

تأثیر افزودن زئولیت پوشش داده شده با نانو ذرات نقره در جیره بر عملکرد، جمعیت میکروبی آخرین بخش روده کوچک و ویژگی های ریخت شناختی روده جوجه های گوشتی

مینا اسمعیلی^۱، سیدرضا هاشمی^{۲*}، داریوش داودی^۳، یوسف جعفری آهانگری^۴، سعید حسنی^۵ و اکرم شبانی^۶
۱، ۲، ۴، ۵ و ۶. دانشجوی کارشناسی ارشد، استادیار، استاد، دانشیار و دانشجوی دکتری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
۳. استادیار بخش تحقیقات نانوتکنولوژی پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی ایران، کرج، ایران
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۶/۱۴ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۹/۱۴)

چکیده

این آزمایش به منظور ارزیابی تأثیر افزودن زئولیت پوشش داده شده با نانو ذرات نقره در جیره بر عملکرد، ریخت شناختی روده و جمعیت میکروبی آخرین بخش روده کوچک (ایلئوم) در قالب طرح کامل تصادفی با استفاده از ۳۷۵ قطعه جوجه گوشتی یک روزه در پنج تیمار و پنج تکرار انجام شد. تیمارها شامل (۱) جیره پایه، (۲) جیره پایه مکمل شده با ۱ درصد زئولیت و ۳، ۴ و ۵ شامل جیره پایه مکمل شده با ۱ درصد زئولیت پوشش داده شده با سه سطح مختلف از نانو ذرات نقره (۰/۲۵، ۰/۵ و ۰/۷۵ درصد) بودند. نتایج نشان داد، استفاده از نانو ذرات نقره در همه سطوح و تیمار مکمل شده با ۱ درصد زئولیت سبب بهبود ضریب تبدیل غذایی نسبت به جیره پایه در دوره پایانی شد ($P < 0/05$). جیره های حاوی نانو ذرات نقره در سطح ۰/۵ و ۰/۷۵ درصد نسبت به جیره پایه سبب افزایش معنی دار ارتفاع پرز و نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت شدند ($P < 0/05$). استفاده از تیمارهای نانو نقره سبب کاهش عمق کریپت نسبت به جیره پایه شد ($P < 0/05$). همچنین استفاده از زئولیت پوشش داده شده با نانو ذرات نقره در سطح ۰/۵ و ۰/۷۵ درصد باعث کاهش معنی دار باکتری های کلی فرم نسبت به جیره پایه و جیره پایه مکمل شده با ۱ درصد زئولیت در ۲۱ روزگی شد ($P < 0/05$). نتایج آزمایش ها نشان داد، زئولیت پوشش داده شده با نانو ذرات نقره ضمن بهبود ضریب تبدیل غذایی و ویژگی های روده، سبب کاهش باکتری های کلی فرم جوجه های گوشتی شده و می تواند به عنوان محرک رشد و سلامت مورد توجه قرار بگیرد.

واژه های کلیدی: ارتفاع پرز، جوجه گوشتی، زئولیت، کلی فرم ها، نانو ذرات نقره.

Effect of supplementing diet with zeolite coated with silver nanoparticles on performance, intestinal morphology characteristics and ilium microbial population of broiler chickens

Mina Smaili¹, Seyed Reza Hashemi^{2*}, Daruosh Davoodi³, Yousof Jafari Ahangari⁴, Saeid Hassani⁵ and Akram Shabani⁶

1, 2, 4, 5, 6. M. Sc Student, Assistant Professor, Professor, Associate Professor and Ph. D. Student, Faculty of Animal Science, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

3. Assistant Professor, Nanotechnology Department, Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran, Karaj, Iran

(Received: Sep. 5, 2015 - Accepted: Dec. 4, 2016)

ABSTRACT

This experiment was conducted to evaluate the effect of supplementing the diet with zeolite coated with silver nanoparticles on performance, intestinal morphology characteristics and ilium microbial population of broiler chickens in a completely randomized design with 375 day-old broiler chicks with five replicates per treatment and 15 chicks per replicate. Treatments were: 1) basal diet, 2) basal diet supplemented with 1% zeolite and 3, 4, and 5) basal diet supplemented with 1% zeolite coated and 0.25%, 0.5% and 0.75% nanosilver. Results showed that dietary supplementation with 1% zeolite and all level of silver nanoparticles had better feed conversion ratio than the basal diet on d 22-42 ($P < 0.05$). Diets supplemented with silver nanoparticles at 0.5% and 0.75% level increased villi length and villus/crypt ratio significantly compared to the basal diet ($P < 0.05$). In comparison to the basal diet, diets supplemented with silver nanoparticles decreased crypt depth. On d 21, broiler chickens fed diets supplemented with 0.5% and 0.75% silver nanoparticles had lower coliforms bacteria population compared with basal diet and basal diet supplemented with 1% zeolite ($P < 0.05$). In conclusion, the present results showed that zeolite coated with silver nanoparticles can improve feed conversion ratio, intestinal morphological characters and decrease coliforms population in broiler chickens and it can be considered as a growth and health promoters.

Keywords: Broiler chickens, coliforms, silver nanoparticles, Villi length, zeolite.

مقدمه

با وجود مصرف به نسبت گسترده پادزی (آنتی بیوتیک)ها به عنوان افزودنی خوراکی، استفاده از این ترکیبها به دلیل پیدایش مقاومت های میکروبی و همچنین باقی ماندن بقایای آنها در لاشه طیور که موجب به خطر انداختن سلامت انسانها می شود، از آغاز ژانویه ۲۰۰۶ در اروپا به طور کامل منع شده است (Hashemi & Davoodi, 2011). از این رو جامعه جهانی همواره به دنبال یافتن جایگزین مناسبی برای پادزیها است. نانو ذرات نقره یکی از دستاوردهای جدید فناوری نانو است که به دلیل فعالیت ضد میکروبی در زمینه های مختلف مانند پزشکی، دامپزشکی، کشاورزی و داروسازی کاربرد دارد (Choi et al., 2009). با کاهش اندازه ذرات نقره، سطح تماس آن افزایش می یابد. افزایش نسبت سطح به حجم، واکنش پذیری نانوذرات را به شدت افزایش می دهد و به نوبه خود سبب اثرگذاری بهتر می شود (Roshanai et al., 2012). نانو ذرات می توانند بسیاری از باکتریها، ویروسها و قارچها را نابود کنند (Lok et al., 2007). گزارش شده است که یونهای نقره و ترکیبهای بر پایه نقره روی ریزجانداران (میکروارگانیسمها) تأثیر سوء دارند، به طوری که تأثیر ضد میکروبی آنها روی باکتریهای زیادی شناخته شده است، همچنین پژوهشگران نشان داده اند، استفاده از نانو ذرات نقره به میزان ۱۵ قسمت در میلیون در خوراک سبب کاهش باکتریهای گرم منفی آخرین بخش روده کوچک (ایلنوم) و افزایش شمار باکتریهای اسیدلاکتیک روده کور (سکوم) جوجه گاوشتی شده است (Naghizadeh et al., 2011). در آزمایشی نشان داده شد که استفاده از نانو ذرات نقره به میزان ۵۰ قسمت در میلیون در جیره سبب کاهش خوراک مصرفی و بهبود ضریب تبدیل غذایی نسبت به جیره پایه در کل دوره، پرورش شده است (Naghizadeh & Karimi Torshizi, 2013). همچنین گزارش شده است که استفاده از سطوح مختلف نانو ذرات نقره به میزان ۳۰۰، ۶۰۰ و ۹۰۰ قسمت در میلیون در جیره باعث افزایش ارتفاع پرز جوجه های گاوشتی شده است (Ahmadi et al., 2009). ممکن است استفاده از نانو ذرات نقره در

