

تاثیر روش‌های مختلف تجویز *Lactobacillus rhamnosus* در هجری بر عملکرد رشد، مورفولوژی روده و فاکتورهای خونی جوجه‌های گوشتی با آلودگی تجربی سالمونلا

• زبیده هاشم زاده

دانشجوی دکترای تخصصی دانشگاه تربیت مدرس

• محمد امیر کریمی ترشیزی

عضو هیأت علمی دانشگاه تربیت مدرس (نویسنده مسئول)

• شعبان رحیمی

عضو هیأت علمی دانشگاه تربیت مدرس

تاریخ دریافت: مهر ماه ۱۳۸۷ تاریخ پذیرش: فروردین ماه ۱۳۸۸

تلفن تماس نویسنده مسئول: ۴۸۲۹۲۳۴۸-۰۲۱

Email: karimitm@modares.ac.ir

چکیده

به منظور بررسی تاثیر روش‌های مختلف تجویز *Lactobacillus rhamnosus* در هجری بر عملکرد رشد، مورفولوژی و فاکتورهای خونی تعداد ۲۲۵ قطعه جوجه گوشتی سویه راس ۳۰۸ در پنج گروه شامل شاهد و چهار روش تجویز به صورت تزریق داخل تخم مرغ، دهانی، افشانه و کلواکی با ۳ تکرار و ۱۵ قطعه جوجه در هر واحد بررسی شدند. یک روز بعد از تجویز پروبیوتیک‌ها با روش‌های مختلف تمام پرندگان با 10^7 CFU/ml *Salmonella enteritidis* از طریق گاوآژ دهانی چالش داده شدند. مطالعه عملکرد رشد و مورفولوژی روده کوچک به صورت هفتگی صورت گرفت. نمونه‌گیری از خون به منظور بررسی برخی فاکتورهای خونی در ۲۱ روزگی انجام شد. بیشترین میانگین افزایش وزن روزانه و کمترین ضریب تبدیل مربوط به گروه تلقیح در کلواک بود ($P < 0/05$). روش‌های تجویز اثر معنی‌داری بر مورفولوژی روده باریک داشتند. ارتفاع پرز در ابتدای روده باریک در روش تزریق داخل تخم‌مرغ از سایر گروه‌ها بالاتر بود که تفاوت معنی‌داری با روش افشانه نداشت ($P < 0/01$). بیشترین ارتفاع پرز در ایلیوم مربوط به گروه تلقیح کلواکی بود ($P < 0/01$). روش‌های مختلف تجویز بر غلظت کلسترول تاثیر معنی‌داری داشتند و بیشترین میزان کاهش کلسترول، HDL و LDL در گروه تلقیح کلواکی مشاهده شد ($P < 0/05$).

کلمات کلیدی: سالمونلا، روش تجویز، پروبیوتیک، جوجه گوشتی، مورفولوژی روده، کلسترول سرم

Veterinary Journal (Pajouhesh & Sazandegi) No 84 pp: 62-70

Effect of different routes of *Lactobacillus rhamnosus* administration in hatchery on performance, intestine morphology and serum cholesterol in experimentally salmonella infected broiler chickens.

By: Z.Hasemzadeh Msc Graduated of Tarbiat Modares University. Karimi Torchizi, M.A (Corresponding Author; Tel: +982148292348) and Rahimi Sh. Scientific Members of Tarbiat Modares University.

The effects of various routes of probiotic administration on performance, small intestine morphology and serum cholesterol of broiler chickens, were studied. We assigned 225 day old chicks (Ross 308) to five experimental groups including control and four hatchery administration methods comprised of in ovo injection, oral gavage, spray application and cloacal inoculation. All of these were challenged by 10^7 Log CFU/ml Se using oral gavage one day after administration of probiotics. Each treatment had three replications of 15 chicks. Performance and intestine morphology were studied on weekly basis. Concentration of cholesterol, HDL and LDL in serum was determined at day 21. The highest daily body weight gain and the less feed conversion coefficient was observed in cloacal administered group ($P<0.05$). Significant effect was observed on length of villi in all 3 segments of small intestine among different routes applied for probiotic administration. In ovo injection resulted in significant improvement in length of villi in proximal segments of small intestine, duodenum and jejunum, compared to that of in the other groups except for spray group ($P<0.01$). Length of villi in distal segment of small intestine, ileum, was higher in cloacal administered group compared to that of in the other groups ($P<0.01$). Significant effect was observed on serum lipids among different routes of probiotic administration and the less content of cholesterol, HDL and LDL was observed in cloacal administered group ($P<0.05$).

Keywords: Salmonella, Administration, Probiotic, Broiler chickens, Intestine Morphology**مقدمه**

سالیان متمادی در صنعت طیور از محرک های رشد مانند آنتی بیوتیک ها به طور گسترده برای بهبود عملکرد و سلامتی طیور استفاده می شود، با به وجود آمدن مساله مقاومت آنتی بیوتیکی و ایجاد خطر برای سلامتی انسان استفاده از آنتی بیوتیک ها در تغذیه طیور ممنوع شد (۱۷). با ممنوعیت مصرف آنتی بیوتیک ها در سال های اخیر، استفاده از ترکیبات جایگزین آنها مانند پروبیوتیک ها رواج یافته است. پروبیوتیک ها مکمل های میکروبی زنده ای هستند که از طریق بهبود تعادل میکروبی روده بر میزبان اثرات مفیدی را اعمال می کنند (۱۰، ۱۶). در تعدادی از تحقیقات گزارش شده است که استفاده از پروبیوتیک ها باعث بهبود عملکرد طیور می شود (۶، ۲۱). اثر مفید پروبیوتیک ها از طریق سنتز ویتامین های گروه B، تحریک سیستم ایمنی، رقابت با میکروب های بیماری زا در روده، تولید آنزیم های گوارشی و افزایش تولید اسیدهای چرب زنجیره کوتاه می باشد (۱۱، ۱۶، ۴۱).

