تاثیر ترکیب پروبیوتیک، آنزیم لاکتاز و آنتی‌بادی‌های اختصاصی بر فاکتورهای رشد و هیستومورفولوژی روده باریک در جوجه‌های گوشتی

میرحامد سروقد[۱]، افشین ذاکری[۲*]

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد تغذیه دام و طیور، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران.

۲- استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران.

*نویسنده مسئول مکاتبات: zakeri@iaut.ac.ir

(دریافت مقاله: ۹۶/۱/۱۶ پذیرش نهایی: ۹۷/۲/۹)

چکیده

بهبود پاسخ سیستم ایمنی همراه با افزایش کارآیی و بهبود فاکتورهای رشد از مهم‌ترین اهداف صنعت مدرن پرورش طیور می‌باشد. هدف از انجام این مطالعه، بررسی اثر ترکیب پروبیوتیک، آنزیم لاکتاز و آنتی‌بادی اختصاصی بر بهبود هیستومورفولوژی روده باریک و بهبود فاکتورهای رشد در جوجه‌های گوشتی بود. بدین منظور، ۹۶ قطعه جوجه گوشتی نژاد راس ۳۰۸ در قالب دو گروه ٤٨تایی شامل ٤ تکرار ۱۲ قطعه‌ای در هر گروه در نظر گرفته شد. در گروه آزمایش به ازای ٤٨ قطعه جوجه، روزانه ۲ گرم از ترکیب مورد مطالعه به‌صورت محلول در آب به مدت ٤۲ روز استفاده شد. اندازه‌گیری فاکتورهای رشد به‌صورت هفتگی با توزین تمام جوجه‌ها انجام گردید. جهت مطالعه شاخص‌های هیستومورفولوژیکی، از هر تکرار دو قطعه جوجه انتخاب و بعد از برداشت کل روده باریک، نمونه‌ها به آزمایشگاه بافت‌شناسی ارسال گردید. در تحلیل آماری نتایج به‌دست آمده، اختلاف در فاکتورهای رشد جوجه‌ها در هفته‌های سوم تا ششم معنی‌دار بود (p<۰/۰۱). تفاوت عمق کریپت‌های روده باریک و نیز اختلاف ارتفاع پرزها، ضخامت لایه عضلانی روده، ضخامت لایه مخاطی و تعداد سلول‌های جامی شکل در هر یک از قسمت‌های روده بین دو گروه مورد آزمایش معنی‌دار بود (p<۰/۰۱). نتایج به‌دست آمده نشان داد که ترکیب (پروبیوتیک، آنزیم لاکتاز و آنتی‌بادی‌های اختصاصی) باعث بهبود هیستوموروفولوژی روده و در نهایت باعث افزایش بهره‌وری از مواد غذایی و بهبود فاکتورهای رشد می‌گردد. لذا به‌نظر می‌رسد که استفاده از این محصول می‌تواند باعث بهبود استانداردهای رشد در صنعت مرغداری گردد.

کلیدواژه‌ها: پروبیوتیک، آنزیم لاکتاز، روده باریک، فاکتورهای رشد، جوجه‌های گوشتی.

