

## تأثیر سطوح مختلف پروتئین جیره و نانویاور (نانوادجوانت) بر عملکرد، ویژگی‌های لاشه و پاسخ ایمنی جوجه‌های گوشتی

فاطمه عزیزعلی آبادی<sup>۱</sup>، حسن درمانی کوهی<sup>۲\*</sup> و مهرداد محمدی<sup>۲</sup>

۱ و ۲. دانشجوی سابق کارشناسی ارشد و دانشیاران، گروه علوم دامی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۱۰/۴ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۵/۲۷)

### چکیده

این آزمایش به مدت ۴۲ روز با استفاده از ۲۴۰ قطعه جوجه گوشتی یک‌روزه سویه راس ۳۰۸، در قالب آزمون فاکتوریل ۳×۲ با سه سطح پروتئین (پایین، متوسط و بالا) و دو سطح نانویاور (حاوی نانویاور و بدون آن) با شش تیمار و چهار تکرار و ده قطعه جوجه در هر تکرار در قالب یک طرح کامل تصادفی انجام شد. اثرگذاری اصلی سطح پروتئین جیره در دوره آغازین و رشد بر خوراک مصرفی معنی‌دار بود ( $P < 0.05$ ). در رابطه با افزایش وزن روزانه نیز تنها اثرگذاری اصلی سطح پروتئین جیره در دوره آغازین، رشد و کل دوره معنی‌دار شد ( $P < 0.01$ ). در مورد ضریب تبدیل خوراک هم تنها اثرگذاری اصلی سطح پروتئین جیره در دوره آغازین معنی‌دار بود ( $P < 0.01$ ). اثر اصلی سطح پروتئین جیره برای وزن نسبی (درصد از وزن زنده) لاشه، ران، میزان چربی حفره شکمی و بورس معنی‌دار بود ( $P < 0.05$ ). از نظر عیار پادتن (تیتراژ آنتی‌بادی) علیه SRBC، در ۲۸ روزگی اثر اصلی سطح پروتئین جیره و نانویاور بر عیار پادتن تام، IgM و IgG معنی‌دار بود ( $P < 0.05$ ). سامانه ایمنی یاخته‌ای در پاسخ به تزریق PHA-P تحت تأثیر تیمارها قرار نگرفت. به‌عنوان نتیجه‌گیری کلی، جیره‌های با سطوح بالای پروتئین توان بیشتری را به‌منظور بهبود عملکرد تولیدی و ایمنی جوجه‌ها در مقایسه با جیره‌های با سطوح متوسط و پایین از خود نشان دادند. افزون بر این، وجود نانویاور منجر به تحریک پاسخ ایمنی هومورال جوجه‌های گوشتی شد.

واژه‌های کلیدی: پاسخ ایمنی، پروتئین، عملکرد، نانویاور، ویژگی‌های لاشه.

## Effects of protein density and nano-adjuvant on performance, carcass characteristics and immune response of broiler chickens

Fatemeh Aziz Ali-Abadi<sup>1</sup>, Hassan Darmani Kuhi<sup>2\*</sup> and Mehrdad Mohammadi<sup>2</sup>

1, 2. Former M. Sc. Student and Associate Professors, Department of Animal Science, College of Agricultural Science, University of Guilan, Rasht, Iran. P.O.Box: 58643-41889

(Received: Dec. 25, 2015 - Accepted: Aug. 17, 2016)

### ABSTRACT

An experiment was conducted on 240 one-day old Ross 308 broiler chicks using a completely randomized design in a 2×3 factorial arrangement with two levels of nano-adjuvant (with and without) and three levels of dietary protein (low, medium and high) during a 42 d experimental period. The main effect of protein density on feed intake was significant during the starter and grower periods ( $P < 0.05$ ). With regard to body weight gain, the main effect of protein density was significant in the starter, grower and whole experimental periods ( $P < 0.01$ ). Among the main and interaction effects, only the main effect of protein density on feed conversion ratio in the starter period was significant ( $P < 0.01$ ). The effect of protein density was also significant on the relative weights of carcass, legs, abdominal fat pad and bursa of Fabricius ( $P < 0.05$ ). The main effects of the protein density and nano-adjuvant for total anti-SRBC and IgG titers were significant at day 28 ( $P < 0.05$ ). Cell immunity in response to PHA-P injection was not affected by the factors. As an overall conclusion, diets with high protein density showed a better ability in improving the performance and immune response of broiler chicks compared to the diets with medium and low protein density. Also, the results showed some advantages for nano-adjuvant in humoral immune response stimulation.

**Keywords:** carcass characteristics, immune response, nano-adjuvant, performance, protein density.

### مقدمه

هزینه خوراک یک بخش مهم از هزینه‌های پرورش جوجه‌های گوشتی است. در میان ترکیب‌های جیره‌ای، هزینه پروتئین ۱۵ درصد از کل هزینه‌ها را در بر می‌گیرد (Banerjee, 1992). یک موضوع مهم و مورد علاقه محققان در فرموله کردن جیره‌ها داشتن بهترین سطوح انرژی و پروتئین برای بهبود عملکرد سامانه ایمنی و رشد است. کمبود پروتئین و اسیدهای آمینه در جیره‌های طیور باعث کاهش مصرف خوراک، رشد، تولید و اندازه تخم‌مرغ شده و در مواردی که کمبود پروتئین شدید باشد، کاهش وزن و تحلیل دستگاه تولیدمثل نیز مشاهده می‌شود (NRC, 1994). موفقیت در پرورش جوجه‌های گوشتی ارتباط مستقیمی با افزایش درصد لاشه، گوشت سینه و کاهش درصد چربی لاشه دارد (Dairo *et al.*, 2010). میزان پروتئین و آمینواسیدهای جیره، ترکیب لاشه جوجه‌های گوشتی را تحت تأثیر قرار می‌دهد، به طوری که با کاهش سطح پروتئین جیره میزان پروتئین لاشه کاهش می‌یابد (Si *et al.*, 2001). میزان دسترسی به مواد مغذی تأثیر محسوسی روی سامانه ایمنی دارد (Kwak *et al.*, 2001). کمبودهای شدید و مزمن مواد مغذی به پاسخ ایمنی آسیب رسانده و قابلیت و زمینه ابتلا به بیماری‌های عفونی را افزایش می‌دهد. سوخت‌وساز (متابولیسم) ریزمغذی‌ها مانند آهن، سلنیوم و غیره می‌تواند بر عملکرد سامانه ایمنی تأثیر بگذارد و کمبود یا بیشبود این عناصر می‌تواند سبب اختلال در پاسخ ایمنی علیه عفونت‌ها و یا پاسخ ایمنی نامناسب پس از واکسن زدن شود (Wintergerst *et al.*, 2007). بعضی از مواد مغذی به‌طور مستقیم از راه تغییر در اعمال یاخته‌های ایمنی بر سامانه ایمنی مؤثرند و بعضی نیز به‌طور غیرمستقیم از راه مسیرهای هورمونی یا عصبی بر سامانه ایمنی اثرگذار هستند (Lochmiller *et al.*, 2000). مهم‌ترین مواد مغذی که به‌طور غیرمستقیم بر سامانه ایمنی تأثیر می‌گذارند انرژی و پروتئین هستند (Klasing *et al.*, 1988). این مواد با تغییر مسیرهای هورمونی می‌توانند روی فعالیت سامانه ایمنی تأثیر بگذارند.