غلظت های بالا تأثیر سمی داشته باشد. در گزارشی نشان داده شد، افزودن سطوح مختلف نانو ذرات نقره (۴۰۰ و ۸۰۰ میلی لیتر) در جیره به ازای هر تن خوراک و آب آشامیدنی به ازای هر مترمکعب سبب ابقای نانو ذرات در بافت کبد و سینه جوجه های گاوشتی شده است (Zargarani Esfahani et al., 2010).

از سوی دیگر ژئولیت از جمله مواد کانی است که با تحریک مکانیکی یاخته های پوششی دستگاه گوارش موجب خون رسانی بهتر و افزایش سطح جذب در روده کوچک می شود که در نهایت سبب بهبود هضم و جذب مواد مغذی می شود (Petunkin, 1991). از این رو ژئولیت ممکن است بتواند به عنوان یک حامل مناسب برای نانو ذرات نقره مورد توجه قرار گیرد. گزارش شده است که جیره حاوی ۳ درصد ژئولیت می تواند موجب افزایش وزن بدن جوجه های گاوشتی در کل دوره آزمایشی شود (Safaei Katuli et al., 2010). در بررسی استفاده از ژئولیت سبب افزایش پرزهای روده در قسمت های دوازدهه (دئودنوم)، میان روده (ژژنوم) و آخرین بخش روده کوچک جوجه های گاوشتی شد (Incharoen et al., 2009). از این رو این امکان وجود دارد که ژئولیت پوشش داده شده با نانو ذرات نقره بتواند به عنوان یک افزودنی غذایی در صنعت طیور استفاده شود، اما متأسفانه تاکنون گزارشی جامع در مورد اثر ژئولیت پوشش داده شده با نانو ذرات نقره انتشار نیافته است، لذا این آزمایش به منظور ارزیابی افزودن ژئولیت پوشش داده شده با نانو ذرات نقره در جیره بر عملکرد، جمعیت میکروبی و ویژگی های ریخت سنجی (مورفومتریک) روده جوجه های گاوشتی انجام شد.

مواد و روشها

در این بررسی ۳۷۵ قطعه جوجه گاوشتی یک روزه سوپه تجاری کاب ۵۰۰ که به صورت مخلوط دو جنس با میانگین وزنی ۴۵ گرم بودند، پس از وزن کشی و در قالب یک طرح کامل تصادفی در پنج گروه آزمایشی با پنج تکرار و پانزده قطعه پرند (هشت نر و هفت ماده) در هر تکرار توزیع شدند. گروه های آزمایشی

شد و در ادامه نمونه‌ها با هماتوکسیلین و اتوزین رنگ‌آمیزی شدند. از نمونه‌ها به کمک میکروسکوپ نوری^۲ عکس گرفته و ارتفاع پرز، عمق کریپت، نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت، ضخامت لایه ماهیچه‌ای، عرض پرز و ضخامت لایه مخاطی با استفاده از نرم‌افزار Image Analysis^۳ اندازه‌گیری شد. برای محاسبه مساحت پرز از رابطه $(۲ \times ۳/۱۴) \times (۲) \times (۱/۲)$ عرض پرز) \times (ارتفاع پرز) استفاده شد (Hashemi et al., 2014b).

همچنین در روز ۲۱ و ۴۲ دوره پرورش از هر واحد آزمایشی دو قطعه پرنده (یک جنس نر و یک جنس ماده) با میانگین وزنی نزدیک به میانگین واحد آزمایشی به منظور بررسی جمعیت میکروبی آخرین بخش روده کوچک ذبح شدند. بی‌درنگ پس از کشتار محتویات این بخش در ظروف سترون گردآوری شد. میزان ۱ گرم از این محتویات به نسبت ۱ به ۹ با محلول بافر فسفات همگن (هموژنیزه) شد و پس از ساخت چند نمونه رقیق‌سازی برای تعیین شمار کل باکتری‌های هوازی و باکتری‌های کلی‌فرم به ترتیب روی محیط‌های مغذی PCA^۴ و VRBA^۵ کشت داده شدند. باکتری‌های هوازی به مدت ۲۴ ساعت و باکتری‌های بی‌هوازی به مدت ۷۲ ساعت در گرمخانه قرار داده شدند، سپس شمار کلنی ایجاد شده در هر مورد، شمارش شد و به صورت لگاریتم بر مبنای ۱۰ گزارش شد (Shabani et al., 2011).

داده‌های آزمایش توسط نرم‌افزار آماری SAS^۶ (SAS, 2003) و با استفاده از رویه GLM بررسی شدند و مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون چند دامنه‌ای دانکن (Duncan, 1955) و در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

شامل تیمار (۱) جیره پایه، تیمار (۲) جیره پایه مکمل شده با ۱ درصد زئولیت و تیمارهای ۳، ۴ و ۵) جیره پایه مکمل شده با ۱ درصد زئولیت پوشش داده شده با سه سطح مختلف نانو ذرات نقره (۰/۲۵ درصد، ۰/۵ درصد و ۰/۷۵ درصد) تهیه شده از شرکت نانو نصب پارس بودند. روش پوشش‌دار کردن بدین صورت بود که در آغاز زئولیت در آب مقطر با دستگاه همزن هم زده شد، آنگاه نانو نقره آماده، با درصد مورد نظر پس از تنظیم pH به مخلوط اضافه شد و هم زدن در دمای ۵۰ درجه سلسیوس ادامه یافت. در فرآیند مراحل مختلف انجام کار، تثبیت‌کننده‌های مورد نظر تا تغییر رنگ مخلوط به دست آمده به قهوه‌ای، به تدریج اضافه شدند. پس از ته نشین شدن، ماده ته نشین شده در دمای محیط خشک شد (Hashemi et al., 2014a). جیره‌های غذایی بنا بر توصیه انجمن ملی تحقیقات (NRC, 1994) برای دوره‌های آغازین (۱ تا ۲۱ روزگی) و رشد (۲۲ تا ۴۲ روزگی) تهیه شدند (جدول شماره ۱). در طی آزمایش از برنامه نوری بنا بر کتابچه راهنمای پرورش سویه کاب در سالن استفاده شد و آب و غذا به صورت آزاد در اختیار جوجه‌ها قرار گرفت (Cobb, 2012).