مقدمه

با توجه به این که سالیان متمادی در صنعت طیور از محرک‌های رشد مانند آنتی‌بیوتیک‌ها به طور گسترده برای بهبود عملکرد و سلامتی طیور استفاده شده است، با به‌وجود آمدن مسأله مقاومت آنتی‌بیوتیکی و ایجاد خطر برای سلامتی انسان، استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها در تغذیه طیور ممنوع شده و با ممنوعیت مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها در سال‌های اخیر، استفاده از ترکیبات جایگزینی مانند پروبیوتیک‌ها رواج یافته است (Kabir *et al*., 2004). پروبیوتیک‌ها مکمل میکروبی زنده‌ای هستند که از طریق بهبود تعادل میکروبی روده بر میزبان اثرات مفیدی را اعمال می‌کنند. در تحقیقات به عمل آمده، استفاده از پروبیوتیک‌ها باعث بهبود عملکرد طیور می‌شود (Laudadio *et al*., 2011). پرندگان برای هضم مواد غذایی و مقابله با باکتری‌های پاتوژن در روده به یک حداقل فلور طبیعی نیازمندند. به‌طور طبیعی وقتی پاتوژن‌ها وارد لوله گوارش می‌شوند، تمایل به رقابت دارند. استفاده از سوسپانسیون برخی سوش‌های میکروبی در جوجه‌های یک‌روزه از طریق دهانی به منظور جلوگیری از غالب شدن میکروب‌های مضر، نظیر سالمونلا در روده می‌تواند مفید واقع گردد. بهبود و افزایش پارامترهای تولیدی جوجه‌های گوشتی یکی از مهم‌ترین اهداف صنعت پرورش طیور در کل دنیا می‌باشد (Laudadio *et al*., 2011). امروزه تکنیک‌های مختلف پرورشی و مواد دارویی و مکمل‌های رشد طبیعی جهت رسیدن به این هدف ارائه گردیده است. پروبیوتیک‌ها، پری‌بیوتیک‌ها، اسیدفایرها و ترکیبات حاوی دیواره سلولی مخمرها از جمله ترکیباتی هستند که به تازگی وارد این صنعت شده‌اند و نه تنها باعث بهبود و افزایش رشد می‌گردند، بلکه پارامترهای تولیدی را نیز افزایش می‌دهند و در ضمن لاشه طیور فاقد باقی‌مانده‌های دارویی خواهد بود (Tashfam *et al*., 2004). در پرورش مدرن جوجه‌های گوشتی یکی از اهداف عمده، افزایش سطح ایمنی و بهبود ضریب تبدیل غذایی می‌باشد و از آن‌جایی‌که این محرک‌های رشد مثل پروبیوتیک‌ها، پری‌بیوتیک‌ها، اسیدفایرها و آنتی‌بیوتیک‌های محرک رشد می‌توانند نقش عمده‌ای در افزایش ضریب تبدیل غذایی گله‌های طیور داشته باشند، لذا استفاده از آن‌ها می‌تواند گام بلندی در جهت بهبود فاکتورهای تولیدی جوجه‌های گوشتی باشد. به‌دلیل ناپایداری گونه‌های لاکتوباسیل در غذاهای عمل‌آوری‌شده، امروزه تمایل به استفاده از پروبیوتیک‌های حاوی گونه‌های *باسیلوس سوبتیلیس* بیشتر شده است، زیرا این گونه‌ها دارای اسپورهای زنده هستند (Mortazavian and Sohrab Vandi, 2006). علی‌رغم حصول نتایج نسبتاً غیرقطعی، به‌نظر می‌رسد که استفاده از پروبیوتیک‌ها در حال افزایش است و صنعت دام و طیور به این محصولات به عنوان جایگزینی برای آنتی‌بیوتیک‌های رایج می‌نگرد. مخمرها یا قارچ‌های تک سلولی، برای سالیان متمادی در جیره حیوانات یا غذای انسان استفاده شده‌اند. قبل از مشخص‌شدن تمامی ویتامین‌های گروه B، مخمرهای تقطیری به عنوان یک ماده خوراکی رایج در جیره حیوانات تک‌معده‌ای استفاده می‌شد. گونه‌های لاکتوباسیلوس یکی از مهم‌ترین سویه‌های پروبیوتیک هستند (Karimi and Rahimi, 2003). بر اساس مطالعات انجام شده، لاکتوباسیلوس‌ها به ویژه *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس*، فلور میکروبی روده را

بهبود می‌بخشند، هرچند پژوهش‌های بعدی نشان داد که باکتری مذکور موجود در فرآورده‌های تخمیری، قادر نیست به تعداد کافی زنده به محیط روده برسد و در آنجا پرگنه‌ساز شود. در فرضیه *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* آمده است، ایجاد بیماری‌های روده‌ای در نتیجه تکثیر و تزاید میکروفلور روده به نفع باکتری‌های مضر روده شکل می‌گیرد، به‌طوری‌که جمعیت باکتری‌هایی مثل *اشریشیا کولای* و کلستریدیوم‌ها نسبت به لاکتوباسیل‌ها افزایش می‌یابد (Mortazavian and Sohrab Vandi, 2006). ترکیب مورد نظر جهت مطالعه در این مطالعه مخلوطی از باکتری‌های مفید، آنزیم لاکتاز و آنتی‌بادی‌های اختصاصی است که تأمین‌کننده مناسبی برای ایجاد میکروفلور طبیعی و مقابله با پاتوژن‌های روده طیور می‌باشد. باکتری‌های مفید و آنتی‌بادی‌های موجود در این ترکیب به صورت اختصاصی عمل کرده و سبب از بین رفتن باکتری‌های پاتوژن و ایجاد شرایط مناسب برای رشد فلور روده می‌شوند. این آنتی‌بادی‌ها با اتصال به رسپتورهای روده مانع از اتصال پاتوژن‌ها به روده شده در نتیجه مانع از ایجاد عفونت می‌شوند و امکان رشد و توسعه قسمت‌های مختلف روده باریک و به‌ویژه رشد ویلی‌ها و میکرو ویلی‌ها را فراهم می‌سازند و در نهایت باعث بهبود جذب مواد غذایی و افزایش راندمان گله و بهبود شاخص‌های رشد می‌شوند (Aliakbarpor *et al.*, 2015). لذا، هدف از انجام این مطالعه، بررسی اثرات ترکیب خاص پروبیوتیک، آنزیم لاکتاز و آنتی‌بادی‌های اختصاصی (جهت بهبود سیستم ایمنی هومورال برای افزایش مقاومت در برابر پاتوژن‌های مختلف) بر میزان ضریب تبدیل و صفات تحت تاثیر آن ازجمله سرعت رشد، وزن لاشه و هیستومورفولوژی بافت روده باریک از جمله ارتفاع پرزها، عمق کریپت و سایر صفات مربوطه بود.

مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر در فارم تحقیقاتی ایستگاه کشاورزی، دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز در تابستان سال ۱۳۹۵ انجام شد که از نوع مطالعات تجربی مداخله‌ای بود. برای انجام مطالعه، تعداد ۹۶ قطعه جوجه گوشتی یک‌روزه نر و ماده سویه راس ۳۰۸ به‌طور تصادفی جداسازی شدند. جوجه‌ها به مدت ٤٢ روز از جیره آزمایشی یکسان و آب به صورت ارائه آزاد استفاده کردند. جوجه‌ها در قالب دو گروه شاهد و آزمایش ٤٨ تایی شامل ٤ تکرار ۱۲ قطعه‌ای در هر گروه در نظر گرفته شدند. قبل از شروع مطالعه، سالن و قفس‌های مورد استفاده شستشو و ضدعفونی شده و برای تنظیم نور، از لامپ‌های ٦٠ واتی به تعداد مناسب استفاده شد. جیره‌های آزمایشی توسط برنامه نرم‌افزاری UFFDA بر اساس NRC (1994) برای جوجه‌ها تنظیم گردیدند. جیره‌ها از نظر انرژی و پروتئین به‌طور یکسان محاسبه و تهیه شدند (جدول ۱). اندازه ذرات خوراک با توجه به سن جوجه‌ها به وسیله غربال مناسب آسیاب و تنظیم شد. در گروه آزمایش، روزانه ۲ گرم از ترکیب پروبیوتیک، آنزیم لاکتاز و آنتی‌بادی اختصاصی (مکمل AQUABLEND AVIAN، حاوی آنزیم لاکتاز، آنتی‌بادی‌های اختصاصی به‌ویژه علیه سروتیپ‌های مختلف باکتری *اشریشیا کولای* و سالمونلا و مخلوطی از باکتری‌ها و مخمرها جهت خاصیت پروبیوتیکی، ازجمله لاکتوباسیلوس‌ها، استرپتوکوکوس‌ها و بیفیدو باکتری‌ها ساخت شرکت

Agranco corp کشور آمریکا) در آب آشامیدنی روزانه، به‌ازای ٤٨ قطعه جوجه به مدت ٤٢ روز استفاده شد. فاکتورهای رشد شامل میزان متوسط غذای خورده شده، میزان متوسط وزن و ضریب تبدیل غذایی به‌صورت هفتگی با توزین (ترازوی دیجیتالی مهک، دقت ٢ گرم، ساخت ایران) تمام جوجه‌ها محاسبه گردید. جهت مطالعه شاخص‌های هیستومورفولوژیکی، در انتهای دوره از هر تکرار دو قطعه جوجه انتخاب و بعد از برداشت کل روده باریک، نمونه‌ها به آزمایشگاه بافت‌شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز ارجاع داده شدند. مقاطع بافتی از سه قسمت روده باریک شامل دودنوم، ژژنوم و ایلئوم با رنگ‌آمیزی معمول هماتوکسیلین-ائوزین مورد بررسی قرار گرفتند. ارزیابی هیستومورفومتری با استفاده از عدسی مدرج انجام شد. بخش‌های مختلف روده باریک از نظر ارتفاع پرز، ضخامت اپی‌تلیوم، ضخامت لایه عضلانی، تعداد سلول‌های جامی و عمق کریپت‌ها با درشت‌نمایی ×٤ و در ١٠ نقطه از دیواره روده مورد ارزیابی قرار گرفت (Laudadio *et al*., 2011).

- **تحلیل آماری داده‌ها**: آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ٢ تیمار در ٤ تکرار اجرا شد. مدل آماری طرح به‌صورت رابطه زیر است:

$e_{ij} + m + t_i = Y_{ij}$

Y_{ij}= مقدار عددی هر مشاهده در آزمایش

m= میانگین کل جامعه‌ای که از طریق نمونه‌ها با فرض اولیه مورد بررسی قرار گرفت.

t_i= اثر **i** مین تیمار

e_{ij}= اثر خطای نمونه‌برداری (خطای آزمایش)

پس از انجام آزمون نرمال بودن داده‌ها، داده‌های نرمال در قالب طرح آزمایشی کاملاً تصادفی با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS (نسخه ٩/١) مورد تحلیل آماری قرارگرفت. با توجه به این‌که تنها دو تیمار آزمایشی وجود داشت، مقایسه میانگین با استفاده از آزمون T-test در سطح احتمال ٥ و ١ درصد مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته‌ها

- **یافته‌های مربوط به ضریب تبدیل غذایی**: جدول ٢، تاثیر معنی‌دار ترکیب پروبیوتیک، آنزیم لاکتاز و آنتی‌بادی اختصاصی را بر ضریب تبدیل غذایی (FCR) جوجه‌های گوشتی (Ross 308) نشان می‌دهد. استفاده از این ترکیب (پروبیوتیک، آنزیم لاکتاز و آنتی‌بادی‌های اختصاصی) در آب آشامیدنی گروه آزمایشی از لحاظ ضریب تبدیل تاثیر معنی‌داری در دوره رشد (٤٢-١٤ روزگی) ایجاد کرد (p<٠/٠١). ولی ضریب تبدیل غذایی (FCR) در دوره آغازین (١٤-١ روزگی) تحت تاثیر ترکیب داده‌شده به تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت (p>٠/٠٥). بیشترین تاثیر ترکیب مورد استفاده در دوره پایانی (٤٢-٢٥ روزگی) بود، به‌طوری‌که ضریب تبدیل غذایی به‌صورت معنی‌داری (p<٠/٠٥) در گروه آزمایش نسبت به گروه شاهد، بهبود پیدا کرد.