۵ درصد تلفات در نیمچه‌های گوشتی ناشی از

انواع بیماری‌ها شامل نیوکاسل، گامبور، برونشیت و آنفلوانزا است (Iran's Minister of Jihad-e-Agriculture, 2010). یکی از مهم‌ترین راه‌های پیشگیری از این بیماری‌ها واکسن زدن گله است. به‌منظور کاهش اثرگذاری‌های زیانبار مربوط به واکسن زدن و تحریک نوع خاصی از ایمنی، یاور (ادجوانت)‌های جدیدی گسترش یافته است. نانویاورها ترکیب‌هایی هستند که سبب افزایش عملکرد سامانه ایمنی می‌شوند (Fakharzadeh *et al.*, 2013). نانویاورها می‌توانند سبب القای سریع تولید پادتن (آنتی‌بادی)، افزایش عیار پادتن (تیتراژ آنتی‌بادی)، طولانی شدن زمان تولید پادتن (Lindblad, 2004) و همچنین کاهش میزان آنتی‌ژن لازم برای هر دوز واکسن شوند (Gupta & Siber, 1995). نانویاورهای رایج مانند امولسیون‌های روغنی و یا ترکیب‌های آلومینیوم نقایص چندی دارند. در واقع این نانویاورها عوارض گوناگون داشته، در محل تزریق تحریک موضعی قوی ایجاد می‌کنند. آماده‌سازی آن‌ها مشکلات پرشماری داشته و مهم‌تر اینکه قادر به ایجاد ایمنی‌زایی مناسب نیستند (Xia *et al.*, 2010). به همین دلیل، محققان در مراکز معتبر تحقیقاتی جهان به دنبال ساخت (سنتر) نانویاورهای جدید، برای ارتقای بهتر عملکرد سامانه ایمنی هستند. بن‌زنا نام تجاری نانویاوری است که بر پایه فناوری نانو کلیت (nanochelating) برای نخستین بار در جهان به‌طور اختصاصی و منحصربه‌فرد برای استفاده در واکسن زدن جوجه‌های گوشتی طراحی و تولید شده است. بن‌زنا یک ترکیب آلی است که به دلیل ساختار ویژه، قابلیت اختلاط و مصرف با انواع واکسن‌ها را دارد و به‌سادگی به چهار صورت خوراکی، اسپری، چشمی و تزریقی به همراه واکسن قابل استفاده است. با توجه به اهمیت ارتباط بین تغذیه و سامانه ایمنی در طیور، در این پژوهش تأثیر سطوح مختلف پروتئین جیره و نانویاور بر عملکرد و سامانه ایمنی جوجه گوشتی مطالعه شد.

## مواد و روش‌ها

استفاده شد. عامل‌های موردبررسی شامل سه سطح پروتئین (پایین، متوسط و بالا) و دو سطح نانویاور (حاوی نانویاور و بدون آن) بودند. جیره‌های آزمایشی مورد استفاده و ترکیب شیمیایی آن‌ها در جدول ۱ نشان داده شده است.

در این آزمایش از شمار ۲۴۰ قطعه جوجه گوشتی یک‌روزه سویهٔ راس ۳۰۸ (مخلوط نر و ماده) در یک آزمایش فاکتوریل ۳×۲ در قالب طرح کامل تصادفی با شش تیمار، چهار تکرار و ده قطعه جوجه در هر تکرار

جدول ۱. اجزاء و ترکیب شیمیایی جیره‌های آزمایشی

Table 1. Ingredients and chemical composition of the experimental diets

Ingredients (%)	Starter			Grower			Finisher		
	*CP=24	CP=22	CP=20	CP=23	CP=21	CP=19	CP=21	CP=19	CP=17
Corn Grain	43.26	50.27	58.53	48.20	54.91	61.58	54.07	60.76	67.44
Soybean Meal	45.82	39.95	33.23	42.26	36.37	30.54	36.70	30.80	24.99
Soybean Oil	5.98	4.81	3.44	5.99	5.04	4.07	5.83	4.88	3.92
Limestone	1.26	1.27	1.27	1.59	1.53	1.47	1.50	1.44	1.38
DCP	1.95	2.01	2.08	0.73	0.91	1.08	0.74	0.92	1.09
Salt	0.27	0.27	0.27	0.27	0.27	0.26	0.27	0.27	0.26
Vitamin Supplement	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
Mineral Supplement	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
Sodium Bicarbonate	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15
DL- Methionine	0.42	0.38	0.15	0.15	0.13	0.11	0.29	0.25	0.20
L- Lysine Hcl	0.28	0.29	0.33	0.11	0.15	0.18	0.09	0.13	0.16
Threonine	0.11	0.11	0.11	0.03	0.05	0.05	0.02	0.03	0.04
<b>Chemical Composition</b>									
ME (kcal/kg)	3200	3200	3200	3150	3150	3150	3025	3025	3025
Calcium (%)	0.85	0.85	0.85	0.90	0.90	0.90	1.05	1.05	1.05
Available Phosphorus %	0.42	0.42	0.42	0.45	0.45	0.45	0.50	0.50	0.50
Sodium %	0.16	0.16	0.16	0.16	0.16	0.16	0.16	0.16	0.16
Chloride %	0.16	0.16	0.16	0.16	0.16	0.16	0.16	0.16	0.16
Methionine %	0.36	0.41	0.45	0.40	0.45	0.49	0.46	0.51	0.55
Methionine + Cysteine %	0.76	0.86	0.95	0.85	0.95	1.04	0.97	1.07	1.16
Lysine %	0.97	0.86	1.20	1.12	1.24	1.35	1.30	1.43	1.56

\*CP= Crud protein

\*CP: پروتئین خام

جوجه از هر قفس با میانگین وزنی یکسان انتخاب و پس از رنگ‌آمیزی بال، میزان ۰/۱ سی‌سی از محلول ۰/۲ درصد PHA-P که پیشتر با PBS رقیق شده بود، به‌وسیلهٔ سرنگ انسولین در چین‌پوستی بال سمت چپ جوجه‌ها تزریق شد. به‌عنوان شاهد میزان ۰/۱ سی‌سی از محلول PBS نیز به چین‌پوستی بال سمت راست جوجه‌ها تزریق شد و پس از ۲۴ و ۴۸ ساعت، تورم ناشی از تزریق با کولیس اندازه‌گیری شد و سپس با استفاده از رابطهٔ زیر شاخص تحریک اندازه‌گیری شد (Dietert, 2009).

