

تأثیر نانوذرات اکسید روی و باسیلوس کوآگولانس بر عملکرد، جمعیت میکروبی و فراسنجه‌های خونی جوجه‌های گوشتی

محمد خواجه بمی^۱ و محسن افشارمنش^{۲*}

۱ و ۲. دانشجوی کارشناسی ارشد و دانشیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۲/۱۸ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۷/۲۰)

چکیده

این پژوهش به منظور ارزیابی تأثیر نانوذرات اکسید روی و ریزاندامگان سلامت‌بخش (پروبیوتیک) بر عملکرد، جمعیت میکروبی و فراسنجه‌های خون جوجه‌های خروس (راس ۳۰۸) انجام شد. این آزمایش با ۲۸۸ قطعه جوجه در قالب طرح کامل تصادفی با شش تیمار، چهار تکرار و دوازده جوجه در هر تکرار به اجرا درآمد. تیمارها شامل: ۱) شاهد حاوی میزان استاندارد اکسید روی (۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم)، ۲) شاهد + ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم ریزاندامگان سلامت‌بخش، ۳ و ۴) جیره پایه به اضافه ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم نانو اکسید روی، ۵ و ۶) جیره پایه به اضافه ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم نانو اکسید روی و ۱۰۰ میلی‌گرم ریزاندامگان سلامت‌بخش، بودند. در کل دوره آزمایش استفاده از نانو اکسید روی با ریزاندامگان سلامت‌بخش سبب افزایش وزن بدن و بهبود ضریب تبدیل غذایی جوجه‌های گوشتی در مقایسه با تیمار شاهد شد ($P < 0.05$). شمار باکتری‌های کلی فرم و لاکتوباسیل روده در جوجه‌های تغذیه‌شده با ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم نانو اکسید روی به همراه ریزاندامگان سلامت‌بخش به ترتیب کمتر و بیشتر از جوجه‌های مربوط به گروه شاهد بودند ($P < 0.05$). میزان پروتئین کل و آلبومین سرم در جوجه‌های تغذیه‌شده با ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم نانو اکسید روی به همراه ریزاندامگان سلامت‌بخش از جوجه‌های مربوط به تیمار شاهد بیشتر بود ($P < 0.05$). به‌طور کلی استفاده از نانوذرات اکسید روی به همراه ریزاندامگان سلامت‌بخش سبب بهبود عملکرد و تعدیل جمعیت میکروبی شد.

واژه‌های کلیدی: ایمنی، جوجه‌های گوشتی، جمعیت میکروبی روده، روی، ریزاندامگان سلامت‌بخش.

Effect of zinc oxid nanoparticle and Bacillus coagulans on performance, microbial population and blood parameters in broiler chickens

Mohammad Khajeh Bami¹ and Mohsen Afsharmanesh^{2*}

1, 2. M. Sc. Student and Associate Professor, Department of Animal Science, Shahid Bahonar University of Kerman, Iran
(Received: May 7, 2016 - Accepted: Oct. 11, 2016)

ABSTRACT

This experiment was conducted to study the effect of zinc oxid nanoparticle and probiotic on performance, microbial population and blood parameters in broiler chickens (Ross 308). The experimental was done in a completely randomized design with 6 treatments, 4 replications and 12 chickens in each replication (288 chicks). The experimental treatments were 1) control diet with standard zinc oxid (100 mg/kg) 2) control diet plus 100 mg/kg probiotic, 3,4) basal diet plus 25 and 50 mg/kg zinc oxid nanoparticle, 5,6) basal diet plus 25 and 50 mg/kg zinc oxid nanoparticle plus probiotic. In the whole of experimental period, the using zinc oxid nanoparticle with probiotic significantly improved body weight and FCR compare to control group ($P < 0.05$). The colony counts of coliform and lactobacillus bacteria in chickens fed with 50 mg/kg zinc oxid nanoparticle along with probiotic were significantly lower and higher than control group respectively ($P < 0.05$). Total protein and albumin in serum of chickens which received 50 mg/kg zinc oxid nanoparticle along with probiotic were significantly higher compare to control ($P < 0.05$). In conclusion, zinc oxid nanoparticle with probiotic caused an improvement in performance parameters and count of benefit microbial bacteria.

Keywords: Broiler chicks, immunity, intestinal microflora, probiotic, zinc.

مقدمه

امروزه فناوری نانو از پیشرفته‌ترین روش‌ها به شمار آمده که محققان با استفاده از آن توانسته‌اند نانو مواد غیرآلی با ساختار جدید و ویژگی‌های زیستی (بیولوژیکی)، شیمیایی و فیزیکی پیشرفته، تولید کنند (Sosnik *et al.*, 2010). تغییر اندازه ذرات به نانوذره (اندازه کمتر از ۱۰۰ نانومتر) سبب افزایش نسبت سطح به حجم و افزایش واکنش‌پذیری می‌شود (Francisco *et al.*, 2008). این نکته در مورد نانوذرات تیتانیوم، طلا، اکسید روی و پالادیم ثابت شده است (Nagaveni *et al.*, 2004). با توجه به اینکه فراهمی زیستی مواد کانی با افزایش سطح، افزایش می‌یابد، نانو مواد کانی برای افزایش فراهمی زیستی در صنعت دام و طیور استفاده می‌شوند (Rajendran *et al.*, 2013). برای مثال تحقیقاتی در این زمینه نشان داده، استفاده از نانو سلنیوم سبب بهبود عملکرد و افزایش کیفیت گوشت نسبت به زمان استفاده از شکل و ترکیب آلی یا غیر آلی سلنیوم می‌شود و همچنین تأثیر استفاده از نانو کروم بیشتر از شکل و ترکیب عادی است به گونه‌ایی که باعث کاهش غلظت سرمی کورتیزول و انسولین و افزایش سطوح ایمنوگلوبولین در جوجه‌های گوشتی می‌شود (Rajendran *et al.*, 2013). در مورد اثر نانو مواد از جمله نانو اکسید روی در علوم دامی تحقیقات اندکی صورت گرفته است. در تحقیقی استفاده از نانوذرات اکسید روی سبب بهبود ضریب تبدیل و کاهش مصرف خوراک نسبت به تیمار شاهد (فاقد روی) شد (Ahmadi *et al.*, 2013). عنصر روی در سامانه ایمنی، کیفیت لاشه و عملکرد آنزیم‌های کاتالاز، کربنیک آنهیدراز و آلکالین فسفاتاز نقش دارد (Huang *et al.*, 2007). همچنین روی از راه افزایش ترشح آنزیم‌های هضم‌کننده، قابلیت هضم مواد مغذی را افزایش می‌دهد (Sahin *et al.*, 2009). از دیگر وظایف روی نقش آن به‌عنوان یک عامل کمکی (کوفاکتور) پاداکسنده (آنتی‌اکسیدانی) مهم، نقش در افزایش تشکیل ایمنوگلوبولین‌ها و بهبود یکپارچگی بافت پوششی (اپیتلیوم) است (Hu *et al.*, 2013). همچنین به‌عنوان عامل کمکی در آنزیم‌های مؤثر برای دفاع در برابر بیمارگر (پاتوژن)ها استفاده می‌شود

به‌طوری‌که دیده شده در جوجه‌های آلوده با نیوکاسل یا اشرشیاکلی غلظت روی در خون پایین است (Park *et al.*, 2004).