جدول ۱- جیره‌های غذایی و ترکیب شیمیایی تیمارهای آزمایشی (درصد)

مشخصات جیره	آغازین ۱۰-۰ روزگی	رشد ۲۴-۱۱ روزگی	پایانی ۴۲-۲۵ روزگی
ذرت	۴۸/۹۰	۵۲/۹۰	۵۵/۴۵
کنجاله سویا	۳۲/۲۰	۲۸/۲۰	۱۱/۱۰
گندم	۹/۴۰	۱۰/۲۰	۱۱/۱۰
پودر ماهی	۲/۸۰	۱/۸۰	۱/۵۰
پودر چربی	۲/۴۰	۳/۲۰	۴/۱۰
دی کلسیم فسفات	۱/۵۳	۱/۳۰	۱/۲۰
نمک	۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۵
صدف	۱/۲۸	۱/۴۰	۱/۳۲
متیونین	۰/۲۰	۰/۱۵	۰/۲۲
لیزین	۰/۰۷	۰/۰۶	۰/۰۷
مکمل ویتامینه – معدنی*	۰/۰۶	۰/۰۶	۰/۰۶
سالینومایسین	۰/۰۵	۰/۰۵	۰/۰۵
انـــرژی کیلوکـــالری بـــر کیلوگرم	۲۹۰۰	۲۹۸۵	۳۰۹۵
پروتئین خام	۲۱/۲۶	۲۰/۲۰	۱۹/۲۰
پروتئین قابل جذب	۱۶/۹۰	۱۶/۱۰	۱۵/۳۰
فیبر خام	۳/۶۰	۴/۹۰	۵/۴۰
متیونین	۰/۵۰	۰/۴۲	۰/۵۹
متیونین+ سیستین	۰/۹۱	۰/۸۲	۰/۹۹
لیزین	۱/۴۰	۱/۲۰	۰/۹۰
فسفر قابل دسترس	۰/۶۰	۰/۶۰	۰/۵۲
کلسیم	۱/۱۰	۰/۹۰	۰/۷۵

* هر کیلوگرم مکمل معدنی حاوی ۱۲۰ میلی‌گرم منگنز، ۸۰ میلی‌گرم روی، ۹۰ میلی‌گرم آهن، ۱۵ میلی‌گرم مس، ۱/۶ میلی‌گرم ید، ۰/۵ میلی‌گرم سلنیوم و ۰/۶ میلی‌گرم کبالت می‌باشد. هر کیلوگرم مکمل ویتامینی حاوی ۹۰۰۰ واحد بین المللی ویتامین A، ۲۰۰۰ واحد بین المللی کوله‌کلسیفرول، ۱۸ واحد بین‌المللی ویتامین E، ۴ میلی‌گرم ویتامین K3، ۰/۰۱۵ میلی‌گرم ویتامین B12، ۰/۱۵ میلی‌گرم بیوتین، ۱ میلی‌گرم فولاسین، ۳۰ میلی‌گرم نیاسین، ۲۵ میلی‌گرم پانتوتنیک اسید، ۲/۹ میلی‌گرم پیریدوکسین، ۶/۶ میلی‌گرم ریبوفلاوین، ۱/۸ میلی‌گرم تیامین می‌باشد.

جدول ۲- یافته‌های مربوط به ضریب تبدیل غذایی (FCR)

هفته	گروه	تعداد	میانگین	انحراف معیار	مقدار t	سطح معنی‌داری
اول	آزمایش	٤٨	۰/۹۸	۰/۰۰۷۳۳	۲۵/۰۱۰	۰/۸۹
	شاهد	٤٨	۰/۹۲	۰/۰۰۸٤٦		
دوم	آزمایش	٤٨	۱/۱۵	۰/۰۱۲۸۸	۹۵/۱٤۹	۰/۸۲
	شاهد	٤٨	۱/۲۵	۰/۰۰۷۸۱		
سوم	آزمایش	٤٨	۱/۲۱	۰/۰۰۷۰۳	۲۳۰/۹۰۲	۰/۰۳۲*
	شاهد	٤٨	۱/٤٤	۰/۰۰۵۰۵		
چهارم	آزمایش	٤٨	۱/۳۸	۰/۲٤۹۱۱	٦/۸۱۱	۰/۰۲۸*
	شاهد	٤٨	۱/٦۲	۰/۰۰٦۹٤		
پنجم	آزمایش	٤٨	۱/۵۲	۰/۰۳۷۰۷	٤٦/۳۳۰	۰/۰۰۱*
	شاهد	٤٨	۱/۸۹	۰/۰۰۵۰۵		
ششم	آزمایش	٤٨	۱/٦۸	۰/۰۰۸۲۵	۹۹/٦۷۰	۰/۰۰۱*
	شاهد	٤٨	۱/۹۲	۰/۰۱۰٦٤		

* اختلاف معنی‌دار با گروه شاهد (p<۰/۰۱).