= شاخص تحریک محصول نانویاور بن‌زا  
ضخامت تورم ناشی از تزریق PBS - ضخامت تورم ناشی از تزریق PHA-P  
نانویاور بن‌زا تولید شرکت دانش‌بنیان صدور احرار شرق (تهران، ایران) است که برای انجام این طرح یک بستهٔ شش‌تایی از این محصول از واحد تحقیقات و توسعهٔ این شرکت تحویل گرفته شد. بر پایهٔ توصیهٔ

مصرف خوراک روزانه، افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل خوراک در پایان هر دوره اندازه‌گیری شد. در ۴۲ روزگی از هر قفس دو پرنده (یک نر و یک ماده) که وزن آن‌ها به میانگین آن قفس نزدیک بود، انتخاب و پس از ثبت وزن، کشتار و پرکنی شدند. وزن لاشه (بدون امعاء و احشاء)، وزن چربی محوطهٔ شکمی، سینه، ران، بال، تیموس، طحال، بورس فابرسیوس و کبد ثبت و وزن نسبی صفات بالا بر مبنای درصد از وزن زنده محاسبه شدند. برای ارزیابی پاسخ ایمنی هومورال از تزریق عضلانی ۰/۱ میلی‌لیتر گلبول قرمز گوسفندی (SRBC) ۲۵ درصد در روزهای ۸ و ۲۲ و تعیین عیار پادتن تام، IgG و IgM در روزهای ۲۱، ۲۸، ۳۵ و ۴۲ به روش گلبول همجی<sup>۱</sup> یا توده شدن گلبول‌های قرمز خون استفاده شد. به‌منظور ارزیابی پاسخ ایمنی یاخته‌ای، در روز شانزدهم پرورش دو

1. Hemagglutination

(2010) تغذیه جوجه‌های گوشتی با جیره حاوی سطوح متعادل پروتئین نسبت به جیره کم پروتئین سبب بهبود معنی‌دار افزایش وزن در دوره آغازین و کل دوره شد. جوجه‌های تغذیه‌شده با سطح پروتئین توصیه‌شده NRC (1994) افزایش وزن بیشتری در مقایسه با جوجه‌های تغذیه‌شده با جیره‌هایی با پروتئین پایین نشان دادند (Houshmand *et al.*, 2012). عامل‌های چندی می‌توانند بر میزان مصرف خوراک پرنده تأثیرگذار باشد که از آن جمله می‌توان به عامل‌های فیزیولوژیک، تغذیه‌ای، سلامت و میزان تولید پرنده اشاره کرد. از جمله عامل‌های تغذیه‌ای مؤثر بر مصرف خوراک می‌توان به محتوای انرژی و پروتئین، رنگ، بو و بافت جیره اشاره کرد (Eits *et al.*, 2005). بر پایه گزارش Ahmadi Chelchele *et al.* (2011)، افزایش سطح پروتئین جیره تفاوتی در خوراک مصرفی ایجاد نکرد. در پژوهشی به‌منظور بررسی تأثیر سطوح مختلف چربی (۳، ۷ و ۱۱ درصد) و پروتئین (۱۸، ۲۳ و ۲۸ درصد) بر عملکرد جوجه‌های گوشتی در طول هفت روز اول پس از جوجه‌کشی، نتایج نشان داد با افزایش سطوح پروتئین و چربی جیره، مصرف خوراک و وزن بدن کاهش یافت (Noy & Sklan, 2002). با توجه به اینکه، ضریب تبدیل خوراک به عامل‌های مصرف خوراک و افزایش وزن بستگی دارد، بنابراین عامل‌های تأثیرگذار بر این دو عامل، بر ضریب تبدیل هم مؤثرند. تراکم مواد مغذی جیره بر ضریب تبدیل خوراک تأثیر دارد به‌طوری‌که افزایش تراکم پروتئین جیره سبب بهبود ضریب تبدیل می‌شود (Tsiagbe *et al.*, 1987). رشد، مصرف خوراک، ضریب تبدیل و ویژگی‌های لاشه به‌طور چشمگیری تحت تأثیر افزایش پروتئین جیره قرار می‌گیرد (Solangi *et al.*, 2003). گزارش شده است کاهش پروتئین جیره در دوره آغازین سبب افزایش معنی‌دار ضریب تبدیل خوراک می‌شود که یکی از علت‌های آن می‌تواند کاهش در افزایش وزن در دوره یادشده باشد (Abbasi *et al.*, 2014). Salahi Moghaddam *et al.* (2014) گزارش کردند که

شرکت سازنده، این نانویاور به همهٔ واکسن‌هایی که در کل دوره استفاده شده بودند به‌جز واکسن‌های نوبت آخر اضافه شد. هر ویال حاوی ۴ میلی‌لیتر نانویاور است که برای یک‌بار واکسن زدن برای ده هزار جوجه استفاده می‌شود. به‌منظور بررسی نتایج تأثیر سطوح مختلف پروتئین جیره و نانویاور بر عملکرد (مصرف خوراک روزانه، افزایش وزن، ضریب تبدیل) و پاسخ ایمنی هومورال و یاخته‌ای جوجه‌های گوشتی، از طرح کامل تصادفی در قالب آزمون فاکتوریل ۳×۲ و در مورد صفات اجزای لاشه به‌منظور بررسی اثرگذاری مربوط به جنس، از طرح بلوک کامل تصادفی در قالب آزمون فاکتوریل ۳×۲ استفاده شد. داده‌ها با استفاده از رویهٔ GLM نرم‌افزار SAS تجزیه و اختلاف بین تیمارها با آزمون دانکن در سطح ۵ درصد آزموده شد.