ویژگی‌های تولیدی پرندگان شامل افزایش وزن بدن، مصرف خوراک و ضریب تبدیل غذایی با توزین جوجه‌ها و خوراک مصرفی آن‌ها در دوره‌های مختلف پرورش اندازه‌گیری شدند. در روز ۴۲ دوره پرورش از هر واحد آزمایشی دو قطعه پرنده کشتار و طول قسمت‌های مختلف روده باریک اندازه‌گیری شد. برای بررسی ویژگی‌های ریخت‌شناختی نمونه‌های ۳ سانتی‌متری از دوازدهه جدا و با محلول سترون (استریل) (سرم نرمال سالین) شسته و با استفاده از فرمالدئید ۱۰ درصد تثبیت شد. برای تهیه اسلایدهای بافتی با ضخامت کم از روش واکس پارافین استفاده شد. این روش شامل آگیری بافت، شفاف‌سازی و آغشتگی آن با پارافین مذاب است. سپس از نمونه‌های قالب گرفته شده در پارافین با استفاده از میکروتوم چرخان^۱ مقاطع عرضی به ضخامت ۵ میکرومتر تهیه

2. Olympus AX70 microscope; Olympus corporation, Tokyo, Japan
3. Olympus soft imaging solutions, Version 3.2, Germany
4. Plate Count Agar
5. Violet Red Bile Agar
6. Statistical Analysis System

1. Shandon Finesse 315, England

جدول ۱. ترکیب جیره‌های آزمایشی (بر پایه ماده خشک)^۱
Table 1. Composition of experimental diets (DM basis)¹

Ingredients	Starter diet (1-21)	Starter diet (1-21)	Grower diet (22-42)	Grower diet (22-42)
Corn	53.7	51.6	59.96	57.84
Soy bean meal (42% Cp)	39.52	39.95	33.25	33.68
Soy bean oil	3	3.69	3.41	4.11
Silver nanoparticles coated on zeolite	0	1	0	1
Dicalcium Phosphate	1.47	1.47	1.09	1.09
Limestone	1.19	1.18	1.29	1.28
Salt	0.43	0.43	0.32	0.32
² Vitamin premix	0.25	0.25	0.25	0.25
² Mineral premix	0.25	0.25	0.25	0.25
DL-Methionine	0.13	0.13	0.05	0.05
L-lysine (Hcl)	0.06	0.05	0.13	0.13
Analysis of nutrients				
ME (Kcal/kg)	2950	2950	3050	3050
CP %	21.2	21.2	19.06	19.06
Ca %	0.92	0.92	0.86	0.86
Available P %	0.41	0.41	0.33	0.33
Na %	0.18	0.18	0.14	0.14
Lys %	1.01	1.01	0.95	0.95
Met %	0.47	0.47	0.36	0.36
Cys %	0.36	0.36	0.37	0.37
Arg %	1.45	1.45	1.27	1.27
Thr %	0.84	0.84	0.74	0.74
Met+Cys %	0.83	0.83	0.73	0.73
k	0.96	0.96	0.85	0.85
Cl	0.30	0.30	0.23	0.23
Trp %	0.33	0.33	0.28	0.28

۱. جیره پایه بر پایه توصیه انجمن ملی تحقیقات (NRC, 1994) تهیه شده است.

۲. هر کیلوگرم مکمل ویتامینی و کانی حاوی: رتینول، ۱۵۰۰ واحد بین‌المللی؛ کوله کلسیفرول، ۲۰۰ واحد بین‌المللی؛ توکوفرول، ۱۰ واحد بین‌المللی؛ ریبوفلاوین، ۳/۵ میلی‌گرم؛ پانتوتنیک اسید، ۱۰ میلی‌گرم؛ نیاسین، ۳۰ میلی‌گرم؛ کلین کلرید، ۱۰۰۰ میلی‌گرم؛ بیوتین، ۰/۱۵ میلی‌گرم؛ اسید فولیک، ۰/۵ میلی‌گرم؛ تیامین، ۱/۵ میلی‌گرم؛ پیریدوکسین، ۰/۳ میلی‌گرم؛ کوبالامین، ۱۵ میکروگرم؛ آهن، ۸۰ میلی‌گرم؛ روی، ۴۰ میلی‌گرم؛ منگنز، ۶۰ میلی‌گرم؛ ید، ۰/۱۸ میلی‌گرم؛ مس، ۸ میلی‌گرم؛ سلنیوم، ۰/۱۵ میلی‌گرم.

1. Basal diets contained as recommended by the National Research Council.

2. Vitamin premix and Mineral premix provided the following per kilogram of diet: Vitamin Retinol, 1500 IU; Vitamin Cholecalciferol, 200 IU; Vitamin Tocopherolacetate, 10 IU; Vitamin Riboflavin, 3.5 mg; Vitamin Pantothenic acid, 10 mg; Vitamin Niacin, 30 mg; Cholinechloride, 1000 mg; Vitamin Biotin, 0.15 mg; Vitamin Folic Acid, 0.5 mg; Vitamin Thiamin, 1.5mg; Vitamin Pyridoxine, 0.3 mg; Vitamin Cobalamin, 15 µg; Fe, 80 mg; Zn, 40 mg; Mn 60 mg; I, 0.18 mg; Cu, 8 mg; Se, 0.15 mg.

