxidant Defence Systems and Oxidative Stress in Poultry Biology: An Update. *Antioxidants*. 8, 235.
- Synder, E.L., P.M. Ferri, and D.F. Mosher (1984). Fibronectin in liquid and frozen stored blood components. *Journal of Applied Psychology*, 24(1): 53-56.
- Tomaszewska, E.I., S.I.I Muszyński, P. Dobrowolski, M. Kwiecień A. Winiarska-Mieczan, Ś.A. Wawrzyniak (2017). Effect of Zinc Level and Source (Zinc Oxide Vs. Zinc Glycine) on Bone Mechanical and Geometric Parameters, and Histomorphology in Male Ross 308 Broiler Chicken. *Brazilian Journal of Poultry Science*. 19(1): 159-170.
- Tuft, L. S., and L. S. Jensen (1992). Influence of dietary taurine on performance and fat retention in broilers and turkey poults fed varying levels of fat. *Poultry Science*, 71:880–885.
- Wilde, A.S., S.A. Haughey, P. Galvin-King, C.T. Elliot (2019). The feasibility of applying NIR and FT-IR fingerprint to detect adulteration in black paper. *Food Control*. 1(2); 100: 1-7.
- Yuan, D., X. Guo, M. Shi, L. Zheng, Y. Wang, and X. Zhan (2014). Maternal Dietary Supplementation with Two Sources of Selenium Affects the Mortality and the Antioxidative Status of Chick Embryo at Different Developmental Periods. *International Journal of Agriculture and Biology*, 16(3).
- Zago, M.P., and P.I. Oteiza (2001). The antioxidant properties of zinc. interactions with iron and antioxidants. *Free Radic Biol. Med.* 31 :266 – 274 .

Effect of Adding Different Levels of Nano Methionine -Zinc to The Diet on The Biochemical and Immunological Traits of Broilers Exposed to Heat Stress

Rasha Fajer Al-Jebory^{(1)*} and Fadhil Rassol Al-Khfajy⁽¹⁾

(1). Department of Animal Science, Agriculture College- Al-Qasim Green University, Iraqi.

(*Corresponding author: Rasha Fajer Al-Jebory. E-Mail: Rahsa.fajer1989@agre.uoqasim.edu.iq).

Received: 21/10/2023

Accepted: 24/12/2023

Abstract

This experiment was conducted in the farm of Al-Anwar Poultry Company in Babylon/Al-Muradiyah Government, for the period from 7/25/2023 to 8/29/2023, where 300 broiler chickens (Ross 308) were used, divided into 5 treatments, with 3 replicates for each treatment and each replicate. 20 chicks, and nano-methionine-zinc was added to the diet at a concentration of 0, 1, 2, 3, and 4 mg/kg feed for treatments T1, T2, T3, T4, and T5, respectively. All birds in the treatments were exposed to heat stress (35 ± 1 degrees Celsius) for the duration of the experiment (35 days). The results showed a significant decrease in the concentration of glucose, cholesterol, uric acid, triglycerides, and MDA (Malondialdehyde) in nano-methionine-zinc addition treatments compared to the control treatment. A significant improvement occurred for treatments T3, T4, and T5 in the concentration of LDL (Low-density lipoprotein), and the two treatments T4 also improved. In addition, T5 in the concentration of VLDL (Very low-density lipoprotein) compared to the control treatment. A significant increase in the concentration of glutathione peroxidase was shown in favor of the treatments T2, T4 and T5 compared to the control treatment. A significant increase in the level of the enzymes AST (Aspartate aminotransferase) and ALT (Alanine aminotransferase) was shown in the blood of the T1 treatment birds compared to the rest of the study treatments. There was a significant increase in the level of antibodies against infectious bronchitis in favor of the T4 treatment birds. The level of antibodies against Newcastle disease also increased in the blood of the T3 and T5 treatment birds compared with the T1 control treatment.

Keywords: amino acid nanoparticles, thermal stress, broiler chickens, nanotechnology.