- یافته‌های مربوط به هیستومورفولوژی روده باریک: جدول ۳، تاثیر معنی‌دار ترکیب مورد نظر بر هیستومورفولوژی بخش دودنوم روده باریک در صفات ارتفاع پرزها، عمق کریپت و ضخامت لایه مخاطی را نشان می‌دهد (p<۰/۰۱)، به‌طوری‌که هر سه شاخص یادشده در گروه آزمایش نسبت به گروه شاهد افزایش یافته است. ولی صفات دیگر از جمله ضخامت اپی‌تلیوم، ضخامت لایه عضلانی و تعداد سلول‌های جامی شکل تحت تاثیر این ترکیب قرار نگرفتند (p>۰/۰۵).

جدول ٤، تاثیر معنی‌دار ترکیب مورد نظر بر هیستومورفولوژی بخش ژوژنوم روده باریک را نشان می‌دهد. ترکیب مورد نظر در گروه آزمایش از لحاظ هیستومورفولوژی در بخش ژوژنوم روده باریک در صفات عمق کریپت و ضخامت لایه عضلانی تاثیر معنی‌داری ایجاد کرد (p<۰/۰۱)، به‌طوری‌که هر سه شاخص یادشده در گروه آزمایش نسبت به گروه شاهد افزایش یافت ولی صفات دیگر ازجمله ارتفاع پرزها، ضخامت اپی‌تلیوم، ضخامت لایه مخاطی و تعداد سلول‌های جامی‌شکل تحت تاثیر این ترکیب قرار نگرفتند (p>۰/۰۵).

جدول ۳ - نتایج آزمایش هیستومورفولوژی در بخش دودنوم روده باریک بر حسب میکرومتر

صفت مورد مطالعه	تیمار	تعداد نمونه	میانگین	انحراف معیار	مقدار t	سطح معنی‌داری
ارتفاع پرزها	شاهد	۸	۱۱۵۵/۲۰	۷۵/۱۳۶۶۲	۳/۸۶۹	۰/۰۰۱*
	آزمایش	۸	۱۲۶۸/۸۰	۵٤/۵۳۸۰٦		
عمق کریپت	شاهد	۸	۱۹۸/٤۰	۲۵/۱۷۱٤۱	۲/۱۵۱	۰/۰٤۵*
	آزمایش	۸	۲۲۵/۰۰	۲۹/۹۳۳۲٦		
ضخامت اپی‌تلیوم	شاهد	۸	۳۷/٤٤	٤/۱٦۹۳۲	۰/۰۱۸	۰/۹۸٦
	آزمایش	۸	۳۷/٤۰	۵/۷۷۷۳۵		
ضخامت لایه مخاطی	شاهد	۸	۱۳۱۳/۰۰	۹٦/۷۰۲۲۹	۲/٤۷۱	۰/۰۲٤*
	آزمایش	۸	۱٤۰٤/۰۰	٦٤/۸۵۵۳۹		
ضخامت لایه عضلانی	شاهد	۸	۲۰۸/۲۰	۳۰/٤۹۵۱۷	۰/۸۲۷	۰/٤۱۹
	آزمایش	۸	۲۱۸/۳۰	۲۳/۷۰۲۰۹		
تعداد سلول‌های جامی شکل	شاهد	۸	۱۰/۰۰	۱/٤۹۰۷۱	۰/۳٤۹	۰/۷۳۱
	آزمایش	۸	۹/۸۰	۱/۰۳۲۸۰		

* اختلاف معنی‌دار با گروه شاهد ($p<۰/۰۱$).

جدول ٤- نتایج آزمایش هیستومورفولوژی در بخش ژژنوم روده باریک بر حسب میکرومتر

صفت مورد مطالعه	تیمار	تعداد نمونه	میانگین	انحراف معیار	مقدار t	سطح معنی‌داری
ارتفاع پرزها	شاهد	۸	۹٦۷/۵۰	۹٤/٦۷۵۱۸	۰/٤٦۰	۰/٦۵۱
	آزمایش	۸	۹٤۷/۰۰	۱۰٤/۵۹۳۳۹		
عمق کریپت	شاهد	۸	۱۳۰/۱۰	۲۸/۷۰۳۲۷	۵/٤۱٦	۰/۰۰۱*
	آزمایش	۸	۱۸۷/۱۰	۱٦/۸٤۲۰۸		
ضخامت اپی‌تلیوم	شاهد	۸	۲٤/۹۰	۳/۷۵۵۰۰	۰/۳٤۸	۰/۷۳۲
	آزمایش	۸	۲۵/٤۰	۲/۵٤۷۳۳		
ضخامت لایه مخاطی	شاهد	۸	۱۱۲۵/۸۰	۱۰۰/۳٦۱۳۵	۰/٦۳۱	۰/۵۳٦
	آزمایش	۸	۱۰۹۷/۲۰	۱۰۲/۳۹۸۷۸		
ضخامت لایه عضلانی	شاهد	۸	۲۲۰/٦۰	۲۳/٤۳۸۸۱	۲/۳٦۹	۰/۰۲۹*
	آزمایش	۸	۲٦۳/۰۰	۵۱/۵۰۸۳٦		
تعداد سلول‌های جامی شکل	شاهد	۸	۱۲/۷۰	۱/۷٦٦۹۸	۰/٦۲۰	۰/۵٤۳
	آزمایش	۸	۱۳/۳۰	۲/٤۹٦٦٦		

* اختلاف معنی‌دار با گروه شاهد ($p<۰/۰۱$).