### نتایج و بحث

نتایج مربوط به میانگین دوره‌ای مصرف خوراک روزانه، افزایش وزن و ضریب تبدیل به ترتیب در جدول ۲ نشان داده شده است. میانگین مصرف خوراک روزانه تحت تأثیر سطوح مختلف پروتئین در جیره طی دوره آغازین و رشد قرار گرفت ( $P < 0.05$ ). استفاده از نانویاور تأثیر معنی‌داری بر مصرف خوراک در هیچ‌کدام از دوره‌ها نداشت ( $P > 0.05$ ). تأثیر عامل پروتئین روی افزایش وزن روزانه در دوره‌های آغازین، رشد و کل دوره آزمایش معنی‌دار بود ( $P < 0.01$ ), ولی استفاده از نانویاور تفاوت معنی‌داری را در افزایش وزن در هیچ‌کدام از دوره‌های آزمایش ایجاد نکرد ( $P > 0.05$ ). در دورهٔ رشد، پایانی و کل دورهٔ پرورش اثرگذاری اصلی پروتئین و نانویاور بر ضریب تبدیل معنی‌دار نشد ( $P > 0.05$ ). اثر متقابل عامل‌های پروتئین و نانویاور روی هیچ‌یک از صفات عملکردی بالا معنی‌دار نشد ( $P > 0.05$ ).

در آزمایش Jahanian & Nasiri-Moghaddam (2008)، افزایش وزن روزانهٔ پرنده‌گان به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر سطح پروتئین جیره قرار گرفت. همچنین Rezaei *et al.* (2004) در نتایج بررسی خود نشان دادند که کاهش پروتئین خام جیره میزان افزایش وزن جوجه‌ها را در دوره‌های آغازین، رشد و کل دوره به‌طور معنی‌داری کاهش می‌دهد. در تحقیق Roy *et al.*

تأثیر سطح پروتئین خام جیره بر وزن بدن و ضریب تبدیل معنی‌دار بود ولی بر مصرف خوراک تأثیر معنی‌داری نداشت، به طوری که با کاهش پروتئین جیره وزن بدن از ۲۳۵۷ گرم به ۲۰۲۵ گرم کاهش و ضریب تبدیل از ۱/۹ به ۲/۲ افزایش یافت.

جدول ۲. تأثیر نانویاور و سطح پروتئین جیره بر ویژگی‌های عملکردی جوجه‌های گوشتی در دوره‌های مختلف آزمایش  
Table 2. Effect of different levels of nano adjuvant and dietary protein on performance of broiler chicks

	Body weight gain (g) <sup>2</sup>				Feed intake (g) <sup>2</sup>				Feed conversion ratio <sup>2</sup>			
	Starter (1-11 d)	Grower (11-24 d)	Finisher (25-42 d)	Whole period (1-42 d)	Starter (1-11 d)	Grower (11-24 d)	Finisher (25-42 d)	Whole period (1-42 d)	Starter (1-11 d)	Grower (11-24 d)	Finisher (25-42 d)	Whole period (1-42 d)
<b>Main effects<sup>1</sup></b>												
<b>Nano adjuvant (NA)</b>												
Without NA	17.89	59.19	73.08	55.30	24.60	95.59	144.96	99.47	1.378	1.66	1.99	1.82
With NA	17.92	57.29	71.73	54.11	24.42	95.20	141.61	98.80	1.370	1.62	1.98	1.79
P value	0.961	0.258	0.512	0.175	0.801	0.580	0.374	0.514	0.673	0.391	0.960	0.225
SEM	0.461	1.130	1.432	0.608	0.501	1.240	2.006	0.736	0.015	0.028	0.096	0.015
<b>Dietary protein levels<sup>1</sup></b>												
Low (21, 19 and 17%)	16.28 <sup>b</sup>	55.46 <sup>b</sup>	71.01	52.80 <sup>b</sup>	23.09 <sup>b</sup>	92.92 <sup>b</sup>	141.33	98.06	1.42 <sup>b</sup>	1.68	2.02	1.84
Medium (22, 21 and 19%)	17.66 <sup>b</sup>	57.08 <sup>b</sup>	71.62	53.93 <sup>b</sup>	24.39 <sup>ab</sup>	94.03 <sup>b</sup>	142.99	98.75	1.38 <sup>b</sup>	1.65	2.00	1.81
High (24, 23 and 21%)	19.79 <sup>a</sup>	62.18 <sup>a</sup>	74.56	57.39 <sup>a</sup>	26.05 <sup>a</sup>	99.24 <sup>a</sup>	143.53	100.65	1.31 <sup>a</sup>	1.60	1.93	1.78
P value	0.008	0.003	0.331	0.010	0.011	0.031	0.322	0.068	0.005	0.265	0.210	0.153
SEM	0.570	1.382	1.753	0.740	0.612	1.521	2.453	0.906	0.019	0.035	0.110	0.019
Interaction effects	NS <sup>3</sup>	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS

۱. پایین (۲۱، ۱۹ و ۱۷ درصد)، متوسط (۲۲، ۲۱ و ۱۹ درصد) و بالا (۲۴، ۲۳ و ۲۱ درصد). برای هر یک از سطوح پروتئین، اعداد داخل پرانتز به ترتیب محتوای پروتئینی جیره مربوط به مراحل آغازین، رشد و پایانی هستند.

۲. حروف متفاوت در هر ستون بیانگر وجود تفاوت معنی‌دار است ( $P < 0.05$ ).

۳. غیر معنی‌دار

1. The numbers in the parentheses indicate dietary protein levels in the starter, grower and finisher periods, respectively.

2. Means with different letters in each column are significantly different ( $P < 0.05$ ).

3. Non significant

متقابل پروتئین و نانویاور بر وزن نسبی لاشه معنی‌دار بود ( $P < 0.05$ ). بالاترین وزن نسبی لاشه و ران در خروس‌ها و در تیمارهای دریافت‌کننده نانویاور مشاهده شد. هیچ‌گونه تفاوت معنی‌داری از نظر دیگر ویژگی‌های لاشه میان تیمارها مشاهده نشد ( $P > 0.05$ ).