روش های متداول استفاده از پروبیوتیک ها شامل اضافه کردن آنها در آب آشامیدنی و خوراک می باشد. علاوه بر این از روش هایی نظیر افشانه کردن، تزریق به تخم مرغ جنین دار، گاوژ دهانی و تلقیح به کلوک نیز استفاده شده است. Edens و همکاران در سال ۱۹۹۷، بهبود وزن بدن و کاهش درصد تلفات را در گروه دریافت کننده *Lactobacillus roteri* از طریق تزریق به تخم مرغ نسبت به گروه شاهد گزارش نمود. در تحقیق دیگری کشت نامعلوم سکومی را از طریق تزریق به تخم مرغ در روز ۱۸

انکوباسیون و نیز گاوژ دهانی به جوجه های تازه هچ شده تجویز کردند و گزارش نمودند که روش گاوژ دهانی در کاهش میزان سالمونلا نسبت به گروه تزریق به تخم مرغ و شاهد مؤثرتر می باشد (۲۸). Pivinck و Nurmi در سال ۱۹۸۲ برای اولین بار از آنروسل برای مصرف کشت های حذف رقابتی استفاده نمودند و کاهش کلنی های سالمونلا، افزایش مقاومت پرنده و بهبود عملکرد در پی استفاده از این روش گزارش شد. در شرایط طبیعی تغذیه مستقیم جوجه ها توسط والدین و هم چنین حرکت مکشی مقعد در پرندگان غیرمستقل^۱، ورود جمعیت میکروبی را از محیط برای استقرار در قسمت خلفی دستگاه گوارش تسهیل می کند، این عمل به آشامیدن کلوکی معروف می باشد (۱۲). Corrier و همکاران برای اولین بار در سال ۱۹۹۴ کشت های نامعلوم سکومی را با الهام از این پدیده از طریق مخرج استفاده نمودند، نتایج آنها نشان داد که استفاده از این روش تجویز باعث کاهش کلنی های سالمونلا در سکوم می شود. پاسخ حاصله از روش های متفاوت فعالیت پروبیوتیک ها به فاکتورهای زیادی از قبیل ضرورت اطمینان از کاربرد مؤثر و تجویز صحیح و به موقع پروبیوتیک ها بستگی دارد. بدیهی است که تجویز زود هنگام پروبیوتیک مؤثر می باشد (۱۷). با توجه به نتایج تحقیقات انجام شده، می توان این طور نتیجه گرفت که زمان و روش استفاده از این کشت ها می تواند بر میزان و اثرگذاری پروبیوتیک ها مؤثر واقع شود. علیرغم این موضوع، تا کنون تحقیقی که کارایی روش های مختلف تجویز پروبیوتیک ها را مقایسه نماید، منتشر نشده است. هدف از انجام این تحقیق بررسی میزان تاثیر هر یک از

لوله دیگری منتقل گردید. کلسترول، HDL و LDL موجود در سرم با استفاده از روش آنزیمی CHOD-PAD با کیت شرکت پارس آزمون تعیین شد (۴۰). متوسط غلظت فاکتورهای خونی به دست آمده یک واحد آزمایشی برای تجزیه آماری استفاده شد.

نتایج

در پرنده‌های گروه شاهد هیچ نشانه بالینی و کالبدگشایی از عفونت سالمونلایی در کل دوره آزمایش مشاهده نشد. روش‌های مختلف تجویز پروبیوتیک بر اندازه‌های مورفولوژی روده کوچک، عملکرد و فاکتورهای خونی تأثیر داشت. مطابق با جدول شماره ۱ بین روش‌های مختلف تجویز زود هنگام پروبیوتیک در هجری و گروه شاهد در ارتباط با صفات عملکردی در هفته‌های مختلف اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ($P > 0.05$)، گروه‌های آزمایش از نظر میانگین افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل غذایی در کل دوره اختلاف داشتند ($P < 0.05$). بیشترین افزایش وزن روزانه در کل دوره در گروه تلقیح کلوآکی مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری با گروه تزریق به تخم‌مرغ و افشانه نداشت. کمترین ضریب تبدیل غذایی در کل دوره نیز در گروه تلقیح به کلوآک مشاهده شد و بیشترین میزان آن در گروه شاهد مشاهده گردید ($P < 0.05$).

تأثیر روش‌های مختلف تجویز پروبیوتیک‌ها در هجری بر روی مقدار کلسترول پلاسما در ۲۱ روزگی در جدول ۲ آورده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود کلسترول سرم به میزان معنی‌داری در روش تلقیح کلوآکی کاهش یافت که با گروه‌های تزریق داخل تخم‌مرغ و افشانه تفاوت معنی‌داری نداشت ($P < 0.05$). میزان HDL نیز در گروه تلقیح کلوآکی کاهش یافته بود که تنها با گروه گاوچ دهانی و افشانه دارای تفاوت معنی‌دار بود ($P < 0.05$). درصد HDL ($100 \times \text{HDL/CHL}$) در بین گروه‌های مختلف هیچ تفاوت معنی‌داری نداشت اما بیشترین درصد HDL در گروه تلقیح کلوآکی و کمترین میزان آن نیز در گروه شاهد مشاهده شد ($P > 0.05$). کمترین میزان LDL و درصد آن ($100 \times \text{LDL/CHL}$) در گروه تلقیح به کلوآک مشاهده شد که تنها با گروه شاهد اختلاف معنی‌دار داشت ($P < 0.05$).