جدول ۵، تاثیر معنی‌دار ترکیب مورد مطالعه بر هیستومورفولوژی بخش ایلئوم روده باریک را نشان می‌دهد. ترکیب مورد نظر موجود در گروه آزمایش از لحاظ هیستومورفولوژی در بخش ایلئوم روده باریک در صفات ارتفاع پرزها، عمق کریپت، ضخامت لایه مخاطی و تعداد سلول‌های جامی شکل تاثیر معنی‌داری ایجاد

کرد (p<۰/۰۱)، به‌طوری‌که هر سه شاخص یادشده در گروه آزمایش نسبت به گروه شاهد افزایش یافته است ولی صفات دیگر از جمله ضخامت اپی‌تلیوم و ضخامت لایه عضلانی تحت تاثیر این ترکیب قرار نگرفتند (p>۰/۰۵).

جدول ۵ - نتایج آزمایش هیستومورفولوژی در بخش ایلئوم روده باریک بر حسب میکرومتر

صفت مورد مطالعه	تیمار	تعداد نمونه	میانگین	انحراف معیار	مقدار t	سطح معنی‌داری
ارتفاع پرزها	شاهد	۸	۷٤۳/٦۰	۹٤/۳۰۳٥۳	۳/۱۷۳	۰/۰۰٥*
	آزمایش	۸	۸۷٦/۲۰	۹۲/٥۷٥۲٥		
عمق کریپت	شاهد	۸	۱۱۲/٤۰	۲۰/۲۸۲٤٥	٥/٤۰۰	۰/۰۰۰۱*
	آزمایش	۸	۱۷۳/۱۰	۲۹/۱۹۰۷٥		
ضخامت اپی‌تلیوم	شاهد	۸	۲٦/۸۰	٤/۷۰۹۳۳	۰/٤۱۰	۰/٦۸۷
	آزمایش	۸	۲٥/۸۰	٦/۱۰٦٤٦		
ضخامت لایه مخاطی	شاهد	۸	۸٦۰/٦۰	۹۹/۱٥٦٦۷	۳/۸۳٦	۰/۰۰۱*
	آزمایش	۸	۱۰۱٤/۰	۷۸/٤۸۰۰۰		
ضخامت لایه عضلانی	شاهد	۸	۳۳٤/۱۰	۳٤/۱۸۷۲۳	۱/۷۱۹	۰/۱۰۳
	آزمایش	۸	۳۰۹/۷۰	۲۹/۰۷٤۸۱		
تعداد سلول‌های جامی شکل	شاهد	۸	۱۸/٤۰	۲/٤۱۲۹۳	۲/۲۲۸	۰/۰۰٥*
	آزمایش	۸	۲۰/۹۰	۲/٦۰۱۲۸		

* اختلاف معنی‌دار با گروه شاهد (p<۰/۰۱)

بحث و نتیجه‌گیری

در بررسی حاضر استفاده از ترکیب پروبیوتیک، آنزیم لاکتاز و آنتی‌بادی‌های اختصاصی در آب آشامیدنی گروه آزمایشی از لحاظ ضریب تبدیل، تاثیر معنی‌داری در دوره رشد (٤۲-۱٤ روزگی) ایجاد کرد. ترکیب مورد نظر تاثیر معنی‌داری بر هیستومورفولوژی بخش دودنوم روده باریک در صفات ارتفاع پرزها، عمق کریپت و ضخامت لایه مخاطی دارد. همچنین استفاده از این ترکیب در گروه آزمایش از لحاظ هیستومورفولوژی در بخش ژوژنوم روده باریک در صفات عمق کریپت و ضخامت لایه عضلانی تاثیر معنی‌داری ایجاد کرد، به‌طوری‌که هر سه شاخص یادشده در گروه آزمایش نسبت به گروه شاهد افزایش یافته است. استفاده از این ترکیب در گروه آزمایش از لحاظ هیستومورفولوژی در بخش ایلئوم روده باریک در صفات ارتفاع پرزها، عمق کریپت، ضخامت لایه مخاطی و تعداد سلول‌های جامی شکل نیز تاثیر معنی‌داری ایجاد کرد.