نتایج و بحث

عملکرد

مقایسه میانگین تیمارهای آزمایشی از نظر عملکرد جوجه‌های گوشتی در جدول ۲ گزارش شده است. نتایج نشان داد، استفاده از ژئولیت پوشش داده‌شده با نانو ذرات نقره در همه سطوح تأثیری بر صفات عملکردی در ۲۱-۱ روزگی نداشته است. همچنین نتایج آزمایش در ۴۲-۲۲ روزگی نشان داد، تیمارهای آزمایشی تأثیر معنی‌داری بر افزایش وزن و مصرف خوراک جوجه‌های گوشتی در دوره رشد نداشتند ولی استفاده از ژئولیت پوشش داده‌شده با نانو ذرات نقره در همه سطوح و تیمار مکمل‌شده با ۱ درصد ژئولیت سبب کاهش ضریب تبدیل غذایی نسبت به جیره پایه در دوره رشد شد، افزون بر این استفاده از نانو ذرات در سطح ۰/۵ درصد سبب کاهش ضریب تبدیل غذایی نسبت به تیمار مکمل‌شده با ۱ درصد ژئولیت شد ($P < 0/05$).

گزارش شده است، افزودن نانو ذرات نقره به جیره

به میزان ۱۵ قسمت در میلیون در مقایسه با تیمار شاهد موجب کاهش در مصرف خوراک و بهبود ضریب تبدیل غذایی جوجه‌های گوشتی شد (Naghizadeh *et al.*, 2011). در آزمایشی نشان داده شد، استفاده از نانو ذرات نقره به میزان ۵۰ قسمت در میلیون در جیره سبب کاهش خوراک مصرفی و بهبود ضریب تبدیل غذایی نسبت به جیره پایه در کل دوره پرورش شده است (Naghizadeh & Karimi Torshizi, 2013). همچنین نشان داده‌شده است، استفاده از این مواد به میزان ۹۰۰ قسمت در میلیون باعث کاهش ضریب تبدیل غذایی در پایان دوره پرورش شد (Ahmadi, 2009). در پژوهشی گزارش شده است که تغذیه جوجه‌های گوشتی با نانو ذرات نقره به میزان ۴۵ گرم در تن جیره، سبب افزایش وزن و بهبود ضریب تبدیل غذایی می‌شود (Ghoodrat *et al.*, 2009). از سوی دیگر بیان شد، استفاده از نانو ذرات نقره به میزان ۵ و ۱۵ و ۲۵ قسمت در میلیون در آب آشامیدنی تأثیری

بهبود می‌دهند. همچنین نانو ذرات نقره با تغییر رخ‌نمای مجموعه باکتریایی (پروپایل فلور) در روده کوچک باعث کاهش ریزجانداران زیانبار و مواد دفعی ناشی از آنها می‌شود (Ghoodrat *et al.*, 2009). محققان اظهار کردند، درصدی از مواد مغذی موجود در جیره برای نگهداری، بازسازی دوباره و جایگزینی بافت جدید روده به کار می‌رود که نانو ذرات نقره با کاهش سموم میکروبی می‌توانند سبب کاهش در نیاز نگهداری شوند (Morones *et al.*, 2005). همچنین وجود زئولیت در جیره غذایی جوجه‌های گوشتی می‌تواند باعث افزایش قابلیت هضم مواد خوراکی و نیز افزایش عملکرد جوجه‌های گوشتی شود (Mumpton & Fishman, 1997) که با نتایج این آزمایش همخوانی دارد. چنین اثرگذاری‌هایی می‌تواند به دلیل بهبود وضعیت سلامتی دستگاه گوارش و بهبود استفاده از میزان مواد مغذی در پرندگان تغذیه شده با آلومینوسیلیکات باشد (Palic *et al.*, 1993).

بر عملکرد جوجه‌های گوشتی در روز ۴۲ دوره پرورش نداشته است (Ahmadi & Hafsi Kurdestany, 2010). همچنین در گزارشی دیگر بیان شد، استفاده از نانو ذرات نقره در سطوح ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در آب آشامیدنی تأثیری بر صفات عملکردی جوجه‌های گوشتی نداشته است (Pineda *et al.*, 2012). بهبود ضریب تبدیل غذایی با استفاده از زئولیت پوشش داده شده با نانو ذرات نقره می‌تواند به دلیل نانو ذرات نقره باشد که سبب کاهش تولید ترکیب‌های سمی توسط باکتری‌ها، تغییر در ریخت‌شناختی دیواره روده و کاهش تجمع بیمارگر (پاتوژن)ها در دیواره روده می‌شود (Naghizadeh & Karimi Torshizi, 2013). دلیل احتمالی این نتایج می‌تواند مربوط به تأثیر نانو ذرات نقره بر فلور روده و لذا تأثیر غیرمستقیم آن روی هضم و جذب و سوخت‌وساز (متابولیسم) مواد مغذی بر روده کوچک باشد که در نهایت قابلیت دسترسی مواد مغذی را

جدول ۲. تأثیر تیمارهای آزمایشی بر عملکرد جوجه‌های گوشتی در دوره‌های آغازین و پایانی پرورش

Table 2. Effect of experimental diets on performance of broiler chickens in starter and finisher phases

Experimental diet	Starter period (1-21)	Finisher period (22-42)
	Body weight gain (g)	
C	812.38±11.79	1376.82±29.61
Z	816.12±8.56	1507.44±41.58
NS25	817.82±26.20	1477.59±32.52
NS50	836.36±16.72	1440.98±50.43
NS75	831.04±32.39	1434.01±63.29
SEM	21.11	45.19
P-value	0.9117	0.3459
	Feed intake (g)	
C	1270.00±46.80	3297.1±127.29
Z	1243.92±38.30	3384.1±106.74
NS25	1199.68±43.13	3105.3±79.71
NS50	1198.67±42.55	3012.7±75.38
NS75	1238.25±2463	3124.8±82.08
SEM	39.84	96.30
P-value	0.6719	0.0772
	Feed conversion ratio (g/g)	
C	1.56±0.04	2.39±0.04 ^a
Z	1.52±0.05	2.24±0.04 ^b
NS25	1.46±0.03	2.10±0.04 ^{bc}
NS50	1.43±0.04	2.09±0.03 ^c
NS75	1.49±0.04	2.18±0.06 ^{bc}
SEM	0.04	0.04
P-value	0.3163	0.0012

a-c: میانگین‌های هر ستون با حرف‌های غیرمستترک اختلاف معنی‌دار دارند ($P < 0.05$).

C: جیره پایه (بدون زئولیت)

Z: جیره پایه مکمل شده با ۱ درصد زئولیت

NS25: جیره پایه مکمل شده با ۱ درصد زئولیت پوشش داده شده با ۰/۲۵ درصد نانوقره

NS50: جیره پایه مکمل شده با ۱ درصد زئولیت پوشش داده شده با ۰/۵ درصد نانوقره

NS75: جیره پایه مکمل شده با ۱ درصد زئولیت پوشش داده شده با ۰/۷۵ درصد نانوقره

a-c: Means in the same column with no common superscripts differ significantly ($P < 0.05$).