تأثیر روش‌های مختلف تجویز پروبیوتیک‌ها در هجری بر مورفولوژی روده باریک در جدول ۳ آورده شده است. مرتفع‌ترین پرزها در دوازدهه و ژژونوم مربوط به گروه تزریق داخل تخم‌مرغ و در ایلئوم متعلق به گروه تلقیح کلوآکی بود ($P < 0.01$). عمق کریپت در دوازدهه در گروه گاوچ دهانی از همه بالاتر بود که البته اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد و افشانه نداشت. در مورد عمق کریپت در ژژونوم بیشترین عمق مربوط به گروه تزریق داخل تخم‌مرغ بود که اختلاف معنی‌داری با گروه تلقیح به کلوآک نداشت. عمق کریپت در ایلئوم در گروه گاوچ دهانی از همه بیشتر بود ($P < 0.01$). نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت در دوازدهه و ژژونوم در گروه تزریق داخل تخم‌مرغ از سایر گروه‌ها بالاتر بود، ایلئوم در گروه تلقیح به کلوآک دارای بالاترین نسبت می‌باشد ($P < 0.01$). در سنین مختلف (۷، ۱۴ و ۲۱) روزگی ارتفاع پرز در ۲۱ روزگی از بقیه سنین بالاتر بود ($P < 0.01$). عمق کریپت در دوازدهه در سن ۱۴ روزگی از سایر گروه‌ها بیشتر بود و در ژژونوم و ایلئوم در ۲۱ روزگی از بقیه سنین بالاتر بود ($P < 0.01$). نسبت ارتفاع به عمق کریپت در دوازدهه در سن ۲۱ روزگی

روش‌های تجویز *Lactobacillus rhamnosus* در هجری بر عملکرد، مورفولوژی روده باریک و برخی فاکتورهای خونی می‌باشد. این باکتری در مطالعات پیشین از دستگاه گوارش مرغ جداسازی شده بود (۲۵).

مواد و روش‌ها

در این آزمایش تعداد ۲۲۵ قطعه جوجه گوشتی نژاد راس ۳۰۸ در پنج تیمار با ۳ تکرار و ۱۵ قطعه جوجه در هر واحد آزمایشی مورد بررسی قرار گرفتند. پروبیوتیک مورد استفاده باکتری *La. rhamnosus* بود که ویژگی‌های پروبیوتیکی آن در تحقیقات قبلی مورد بررسی قرار گرفته و از دستگاه گوارش جوجه‌های گوشتی توسط کریمی و همکاران جداسازی شده بود (۲۵). تیمارها شامل ۱) گروه شاهد بدون دریافت پروبیوتیک، ۲) گروه تزریق به تخم‌مرغ؛ در روز هجدهم جنینی به تخم‌مرغ‌های نطفه‌دار پس از ضدعفونی کردن پوسته در محل اتاقت هوایی با سواب آغشته به تنطوید و سوراخ نمودن پوسته در این محل، مقدار ۱۰۰ میکرولیتر تعلیق باکتری با غلظت 10^7 ml/CFU تزریق و محل تزریق با چسب پوشانده شد، ۳) گروه تلقیح به کلوآک در هجری، هر پرنده مقدار ۵۰ میکرولیتر تعلیق باکتری *La. rhamnosus* را از طریق کلوآک با استفاده از سمپلدریافت کرد و در صورت دفع فوری پرنده از آزمایش حذف می‌شد. ۴) گروه گاوچ دهانی، پرندگان در هجری مقدار ۱۰۰ میکرولیتر تعلیق باکتری را از طریق تلقیح به چینه دان دریافت کردند، ۵) گروه افشانه: در هجری به ازای هر جوجه مقدار ۲۵۰ میکرولیتر از تعلیق باکتری در جعبه‌های حمل جوجه یک روزه افشانه شد و بعد از نیم ساعت به داخل پن‌ها منتقل شدند. در روز دوم تمام پرندگان گروه‌های متفاوت از طریق دهانی با ۰/۱ میلی‌لیتر تعلیق *S. enteritidis* (10^7 CFU/ml) چالش داده شدند، باکتری مورد استفاده از گنجینه میکروبی موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی تهیه شد (۱۶۲۴).RITCC.

جیره پایه بر اساس احتیاجات مواد مغذی توصیه شده توسط انجمن ملی تحقیقات (NRC، ۱۹۹۴) تنظیم گردید. آنالیز یافته‌های آزمایش با نرم افزار (SAS/STAT ۱۹۹۰ SAS) و مقایسه میانگین‌ها به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام گردید. داده‌های مربوط به مورفولوژی مخاط روده کوچک به صورت آزمایش فاکتوریل و در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی و سایر داده‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی، تجزیه آماری شدند. جهت اندازه‌گیری‌های مربوط به دستگاه گوارش در روزهای ۷، ۱۴ و ۲۱ آزمایش از هر پن دو پرنده پس از توزین به طریق انسانی با استفاده از گاز دی اکسید کربن بی‌هوش شدند. روده‌ها از بدن خارج و طول قسمت‌های دوازدهه، ژژونوم و ایلئوم تعیین شد (۳۴). از قسمت وسط هر یک قسمت‌های فوق نمونه‌ای به طول ۲ سانتی‌متر جدا و پس از شستشو با محلول بافر فسفات سالین، در محلول بافر فرمالین ۱۰ درصد تثبیت شد. اندازه‌گیری‌های مربوط به پرزهای روده باریک با استفاده از محلول رنگ آمیزی PAS^۲ بر اساس روش تشفام و همکاران انجام شد (۱).

در سن ۲۱ روزگی از هر واحد آزمایشی دو پرنده انتخاب و با استفاده از سرنگ ۲ میلی‌لیتری در حدود ۲ میلی‌لیتر خون از ورید زیر بال گرفته شد. پس از انعقاد خون، نمونه‌های سرم جدا شده به میکروتیوب منتقل شده و برای اطمینان از عدم باقی ماندن لخته در سرم سانتریفیوژ در دور RPM ۴۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه انجام و سپس سرم شفاف به

جدول ۱- تاثیر روش‌های مختلف تجویز زود هنگام پروبیوتیک‌ها در هجری بر مصرف غذای روزانه، افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل غذایی جوجه‌های گوشتی