داده‌های مربوط به ویژگی‌های لاشه در جدول‌های ۳ و ۴ نشان داده شده است. وزن نسبی (درصد از وزن زنده) لاشه، ران و میزان چربی حفره شکمی و وزن نسبی بورس فابریسیوس تحت تأثیر سطوح مختلف پروتئین جیره قرار گرفتند ( $P < 0.05$ ). همچنین تأثیر جنس و سطوح نانویاور بر وزن نسبی لاشه و ران و اثر

جدول ۳. تأثیر نانویاور، سطح پروتئین جیره و جنس بر ویژگی‌های لاشه (درصد از وزن زنده)

Table 3. Effect of nano adjuvant, dietary protein and sex on carcass characteristic of broiler chicks

Main effects <sup>1</sup>	Carcass components (% of live weight) <sup>2</sup>								
	Carcass	Breast	Leg	Wing	Spleen	Tymus	Bursa fabricius	Liver	Abdominal fat
<b>Nano adjuvant (NA)</b>									
Without NA	63.31 <sup>b</sup>	36.77	31.90 <sup>b</sup>	9.01	0.096	0.457	0.087	2.58	2.17
With NA	64.21 <sup>a</sup>	37.25	32.79 <sup>a</sup>	9.27	0.114	0.459	0.085	2.55	2.15
P value	0.039	0.487	0.035	0.104	0.188	0.557	0.158	0.076	0.829
SEM	0.241	0.524	0.229	0.090	0.008	0.002	0.0011	0.007	0.039
<b>Dietary protein levels<sup>1</sup></b>									
Low (21, 19 and 17%)	62.96 <sup>b</sup>	36.27	31.56	8.99	0.092	0.455	0.083 <sup>b</sup>	2.58	2.39 <sup>a</sup>
Medium (22, 21 and 19%)	63.53 <sup>b</sup>	37.78	32.66	9.18	0.096	0.457	0.086 <sup>ab</sup>	2.56	2.11 <sup>b</sup>
High (24, 23 and 21%)	64.80 <sup>a</sup>	36.98	32.81	9.26	0.126	0.463	0.089 <sup>a</sup>	2.55	1.98 <sup>b</sup>
P value	0.042	0.232	0.046	0.312	0.134	0.283	0.039	0.181	0.062
SEM	0.296	0.642	0.280	0.111	0.0103	0.0032	0.0013	0.009	0.048
<b>Sex</b>									
Male	64.59 <sup>a</sup>	37.19	35.56 <sup>a</sup>	9.09	0.106	0.460	0.087	2.55	2.15
Female	62.93 <sup>b</sup>	36.83	31.13 <sup>b</sup>	9.20	0.104	0.456	0.085	2.58	2.17
P value	0.044	0.581	0.045	0.421	0.890	0.293	0.447	0.076	0.731
SEM	0.241	0.524	0.229	0.090	0.008	0.002	0.0011	0.007	0.039

۱. پایین (۲۱، ۱۹ و ۱۷ درصد)، متوسط (۲۲، ۲۱ و ۱۹ درصد) و بالا (۲۴، ۲۳ و ۲۱ درصد). برای هر یک از سطوح پروتئین، اعداد داخل پرانتز به ترتیب محتوای پروتئینی جیره مربوط به مراحل آغازین، رشد و پایانی هستند.

۲. حروف متفاوت در هر ستون بیانگر وجود تفاوت معنی‌دار است ( $P < 0.05$ ).

1. The numbers in the parentheses indicate dietary protein levels in the starter, grower and finisher periods, respectively.

2. Means with different letters in each column are significantly different ( $P < 0.05$ ).

جدول ۴. اثر متقابل نانویاور و سطح پروتئین جیره بر وزن نسبی اجزای لاشه (درصد از وزن زنده)

Table 4. Interaction effects of nano adjuvant and dietary protein on carcass characteristics of broiler chicks

Interaction effects <sup>1</sup>	Carcass components (% of live weight) <sup>2</sup>								
	Carcass	Breast	Leg	Wing	Spleen	Tymus	Bursa fabricius	Liver	Abdominal fat
-NA × L-Pr	62.52 <sup>b</sup>	37.49	31.05	8.99	0.087	0.459	0.088	2.58	2.09
-NA × M-Pr	63.40 <sup>b</sup>	35.78	31.36	8.90	0.088	0.453	0.081	2.60	2.39
-NA × H-Pr	64.01 <sup>b</sup>	37.04	32.28	9.16	0.112	0.459	0.085	2.56	2.02
+NA × L-Pr	64.53 <sup>b</sup>	38.07	33.27	9.36	0.105	0.454	0.084	2.54	2.14
+NA × M-Pr	62.52 <sup>b</sup>	36.76	31.76	9.09	0.097	0.457	0.085	2.57	2.39
+NA × H-Pr	65.58 <sup>a</sup>	36.92	33.35	9.36	0.140	0.466	0.093	2.55	1.93
P value	0.036	0.780	0.581	0.822	0.810	0.456	0.057	0.591	0.619
SEM	0.418	0.908	0.396	0.156	0.014	0.004	0.0019	0.013	0.068

۱. NA+ = حاوی نانویاور، -NA = بدون نانویاور. L-Pr، M-Pr و H-Pr به ترتیب سطوح پایین، متوسط و بالای پروتئین جیره در دوره‌های رشدی مختلف است. پایین (۲۱، ۱۹ و ۱۷ درصد)، متوسط (۲۲، ۲۱ و ۱۹ درصد) و بالا (۲۴، ۲۳ و ۲۱ درصد). اعداد داخل پرانتزها به ترتیب محتوای پروتئینی جیره مربوط به مراحل آغازین، رشد و پایانی هستند.

۲. میانگین‌های با حروف متفاوت در هر ستون بیانگر وجود تفاوت معنی‌دار است ( $P < 0.05$ ).

1. NA+ = with nano adjuvant, -NA= without nano adjuvant. L-Pr, M-Pr and H-Pr are Low [17 (S), 19 (G), 21 (F)], Medium [19 (S), 21 (G), 22 (F)] and High [21 (S), 23 (G), 24 (F)] dietary protein (%) levels in the different rearing periods. S, G and F stand for starter, grower and finisher periods.

2. Means with different letters in each column are significantly different ( $P < 0.05$ ).

لنفوسیت‌های B و پاسخ ایمنی هومورال است (Zhang *et al.*, 2009). Jahanian (2009). (Cheema *et al.*, 2007; *al.*, 2007) گزارش کردند که با افزایش سطح پروتئین جیره وزن تیموس و بورس افزایش می‌یابد درحالی‌که وزن طحال تحت تأثیر قرار نگرفت.

داده‌های مربوط به اثرگذاری نانویاور و سطوح پروتئین جیره بر میانگین عیار Anti-SRBC کل، IgG و IgM در روزهای ۲۱، ۲۸، ۳۵ و ۴۲ در جدول ۵ نشان داده شده است. در روز ۲۸ اثرگذاری اصلی سطح پروتئین جیره و نانویاور بر Anti-SRBC کل و IgM و IgG تفاوت معنی‌داری را نشان داد، به طوری که تیمارهای دریافت‌کننده نانویاور و با سطح پروتئین بالا باعث افزایش عیار Anti-SRBC کل و IgM و IgG شدند ( $P < 0.05$ ). اثر متقابل پروتئین جیره و نانویاور روی عیارهای Anti-SRBC کل، IgG و IgM معنی‌دار نشد ( $P > 0.05$ ).