C: Basal diet (without zeolite)

Z: Basal diet supplemented with 1% zeolite

NS25: Basal diet supplemented with 1% zeolite coated with 0.25% nanosilver

NS50: Basal diet supplemented with 1% zeolite coated with 0.5% nanosilver

NS75: Basal diet supplemented with 1% zeolite coated with 0.75% nanosilver

ویژگی‌های ریخت‌شناختی دوازدهه و طول قسمت‌های مختلف روده باریک

مقایسه میانگین تیمارهای آزمایشی از نظر طول قسمت‌های مختلف روده باریک جوجه‌های گوشتی در روز ۴۲ دوره پرورش در جدول ۳ ارائه شده است. نتایج آزمایش در روز ۴۲ دوره پرورش نشان داد، استفاده از تیمارهای آزمایشی تأثیر معنی‌داری بر طول دوازدهه، میان‌روده و آخرین بخش روده کوچک جوجه‌های گوشتی ندارد.

مقایسه میانگین تیمارهای آزمایشی از نظر ویژگی‌های ریخت‌شناختی دوازدهه روده باریک در روز ۴۲ دوره پرورش در جدول ۴ گزارش شده است. نتایج نشان داد، استفاده از ژئولیت پوشش داده‌شده با نانو ذرات نقره در دو سطح ۰/۵ درصد و ۰/۷۵ درصد باعث افزایش معنی‌دار ارتفاع پرز نسبت به جیره پایه و جیره پایه مکمل‌شده با ۱ درصد ژئولیت شد ($P < 0/05$). استفاده از ژئولیت پوشش داده‌شده با نانو ذرات نقره در سه سطح (۰/۲۵ درصد، ۰/۵ درصد و ۰/۷۵ درصد) سبب کاهش عمق کریپت نسبت به جیره پایه شد ($P < 0/05$). همچنین استفاده از ژئولیت پوشش داده‌شده با نانو ذرات نقره در دو سطح ۰/۵ درصد و ۰/۷۵ درصد باعث افزایش نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت در مقایسه با جیره پایه شد ($P < 0/05$). در روز ۴۲ دوره پرورش، تیمارهای مختلف آزمایشی از نظر دیگر فراسنجه‌های ریخت‌شناختی اختلاف معنی‌داری نداشتند.

ریخت‌شناختی روده اطلاعات سودمندی در زمینه چگونگی سلامتی موجود زنده ارائه می‌کند. کوتاه بودن پرز نشان‌دهنده تحلیل پرز و کاهش سطح جذب مواد مغذی مصرفی است. کریپت می‌تواند به‌عنوان معیار عملکرد پرز در نظر گرفته شود. یک کریپت بزرگ نشان می‌دهد، سطح بازچرخش بافت و لذا نیاز برای تولید بافت جدید در حال افزایش است (Ma & Guo, 2008). شرایط پرزهای روده شاخص معتبری از روند جذب مواد مغذی در پرندگان هستند (Maneewan & Yamauchi, 2005). کوتاهی پرزهای روده موجب کاهش سطح پرزها و در نتیجه کاهش جذب است (Park et al., 1998) که به دنبال آن عملکرد جذب

کاهش می‌یابد. شاخص ارتفاع پرز به عمق کریپت برای ارزیابی ظرفیت گوارشی روده کوچک استفاده می‌شود. در حقیقت کاهش این نسبت برای هضم و جذب زیان‌آور است (Montagne et al., 2003). بنابراین عملکرد جذب ممکن است با نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت در روده کوچک بیان شود (Chiou et al., 1996).

Naghizadeh & Karimi Torshizi (2013) ترشیزی در آزمایشی نشان دادند، گروه‌های شاهد (بدون افزودنی) بیشترین و گروهی که نانو ذرات نقره را به میزان ۵۰ قسمت در میلیون دریافت کردند، کمترین عمق کریپت را داشتند که مؤید نتایج به‌دست‌آمده از این پژوهش است. برخی گزارش کرده‌اند، استفاده از نانو ذرات نقره تأثیری بر ارتفاع پرز و نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت ندارند، این یافته‌ها با نتایج به‌دست‌آمده از این آزمایش همخوانی ندارد. از سوی دیگر گزارش شده است، استفاده از سطوح مختلف نانو ذرات نقره به میزان ۳۰۰، ۶۰۰ و ۹۰۰ قسمت در میلیون در جوجه‌های گوشتی، باعث افزایش ارتفاع پرز شده است (Ahmadi et al., 2009)، که بنا بر نتایج به‌دست‌آمده در این پژوهش است. افزایش ارتفاع پرز و کاهش عمق کریپت در این بررسی می‌تواند به دلیل کاهش شمار باکتری‌های روده و در نتیجه کاهش باز چرخ یاخته‌های تولیدکننده مخاط باشد (Ma & Guo, 2008) که سبب ذخیره انرژی توسط پرند در جهت تولید بافت‌های دیگر و در نتیجه افزایش عملکرد و بهبود ضریب تبدیل غذایی می‌شود. بنابراین، افزایش ارتفاع و سطح پرز تا حدی عملکرد بهتر را توجیه می‌کند (Chiou et al., 1996).

جمعیت میکروبی

نتایج مربوط به مقایسه میانگین تیمارهای آزمایشی از نظر جمعیت میکروبی آخرین بخش روده کوچک جوجه‌های گوشتی در روز ۲۱ و ۴۲ دوره پرورش در جدول ۵ ارائه شده است. نتایج این آزمایش در روز ۲۱ دوره پرورش نشان داد، استفاده از ژئولیت پوشش داده‌شده با نانو ذرات نقره در سطح ۰/۵ و ۰/۷۵ درصد باعث کاهش معنی‌دار باکتری‌های کلی‌فرم نسبت به

این آزمایش در روز ۴۲ دوره پرورش نشان داد، تیمارهای آزمایشی تأثیر معنی داری بر شمار کلی فرمها و باکتری های هوازی آخرین بخش روده کوچک جوجه های گوشتی نداشته اند.