ریزاندامگان سلامت‌بخش (پروبیوتیک) ریزاندامگان (میکروارگانسیم‌های) زنده‌ای هستند که می‌توانند سبب بهبود عملکرد رشد، تعدیل جمعیت میکروبی و تقویت سامانه ایمنی (Mountzouris *et al.*, 2010) و همچنین افزایش قابلیت هضم مواد مغذی (Apata, 2008) شوند. باسیلوس کوآگولانس یک باکتری تشکیل‌دهنده اسپور، گرم مثبت، بی‌هوازی اختیاری، دارای شکل میله‌ای و توان تحرک، قادر به رشد زیاد در یک دامنه گسترده‌ای از دما (۵۷°C-۳۰) و pH (۵-۱۰/۴) است. (De Clerk *et al.*, 2004) فرآورده‌های ناشی از تخمیر ریزاندامگان سلامت‌بخش منجر به تولید اسیدهای چرب زنجیر کوتاه و کاهش pH دستگاه گوارش و در نتیجه باعث افزایش حلالیت مواد کانی، تشکیل کمپلکس با مواد کانی و تحریک اپیتلیوم روده و افزایش جذب می‌شود (Scholz-Ahrens *et al.*, 2007). با توجه به موارد بالا به نظر می‌رسد که استفاده از نانوذرات اکسید روی به همراه ریزاندامگان سلامت‌بخش سبب بروز اثر همکوشی بین این دو ماده شده که با افزایش قابلیت دسترسی روی، تعدیل جمعیت میکروبی، تقویت سامانه ایمنی، افزایش قابلیت هضم مواد مغذی و در نتیجه بهبود عملکرد جوجه‌های گوشتی همراه باشد. بنابراین در این تحقیق تأثیر نانوذرات اکسید روی و باسیلوس کوآگولانس بر عملکرد، جمعیت میکروبی و فراسنجه‌های خونی جوجه‌های گوشتی بررسی شد.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق از ۲۸۸ قطعه جوجه گوشتی نر (سویه تجاری راس ۳۰۸) در قالب طرح کامل تصادفی با شش تیمار، چهار تکرار و دوازده جوجه در هر تکرار در دوره‌ای ۴۲ روزه استفاده شد. جیره پایه بر پایه نیازهای توصیه‌شده در دفترچه راهنمای پرورش سویه راس ۳۰۸ و با استفاده از مکمل کانی^۱

۱. مکمل معدنی بدون روی از شرکت توان مهر تهیه شد.

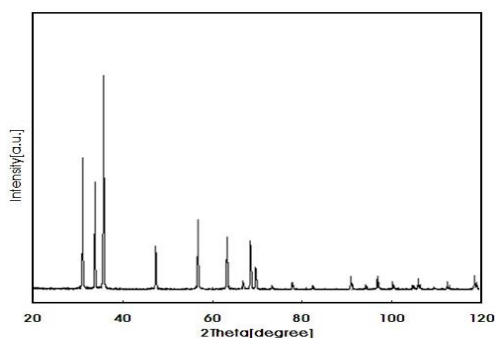
ساختار و اندازه نانوذرات اکسید روی به وسیله میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) تعیین شد (شکل ۲).

برای بررسی جمعیت میکروبی روده در ۴۲ روزگی، یک پرنده از هر تکرار به‌طور تصادفی انتخاب و به روش مرسوم کشتار شد و محتویات آخرین بخش روده کوچک (ایلئوم) در ظرف‌های سترون (استریل) تخلیه و بی‌درنگ نمونه‌ها برای شمارش میکروبی به آزمایشگاه منتقل شد. در این تحقیق شمار کلنی باکتری‌های لاکتوباسیل و کلی فرم در نمونه‌های موجود شمارش شد (Li, 1991). برای شمارش باکتری‌های تولیدکننده لاکتوباسیل از محیط کشت ام. آر. اس آگار^۳ و باکتری‌های کلی فرم از محیط کشت مک کانکی آگار^۴ استفاده شد. در روز ۴۲ آزمایش از هر تکرار یک قطعه جوجه با وزن نزدیک به میانگین تکرار انتخاب شد و خون‌گیری از سیاهرگ بال، انجام گرفت. برای تهیه سرم، نمونه‌های خون با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ده دقیقه، سانتریفیوژ شدند و به‌منظور انجام آزمایش‌های لازم در دمای ۲۰- درجه سلسیوس ذخیره شدند. فراسنجه‌های خونی مانند آلومین، پروتئین کل، آلکالین فسفاتاز، تری‌گلیسرید، کلسترول، لیپوپروتئین با چگالی زیاد (HDL) و لیپوپروتئین با چگالی کم (LDL) توسط دستگاه طیف‌سنج^۵ و با استفاده از کیت‌های شرکت پارس آزمون (تهران، ایران) تعیین شدند. داده‌های آزمایشی در قالب طرح کامل تصادفی با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS 9.1 با رویه GLM بررسی شد. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح آماری ۵ درصد استفاده شد.

بدون روی تهیه شد (جدول ۱). تیمارهای (جیره‌های) آزمایشی شامل: ۱) جیره شاهد (جیره پایه به اضافه میزان استاندارد اکسید روی به میزان ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره بر پایه توصیه دفترچه راهنمای پرورش سویه راس ۳۰۸)، ۲) جیره شاهد به اضافه ریزاندامگان سلامت‌بخش (۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره بر پایه توصیه کارخانه سازنده)، ۳) جیره پایه به اضافه نانو اکسید روی (۲۵ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره)، ۴) جیره پایه به اضافه نانو اکسید روی (۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم)، ۵) جیره پایه به اضافه نانو اکسید روی (۲۵ میلی‌گرم در کیلوگرم) + ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم ریزاندامگان سلامت‌بخش، ۶) جیره پایه به اضافه نانو اکسید روی (۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) + ۱۰۰ میلی‌گرم ریزاندامگان سلامت‌بخش. جیره‌های آزمایشی بر پایه ذرت و کنجاله سویا در دوره آغازین (۲۱-۱ روزگی) و رشد (۴۲-۲۲ روزگی) تنظیم شدند (جدول ۱). در این آزمایش اکسید روی^۱ دارای خلوص ۹۹/۹ درصد و نانو اکسید روی^۲ به‌صورت پودر سفیدرنگ (شامل ترکیب‌ها و ویژگی‌ها: $Mn \leq 5$, $Cu \leq 3$ ppm, $ZnO \geq 99\%$, $Cd \leq 9$ ppm و $Pb \leq 9$ ppm، اندازه نانوذرات 20 nm ، درصد خلوص ۹۹+ و چگالی حقیقی $5/606\text{ g/cm}^3$) بود. ریزاندامگان سلامت‌بخش باسیلاکت (بیواکسیر®) حاوی سویه‌های مختلف از باکتری باسیلوس کوآگولانس (10^{11} CFU/gr) بود. راسنجه‌های عملکرد شامل وزن بدن، میزان مصرف خوراک و ضریب تبدیل غذایی بود که به‌صورت هفتگی اندازه‌گیری شدند. ضریب تبدیل غذایی با استفاده از داده‌های افزایش وزن و مصرف خوراک با احتساب تلفات روزانه محاسبه شد. در تعیین ساختار نانوذرات اکسید روی از آزمون پراش پرتوایکس (XRD) با دستگاه Phillips X'Pert با اشعه دارای طول‌موج 0.15406 nm استفاده شد (شکل ۱). همچنین شکل،