میانگین ضریب تبدیل غذایی				میانگین افزایش وزن روزانه (گرم)				میانگین مصرف غذای روزانه (گرم)				تیمار
کل دوره	سه هفتگی	دو هفتگی	یک هفتگی	کل دوره	سه هفتگی	دو هفتگی	یک هفتگی	کل دوره	سه هفتگی	دو هفتگی	یک هفتگی	
a ۱/۶۱	۱/۸۶	۱/۷۸	۱/۱۹	b ۲۴/۰۱	۳۸/۸۲	۲۲/۳۵	۱۰/۸۷	۴۱/۷۲	۷۲/۳۷	۳۹/۹۳	۱۲/۸۵	C
۱ab/۵۰	۱/۸۲	۱/۶۰	۱/۱۲	۲۷ab/۰۲	۴۳/۱۸	۲۷/۱۵	۱۰/۷۰	۴۴/۷۹	۷۸/۷۹	۴۳/۴۵	۱۲/۱۲	I
ab	۱/۸۲	۱/۷۱	۱/۲۹	b ۲۵/۵۵	۴۳/۳۲	۲۳/۶۳	۹/۶۹	۴۳/۵۷	۷۵/۳۹	۴۲/۷۴	۱۲/۵۹	O
ab	۱/۸۴	۱/۶۰	۱/۲۹	۲۴ab/۶۳	۳۸/۷۲	۲۵/۷۳	۹/۴۲	۴۲/۱۶	۷۳/۲۱	۴۱/۰۵	۱۲/۲۲	S
۱b/۴۳	۱/۶۰	۱/۴۷	۱/۲۴	۲۸a/۷۷	۴۸/۵۹	۲۷/۵۲	۱۰/۲۲	۴۳/۳۴	۷۶/۷	۴۰/۶۸	۱۲/۶۲	V
۰/۰۲	۰/۰۵	۰/۰۵	۰/۰۳	۰/۶۴	۱/۷۱	۰/۶۸	۰/۰۲	۰/۶۷	۱/۴۱	۰/۸۲	۰/۲۸	SEM
*	ns	ns	ns	*	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	P

ab میانگین‌های با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند ($P < 0.05$ ، * = ns غیر معنی‌دار)، C (شاهد)، I (گروه تزریق به تخم مرغ)، O (گاواژ دهانی)، S (افشانه)، V (تلقیح به کلواک)، P (معنی‌داری)

جدول ۲- تاثیر روش‌های مختلف تجویز زود هنگام پروبیوتیک‌ها در هجری بر کلسترول سرم (میلی‌گرم/دسی لیتر)

روشن تجویز	CHL _۱	HDL _۲	HDL _۳	LDL _۴	LDL _۵
شاهد	۷۸/۹۳ ^a	۲۷/۲۲ ^{abc}	۳۶/۱۰	۴۲/۹۱ ^a	۵۳/۲ ^a
گاواژ دهانی	۷۵/۷۸ ^a	۳۲/۱۲۶ ^a	۴۲/۹۳	۳۵/۸ ^{ab}	۴۹/۰۵ ^{ab}
تزریق به تخم مرغ	۷۲/۴۳ ^{ab}	۲۵/۸۹ ^{bc}	۳۶/۱۸	۳۷/۵۳ ^{ab}	۴۸/۸۱ ^{ab}
افشانه	۶۶/۲۴ ^{ab}	۳۰/۲۶ ^{ab}	۴۷/۷۹	۳۷/۰۷ ^{ab}	۵۲/۵۵ ^{ab}
تلقیح به کلواک	۵۵/۵۵ ^b	۲۳/۴۱ ^c	۵۷/۸۵	۲۵/۹۴ ^b	۳۶/۸۷ ^b
SEM	۳/۲۱	۱/۰۰	۴/۳۰	۲/۶۴	۱/۴۳ ^b
معنی داری	*	**	ns	*	*

ab میانگین‌های با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند ($P < 0.05$ ، * = $P < 0.01$ ، ** = $P < 0.001$ ، ns غیر معنی‌دار). ۱) کلسترول، ۲) لیپوپروتئین با چگالی بالا، ۳) درصد لیپوپروتئین با چگالی بالا، ۴) لیپوپروتئین با چگالی پایین، ۵) درصد لیپوپروتئین با چگالی پایین

جدول ۳- تأثیر روش‌های مختلف تجویز زود هنگام پروبیوتیک‌ها در هجری بر مرفولوژی روده باریک جوجه‌های گوشتی

ایلتوم			ژژونوم			دوازدهه			
عمق ارتفاع	عمق کریبت (mm)	ارتفاع پرز (mm)	عمق ارتفاع	عمق کریبت (mm)	ارتفاع پرز (mm)	عمق کریبت	عمق ارتفاع	ارتفاع پرز (mm)	
**	**	**	**	**	**	**	*	**	روش تجویز
۰/۷۵ ^{cb}	۰/۱۲۴ ^b	۶/۱۳ ^b	۶/۸۲ ^b	۰/۱۳ ^b	۰/۹۴ ^{cb}	۱/۵۴ ^b	۰/۲۱ ^a	۷/۲۴ ^b	C
۰/۷۸ ^b	۰/۱۰۵ ^c	۷/۶ ^a	۷/۵۲ ^a	۰/۱۵ ^a	۱/۲۱ ^a	۱/۶۷ ^a	۰/۱۹ ^b	۸/۶۶ ^a	I
۰/۷۹ ^b	۰/۱۰۲ ^a	۷/۲ ^b	۶/۰۹ ^c	۰/۱۳ ^b	۰/۹۸ ^b	۱/۵۶ ^b	۰/۲۱ ^a	۷/۳۵ ^b	O
۰/۷۳ ^c	۰/۱۲۵ ^b	۶/۲۴ ^b	۶/۰۴ ^c	۰/۱۴ ^b	۰/۹۶ ^{cb}	۱/۵۹ ^{ab}	۰/۲۰ ^{ab}	۷/۷۹ ^b	S
۰/۸۳ ^a	۰/۱۰۰ ^c	۸/۱۰ ^a	۶/۲۵ ^{bc}	۰/۱۵ ^a	۰/۹۲ ^c	۱/۴۰ ^c	۰/۱۹ ^b	۷/۲۵ ^b	V
**	**	**	**	**	ns	**	**	**	سن
۱/۱۸ ^c	۰/۱۶ ^c	۷/۲۱ ^b	۰/۷۲ ^c	۰/۰۱ ^c	۶/۶۰	۰/۶۰ ^c	۰/۰۸ ^c	۷/۳۳ ^a	۷ روزگی
۱/۴۱ ^b	۰/۲۴ ^a	۵/۸۳ ^c	۰/۸۹ ^b	۰/۱۳ ^b	۶/۵۱	۰/۷۵ ^b	۰/۱۱ ^b	۶/۶۵ ^b	۱۴ روزگی
۲/۰۵ ^a	۰/۲۱ ^b	۹/۹۲ ^a	۱/۳۸ ^a	۰/۲۱ ^a	۶/۶۵	۰/۹۸ ^a	۰/۱۵ ^a	۶/۶۱ ^b	۲۱ روزگی
**	**	**	**	**	**	**	**	**	روش تجویز × سن
۰/۰۶	۰/۰۰۶	۰/۳۰	۰/۰۴	۰/۰۰۶	۰/۱۷۴	۰/۰۲۶	۰/۰۰۵	۰/۲۰	SEM

abc میانگین‌های با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند ($P < 0.05$)، * = $P < 0.01$ ، ns < $P = 0.05$ غیر معنی‌دار.