جیره پایه و جیره پایه مکمل شده با ۱ درصد زئولیت شد ($P < 0.05$). اختلاف معنی داری در شمار باکتری های هوازی بین تیمارهای آزمایشی در روز ۲۱ دوره پرورش مشاهده نشد. داده های به دست آمده از

جدول ۳. مقایسه میانگین تیمارهای آزمایشی از نظر طول قسمت های مختلف روده باریک جوجه گوشتی در ۴۲ روزگی

Table 3. Effect of experimental diets on different parts length of small intestine of broiler chickens on day 42

Experimental diet	Length of small intestine (cm)		
	Jejunum	Duodenum	Ileum
	42 day		
C	71.00±5.77	31.00±0.83	75.80±2.53
Z	72.80±5.11	31.60±0.97	73.20±5.26
NS25	73.60±2.42	33.20±1.54	69.60±3.37
NS50	68.00±3.96	31.40±1.86	66.80±4.27
NS75	75.00±3.57	33.60±1.20	78.40±2.58
SEM	4.33	1.38	3.75
P-value	0.8145	0.6006	0.2290

a-c: میانگین های هر ستون با حرف های غیرمشترک اختلاف معنی دار دارند ($P < 0.05$).

C: جیره پایه (بدون زئولیت)

Z: جیره پایه مکمل شده با ۱ درصد زئولیت

NS25: جیره پایه مکمل شده با ۱ درصد زئولیت پوشش داده شده با ۰/۲۵ درصد نانو نقره

NS50: جیره پایه مکمل شده با ۱ درصد زئولیت پوشش داده شده با ۰/۵ درصد نانو نقره

NS75: جیره پایه مکمل شده با ۱ درصد زئولیت پوشش داده شده با ۰/۷۵ درصد نانو نقره

a-c: Means in the same column with no common superscripts differ significantly ($P < 0.05$).

C: Basal diet (without zeolite)

Z: Basal diet supplemented with 1% zeolite

NS25: Basal diet supplemented with 1% zeolite coated with 0.25% nanosilver

NS50: Basal diet supplemented with 1% zeolite coated with 0.5% nanosilver

NS75: Basal diet supplemented with 1% zeolite coated with 0.75% nanosilver

جدول ۴. تأثیر تیمارهای آزمایشی بر ویژگی های ریخت شناختی دوازدهم روده باریک در روز ۴۲ دوره پرورش در جوجه های گوشتی

Table 4. Effect of experimental diets on intestinal duodenum morphological characters of broiler chickens at 42 days of age

Experimental diet	intestinal morphological characters						
	Villus width (m μ)	Muscularis mucosae thickness (m μ)	Villus surface area (m $^2\mu$)	Villus/crypt ratio	Crypt depth (m μ)	Villi length (m μ)	Mucus layer thickness (m μ)
	42 day						
C	149.20±10.79	113.42±9.67	737472±49300.35	8.64±0.16 ^c	182.68±3.70 ^a	1577.12±24.19 ^c	11.40±1.20
Z	153.75±14.91	126.41±3.70	775700±65670.85	9.39±0.35 ^{bc}	172.56±3.11 ^{ab}	1616.53±35.98 ^c	13.60±1.14
NS25	151.96±8.03	135.10±4.30	786361±50814.15	9.85±0.42 ^{bc}	167.48±3.51 ^b	1645.28±40.50 ^{bc}	13.60±0.74
NS50	164.67±19.98	146.07±5.12	922707±116383.18	11.24±0.55 ^a	159.16±5.59 ^b	1778.38±35.08 ^a	14.70±0.25
NS75	158.69±17.82	137.32±13.64	860399±102253.67	10.58±0.41 ^{ab}	163.58±6.05 ^b	1722.19±30.20 ^{ab}	13.80±0.43
SEM	14.97	8.22	82225.04	0.40	4.55	33.66	0.84
P-value	0.9528	0.0987	0.5305	0.0019	0.0160	0/0027	0.1234

a-c: میانگین های هر ستون با حرف های غیرمشترک اختلاف معنی دار دارند ($P < 0.05$).

C: جیره پایه (بدون زئولیت)

Z: جیره پایه مکمل شده با ۱ درصد زئولیت

NS25: جیره پایه مکمل شده با ۱ درصد زئولیت پوشش داده شده با ۰/۲۵ درصد نانو نقره

NS50: جیره پایه مکمل شده با ۱ درصد زئولیت پوشش داده شده با ۰/۵ درصد نانو نقره

NS75: جیره پایه مکمل شده با ۱ درصد زئولیت پوشش داده شده با ۰/۷۵ درصد نانو نقره

a-c: Means in the same column with no common superscripts differ significantly ($P < 0.05$).

C: Basal diet

Z: Basal diet supplemented with 1% zeolite

NS25: Basal diet supplemented with 1% zeolite coated with 0.25% nanosilver

NS50: Basal diet supplemented with 1% zeolite coated with 0.5% nanosilver

NS75: Basal diet supplemented with 1% zeolite coated with 0.75% nanosilver

جدول ۵. مقایسه میانگین تیمارهای آزمایشی از نظر جمعیت میکروبی آخرین بخش روده کوچک جوجه‌های گوشتی در ۲۱ و ۴۲ روزگی

Table 5. Effect of experimental diets on ileum bacteria population on days 21 and 42

Experimental diet	bacteria population	
	Coliforms (log ₁₀ CFU/g)	Aerobic bacteria (log ₁₀ CFU/g)
	On d 21	
C	8.03±0.25 ^a	7.20±0.11
Z	7.87±0.21 ^a	6.45±0.25
NS25	7.44±0.14 ^{ab}	6.43±0.38
NS50	7.03±0.19 ^b	6.29±0.10
NS75	7.13±0.26 ^b	6.14±0.30
SEM	0.21	0.25
P-value	0.0139	0.0718
	On d 42	
C	7.85±0.09	8.68±0.44
Z	8.14±0.18	8.63±0.30
NS25	8.34±0.18	8.23±0.37
NS50	8.44±0.12	8.21±0.26
NS75	8.22±0.17	8.24±0.29
SEM	0.15	0.34
P-value	0.1300	0.7517

a-c: میانگین‌های هر ستون با حرف‌های غیرمشترک اختلاف معنی‌دار دارند ($P < 0.05$).

C: جیره پایه (بدون زئولیت)

Z: جیره پایه مکمل شده با ۱ درصد زئولیت

NS25: جیره پایه مکمل شده با ۱ درصد زئولیت پوشش داده شده با ۰/۲۵ درصد نانو نقره

NS50: جیره پایه مکمل شده با ۱ درصد زئولیت پوشش داده شده با ۰/۵ درصد نانو نقره

NS75: جیره پایه مکمل شده با ۱ درصد زئولیت پوشش داده شده با ۰/۷۵ درصد نانو نقره

a-c: Means in the same column with no common superscripts differ significantly ($P < 0.05$).