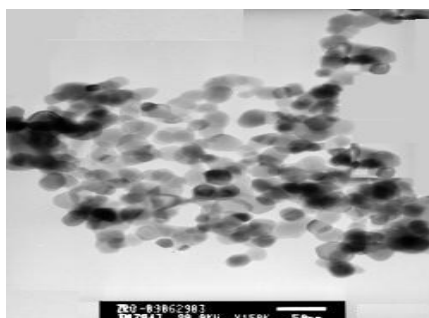
۱. محصول اکسید روی ساخت شرکت مرک آلمان و دارای شماره سریال ۱۳۱۴۱۳۲ می‌باشد.

۲. محصول نانو اکسید روی از شرکت پیشگامان نانو مواد ایرانیان که توزیع‌کننده محصولات شرکت Us-nano آمریکا است با شماره سریال Us۳۵۹۰ تهیه گردید.



شکل ۱. نمای پراش اشعه ایکس

Figure 1. XRD of zinc oxid nanoparticles



شکل ۲. میکروسکوپ الکترونی نانوذرات اکسید روی

Figure 2. SEM of zinc oxid nanoparticles

جدول ۱. اجزا و ترکیب شیمیایی جیره‌های پایه

Table 1. Composition and calculated nutrients content of basal diets

Ingredient	Item	1-21 days	22-42 days
Corn		53.73	53.32
Soybean meal		40.00	39.6
Soybean oil		2.00	3.50
Dicalium phosphate		1.93	1.71
Limestone		1.05	0.87
DL-methionine		0.31	0.02
L-Lysine HCl		0.13	-
Salt		0.35	0.30
Vitamin and trace mineral premix*		0.50	0.50
Calculated nutrient contents			
Metabolizable energy, kcal/kg		2870	2980
Crude protein		22.1	22
Lysine		1.31	1.19
Methionine		0.50	0.38
Calcium		0.86	0.75
Available phosphorus		0.49	0.44
Total sulfur amino acids		1.01	0.89

* هر کیلوگرم مکمل ویتامینه شامل ۹ میلیون واحد بین‌المللی ویتامین A، ۲ میلیون واحد بین‌المللی ویتامین D3، ۱۸ هزار واحد بین‌المللی ویتامین E، ۱۸۰۰ میلی‌گرم ویتامین B1، ۶۶۰۰ میلی‌گرم ویتامین B2، ۱۰ هزار میلی‌گرم ویتامین B3، ۳ هزار میلی‌گرم ویتامین B6، ۱۵ میلی‌گرم ویتامین B12، ۲ هزار میلی‌گرم ویتامین K3، هزار میلی‌گرم ویتامین B9، ۳۰ هزار میلی‌گرم ویتامین B5، ۱۰۰ میلی‌گرم ویتامین H2، ۵۰۰ هزار میلی‌گرم کولین کلراید و هزار میلی‌گرم پاداکسند بود. هر کیلوگرم مکمل کانی حاوی ۴۸۰۰۰ میلی‌گرم منگنز، ۱۶۰۰۰ میلی‌گرم آهن، ۶۴۰۰ میلی‌گرم مس، ۵۰۰ میلی‌گرم ید، ۱۲۰ میلی‌گرم سلنیوم بود.

* Vitamin premix (each kg contained): vitamin A 9,000,000 IU; vitamin D3 2,000,000 IU; vitamin E 18,000 IU; vitamin B1 1,800 mg; vitamin B2 6,600 mg; vitamin B3 10,000 mg; vitamin B6 3,000 mg; vitamin B12 15 mg; vitamin K3 2,000 mg; vitamin B9 1,000 mg; vitamin B5 30,000 mg; vitamin H2 100 mg; vitamin choline chloride 500,000 mg; antioxidan 1000 mg. Mineral premix (each kg contained): Mn, 4,800 mg; Fe, 16,000 mg; Cu, 6,400 mg; I, 500 mg; and Se, 120 mg.

نتایج و بحث

در همه بازه‌های سنی افزودن ریزاندامگان سلامت‌بخش به جیره حاوی نانو اکسید روی سبب بهبود معنی‌دار افزایش وزن جوجه‌ها در مقایسه با

نتایج مربوط به تأثیر تیمارهای آزمایشی بر عملکرد جوجه‌های گوشتی در جدول ۲ نشان داده شده است.

داده شد (Alex et al., 2012). در این تحقیق نیز بهبود عملکرد پرندگان تغذیه‌شده با تیمارهای حاوی نانو اکسید روی به همراه ریزاندامگان سلامت‌بخش و تیمار حاوی ریزاندامگان سلامت‌بخش می‌تواند به سبب تأثیر مثبت این تیمارها بر جمعیت لاکتوباسیل‌ها و کلی فرم‌های روده باشد (جدول ۳). افزایش جمعیت لاکتوباسیل‌ها از راه مهار رقابتی باکتری‌های بیمارگر باعث بهبود عملکرد طیور می‌شود (Patterson & Burkholder, 2003; Chen et al., 2012). در این بررسی افزایش وزن، مصرف خوراک و ضریب تبدیل غذایی در همه بازه‌های سنی برای جوجه‌های تغذیه‌شده با سطوح مختلف نانو اکسید روی (که ۲۵ و ۵۰ درصد جیره شاهد روی داشتند) سبب ایجاد تفاوت معنی‌دار با تیمار شاهد نشد. در تحقیقی استفاده از سطوح مختلف روی (۲۴، ۵۴، ۸۴ و ۱۱۴ میلی‌گرم در هر کیلوگرم) تأثیری بر ضریب تبدیل و مصرف خوراک نداشت و جوجه‌های تغذیه‌شده با ۵۴ میلی‌گرم روی در هر کیلوگرم جیره بالاترین وزن بدن را داشتند (Zaghari, 2015). در پژوهش دیگری استفاده از منبع سولفات روی با سطوح ۰، ۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰، ۱۰۰، ۱۲۰ و ۱۴۰ میلی‌گرم روی در هر کیلوگرم جیره (جیره پایه شامل ۲۸/۳۲ میلی‌گرم روی) بر افزایش وزن و مصرف خوراک جوجه‌ها تأثیر معنی‌دار داشت اما بر ضریب تبدیل غذایی تأثیری نداشت (Huang, 2007).