افزون بر انتخاب ژنتیکی بعضی از عامل‌های غیرژنتیکی مانند غلظت اسیدآمینو در جیره غذایی می‌توانند ظهور ژن‌های مسئول پاسخ ایمنی را از راه ایجاد تغییر در سطح بلوغ سامانه ایمنی و همچنین میزان پادتن تولیدشده در برابر عفونت‌ها تغییر دهد (Klasing, 2007). میانگین تام عیار پادتنی علیه گلبول قرمز گوسفند به نحوه اعمال پادگن (آنتی‌ژن)، سن ایمن‌سازی و زمینه ژنتیکی جوجه‌ها بستگی دارد. تأثیر تغذیه بر پاسخ پادتن علیه SRBC متفاوت است. گزارش شده هنگامی جیره با متیونین مکمل می‌شود عیار IgG و تام افزایش می‌یابد (Tsiagbe *et al.*, 2009).

هرچند تولید قطعه‌های لاشه به‌طور قابل‌توجهی تحت تأثیر سن و ژنتیک است اما ترکیب لاشه تا اندازه زیادی از راه جیره نیز تحت تأثیر قرار می‌گیرد (Esmail, 1999). موفقیت در پرورش جوجه‌های گوشتی ارتباط مؤثری با افزایش درصد لاشه، گوشت سینه و کاهش درصد چربی لاشه دارد (Aletor *et al.*, 2000). پروتئین جیره تأثیر مستقیمی بر ویژگی‌های لاشه، وزن و درصد گوشت سینه، ران و بال دارد، به طوری که کاهش پروتئین جیره سبب ایجاد تفاوت معنی‌دار در همه ویژگی‌های لاشه می‌شود (Noy *et al.*, 2001). (Namroud *et al.*, 2008) گزارش کردند تأثیر سطوح پروتئین جیره بر درصد وزن کبد، وزن ران و سینه معنی‌دار نبود ولی میزان چربی به شکل معنی‌داری تحت تأثیر سطوح پروتئین جیره قرار گرفت. (Dairo *et al.*, 2010) گزارش کردند که افزایش درصد چربی حفره شکمی در نتیجه تغذیه جیره‌های کم پروتئین را می‌توان به تعادل نداشتن انرژی و پروتئین و در نتیجه افزایش فعالیت آنزیم‌های تحریک‌کننده ساخت چربی نسبت داد. به علت افزایش میزان چربی حفره شکمی در نتیجه کاهش پروتئین جیره این است که با کاهش پروتئین جیره از میزان اسیدهای آمینه مازاد موجود در جیره کاسته می‌شود و در نتیجه انرژی کمتری برای دفع آن‌ها به شکل اسید اوریک مصرف خواهد شد که منجر به افزایش ذخیره چربی می‌شود (Darsi *et al.*, 2009). بورس به‌عنوان یک اندام لنفوئیدی مهم مسئول گسترش و بلوغ

که تزریق واکسن به همراه نانویاور آلومینیوم، عیار پادنتی بیشتری را نسبت به واکسن تنها ایجاد می‌کند (Wang & Singh, 2011). (Sadat *et al.* (2010) بیان کردند که اگرچه در همه گروه‌های ایمن شده با واکسن، پاسخ یاخته‌ای مشاهده شد، ولی در گروه‌های تزریق شده به همراه نانویاور بالاترین عیار پادنتی، سیتوکین‌های اینترفرون گاما و اینترلوکین-۴ دیده شد که بیانگر پاسخ ایمنی قوی‌تر در گروه‌های دریافت‌کننده واکسن به همراه نانویاور است. یافته‌های Mahdavi *et al.* (2009) نشان داد که ایمن‌سازی موش‌ها با واکسن موردنظر به همراه نانویاور موجب افزایش معنی‌دار پادتن به‌ویژه IgG می‌شود. کاربرد لیپوزم به‌عنوان یک نانویاور به همراه واکسن‌های مختلف علیه لیشمانیا در موش به‌عنوان مدل حیوانی، نشان داد که در گروه‌های دریافت‌کننده نانویاور قطر زخم کف پای موش به‌طور معنی‌داری از گروه‌های شاهد کمتر بود و عیار گلوبولین ایمنی<sup>۱</sup> به‌صورت معنی‌داری بیشتر بود (Afrin & Anam, 2000). نتایج به‌دست‌آمده از تجزیه داده‌های مربوط به حساسیت پوستی نسبت به PHA-P نشان داد که هیچ‌یک از اثرگذاری‌های اصلی و متقابل نانویاور و سطوح مختلف پروتئین جیره بر میزان پاسخ ایمنی یاخته‌ای پس از ۲۴ و ۴۸ ساعت معنی‌دار نشد ( $P > 0.05$ ).

Kidd (1987). (2004) نیز گزارش کردند که سطوح مختلف پروتئین و اسیدآمین به بر ایمنی پرندگان تأثیر معنی‌داری دارد. به‌طور کلی نتایج گزارش شده از بررسی‌های طیور و دیگر گونه‌ها نشان داد هنگامی‌که جیره‌ها از لحاظ پروتئین و اسیدهای آمینه کمبود دارند، غلظت پادتن‌های موجود در گردش خون آن‌ها پایین است. (Golian *et al.* (2010) نشان دادند که سطوح مختلف پروتئین جیره باعث بروز تفاوت معنی‌داری در عیار IgM و IgG و IgT در جوجه‌های گوشتی نشد و یک ارتباط منفی با سطح سامانه ایمنی هومورال را گزارش کردند. گزارش شده است که جوجه‌های مصرف‌کننده جیره‌های با محتوای انرژی ۲۷۵۰ kcal/kg و با پروتئین ۱۸ و ۲۰ درصد در مقایسه با سطوح انرژی ۲۹۰۰ kcal/kg و ۳۰۵۰ kcal/kg و پروتئین ۲۲ درصد، عیار پادنتی کمتری را نشان دادند و این جوجه‌ها سرعت رشد و پاسخ ایمنی ضعیف‌تری داشتند (Azghadi *et al.*, 2013).