C (شاهد)، I (تزیق به تخم مرغ)، O (گاویج دهانی)، S (افشانه)، V (تلیق به کلواک)، mm: میلی متر

جوجه‌ها به صورت تزیق به تخم‌مرغ می‌توانند در کاهش آلودگی‌های سالمونلایی و در نهایت بهبود عملکرد پرنده مؤثر باشد (۱۳). در گروه شاهد که پرندگان به عنوان گروه کنترل منفی هیچ‌گونه پروبیوتیکی دریافت نکرده بودند و تنها با سالمونلا چالش داده شده بودند، هیچ نشانه بالینی از عفونت سالمونلایی در کل دوره آزمایش مشاهده نشد که مشابه با مشاهدات بابا و همکاران در سال ۱۹۹۱ می‌باشد. به طور کلی استفاده زود هنگام از پروبیوتیک در جوجه‌کشی باعث بهبود خصوصیات عملکردی نسبت به گروه شاهد شده است که البته این اختلافات معنی‌دار نمی‌باشد. تنها اختلافات معنی‌دار مشاهده شده در میانگین افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل غذایی در کل دوره می‌باشد. اثرات مثبت ناشی

از بقیه سنین بالاتر بود ($P < 0.01$)، در ژژونوم در هر سه سن مورد بررسی اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ($P > 0.05$)، و این نسبت در ایلتوم در سن ۷ روزگی از سایر سنین بالاتر بود ($P < 0.01$). تأثیر سن پرنده بر ارتفاع پرز، عمق کریبت و نسبت آنها در هر سه بخش روده به استثنای نسبت ارتفاع پرز به عمق کریبت در ژژونوم معنی‌دار بود.

بحث

جایگزینی و استقرار عوامل بیماری‌زا می‌تواند قبل از ورود جوجه‌ها به سالن پرورش صورت گرفته و باعث آلودگی پرنده جوان به عوامل بیماری‌زا شود. استفاده از پروبیوتیک‌ها در جوجه‌کشی و حتی پیش از تفریح

است، به غیر از ژژونوم که عمق کریپت در گروه‌های تجویز پروبیوتیک نسبت به گروه شاهد افزایش یافته است. هنگامی که در اثر حضور تعداد زیاد باکتری‌های بیماری‌زا، انتروسیت‌ها به مقدار زیادی از دست بروند، عمق کریپت‌ها افزایش خواهد یافت. افزایش عمق کریپت در ژژونوم روده کوچک ممکن است نشان‌دهنده افزایش در میزان نوسازی باشد (۴).
Bradley گزارش کرد زمانی که از *S.cervisiae* در جیره استفاده می‌شود عمق کریپت کاهش می‌یابد. اما در آزمایشات Santin و همکاران (۲۰۰۱) و Songsak و همکاران (۲۰۰۸) اختلاف معنی‌داری در عمق کریپت مشاهده نشد.

به طور کلی پذیرفته شده است که افزایش ارتفاع پرز، در ترکیب با عمق کمتر کریپت موجب مهاجرت آهسته‌تر انتروسیت‌ها در طول پرز شده و از دست رفتن انتروسیت‌ها از پرزها کاهش می‌یابد. این امر موجب بهبود ظرفیت هضم و جذب روده کوچک می‌شود. بیشترین ظرفیت هضم و حداکثر جذب بوسیله سطح لامینال وسیع و با پرزهای طولی دارای انتروسیت‌های بالغ حاصل می‌شود. در جریان مهاجرت سلول‌های انتروسیت به سوی راس پرز، این سلول‌ها کارایی کامل خود را بدست می‌آورند. مهاجرت انتروسیت‌ها به سمت راس در تعادل با از دست رفتن آنها در اثر ریزش و صدمه دیدن آنها می‌باشد (۳۸). پرزهای بلندتر می‌توانند سبب مانع از عبور سریعتر، کاهش رطوبت، افزایش ظرفیت جذب و در نتیجه کاهش ضریب تبدیل شوند. انرژی ذخیره شده از کاهش میزان باز چرخ سلول‌های اپیتلیال می‌تواند توسط پرزها صرف تولید بافت‌های دیگر و در نتیجه افزایش رشد شود.