در مطالعه‌ای که تاثیر افزودن پروبیوتیک به جیره تیمار آزمایش در مقایسه با تیمار شاهد مورد بررسی قرار گرفت، پروبیوتیک افزوده‌شده به جیره در دوره‌های آزمایشی ۲۱-۰ و ۲۸-۲۱ روزگی، ضریب تبدیل غذایی را نسبت به گروه شاهد کاهش داد ولی این کاهش معنی‌دار نبود (Mir babaei Langerodi *et al.*, 2012). یافته‌های میربابایی لنگرودی و همکاران حاکی از آن

است که افزودن پروبیوتیک تا سن ۲۸ روزگی می‌تواند از جهت کاهش ضریب تبدیل و بالا بردن افزایش وزن متوسط در جوجه‌های گوشتی مفید واقع شود. کریمی و رحیمی در سال ۱۳۸۲ احتمال داده‌اند که دلیل افزایش وزن، بر اثر بهبود میکروفلور روده بوده است (Karimi and Rahimi, 2003). تفاوت اندک یافته‌های آزمایشات کریمی و رحیمی با نتایج مطالعه حاضر شاید در میزان دوز پروبیوتیک داده شده باشد. در مطالعه سوجیو و همکاران در سال ۱۹۹۰، تاثیر پروبیوتیک بر عملکرد جوجه‌های گوشتی در دوره‌های آغازین، رشد و پایانی مورد بررسی قرار گرفت. مطالعه ایشان نشان داد که استفاده از پروبیوتیک در گروه آزمایش سبب بهبود فاکتورهای رشد شامل افزایش وزن متوسط، ضریب تبدیل غذایی، میزان متوسط دان خورده‌شده و کاهش تلفات دوره پرورشی در مقایسه با گروه شاهد شده است (Sucio *et al*., 1990). سوسیو و همکاران نشان دادند که استفاده از پروبیوتیک سبب افزایش معنی‌دار بازده لاشه، وزن کل دستگاه گوارش، وزن پانکراس و طول روده‌های کور می‌شود. همچنین مقدار چربی حفره شکمی در جوجه‌های تغذیه‌شده با پروبیوتیک نسبت به گروه شاهد کاهش معنی‌داری را نشان داده است. سوسیو و همکاران احتمال دادند که پروبیوتیک سبب کاهش pH روده باریک شده و از این طریق محیط روده باریک را برای پاتوژن‌های بیگانه نامساعد کرده و باعث افزایش معنی‌دار بازده لاشه می‌شود (Jafari Ahangari *et al*., 2010). نتایج مطالعه جعفری آهنگری و همکاران در موارد مشترک آزمایشات انجام‌گرفته با یافته‌های مطالعه ما هم‌خوانی دارد. در مطالعه میربابایی لنگرودی و همکاران در سال ۱۳۹۱، تاثیر مصرف پروبیوتیک بر ضریب تبدیل و مصرف خوراک مورد بررسی قرار گرفت. یافته‌های پژوهش نامبردگان نشان داد که استفاده از پروبیوتیک پروتکسین و اسید فرمیک، مصرف خوراک در جوجه‌های گوشتی را به ترتیب تا ۱۴۱/۸۰۷ گرم و ۱۴۱/۰۵۱ گرم کاهش داد. در دوره‌های رشد و پایانی، ضریب تبدیل غذایی در گروه‌های آزمایش بهبود یافت. نتایج بررسی ایشان همچنین نشان داد که مصرف پروتکسین و اسید فرمیک باعث کاهش ضریب تبدیل غذایی و افزایش وزن بورس و تیموس می‌شود ولی مصرف هم‌زمان آنها تاثیر هم‌افزایی ندارد (Mir babaei Langerodi *et al*., 2012). بنابراین مشاهده می‌شود که یافته‌های پژوهش حاضر در خصوص آزمایشات انجام گرفته مشترک، با نتایج مطالعه میربابایی لنگرودی و همکاران هم‌خوانی نشان می‌دهد.

در مطالعه حاضر، استفاده از ترکیب پروبیوتیک، آنزیم لاکتاز و آنتی‌بادی اختصاصی در آب آشامیدنی جوجه‌های گوشتی از لحاظ ضریب تبدیل، تاثیر معنی‌داری در دوره رشد (۴۲-۱۴ روزگی) ایجاد کرد ولی ضریب تبدیل غذایی در دوره آغازین (۱۴-۱ روزگی) تحت تاثیر ترکیب داده شده به تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت. بیشترین تاثیر ترکیب مورد استفاده در دوره پایانی (۴۲-۲۵ روزگی) بود به‌طوری‌که، ضریب تبدیل غذایی به‌صورت معنی‌داری در گروه آزمایش نسبت به گروه شاهد، بهبود پیدا کرد.

با توجه به این‌که بیشتر مواد افزودنی از جمله آنتی‌بیوتیک‌ها تاثیر خود را بر عملکرد جوجه‌های گوشتی به‌واسطه فعالیت ضد میکروبی و تاثیر بر فلور میکروبی دستگاه گوارش اعمال می‌کنند، از این‌رو شرایط پرورش، میزان آلودگی و درگیری پرندگان با