تیمار حاوی ۲۵ میلی‌گرم در کیلوگرم نانو اکسید روی شد ($P < 0.05$). اگرچه تیمار حاوی ۲۵ میلی‌گرم در کیلوگرم نانو اکسید روی در این زمینه، تفاوت معنی‌داری با جیره شاهد نداشت. مصرف خوراک در هیچ‌یک از بازه‌های سنی پرورش تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت. در همه بازه‌های سنی، تیمار حاوی ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم نانو اکسید روی به اضافه ریزاندامگان سلامت‌بخش سبب بهبود معنی‌دار ضریب تبدیل غذایی در مقایسه با تیمار شاهد و تیمارهای تغذیه‌شده با نانو اکسید روی شد ($P < 0.05$). پس با توجه به نتایج بالا مشخص است که جوجه‌های تغذیه‌شده با ریزاندامگان سلامت‌بخش به‌تنهایی و به همراه نانو اکسید روی عملکرد رشد بهتری (افزایش وزن و ضریب تبدیل غذایی) داشتند که این بهبود در عملکرد می‌تواند ناشی از افزایش قابلیت هضم مواد مغذی و همچنین تعدیل جمعیت میکروبی توسط ریزاندامگان سلامت‌بخشها (Mountzouris et al., 2010) باشد. آزمایش مربوط به استفاده از ریزاندامگان سلامت‌بخش حاوی باسیلوس سوبتیلیس توسط پارک و همکاران، در توافق با نتایج این تحقیق بود (Park et al., 2014). همچنین در تحقیقی سویه‌ای از باسیلوس کوآگولانس (*Bacillus coagulans ATCC 7050*) سبب بهبود ضریب تبدیل شد که این بهبود به تعدیل جمعیت میکروبی در دوازدهه (دئودنوم) نسبت

جدول ۲. تأثیر نانوذرات اکسید روی و باسیلوس کوآگولانس بر عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی

Table 2. Effect of zinc oxide nanoparticles and *Bacillus coagulans* on growth performance of broilers*

Item	T1	T2	T3	T4	T5	T6	S.E.M	p-value
BW gain (g/d)								
0-21 d	32.43 ^{ab}	33.19 ^a	30.58 ^b	32.36 ^{ab}	33.88 ^a	33.66 ^a	0.730	0.050
22-42 d	74.10 ^{bc}	76.75 ^{ab}	73.59 ^c	74.43 ^{bc}	77.85 ^a	78.52 ^a	0.868	0.002
0-42 d	53.08 ^{ab}	54.31 ^{ab}	51.67 ^b	53.19 ^{ab}	55.87 ^a	55.68 ^a	0.852	0.018
Feed intake (g/d)								
0-21 d	42.10	41.52	39.24	41.24	42.07	40.50	1.372	0.672
22-42 d	145.99	144.45	145.78	147.31	146.86	146.06	2.507	0.975
0-42 d	93.75	91.44	91.76	93.24	94.34	91.72	2.395	0.928
Feed conversion ratio								
0-21 d	1.28 ^a	1.25 ^{ab}	1.28 ^a	1.27 ^a	1.24 ^{ab}	1.20 ^b	0.018	0.030
22-42 d	1.97 ^a	1.88 ^b	1.98 ^a	1.98 ^a	1.88 ^b	1.86 ^b	0.028	0.013
0-42 d	1.76 ^a	1.68 ^{bc}	1.77 ^a	1.75 ^{ab}	1.69 ^{bc}	1.64 ^c	0.024	0.006

a, b, c در هر ردیف اعداد دارای حرف‌های متفاوت از لحاظ آماری اختلاف معنادار دارند ($P < 0.05$).

* ۱) جیره شاهد (جیره پایه + اکسید روی)، ۲) جیره شاهد + ریزاندامگان سلامت‌بخش (۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره)، ۳) جیره پایه + نانو اکسید روی (۲۵ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره)، ۴) جیره پایه + نانو اکسید روی (۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره)، ۵) جیره پایه + نانو اکسید روی (۲۵ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره) + ریزاندامگان سلامت‌بخش، ۶) جیره پایه + نانو اکسید روی (۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره) + ریزاندامگان سلامت‌بخش.

a, b, c Means within a row with different letters differ significantly ($P < 0.05$).

* T1= control (basal diet + zinc oxid); T2= control + probiotic (100 mg per kilogram of diet); T3= basal diet + zinc oxide nanoparticles (25 mg per kilogram of diet); T4= basal diet + zinc oxide nanoparticles (50 mg per kilogram of diet); T5= basal diet + zinc oxide nanoparticles (25 mg per kilogram of diet) + probiotic; T6= basal diet + zinc oxide nanoparticles (50 mg per kilogram of diet) + probiotic.

نانو اکسید روی به طور معنی داری کمتر از تیمار شاهد بود ($P < 0/05$). اگرچه این تیمارها تفاوت معنی داری با تیمار حاوی ۲۵ میلی گرم در کیلوگرم نانو اکسید روی به اضافه ریزاندامگان سلامت بخش نداشتند. شمار باکتری‌های لاکتوباسیل در تیمارهای حاوی نانو اکسید روی با ریزاندامگان سلامت بخش و تیمار حاوی ریزاندامگان سلامت بخش به طور معنی داری بیشتر از دیگر تیمارها بود ($P < 0/05$). در تحقیقی نشان داده شد، استفاده از مکمل روی به شکل اکسید و سولفات در جیره جوجه‌های گوشتی، موجب ایجاد تفاوت معنی دار در جمعیت باکتری‌های کلاستریدیوم و اشرشیاکلی در روده کوچک نشد (Hu *et al.*, 2013). تحقیقات در شرایط *in vitro* نشان داده است، باکتری‌های گرم منفی نسبت به باکتری‌های گرم مثبت، حساسیت بیشتری به نانو اکسید روی دارند. علت مقاوم تر بودن باکتری‌های گرم مثبت به وجود لایه پپتیدوگلیکانی ضخیم در این باکتری‌ها نسبت داده شده است (Sinha *et al.*, 2011). تأثیر ضد میکروبی نانوذرات اکسید روی را می‌توان با چند سازوکار توجیه کرد: ۱) القای تنش اکسایشی (اکسیداتیو) به دلیل تولید رادیکال‌های اکسیژن فعال، واکنش این رادیکال‌ها با DNA، پروتئین‌ها و لیپیدها و در نتیجه مرگ یاخته، ۲) از بین رفتن آرایش غشا به دلیل تجمع نانوذرات در غشای باکتری و همچنین تجمع آن‌ها در درون یاخته، ۳) آزاد شدن یون‌های روی که با اتصال به غشای ریزاندامگان سبب اعمال تأثیر ضد میکروبی می‌شوند. با این حال سمیت نانوذرات اکسید روی مستقیم به وارد شدن آن‌ها به درون یاخته نسبت داده نمی‌شود، بلکه تماس نزدیک این مواد با یاخته موجب تغییر در محیط درونی یاخته باکتری شده و با افزایش حلالیت فلز یا تولید رادیکال‌های اکسیژن فعال، باعث آسیب به غشا می‌شوند (Sinha *et al.*, 2011). نشان داده شده است، استفاده از نانوذرات کیتوزان دارای مس در جیره جوجه‌های گوشتی باعث افزایش معنی دار جمعیت باکتری‌های لاکتوباسیل و بیفیدوباکتریوم و کاهش جمعیت باکتری‌های کلی فرم در روده کور (سکوم) شد (Wang *et al.*, 2011). همچنین استفاده از ۱۵