C: Basal diet

Z: Basal diet supplemented with 1% zeolite

NS25: Basal diet supplemented with 1% zeolite coated with 0.25% nanosilver

NS50: Basal diet supplemented with 1% zeolite coated with 0.5% nanosilver

NS75: Basal diet supplemented with 1% zeolite coated with 0.75% nanosilver

آخرین بخش روده کوچک جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با جیره آلوده به آفلاتوکسین بدون نانو زئولیت نسبت به تیمار شاهد بیشتر بود (Shabani *et al.*, 2010). همچنین گزارش شده است، استفاده از سطوح مختلف نانو ذرات نقره (۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) تأثیری بر جمعیت میکروبی باکتری‌های اسیدلاکتیکی و کلی‌فرم‌ها در آخرین بخش روده کوچک و روده کور جوجه‌های گوشتی نداشته است (Pineda *et al.*, 2012). پژوهشگران بیان کردند، اگرچه نانو ذرات نقره در شرایط آزمایشگاهی ویژگی ضد میکروبی بالایی دارند اما ویژگی ضد میکروبی در خارج از شرایط آزمایشگاهی در بررسی آن‌ها تأیید نشد (Lok *et al.*, 2007). محققان اظهار کردند، دلایل این امر ناشناخته است اما شاید انواع مختلف و سطوح متفاوت از عامل‌های بیماریزا در زندگی طیور وجود دارند که می‌توانند نقش مهمی را در پاسخ گونه‌های مختلف به نانو

استقرار جمعیت میکروبی مناسب در دستگاه گوارش به دلیل افزایش جذب مواد مغذی به واسطه افزایش ظرفیت هضم دستگاه گوارش و کاهش هدررفت مواد مغذی اهمیت بالایی دارد (Shabani *et al.*, 2011). تاکنون آزمایشی مبنی بر اثر زئولیت پوشش داده شده با نانو ذرات نقره بر جمعیت میکروبی صورت نگرفته است اما در ارتباط با تأثیر نانو ذرات نقره بر جمعیت میکروبی گزارش شده است، افزودن نانو زئولیت به جیره‌های آلوده به آفلاتوکسین سبب کاهش جمعیت باکتری‌های کلی‌فرم شد اما تأثیری بر جمعیت کل باکتری‌ها و جمعیت باکتری‌های اسیدلاکتیکی آخرین بخش روده کوچک نداشت (Shabani *et al.*, 2011). در آزمایشی دیگری نشان داده شد، جمعیت کل باکتری‌ها و باکتری‌های کلی‌فرم آخرین بخش روده کوچک جوجه‌های گوشتی تحت تأثیر نانو زئولیت قرار نگرفت اما جمعیت میکروبی

نتیجه گیری کلی

بر پایه نتایج به دست آمده از این تحقیق، زئولیت پوشش داده شده با نانو ذرات نقره در سطح ۰/۵ درصد سبب بهبود معنی دار ضریب تبدیل غذایی نسبت به دیگر تیمارها شد ($P < 0/05$). استفاده از تیمارهای آزمایشی سبب کاهش عمق کریپت نسبت به جیره پایه شد ($P < 0/05$). همچنین افزودن نانو ذرات نقره در سطح ۰/۵ درصد و ۰/۷۵ درصد سبب افزایش معنی دار ارتفاع پرز و نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت نسبت به جیره پایه در ۴۲ روزگی و کاهش معنی دار باکتری های کلی فرم نسبت به جیره پایه و جیره پایه مکمل شده با ۱ درصد زئولیت در ۲۱ روزگی شد ($P < 0/05$).

سپاسگزاری

از مسئولان دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان که قسمتی از هزینه های اجرای این تحقیق را در قالب طرح پژوهشی تقبل کردند قدردانی می شود. همچنین از شرکت نانو نصب پارس نیز که امکان تهیه زئولیت پوشش داده شده با نانو ذرات نقره را فراهم کرده اند، تشکر و قدردانی می گردد.

ذرات نقره در خارج از شرایط آزمایشگاهی ایفا کنند (Pineda *et al.*, 2012). اگرچه در آزمایشی دیگر استفاده از نانو ذرات نقره در سطوح ۲۰ و ۴۰ میلی گرم بر کیلوگرم سبب کاهش معنی دار در شمار کل باکتری ها و باکتری های گروه کلوستریدیومها شد که دلایل این تغییرها ممکن است تفاوت در غلظت نانو ذرات نقره، گونه های باکتریایی، مواد تشکیل دهنده جیره غذایی و یا حتی روش های شمارش باکتریایی باشد (Fondevila *et al.*, 2008). نقره به عنوان یک کاتالیزور، آنزیمهایی را که باکتری ها، ویروس ها و قارچ ها برای سوخت و ساز به اکسیژن نیاز دارند، غیرفعال می کند. نتیجه به دست آمده از تخریب موجودهای عامل بیماری در بدن است (Cho *et al.*, 2005). شاید مشاهده نکردن کاهش جمعیت کلی فرمها در سطح ۰/۲۵ درصد به علت پایین بودن سطح زئولیت پوشش داده شده با نانو ذرات نقره بود چراکه جیره پایه مکمل شده با ۱ درصد زئولیت نیز توانست جمعیت کلی فرمها را کاهش دهد. اما استفاده از نانو ذرات در سطح های بالاتر یعنی ۰/۵ و ۰/۷۵ درصد، توانست باعث کاهش معنی دار جمعیت باکتری های کلی فرم شود.