گزارش شده است نانویاور در موش موجب افزایش سطح کلی پادتن ضدویروس هپاتیت و نیز IgM و IgG شدند و میزان اینترفرون گاما به‌واسطه این نانویاورها چهار برابر افزایش یافت. افزون بر نانویاورهای بالا توان افزایش یاخته‌های سامانه ایمنی را به شدت افزایش دادند (Esmail, 1999). بررسی‌ها نشان داده

جدول ۵. تأثیر نانویاور و سطح پروتئین جیره بر عیار Anti-SRBC کل، IgG و IgM (برحسب  $\log_2$ )

Table 5. Effect of nano adjuvant and dietary protein levels on Total Anti-SRBC, IgG and IgM titers ( $\log_2$ )

Main effects	Total Anti-SRBC <sup>3</sup>				IgM <sup>3</sup>				IgG <sup>3</sup>			
	21 day	28 day	35 day	42 day	21 day	28 day	35 day	42 day	21 day	28 day	35 day	42 day
Nano adjuvant (NA)												
Without NA	3.40	4.26 <sup>b</sup>	4.53	3.91	1.39	2.05 <sup>b</sup>	2.17	1.75	2.01	2.21 <sup>b</sup>	2.39	2.18
With NA	3.16	5.50 <sup>a</sup>	5.10	4.08	1.35	2.73 <sup>a</sup>	2.49	1.83	1.90	2.99 <sup>a</sup>	2.51	2.35
P value	0.091	0.035	0.152	0.068	0.412	0.021	0.238	0.830	0.384	0.057	0.152	0.431
SEM	0.142	0.234	0.117	0.151	0.152	0.173	0.206	0.197	0.152	0.168	0.187	0.155
Dietary protein levels <sup>1</sup>												
Low (21, 19 and 17%)	3.10	4.54 <sup>b</sup>	4.50	4.27	1.28	2.23 <sup>b</sup>	1.87	1.51	1.83	2.32 <sup>b</sup>	2.43	1.92
Medium (22, 21 and 19%)	3.42	5.31 <sup>b</sup>	4.62	4.25	1.42	2.24 <sup>b</sup>	2.24	1.78	2.14	3.19 <sup>a</sup>	2.59	2.36
High (24, 23 and 21%)	3.62	6.10 <sup>a</sup>	5.10	4.37	2.48	3.01 <sup>a</sup>	2.37	2.01	2.02	3.07 <sup>a</sup>	2.39	2.48
P value	0.172	0.04	0.121	0.146	0.518	0.024	0.103	0.741	0.381	0.071	0.123	0.346
SEM	0.171	0.284	0.147	0.180	0.187	0.212	0.252	0.242	0.187	0.206	0.229	0.190
Interaction effects	NS <sup>2</sup>	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS

۱. پایین (۲۱، ۱۹ و ۱۷ درصد)، متوسط (۲۲، ۲۱ و ۱۹ درصد) و بالا (۲۴، ۲۳ و ۲۱ درصد). برای هر یک از سطوح پروتئین، اعداد داخل پرانتز به ترتیب محتوای پروتئینی جیره مربوط به مراحل آغازین، رشد و پایانی هستند.

۲. غیر معنی‌دار

۳. میانگین‌های با حروف متفاوت در هر ستون بیانگر وجود تفاوت معنی‌دار است ( $P < 0.05$ ).

1. The numbers in the parentheses indicate dietary protein levels in the starter, grower and finisher periods, respectively.

2. Non significant

3. Means with different letters in each column are significantly different ( $P < 0.05$ ).

## 1. Immunoglobulin

نتیجه‌گیری کلی  
 به‌طور کلی سطوح بالای پروتئین جیره نسبت به  
 تولیدی و ایمنی جوجه‌ها شود و وجود نانویاور منجر  
 به تحریک پاسخ ایمنی هومورال در جوجه‌های گوشتی  
 سطوح پایین و متوسط توانست سبب بهبود عملکرد  
 شد.

## REFERENCES

1. Abbasi, M., Mahdavi, M. & Nazaran, M. H. (2014). The new nano-complex, Hep-c, improves the immunogenicity of the hepatitis B vaccine. *Vaccine*, 31(22), 2591-2597.
2. Afrin, F. & Anam, K. (2000). Induction of partial protection against *Leishmania donovani* by promastigote antigens in negatively charged liposomes. *Parasitology*, 86, 730-735.
3. Ahmadi Chelchele, A., Purreza, J., Vli, N. & Kheiri, F. (2011). Different levels of threonine and protein on performance and carcass characteristics in broilers material from age 49 to 9 days. *Journal of Veterinary Pathobiology*, 4(13), 19-23. (in Farsi)
4. Aletor, V. A., Hamid, I. I., Nies, E. & Feffer, E. (2000). Low protein, amino acids supplemented diets in broiler chickens: Effect on performance, carcass characteristics, whole body composition and efficiencies of nutrient utilization. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80, 547-554.
5. Azghadi, M., Kermanshahi, H. & Golian, A. (2013). The effect of dietary energy and protein levels on growth performance and antibody responses of offspring of laying japans quails. *Iranian Journal of Applied Animal Science*, 4, 185-190.
6. Banerjee, G. C. (1992). *Poultry*. (3<sup>rd</sup> edition). Oxford and IBI publishing co. New Delhi. pp. 168-172.
7. Cheema, M.A., Qureshi, M.A., Havenstein, G.B., Ferket, P.R. & Nestor, K.E. (2006). A Comparison of the immune response of 2003 commercial turkeys and a 1966 random bred strain when fed representative 2003 and 1966 turkey diet. *Poultry Science*, 86, 241-248.
8. Dairo, F.A.S., Adesehinwa, A. O. K., Oluwasola, T. A. & Oluyemi, J. A. (2010). High and low dietary energy and protein levels for broiler chickens. *Poultry Science*, 82, 1134-1139.
9. Darsi, E., Shivazad, M., Zaghari, M. & Namroud, N. (2009). Effect of L-carnitine in diets containing low levels of protein on performance and carcass characteristics of broilers. In: *Proceeding of the 4<sup>th</sup> Iranian Congress of Animal Science, Tehran-Iran*. (in Farsi)
10. Dietert, R. R. (2009). *Immunotoxicity; Testing Methods and Protocols*. Chapter, 25, 387-398.
11. Eits, R. M., Kwakkel, R. P., Verstegen, M. W. A. & Den Hartog, L. A. (2005). Dietary balance protein in broiler chickens. A flexible and practical tool to predict does-response curves. *Poultry Science*, 46, 300-309.
12. Esmail, S. H. M. (1999). Energy utilization by broiler chickens. *Poultry Science*, 38, 60-62.
13. Fakharzadeh, S., Kalanaky, S., Hafizi, M., Goya, M. M., Masoumi, Z., Namaki, S., Shakeri, N., Abbasi, M., Mahdavi, M. & Nazaran, M. H. (2013). The new nano-complex, Hep-c, improves the immunogenicity of the hepatitis B vaccine. *Vaccine*, 31(22), 2591-2597.
14. Golian, A. M., Azghadi, A. & Pilevar, M. (2010). Influence of various levels of energy and protein on performance and humoral immune responses in broiler chicks. *Global Veterinaria*, 4(5), 434-440.
15. Gupta, R. K. & Siber G. R. 1995. Adjuvants for human vaccines; current status, problems and future prospects. *Vaccine*, 13: 1263-1276.
16. Houshmand, M., Azhar, K., Zulkifli, I., Bejo, M. H. & Kamyab, A. (2012). Effect of prebiotic, protein and stocking density on performance, immunity and stress indicators of broilers. *Poultry Science*, 91, 393-401.
17. Jahanian, R. & Nasiri-Moghaddam, H. (2008). Response performance and immunological of broiler chickens to dietary threonine and protein level changes. The 3<sup>rd</sup> Iranian Animal Science Congress, Mashhad-Iran. (in Farsi)
18. Jahanian, R. (2009). Effect of dietary arginine on different subsets of blood serum proteins and immune responses in broilers. The 4<sup>th</sup> Iranian Congress of Animal Science, Tehran-Iran. (in Farsi)
19. Kidd, M. T. (2004). Nutritional modulation of immune function in broiler. *Poultry Science*, 83, 650-657.
20. Klasing, K. C. (1988). Influence of acute starvation or acute excess intake on immune competence of broiler chicks. *Poultry Science*, 67, 628-636.
21. Klasing, K. C. (2007). Nutrition and immune system. Gordon memorial lecture. *British Poultry Science*, 48, 525-537.
22. Kwak, H., Austic A. C. & Dietert, R. R. (2001). Arginine-genotype interaction and immune status. *Nutrition Research*, 21, 1035-1044.
23. Lindblad, E. B. (2004). Aluminum compounds for use in vaccines. *Immunology and Cell Biology*, 82, 497-505.