تفاوت‌ها در نتایج به دست آمده ممکن است به علت میزان روی موجود در جیره پایه یا میزان و نوع منبع روی اضافه شده به جیره پایه باشد. افزون بر این حضور پیوند و پیام‌دهنده (لیگاند)های جیره‌ای مانند فیتات، که با روی تشکیل کمپلکس غیرمحلول می‌دهد، بازدارنده جذب آن می‌شوند. همچنین میزان بالای کلسیم جیره که باند شدن روی با فیتات را افزایش می‌دهد، در جذب روی دخالت دارد (Rossi, 2007). روی با داشتن فعالیت‌های آنزیمی در ساخت (سنتز) و هضم پروتئین‌ها، بر رشد تأثیر می‌گذارد. روی به راه‌انداز (پروموتور) ژن ویژه‌ای در DNA متصل شده و با تنظیم نسخه برداری در ساخت پروتئین‌ها نقش دارد. آنزیم‌های کربوکسی پپتیداز A و آمینوپپتیداز برای فعالیت به روی نیاز دارند. کربوکسی پپتیداز A آنزیمی است که از پانکراس به درون دوازدهه ترشح شده و برای هضم پروتئین ضروری است. روی با باند شدن به این آنزیم باعث تحریک فعالیت آن می‌شود. آمینوپپتیداز در ساختمان خود شامل یک اتم روی است که برای انجام فعالیت‌های واکنش یاری (کاتالیکی) خود به آن نیاز دارد (Gropper, 2008). در زمینه استفاده از نانوذرات روی دیگر عنصرها در جیره طیور مشخص شده است که نانوذرات سلنیوم (Zhou & Wang, 2011) و نانوذرات مس (Wang *et al.*, 2011) سبب افزایش وزن و بهبود ضریب تبدیل غذایی در جوجه‌های گوشتی می‌شود. در همین زمینه در پژوهشی دیگر، تأثیر مکمل سازی جیره با سین بیوتیک و منابع مختلف روی بررسی شده است. یافته‌های به دست آمده از این بررسی نشان داد، بهترین شاخص تولید با استفاده از تیمار مکمل شده با ۱ گرم سین بیوتیک به اضافه ۱۰۰ میلی گرم اکسید روی به دست آمد. همچنین تیمار مکمل شده با ۱/۵ گرم سین بیوتیک و ۱۵۰ میلی گرم اکسید و بیوپلکس روی اثر سودمندی بر سامانه ایمنی و ریخت‌شناختی (مورفولوژی) روده جوجه‌های گوشتی داشت (Sahrae *et al.*, 2014).

نتایج مربوط به تأثیر تیمارهای آزمایشی بر جمعیت میکروبی روده در جدول ۳ نشان داده شده است. شمار باکتری‌های کلی فرم در تیمارهای حاوی ۵۰ میلی گرم در کیلوگرم نانو اکسید روی به همراه ریزاندامگان سلامت بخش و ۵۰ میلی گرم در کیلوگرم

استفاده از ۲۵ میلی‌گرم در کیلوگرم از این ماده، موجب افزایش معنی‌دار باکتری‌های گرم مثبت روده کور بلدرچین شد (Sawosz *et al.*, 2007).

میلی‌گرم در کیلوگرم نانوذرات نقره باعث کاهش غیرمعنی‌دار جمعیت باکتری‌های اشریشیاکلی، انتروباکتر و استرپتوکوکوکوس بویس، درحالی‌که

جدول ۳. تأثیر نانوذرات اکسید روی و باسیلوس کوآگولانس بر جمعیت میکروبی روده جوجه‌های گوشتی در سن ۴۲ روزگی
Table 3. Effect of zinc oxide nanoparticles and *Bacillus coagulans* on intestinal microflora of broilers (LogCFUg-1)

Item	T1	T2	T3	T4	T5	T6	S.E.M	p-value
Coliforms	4.10 ^a	4.15 ^a	3.87 ^a	3.39 ^c	3.87 ^{ab}	3.47 ^{bc}	0.113	0.0005
Lactobacillus	6.19 ^b	6.91 ^a	6.11 ^b	6.02 ^b	6.85 ^a	6.98 ^a	0.092	0.0001

a, b, c در هر ردیف اعداد دارای حرف‌های متفاوت از لحاظ آماری اختلاف معنادار دارند ($P < 0.05$).

* (۱) جیره شاهد (جیره پایه + اکسید روی)، (۲) جیره شاهد + ریزاندامگان سلامت‌بخش (۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره)، (۳) جیره پایه + نانو اکسید روی (۲۵ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره)، (۴) جیره پایه + نانو اکسید روی (۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره)، (۵) جیره پایه + نانو اکسید روی (۲۵ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره) + ریزاندامگان سلامت‌بخش، (۶) جیره پایه + نانو اکسید روی (۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره) + ریزاندامگان سلامت‌بخش.

a, b, c Means within a row with different letters differ significantly ($P < 0.05$).

* T1= control (basal diet + zinc oxid); T2= control + probiotic (100 mg per kilogram of diet); T3= basal diet + zinc oxide nanoparticles (25 mg per kilogram of diet); T4= basal diet + zinc oxide nanoparticles (50 mg per kilogram of diet); T5= basal diet + zinc oxide nanoparticles (25 mg per kilogram of diet) + probiotic; T6= basal diet + zinc oxide nanoparticles (50 mg per kilogram of diet) + probiotic.