معمولاً استفاده از پروبیوتیک‌ها میزان کلسترول سرم را کاهش می‌دهد. کاهش کلسترول به وسیله استفاده از پروبیوتیک‌ها در کارهای متعددی از جمله (۲۲، ۳۰، ۳۷) مشاهده شده است. استفاده از پروبیوتیک با روش‌های مختلف باعث کاهش میزان کلسترول، LDL و HDL می‌شود. HDL لیپوپروتئینی با چگالی بالا می‌باشند که به عنوان کلسترول خوب در بدن شناخته شده‌اند که میزان بیماری‌های قلبی عروقی را کاهش می‌دهند (۱۸). در آزمایش حاضر میزان HDL نسبت به گروه شاهد کاهش یافت این امر به خاطر کاهش کل کلسترول در گروه‌های تجویز پروبیوتیک می‌باشد، اما درصد آن نسبت به کل کلسترول افزایش یافته است که به خصوص در گروه تلقیح به کلوک این مساله قابل مشاهده است هر چند تفاوت معنی‌داری بین گروه‌ها مشاهده نمی‌شود. مقدار LDL نیز با استفاده از پروبیوتیک‌ها کاهش یافت. لیپوپروتئین‌هایی با چگالی پایین (کلسترول بد) برای بدن ضرر دارند و می‌توانند باعث افزایش بیماری‌های قلبی و عروقی شوند. می‌توان با استفاده از پروبیوتیک‌ها در جیره طیور مقدار LDL را کاهش داد. این کاهش در گروه تلقیح به کلوک از سایر گروه‌ها مشهودتر بود، احتمالاً در این روش به خاطر جایگزینی بهتر و مستقیم میکروارگانیزم‌ها در روده تعداد بیشتری از آنها در محیط روده پایدار باقی مانده‌اند و اثرات مثبت خود را بروز داده‌اند. به هر حال مکانیسم عمل پروبیوتیک‌ها در کاهش کلسترول پلازما به طور کامل شناخته نشده است. Nelson و Gilliland در سال ۱۹۸۴ گزارش کردند که میکروارگانیزم‌های موجود در پروبیوتیک می‌توانند از کلسترول موجود در دستگاه گوارش برای متابولیسم خودشان استفاده کنند، بنابراین میزان جذب کلسترول کاهش

از اضافه کردن پروبیوتیک‌ها بر روی بازده غذایی را می‌توان به افزایش فعالیت‌های آنزیم‌های گوارشی مانند پروتئاز، لیپاز و آمیلاز و پیامد آن افزایش قابلیت هضم و جذب مواد مغذی در خوراک، کاهش فعالیت آنزیم اوره‌از (۲۰) و حفظ باکتری‌های مفید در روده از طریق رقابت برای حذف باکتری‌های بیماری‌زا و فعالیت آنتاگونیستی بر علیه آنها نسبت داد (۵). در حقیقت در گروه تلقیح در کلوک بیشترین میانگین افزایش وزن روزانه و کمترین ضریب تبدیل مشاهده شد. سکوم به عنوان عضوی برای تخمیر میکروبی مواد غیر قابل هضم در پرزها می‌باشد (۳)، در این روش میکروارگانیزم‌های مفید به میزان بیشتری در این عضو جایگزین می‌شوند که می‌تواند احتمالاً دلیلی برای عملکرد بهتر این گروه نسبت به سایر گروه‌های تجویز پروبیوتیک در جوجه‌کشی باشد.

در تحقیقات متعددی افزودن پروبیوتیک اثر معنی‌داری بر مصرف خوراک نداشت (۳۱). در برخی مطالعات نیز استفاده از پروبیوتیک سبب کاهش مصرف خوراک نسبت به گروه شاهد شد (۳۳). در بررسی‌های متعددی در مورد جوجه‌های گوشتی استفاده از پروبیوتیک‌ها سبب بهبود ضریب تبدیل غذایی گردید (۲۳، ۴۶، ۴۹)، در مقابل در تعدادی از تحقیقات اختلاف معنی‌داری در بهبود ضریب تبدیل غذا مشاهده نشد (۲۱). به طور کلی با استفاده زودهنگام پروبیوتیک‌ها در جوجه‌کشی بهبود عملکرد مشاهده شد و توانست تا حدودی تأثیرات منفی سالمونلا را کاهش دهد، میکروارگانیزم‌های مفید با تولید باکتریوسین و اسیدهای چرب فرار، رقابت برای کسب مواد مغذی و چسبیدن به جایگاه‌های ویژه استقرار در روده می‌توانند در برابر پاتوژن‌های روده‌ای مانند سالمونلا مقاومت کنند (۲۸).

در نواحی ابتدایی روده کوچک پرزها بیشترین ارتفاع را دارند و در نواحی انتهایی روده ارتفاع پرزها کاهش می‌یابد. این روند برای عمق کریپت و نسبت ارتفاع به عمق کریپت نیز مشاهده می‌شود. در این بررسی در میان تمامی گروه‌های مختلف ارتفاع پرز در ناحیه دوازدهه بیشتر از ژژونوم و ایلئوم می‌باشد که خود بیانگر نقش مهم دوازدهه در گوارش و جذب مواد مغذی می‌باشد (جدول ۳).

تجویز پروبیوتیک در جوجه‌کشی بر ارتفاع پرز و عمق کریپت و نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت تأثیر معنی‌داری داشته است. بطور کلی استفاده از پروبیوتیک ارتفاع پرز را افزایش می‌دهد (۲۱، ۴۲، ۴۸)، همان‌طور که می‌دانیم میکروارگانیزم‌های مفید موجود در پروبیوتیک‌ها، اسیدهای چرب فرار تولید می‌کنند، اسیدهای چرب زنجیره کوتاه باعث تحریک تکثیر سلول‌های اپیتلیومی روده می‌شود (۱۹، ۳۵). روش‌های مختلف تجویز پروبیوتیک با توجه به مکان ورود آنها تأثیرات متفاوتی روی مورفولوژی روده باریک دارند. در روش‌هایی که پروبیوتیک از قسمت ابتدای دستگاه گوارش مانند روش تزریق به تخم‌مرغ و گاوآذ دهانی وارد می‌شود، ارتفاع پرز و نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت در دوازدهه و ژژونوم افزایش می‌یابد و در روش تلقیح کلوک که پروبیوتیک از قسمت انتهایی دستگاه گوارش وارد می‌شود، ارتفاع پرز در ایلئوم افزایش می‌یابد. بهترین ضریب تبدیل و بیشترین میانگین افزایش وزن روزانه در گروه تلقیح به کلوک مشاهده شد که احتمالاً به خاطر افزایش ارتفاع پرز، کاهش عمق کریپت و افزایش نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت می‌باشد. در گروه‌هایی که پروبیوتیک تجویز شده است، عمق کریپت کاهش یافته