24. Lochmiller, R. L. & Deerenberg, C. (2000). Trade-offs in evolutionary immunology: Just what is the cost of immunity? *Oikos*, 88, 87-98.
25. Mahdavi, M., Ebtekar, M., Azadmanesh, K., Mahboudi, F., Khoramkhorshid, H. R., Rahbarizadeh, F., Nezhadmoghadam, E. & Mohamadhasan, Z. (2009). Immunological assessment of HIV-1-P24-Nef peptide vaccine with adjuvant mono phosphorylation lipid A in mice, BALB/C. *Modares Journal of Medical Sciences: Pathology*, 13(2), 79-86. (in Farsi)
26. Namroud, N.F., Shivazad, M. & Zaghari, M. (2008). Effects of fortifying low crude protein diet with crystalline amino acids on performance, blood, ammonia level and excreta characteristics of broiler chicks. *Poultry Science*, 87, 2250-2258.
27. National Research Council. (1994). *Nutritional requirements of poultry*. 9<sup>th</sup> Rev. ed. National Academy Press, Washington DC.
28. Noy, Y. & Sklan, D. (2002). Nutrient use in chicks during the first week post-hatch. *Poultry Science*, 81, 76-100.
29. Noy, Y., Geyra, A. & Sklan, D. (2001). The effect of early feeding on growth and small intestinal development in the post-hatch poultry. *Poultry Science*, 8, 76-100.
30. Rezaei, M., NassiriMoghadam, H., Pour Reza, J. & Kermanshahi, H. (2004). The effect of dietary protein and lysine levels on broiler performance, carcass characteristics and nitrogen excretion. *Poultry Science*, 3, 148-152.
31. Roy, S. C., Alam, M. S., Ali, M. A., Chowdhury, S. D. & Goswami, C. (2010). Different levels of protein on the performance of synthetic broiler. *Veterinary Medicine*, 8(2), 117-122.
32. Sadat, S. M., Zabihollahi, R., Javadi, F., Vahabpour, R., Siadat, S. D., Azadmanesh, K., Moshiri, A., Parivar, K. & Aghasadeghi, M. H. (2010). Immunological evaluation of recombinant HIV-1 virions new adjuvant in mice. *Journal of Mazandaran University of Medical Sciences*, 21(84), 13-21. (in Farsi)
33. Salahi Moghaddam, R., Maghsoudloo, S. H., Mostafaloo, Y., Shahir, M. H. & Bayat kouhsar, J. (2014). Effect of formulation and feed protein levels on performance and carcass characteristics of broilers. *Journal of Animal Production*, 4, 23-37. (in Farsi)
34. Si, J., Fritts, C. A., Burnham, D. J. & Waldroup, P. W. (2001). Relationship of dietary lysine level to the concentration of all essential amino acids in broiler diets. *Poultry Science*, 80, 1472-1479.
35. Solangi, A. A., Baloch, G. M., Wagan, P. K., Chachar, B. & Memon, A. (2003). Effects of different levels of dietary protein on the growth of broiler. *Animal and Veterinary Advances*, 5, 301-304.
36. Iran's Minister of Jihad-e-Agriculture. (2010). <http://www.agri-jahad.ir>. (in Farsi)
37. Sterling, K. G., Pesti, G. M. & Bakalli, R. I. (2003). Performance of broiler chicks fed various levels of dietary lysine and crude protein. *Poultry Science*, 82, 1939-1947.
38. Tsiagbe, V. K., Cook, M. E., Harper, A. E. & Sunde, M. L. (1987). Enhanced immune responses in broiler chicks fed methionine-supplemented diets. *Poultry Science*, 66, 1147-1154.
39. Wang, W. & Singh, M. (2011). Selection of adjuvants for enhanced vaccine potency. *Vaccine*, 21, 33-78.
40. Wintergerst, E. S., Maggini, S. & Hornig, D. H. (2007). Contribution of selected vitamins and trace elements to immune function. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 51, 301-323.
41. Ma, X., Guo, Z., Wang, D., Hu, Y. & Shen, Z. (2010). Effects of sulfated polysaccharides and their prescriptions on immune response of ND vaccine in chickens. *Carbohydrate Polymers*, 82, 9-13.
42. Zhang, L., Jin, N., Song, Y., Wang, H., Ma, H., Li, Z. & Jiang, W. (2007). Construction and characterization of a recombinant fowl pox virus containing HIV-1 multi-epitope-p24 chimeric gene in mice. *Science in China Series C: Life Science*, 50, 212-220.