REFERENCES

- Ahmadi, F. & Hafsi Kurdestany, A. (2010). The impact of silver nano particles on growth performance, lymphoid organs and oxidative stress indicators in broiler chicks. *Global Veterinaria*, 5, 366-370.
- Ahmadi, J. (2009). Application of different levels of silver nanoparticles in food on the performance and some blood parameters of broiler chickens. *World Applied Sciences Journal*, 7, 24-27.
- Ahmadi, J., Irani, M. & Choobchian, M. (2009). Pathological study of intestinal and liver in broiler chickens after treatment with different levels of silver nanoparticles. *World Applied Sciences Journal*, 7, 28-32.
- Chiou, P. W. S., Lu, T. W., Hsu, J. C. & Yu, B. (1996). Effect of different sources of fiber on the intestinal morphology of domestic geese. *Asia- Aust Journal Animal Science*, 4, 539-550.
- Cho, K. H., Park, J. E., Osaka, T. & Park, S. G. (2005). *The study of antimicrobial activity and preservative effects of nanosilver ingredient*. *Electrochimica Acta*, 15, 956-960.
- Choi, O., Clevenger, T. E., Deng, B., Surampalli, R. Y., Ross, J. L. & Hu, Z. (2009). Role of sulfide and ligand strength in controlling nanosilver toxicity. *Water Research*, 43, 1879-1886.
- Cobb-Vantress. (2012). Cobb 500 broiler manual. From: <http://www.cobb-vantress.com>.
- Duncan, D. B. (1955). Multiple range and multiple F tests. *Biometrics*, 11, 1-42.
- Fondevila, M., Herrer, R., Casallas, M. C., Abecia, L. & Duchab, J. J. (2008). Silver nanoparticles as a potential antimicrobial additive for weaned pigs. *Animal Feed Science and Technology*, 150, 259-269.
- Ghoodrat, A., Ila, N. & Salehi, M. (2009). Evaluation of feeding effects silver nanoparticles and probiotics and their reaction on performance of broilers chickens. *Animal Science and Research Journal*, 4, 11-17. (in Farsi)
- Hashemi, S. R. & Davoodi, H. (2011). Herbal plants and their derivatives as growth and health promoters in animal nutrition. *Veterinary Research Communications*, 35, 180-169.
- Hashemi, S. R., Davoodi, D., Dastar, B., Bolandi, N., Smaili, M. & Mastani, R. (2014a). Meat quality attributes of broiler chickens fed diets supplemented with silver nanoparticles coated on zeolite. *Poultry Science Journal*, 2, 183-193.

13. Hashemi, S. R., Zulkifli, I., Davoodi, H., Hair Bejo, M. & Loh, T. C. (2014b). Intestinal histomorphology changes and serum biochemistry responses of broiler chickens fed herbal plant (euphorbia hirta) and mix of acidifier. *Iranian Journal of Applied Animal Science*, 4, 95-103.
14. Incharoen, T., Khambualai, O. & Yamauchi, k. (2009). Performance and histological changes of intestinal villi in chickens fed dietary natural zeolite including plant extract. *Asian Journal of Poultry Science*, 3, 42-50.
15. Lok C.N., Ho, C. M., Chen. R., He. Q. Y., Yu, W. Y., Sun, H. (2007). Silver nanoparticles: partial oxidation and antibacterial activities. *Journal of Biological Inorganic Chemistry*, 12, 527-53.
16. Ma, Y. L. & Guo, T. (2008). Intestinal morphology, brush border and digesta enzyme activities of broilers fed on a diet containing Cu²⁺-loaded montmorillonite. *British Poultry Science*, 49, 65-73.
17. Maneewan, B. & Yamauchi, K. (2005). Recovery of duodenal villi and cell in chickens re-fed protein, carbohydrate and fat. *British Poultry Science*, 46, 415-423.
18. Montagne, L., Pluske, J. R. & Hampson, D. J. (2003). A review of interactions between dietary fiber and the intestinal mucosa, and their consequences on digestive health in young non-ruminant animals. *Animal Feed Science and Technology*, 108, 95-117.
19. Morones, J. R., Elechiguerra, J. L., Camacho, A., Holt, K., Kouri, J. B., Ramirez, J. T. & Yacaman, M. J. (2005). The bactericidal effect of silver nanoparticles. *Nanotechnology*, 16, 2346-2353.
20. Mumpton, F. A. & Fishman, P. H. (1977). The application of zeolite in animal science and aquaculture. *Journal of Animal Science*, 45, 1188-1203.
21. Naghizadeh, F., Karimi Torshizi, M. A. & Rahimi, S. (2011). Comparison of nanosilver and in feed disinfectants on layer performance and intestinal microflora and yolk cholesterol. *Journal of Animal Production*, 13, 48-59. (in Farsi)
22. Naghizadeh, M. & Karimi Torshizi, M. A. (2013). Evaluation of nano silver as an antibiotics alternative on performance and intestinal morphometric parameters of broilers chickens. *Journal of Animal Science*, 44, 255-262. (in Farsi)
23. National Research Council. (1994). Nutrient Requirements of Poultry. (9th rev. ed.) *National Academy Press*, Washington, DC.
24. Palic, T., Vukicevice, O., Resanovic, R. & Rajic, I. (1993). Possible applications of natural zeolite in poultry production. *Poultry Science*, 021-0021300.
25. Park, Y. K., Monaco, M. M. & Donovan, S. M. (1998). Delivery of total parenteral nutrition via umbilical catheterization: development of a piglet model during TPN. *Biology of the Neonate*, 73, 295-305.
26. Petunkin, N. (1991). Influence of zeolite on animal digestion in: Occurrence properties and utilization of natural zeolite. *Havana Cuba*, P. 280.
27. Pineda, L., Chwalibog, A., Sawosz, E., Lauridsen, C., Engberg, R., Elnif, J., Hotowy, A., Sawosz, F., Gao, Y., Ali, A. & Sepehri Moghaddam, H. (2012). Effect of silver nanoparticles on growth performance, metabolism and microbial profile of broiler chickens. *Archives of Animal Nutrition*, 66, 416-429.
28. Roshanai, K., Razavian, M. H., Ahmadi, R., Heidarieh, N. & Masaeemanesh, M. B. (2012). The effect of silver nano oral consumption on some hormonal, hematological and urine parameters of Vistar rats. *Qom University of Medical Sciences Journal*, 6, 65-70. (in Farsi)
29. Safaei Katuli, M., Boldaji, F., Dastar, B. & Hassani, S. (2010). The effect of dietary silicate minerals supplementation on apparent ileal digestibility of energy and protein in broiler chickens. *International Journal of Agriculture and Biology*, 14, 299-302.
30. SAS Institute. (2003). SAS/STAT® Users guide, Release 9.1 edition. *SAS Institute Inc*, Cary, NC.
31. Shabani, A., Dastar, B., Khomeiri, M., Shabanpurand, B. & Hassani, S. (2011). Reduction effect of aflatoxicosis on the growth performance, blood protein and lipid concentration and gastro intestinal bacterial broilers fed nanozeolite. *Journal of Animal Science Researches*, 21, 117-127. (in Farsi)
32. Shabani, A., Dastar, B., Khomeiri, M., Shabanpurand, B. & Hassani, S. (2010). Effect of nanozeolite on performance, some blood parameters and ileal bacteria population in broiler chicks fed aflatoxin contaminated diets. *Journal of Animal Production*, 2, 58-68. (in Farsi)
33. Zargarn Esfahani, H., Sharifi, S. D., Brin, A. & Afzalzadeh, A. (2010). The effects of Silver Nanoparticles on performance and carcass characteristics of broiler chickens. *Iranian Journal of Animal Science*, 2, 137-143. (in Farsi)