میزان پروتئین کل سرم تیمار حاوی ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم نانو اکسید روی به همراه ریزاندامگان سلامت‌بخش به‌جز تیمار حاوی ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم نانو اکسید روی نسبت به دیگر تیمارها، به‌طور معنی‌داری بیشتر بود ($P < 0.05$). بر پایه روندی همسان میزان آلبومین سرم نیز در تیمار حاوی ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم نانو اکسید روی به‌اضافه ریزاندامگان سلامت‌بخش به‌جز تیمار حاوی ۲۵ میلی‌گرم در کیلوگرم نانو اکسید روی به‌اضافه ریزاندامگان سلامت‌بخش و تیمار حاوی ریزاندامگان سلامت‌بخش نسبت به دیگر تیمارها به‌طور معنی‌داری بالاتر بود ($P < 0.05$). این در حالی است که بیشترین میزان آلبومین سرم به تیمار حاوی ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم نانو اکسید روی به اضافه ریزاندامگان سلامت‌بخش اختصاص داشت. تیمارهای مختلف آزمایشی با یکدیگر، از نظر میزان گلوکز، کلسترول، تری‌گلسیرید، HDL، LDL و آلکالین فسفاتاز اختلاف معنی‌داری نداشتند. در توافق با نتایج این تحقیق، Alex *et al.* (2012) گزارش کردند، استفاده از باسیلوس کوآگولانس (*Bacillus coagulans* ATCC 7050) در جیره جوجه‌های گوشتی، تأثیر معنی‌داری بر میزان کلسترول، تری‌گلسیرید، LDL و HDL سرم نداشت. در پژوهش دیگری که از چند سوپه باکتری به‌عنوان ریزاندامگان سلامت‌بخش استفاده شده بود میزان گلوکز، پروتئین کل، کلسترول، تری‌گلسیرید،

در بررسی نشان داده شد، ریزاندامگان سلامت‌بخش حاوی باسیلوس سابیتیلیس (*B. Subtilis*) باعث افزایش جمعیت باکتری‌های لاکتوباسیل در آخرین بخش روده کوچک و کاهش جمعیت باکتری‌های ای‌کلای در روده کور جوجه‌های گوشتی شد (Jeong & Kim, 2014). همچنین بر پایه نتایج به‌دست‌آمده از پژوهشی دیگر، مشخص شد، استفاده از ریزاندامگان سلامت‌بخش در جیره جوجه‌های گوشتی تأثیری بر جمعیت کلی فرم‌ها نداشت ولی جمعیت لاکتوباسیل‌ها را در روده کور افزایش داد (Fajardo *et al.*, 2012). در این تحقیق استفاده همزمان نانوذرات اکسید روی و ریزاندامگان سلامت‌بخش سبب اصلاح جمعیت میکروبی شد و این اثر می‌تواند به علت نقش تکمیل‌کننده این دو ماده باشد، زیرا ذرات اکسید روی از تشکیل کلنی باکتری‌های زیانبار از جمله کلی فرم‌ها جلوگیری می‌کنند (Roselli *et al.*, 2003) همچنین ریزاندامگان سلامت‌بخش نیز با تولید ترکیب‌های سمی علیه عامل‌های بیماری‌زا و رقابت برای متصل شدن به جایگاه‌های اتصال موجود در یاخته‌های بافتی سبب کاهش جمعیت باکتری‌های کلی فرم و افزایش جمعیت باکتری‌های لاکتوباسیل می‌شود (Piray & Kermanshahi, 2008). به‌این ترتیب عملکرد رشد مشاهده‌شده در این بررسی، قابل توجیه است.

نتایج مربوط به تأثیر تیمارهای آزمایشی بر فراسنجه‌های خونی در جدول ۴ نشان داده شده است.

کردند، استفاده از روی در جیره جوجه‌های گوشتی تأثیر معنی‌داری بر آلکالین فسفاتاز سرمی نداشت. در حالی که Sarvari *et al.* (2015) افزایش معنی‌دار آلکالین فسفاتاز سرمی را در هنگام استفاده از روی در جیره جوجه‌های گوشتی گزارش کردند. در تحقیقی استفاده از سطوح افزایشی روی (۳۰، ۶۰، ۹۰ و ۱۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) در جیره مرغ‌های مادر گوشتی سبب افزایش معنی‌دار پروتئین کل پلاسما شد به گونه‌ای که این افزایش بین سطح ۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم با دیگر سطوح تفاوت معنی‌داری داشت (Sharideh *et al.*, 2015). همچنین بر پایه نتایج به دست آمده از پژوهشی دیگر، مشخص شد، استفاده از شکل و ترکیب آلی روی (گلاسیسین روی) سبب افزایش معنی‌دار پروتئین کل سرم در جوجه‌های گوشتی می‌شود (Feng *et al.*, 2010).

LDL و HDL سرم جوجه‌های گوشتی تحت تأثیر قرار نگرفت (Beski *et al.*, 2015). ریزاندامگان سلامت‌بخش‌ها با افزایش هضم پروتئین‌ها و کاهش تجزیه آن‌ها توسط باکتری‌های زیان‌آور باعث افزایش ذخیره نیتروژن در بدن شده و به دنبال آن میزان پروتئین کل در سرم خون حیوان افزایش می‌یابد (Mehri *et al.*, 2005). نتایج دیگر تحقیقات در زمینه تأثیر روی بر فراسنجه‌های خونی متناقض است به طوری که در یک تحقیق استفاده از روی سبب کاهش معنی‌دار گلوکز و کلسترول (Uyanik *et al.*, 2010) در حالی که در بررسی دیگر این روند افزایشی بود (Hazim *et al.*, 2011) و در بررسی دیگر تأثیر معنی‌داری مشاهده نشد (Salabi *et al.*, 2011). در توافق با نتایج این پژوهش، Karamouz *et al.* (2010) گزارش

جدول ۴. تأثیر نانوذرات اکسید روی و باسیلوس کوآگولانس بر فراسنجه‌های بیوشیمیایی جوجه‌های گوشتی در ۴۲ روزگی

Item	T1	T2	T3	T4	T5	T6	SEM	p-value
Glucose (mg/dL)	228.75	245.50	243.50	238.50	239.36	248.00	9.867	0.788
Cholesterol (mg/dL)	121.50	115.00	120.25	127.75	118.25	120.25	9.572	0.960
Triglyceride (mg/dL)	48.50	47.25	51.50	54.00	45.50	46.75	4.691	0.792
HDL (mg/dL)	70.25	81.50	65.50	64.75	71.75	81.50	7.419	0.442
LDL (mg/dL)	37.00	35.25	38.00	48.50	35.25	34.75	5.450	0.489
Total protein (g/dL-1)	3.05 ^c	3.27 ^{bc}	3.15 ^{bc}	3.47 ^{ab}	3.25 ^{bc}	3.60 ^a	0.101	0.012
Albumin (g/dL-1)	1.55 ^c	1.77 ^{ab}	1.67 ^{bc}	1.72 ^{bc}	1.85 ^{ab}	1.95 ^a	0.568	0.002
ALP (u/L)	944.0	1014.5	1044.8	1253.5	1186.0	1145.5	230.08	0.602

a, b, c در هر ردیف اعداد دارای حرف‌های متفاوت از لحاظ آماری اختلاف معنادار دارند ($P < 0.05$).