- of Tehran. DVM Thesis. No. 2224.
- 5-Angel, C.R. (1991) Long segmented filamentous organism observed in poultts experimentally infected with stunting syndrome agent. *Avian Diseases*. 34:994-1001.
- 6-Arun, K, P., Savaram, V. R. R, Mantena, V.L.N. and Sita, R. S. (2006) Dietary supplementation of *Lactobacillus sporogenes* on performance and serum biochemico-lipid profile of broiler chickens. *The Journal of Poultry Science*. 43:235-240.
- 7-Baba, E., Nagaishi, S., Fukata, T. and Arakawa, A. (1991) The role of intestinal microflora on the prevention of Salmonella colonization on gnotobiotic chickens. *Poultry Science*. 70:1902-1907.
- 8-Barrow, P. A. (1992) *Probiotics for chickens*. R. Fuller. ed. Chapman and Hall, London, pp:224-257.
- 9-Bradley, G.L., Savage, T.F. and Timm, K.I. (1994) The effects of supplementing diets with *Saccharomyces cerevisiae* var. bouhardi on male poult performance and ileal morphology. *Poultry Science*. 73:1766-1770.
- 10-Choudhury, K., Das, J., Saikia, S., Sengupta, S. and Choudhury, S.K. (1998) Supplementation of broiler diets with antibiotic and probiotic fed muga silk worm pupae meal. *Indian Journal of Poultry Science*. 33:339-342.
- 11-Coates, M.E. and Fuller, R. (1977) *The gnoto animal in the study of gut microbiology*. In: R.T.J. Clarke and T. Bauchop (Eds). Microbial Ecology of the Gut. Academic Press. London, p: 311-346.
- 12-Corrier, D.E., Hollister, A.G., Nisbet, D.J., Scanlan, C.M., Beier, R.C. and Deloach, J.R. (1994) Competitive exclusion of Salmonella Enteritidis in leghorn chicks: Comparison of treatment by crop gavage, drinking water, spray, or lyophilized alginate beads. *Avian Diseases*. 38:297-303.
- 13-Cox, N.A., Bailey, J.S., Mauldin, J.M. and Blankenship, L.C. (1990) Presence and impact of Salmonella contamination in commercial broiler hatcheries. *Poultry Science*. 69:1606-1609.
- 14-Edens, F.W., Parkhurst, C.R., Casas, I.A. and Dobrogosz, W.J., (1997) Principles of ex ovo competitive exclusion and in ovo administration of *Lactobacillus reuteri*. *Poultry Science*. 76:179-196.
- 15-Fukushima, M. and Nakano, M. (1995) The effect of probiotic on faecal and liver lipid classes in rats. *British Journal of Nutrition*. 73:701-710.
- 16-Fuller, R. (1989) A review: Probiotics in man and animals. *Journal of Applied Bacteriology*. 66:365-378.
- 17-Ghadban, G.S. (2002) Probiotics in broiler production- a review. *Archiv für Geflügelkunde*. 22:49-58.
- می‌یابد. Mohan و همکاران (۱۹۹۶) گزارش کردند کاهش میزان کلسترول سرم را می‌توان به کاهش جذب در دستگاه گوارش و یا جذب آن توسط میکروارگانیسیم‌های پروبیوتیک و استفاده از آن در متابولیسم خودشان نسبت داد. *Lactobacillus acidophilus* به وسیله دکنزوگه کردن اسیدهای صفراوی (هیدرولیز نمک‌های صفراوی) از شرکت آنها به عنوان پیش ماده اصلی در ساخت کلسترول جلوگیری می‌نماید (۲). اسیدهای صفراوی دکنزوگه در pH پایین کمتر محلول هستند و به میزان کمتری در دستگاه گوارش جذب می‌شوند بنابراین از طریق مدفوع دفع می‌شوند (۲۶). میکروارگانیسیم‌های پروبیوتیک با محدود کردن فعالیت کوآنزیم هیدروکسی متیل گلو تاریل که در مسیر ساخت کلسترول فعال است، میزان ساخت کلسترول را کاهش می‌دهند (۱۵).
- نتایج این آزمایش مطابق با نتایج Kannan و همکاران در سال ۲۰۰۵ بود. در آزمایشات Arun و همکاران (۲۰۰۶) میزان کلسترول و HDL کاهش یافت. در کار پژوهشی Kalavathy و همکاران (۲۰۰۳) میزان کلسترول و LDL کاهش یافت.
- با توجه به نتایج به دست آمده از این آزمایش می‌توان گفت که به طور کلی استفاده از پروبیوتیک‌ها به صورت تجویز زودهنگام باعث استقرار باکتری‌های مفید در دستگاه گوارش و غلبه آنها بر میکروب‌های بیماری‌زای روده‌ای می‌شود که این عمل باعث بهبود عملکرد رشد، مورفولوژی و سلامتی طیور می‌شود. هر چند بهترین نتایج، در گروه تلقیح در کلواک مشاهده شد اما این روش در شرایط تجاری قابل استفاده نمی‌باشد، بنابراین پیشنهاد می‌شود در جهت کاربردی نمودن این روش تجویز پروبیوتیک در آینده پژوهش‌های بیشتری انجام گردد تا بتوان از اثرات مثبت تجویز زودهنگام تجویز پروبیوتیک‌ها در صنعت طیور بهره‌مند شد.

سپاسگزاری

از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه تربیت مدرس به خاطر فراهم آوردن امکان اجرای این تحقیق و از مدیریت و پرسنل محترم جوجه‌کشی صادقی به خاطر مساعدت و همکاری در این طرح پژوهشی صمیمانه تشکر و قدردانی می‌نماییم.