* ۱) جیره شاهد (جیره پایه + اکسید روی)، ۲) جیره شاهد + ریزاندامگان سلامت‌بخش (۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره)، ۳) جیره پایه + نانو اکسید روی (۲۵ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره)، ۴) جیره پایه + نانو اکسید روی (۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره)، ۵) جیره پایه + نانو اکسید روی (۲۵ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره) + ریزاندامگان سلامت‌بخش، ۶) جیره پایه + نانو اکسید روی (۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره) + ۱۰۰ ریزاندامگان سلامت‌بخش.

a, b, c Means within a row with different letters differ significantly ($P < 0.05$).

* T1= control (basal diet + zinc oxid); T2= control + probiotic (100 mg per kilogram of diet); T3= basal diet + zinc oxide nanoparticles (25 mg per kilogram of diet); T4= basal diet + zinc oxide nanoparticles (50 mg per kilogram of diet); T5= basal diet + zinc oxide nanoparticles (25 mg per kilogram of diet) + probiotic; T6= basal diet + zinc oxide nanoparticles (50 mg per kilogram of diet) + probiotic.

تا حدودی به واسطه افزایش آلبومین سرم خون جوجه‌های تغذیه‌شده با این تیمارها در مقایسه با تیمار شاهد باشد.

نتیجه‌گیری نهایی

به طور کلی نتایج به دست آمده از این پژوهش نشان داد، استفاده از نانو اکسید روی (۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) به همراه ریزاندامگان سلامت‌بخش (۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) در جیره جوجه‌های گوشتی جنس نر، سبب بهبود عملکرد رشد، تعدیل جمعیت میکروبی روده و بهبود برخی فراسنجه‌های خونی می‌شود.

به طور کلی بررسی‌ها نشان می‌دهند ترکیب‌های خونی تحت تأثیر عامل‌های فیزیکی مانند سن، گونه و عامل‌های بیماری‌زا (پاتولوژیکی) قرار می‌گیرند (Szabo *et al.*, 2005). به طور عمده افزایش آلبومین در سرم خون نشان‌دهنده تغییر مسیر واکنش‌های سوخت‌وسازی کبد برای هدایت مواد مغذی (به طور عمده کربوهیدرات‌ها و پروتئین‌ها) به سوی افزایش تولید و اضافه‌وزن است (De Neve *et al.*, 2008). در این پژوهش عملکرد بهتر جوجه‌ها در تیمارهای حاوی نانو اکسید روی به همراه ریزاندامگان سلامت‌بخش و تیمار حاوی ریزاندامگان سلامت‌بخش به تنهایی شاید

REFERENCES

1. Ahmadi, F., Ebrahimnezhad, Y., Maheri, S. N. & Ghiasi, G. J. (2013). The effects of zinc oxide nanoparticles on performance, digestive organs and serum lipid concentrations in broiler chickens during starter period. *International Journal of Biosciences*, 3(7), 23-29.
2. Alex, T. H., Shu-Yuaan, L., Tsung-Yu, Y., Chun-Kuang, C., Hsun-Cheng, L., Jin-Jenn, L., Bo, W., Shi-Yi, C. & Tu-Fa, L. (2012). Effects of *Bacillus coagulans* ATCC 7050 on growth performance, intestinal morphology, and microflora composition in broiler chickens. *Animal Production Science*, 52, 874-879.
3. Apata, D. F. (2008). Growth performance, nutrient digestibility and immune response of broiler chicks fed diets supplemented with a culture of *Lactobacillus bulgaricus*. *Journal Science Food, Agriculture*, 88, 1253-1258.
4. Beski, S. S. M. & Al-Sardary, S. Y. T. (2015). Effects of Dietary Supplementation of Probiotic and Synbiotic on Broiler Chickens Hematology and Intestinal Integrity. *International Journal of Poultry Science*, 14(1), 31-36.
5. Chen, C. Y., Tsen, H. Y., Lin, C. L., Yu, B. & Chen, C. S. (2012). Oral administration of a combination of select lactic acid bacteria strains to reduce the *Salmonella* invasion and inflammation of broiler chicks. *Poultry Science*, 91, 2139-2147.
6. Uyanik, F., Eren, M. & Tuncoku, G. (2001). Effects of supplemental zinc on growth, serum glucose, cholesterol, enzymes and minerals in broilers. *Pakistan Journal of Biological Science*, 4, 745-747.
7. De Clerk, E., Rodriguez-Diaz, M., Forsyth, G., Lebbe, L., Logan, N. A. & DeVos, P. (2004). Polyphasic characterization of *Bacillus coagulans* strains, illustrating heterogeneity within the species, and emended description of the species. *System Appl Microbiol*, 27, 50-60.
8. De Neve, L., Fargallo, J. A., Vergara, P. J., Lemus, A. M., Jaren, G. & Luaces, L. (2008). Effects of maternal carotenoid availability in relation to sex, parasite infection and health status of nestling kestrels (*Falco tinnunculus*). *Journal of Experimental Biology*, 211, 1414-1425.
9. Fajardo, P., Pastrana, L., Mendez, J., Rodrigues, I., Fucinos, C. & guerra, P.N. (2012). Effects of feeding of two potentially probiotic preparations from lactic acid bacteria on the performance and faecal microflora of broiler chickens. *Scientific world journal, Article ID*, 562635, 9.
10. Feng, J., Ma, W. Q., Niu, H. H., Wu, X. M. & Wang, Y. (2010) Effects of zinc glycine chelate on growth, hematological, and immunological characteristics in broilers. *Biological Trace Element Research*, 133, 203-211.
11. Francisco, H. S., Facundo, J. R., Diana, C. P., Fidel, M. G, Alberto, E. M., Amaury, D. J. P. G., Humberto, T. P. & Gabriel, M. C. (2008). The antimicrobial sensitivity of *Streptococcus mutans* to nanoparticles of silver, zinc oxide and gold. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 4, 237-240.
12. Gropper, S. J. Smith & Groff, J. (2008). Advanced nutrition and human metabolism. *15th ed. Medical*. P: 600.
13. Hazim, J. & Mahmood, H. M. (2011). Effect of dietary zinc on certain blood traits of broiler breeder chickens. *International Journal of Poultry Science*, 10, 807-813.
14. Hu, C.H., Qian, Z.C., Song, J., Luan, Z.S. & Zuo, A.Y. (2013). Effects of zinc oxide-montmorillonite hybrid on growth performance, intestinal structure and function of broiler chicken. *Poultry Science*, 92, 143-150.
15. Huang, Y. L., Lu, L., Luo, G. X. & Liu, B. (2007). An optimal dietary zinc level of broiler chicks fed a corn-soybean meal diet. *Poultry Science*, 86, 2582 - 2589.
16. Jeong, J. S. & Kim, I. H. (2014). Effect of *Bacillus subtilis* C-3102 spores as a probiotic feed supplement on growth performance, noxious gas emission, and i in broilers. *Poultry Science*, 93, 3097-3103.
17. Karamouz, H., Shahryar, H. A., Gorbani, A., Maheri-Sis, N. & Ghaleh-Kandi, J. G. (2010). Effect of zinc oxide supplementation on some serum biochemical values in male broilers. *Global Veterinary*, 4(2), 108-111.
18. Li, Y. L. (1991). *Culture Medium Manual* (Changchun, China, Jilin Science and Technology Press).
19. Mehri, M., Zare, A. & Samie, A. (2005). Effect of probiotic and whey powder on performance of broilers. *The Initial congress of Animal Science and Aquaculture*, 455-452. (in Farsi)
20. Mountzouris, K. C., Tsitsrikos, P., Palamidi, I., Arvaniti, A., Mohnl, M., Schatzmayr, G. & Fegeros, K. (2010). Effects of probiotic inclusion levels in broiler nutrition on growth performance, nutrient digestibility, plasma immunoglobulins, and cecal microflora composition. *Poultry Science*, 89, 58-67.
21. Nagaveni, G., Sivalingam, M. S. & Giridharmadras, H. (2004). Photocatalytic degradation of organic compounds over combustion-synthesized nano-TiO₂. *Environ. Science Technology*, 38, 9-14.