منابع مورد استفاده

- ۱- تشفام، ا.، رحیمی، ش. و کریمی، ک. (۱۳۸۴) تأثیر سطوح مختلف پروبیوتیک بر مورفولوژی مخاط روده جوجه‌های گوشتی. مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران. ۶۰: ۲۱۱-۲۰۵.
- 2-Abdulrahim, S.M., Haddadin, M.S.Y., Hashlamoun, E.A.R. and Robinson, R.K. (1996) The influence of *Lactobacillus acidophilus* and bacitracin on layer performance of chickens and cholesterol content of plasma and egg yolk. *British Poultry Science*. 37:341-346.
- 3-Ahmad, I. (2006) Effect of probiotics on broilers performance. *International Journal of Poultry Science*. 5:593-597.
- 4-Alami Abardeh, J. (1994) *Investigation the intestinal villi morphology of clinical coccidiosis infected chickens*. University

- 30-Mohan, B., Kadirvel, R., Natarajan, A. and Bhaskaran, M. (1996) Effect of probiotic supplementation on growth, nitrogen utilization and serum cholesterol in broilers. *British Poultry Science*. 37:395-401.
- 31-Mountzouris, K., Beneas, H., Tsirtsikos, P., Kalamara, E. and Fegeros, K. (2006) Evaluation of the effect of a new probiotic product on broiler performance and cecal microflora composition and metabolic activities. *International Poultry Scientific Forum Atlanta*, Georgia January 23-24.
- 32-Mouwen, J.M.V.M. (1971) White scours in piglets at three weeks of age. *Veterinary Pathology*. 8:364-380.
- 33-Murry, A.C., Hinton, A. and Buhr, R.J. (2006) Effect of botanical probiotic containing lactobacilli on growth performance and populations of bacteria in the ceca, cloaca, and carcass rinse of broiler chickens. *International Journal of Poultry Science*. 5:344-350.
- 34-Nelson, C.R. and Gilliland, S.E. (1984). Cholesterol uptake by *Lactobacillus acidophilus*. *Journal of Dairy Science*. 67:115-120.
- 35-Nishihira, S., Satomi, A. and Sakata, T. (1999) Probiotic bacteria stimulate gut epithelial cell proliferation in rat. *Digestive Diseases and Sciences*. 44:2119-2123.
- 36-NRC, (1994) *Nutrient requirements of poultry*. 9th revised ed. National Academy Press. Washington, DC.
- 37-Panda, A.K., Reddy, M.R. and Praharaj, N.K. (2001) Dietary supplementation of probiotic on growth, serum cholesterol and gut microflora of broilers. *Indian Journal of Animal Science*. 71:488-490.
- 38-Pelicano, E.R.L., Souza, P.A. Souza, H.B.A., Figueiredo, D.F., Boiago, M.M., Carvalho, S.R. and Bordon, V.F. (2005) Intestinal mucosa development in broiler chickens fed natural growth promoters. *Brazilian Journal of Poultry Science*. 7:221-229.
- 39-Pivnick, H. and Nurmi, E. (1982) *The Nurmi concept and its role in the control of Salmonella in poultry*. In: R. Davis(Ed.). *Developments in food microbiology*. 1. *Applied Science Publishers*. London, pp. 41-70.
- 40-Richmond, W. (1973) Preparation and properties of a cholesterol oxidase from *Nocardia* sp. and its application to the enzymatic assay of total cholesterol in serum. *Clinical Chemistry*. 19:1350-1356.
- 41-Rolfe, R.E., (2000) The role of probiotic cultures in the control of gastrointestinal health. *Journal of Nutrition*. 130:396-402.
- 42-Samanya, M. and Yamauchi, K. (2002) Histological alterations of intestinal villi in chickens fed dried *Bacillus subtilis* var. natto. *Comparative Biochemistry and Physiology*. Part A. 133:95-104.
- 43-Santin, E., Maiorka, A., Macari, M., Grecco, M., Sanchez, 18-Gotto, A.M. and Farmer, J.A. (1992) *Risk factors for coronary artery disease In: Heart disease. A textbook of cardiovascular medicine*. Chapter, 37. Volume, 2. Brounwald, E. ed. W. B. Saunders Company, Philadelphia. PA.
- 19-Ichikawa, H., T. Kuroiwa, A. Inagaki, R. Shineha, T. Philips, I. (1999) Assessing the evidence that antibiotic, probiotic bacteria stimulate gut epithelial cell proliferation in rat. *Digestive Diseases and Sciences*. 44:2119-2123.
- 20-Isshiki, Y. (1979) Effect of Lactobacilli in the diet on the concentration of nitrogenous compounds and mineral blood of chicken. *Japanese Poultry Science*. 16:254-258.
- 21-Jin, L.Z., Ho, Y.W., Abdullah, M.A. and Jalaludin, S. (1998) Growth performance, intestinal microbial populations, and serum cholesterol of broilers fed diets containing lactobacillus cultures. *Poultry Science*. 77:1259-1265.
- 22-Joy, A.D. and Samuel, J.J. (1997) Effect of probiotic supplementation on the performance of broilers. *Journal Veterinary and Animal Sciences*. 28:10-14.
- 23-Kalavathy, R., Abdullah, N., Jalaludin, S. and Ho, Y.W. (2003) Effects of Lactobacillus cultures on growth performance, abdominal fat deposition, serum lipids and weight of organs of broiler chickens. *British Poultry Science*. 44:139-144.
- 24-Kannan, M., Karunakaran, R., Balakrishnan, V. and Prabhakar, T.G. (2005) Influence of probiotics supplementation on lipid profile of broilers. *International Journal of Poultry Science*. 4:994-997.
- 25-Karimi Torshizi, M. A., Rahimi, Sh., Mojjani, N., Esmaeilkhanian, S. and Grimes, J. L. (2008) Screening of indigenous strains of lactic acid bacteria for development of a probiotic for poultry. *Asian Australasian Journal of Animal Science*. 21(10):1495-1500.
- 26-Klaver, F.A.M. and van der Meer, R. (1993) The assumed assimilation of cholesterol by Lactobacilli and *Bifidobacterium bifidum* is due to their bile salt deconjugating activity. *Applied and Environmental Microbiology*. 59:1120-1124.
- 27-Lepkovsky, S., Wanger, M., Furuta, F., Ozine, K. and Koike, T. (1964) The protease, amylase and lipase of the pancreas and intestinal contents of germfree and conventional chicken. *Poultry Science*. 43:722-735.
- 28-Mead, G.C. (2000) Prospects for competitive exclusion treatment to control Salmonellas and other food borne pathogens in poultry. *Veterinary Journal*. 159:111-123.
- 29-Meijerhof, R. and Hulet, R.M. (1997) *In ovo* injection of competitive exclusion culture in broiler hatching eggs. *Journal of Applied Poultry Research*. 6:260-266.