22. Park, J. H. & Kim, I. H. (2014). Supplemental effect of probiotic *Bacillus subtilis* B2A on productivity, organ weight, intestinal Salmonella microflora, and breast meat quality of growing broiler chicks. *Poultry Science*, 93, 2054-2059.
23. Park, S. Y., Birkhold, S. G., Kubena, L. F., Nisbet, D. J. & Ricke, S. C. (2004). Review on the role of dietary Zinc in poultry nutrition, immunity and reproduction. *Biological Trace Element Research*, 101, 147-163.
24. Patterson, J. A. & Burkholder, K. M. (2003). Application of prebiotics and probiotics in poultry production. *Poultry Science*, 82, 627-631.
25. Piray, A. H. & Kermanshahi, H. (2008). Effects of diet supplementation of Aspergillus meal prebiotic on efficiency, serum lipids and Immunity responses of broiler chickens. *Journal of Biomedical Science*, 4, 818-821.
26. Rajendran, D. (2013). Application of Nano minerals in animal production system. *Research Journal of Biotechnology*, 8, 1-3.
27. Roselli, M., Finamore, A., Garaguso, I., Britti, M. S. & Mengheri, E. (2003). Zinc oxide protects cultured enterocytes from the damage induced by *Escherichia coli*. *Journal Nutrition*, 133, 4077-4082.
28. Rossi, P., Rutz, F., Ancuti, M.A., Rech, J.L. & Zauk, N.H.F. (2007). Influence of graded levels of organic zinc on growth performance and carcass traits of broilers. *Journal of Applied Poultry Research*, 16, 219-225.
29. Sahin, K., Sahin, N., Kucuk, O., Hayirli, A. & Prasad, A. S. (2009). Role of dietary zinc in heat-stressed poultry. *International Journal of Poultry Science*, 88, 2176-2183.
30. Sahraei, M. & Janmohammadi, H. (2014). Effect of dietary supplementation by synbiotic and different zinc sources on broiler chicken performance, immune system and intestinal morphology. *Journal of Veterinary Research*, 69(3), 271-282. (in Farsi)
31. Salabi, F., Bujarpoor, Fayazi, M., salari, J. S. & Nazari, M. (2011). Effects of different levels of zinc on the performance and carcass characteristics of broiler reared under heat stress condition. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 10, 1332-1335.
32. Sarvari, B. G., Seyedi, A. H., Shahryar, H. A., Sarikhan, M. I. & Ghavidel, S. Z. (2015). Effects of Dietary Zinc Oxide and a Blend of Organic Acids on Broiler Live Performance, Carcass Traits, and Serum Parameters. *Brazilian Journal of Poultry Science*, 10.1590/1516-635.
33. Sawosz, E., Binek, M., Grodzik, M., Zielinska, M., Sysa, P. & Szmidt, M. (2007). Influence of hydrocolloidal silver nanoparticles on gastrointestinal microflora and morphology of enterocytes of quails. *Archives of Animal Nutrition*, 61, 444- 451.
34. Scholz-Ahrens, K., Peter, A., Marten, B., Weber, P., Wolfram, T., Yahya, A., Claus, C. G. & Schrezenmeir, J. (2007). Prebiotics, probiotics, and synbiotics affect mineral absorption, bone mineral content, and bone structure. *Journal Nutrition*, 137, 838S-846S.
35. Sharideh, H., Zhandi, M., Zaghari, M. & Akhlaghi, A. (2015) Effect of dietary zinc oxide and phytase on the plasma metabolites and enzyme activities in aged broiler breeder hens. *Iranian Journal of Veterinary Medicine*, 9(4), 263-270.
36. Sinha, R., Karan, R., Sinha, A. & Khare, S. K. (2011). Interaction and nanotoxic effect of ZnO and Ag nanoparticles on mesophilic and halophilic bacterial cells. *Bioresource Technology*, 102, 1516-1520.
37. Sosnik, A., Carcaboso, A. M., Glisoni, R. J., Moretton, M. A. & Chiappetta, D. A. (2010). New old challenge in tuberculosis is: potentially effective nanotechnologies in drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 62(4-5), 547-59.
38. Szabo, A., Mezes, M., Horn, P., Suto, Z., Bazar, G. & Romvari, R. (2005). Developmental dynamics of some blood biochemical parameters in the growing turkey (*Meleagris Gallopavo*). *Acta Veterinaria Hungarica*, 53(4), 397-409.
39. Uyanik, F., Eren, M. & Tuncoku, G. (2010). Effects of supplemental zinc on growth, serum glucose,
40. Wang, C., Wang, M.Q., Ye, S. S., Tao, W. J. & Du, Y. J. (2011). Effects of copper-loaded chitosan nanoparticles on growth and immunity in broilers. *Poultry Science*, 90, 2223-2228.
41. Zaghari, M., Avazkhanloo, M. & Ganjkanlou, M. (2015). Reevaluation of Male Broiler Zinc Requirement by Dose-Response Trial Using Practical Diet with Added Exogenous Phytase. *Journal of Agricultural Science Technology*, 17, 333-343.
42. Zhou, X. & Wang, Y. (2011). Influence of dietary nano elemental selenium on growth performance, tissue selenium distribution, meat quality, and glutathione peroxidase activity in Guangxi Yellow chicken. *Poultry Science*, 90, 680-686.