باکتری‌های بیماری‌زا در محیط پرورشی می‌توانند در نتیجه آزمایشات با این مواد افزودنی موثر باشد. همچنین عقیده بر این است که میزان دوز مصرفی و ترکیبات مورد استفاده در آزمایش نیز می‌تواند در نتایج مختلف به‌دست آمده موثر باشد، زیرا میزان تاثیر افزودنی‌ها بر اساس سن حیوان، مدت زمان استفاده، بروز انواع تنش‌ها، برنامه‌های مدیریتی و شرایط محیطی متفاوت است (Zakia *et al.*, 2008). فلور میکروبی دستگاه گوارش نقش مهمی در سلامت و عملکرد بهینه پرندگان ایفا می‌کند. مصرف ترکیب جایگزین‌شونده پروتئینی در جیره غذایی جوجه‌های گوشتی در تحقیق سوجیو و همکاران در سال ۱۹۹۰، باعث بهبود فاکتورهای رشد از جمله کاهش ضریب تبدیل غذایی و افزایش متوسط وزن نهایی در مقایسه با گروه شاهد شده است (Sucio *et al.*, 1990). طی مطالعه‌ای گزارش شده است که مصرف پری‌بیوتیک‌ها، پروبیوتیک‌ها و اسیدهای آلی، محیط میکروبی مناسبی را در دستگاه گوارش پرندگان با کاهش تعداد میکروب‌های بیماری‌زا ایجاد کرده و هضم، جذب و کارآیی مصرف خوراک را افزایش می‌دهد. به نظر می‌رسد استفاده از این ترکیب در دوران استارتر، میکروفلور روده باریک، رشد ویلی‌ها و میکروویلی‌های دیواره روده را تقویت می‌کند (Chichlowski *et al.*, 2007). در این خصوص عقیده بر این است که به‌دلیل شروع رشد پرزها در این دوره و شروع بهبود جذب مواد غذایی، احتمال معنی‌دار بودن تغییرات کمتر می‌باشد چراکه زمان لازم برای مشخص شدن نتایج کمتر خواهد بود. ولی بعد از ١٤ روزگی و افزایش زمان تاثیر این ترکیب در سلول‌های روده باریک، افزایش ارتفاع ویلی‌ها بیشتر و میزان افزایش وزن پایان دوره و ضریب تبدیل غذایی نیز بهبود می‌یابد. در مطالعه چیکلووسکی و همکاران، تغییر در پارامترهای هیستومورفولوژی روده باریک به‌ویژه عمق کریپت‌های روده همسو با نتایج مطالعه حاضر می‌باشد. در مطالعه تشفام و همکاران در سال ۲۰۰۵، تاثیر سطوح مختلف پروبیوتیک بر مورفولوژی مخاط روده در جوجه‌های گوشتی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاکی از آن بود که مصرف سطوح مختلف پروبیوتیک موجب افزایش طول خمل‌های ابتدایی روده باریک در جوجه‌های آزمایشی نسبت به گروه شاهد گردیده ولی عرض خمل‌ها تغییری نمی‌کند. در بررسی ایشان، عمق کریپت‌های غدد لیبرکوهن در ابتدا و انتهای روده کوچک افزایش یافت ولی در قسمت‌های میانی روده تغییری ایجاد نشده بود. ایشان احتمال دادند که دلیل نتایج فوق، تحریک غدد لیبرکوهن توسط پروبیوتیک و در نتیجه افزایش تقسیم سلولی در این غدد می‌باشد (Teshfam *et al.*, 2005). نتایج آزمایشات تشفام و همکاران نیز با نتایج مطالعه ما در مورد آزمایشات مشترک انجام‌گرفته، همخوانی دارد. در مطالعه‌ای دیگر تاثیر دو نوع پروبیوتیک متفاوت بر وزن بدن، اندام‌های سیستم ایمنی و بافت روده مورد مقایسه قرار گرفت. نتایج حاصله نشان داد که طی ۳ روز اول پرورش نسبت طول ژوژنوم به وزن زنده در گروه مصرف‌کننده پروبیوتیک بر پایه باسیلوس و همچنین طول ایلئوم در هر دو گروه مصرف‌کننده پروبیوتیک نسبت به گروه شاهد بیشتر بود (Chichlowski *et al.*, 2007). همچنین در مطالعه علی اکبرپور و همکاران در سال ۲۰۱۵، میانگین وزن زنده جوجه‌های مصرف‌کننده پروبیوتیک بر پایه باسیلوس در ۳ روزگی نسبت به گروه شاهد

کمتر گزارش شده و در واقع صفات مورفولوژیک ژوژنوم در سن ۳ و ۷ روزگی تحت تاثیر مصرف پروبیوتیک قرار نگرفته است (Aliakbarpour *et al.*, 2015). یافته‌های پژوهش حاضر با توجه به نتایج ثبت‌شده در جداول مربوطه با نتایج آزمایشات علی اکبرپور و همکاران نیز هم‌خوانی دارد.

با توجه به نتایج به‌دست آمده از بررسی حاضر به‌نظر می‌رسد استفاده از ترکیب پروبیوتیک، آنزیم لاکتاز و آنتی‌بادی اختصاصی با تقویت میکروفلور روده و افزایش ایمنی مخاطی روده و با حذف پاتوژن‌ها باعث بهبود شاخص‌های قسمت‌های مختلف روده باریک از جمله ارتفاع ویلی‌ها و عمق کریپت‌ها شده و باعث افزایش سطح جذب مواد غذایی و بهبود فاکتورهای رشد می‌گردد. همچنین استفاده از این ترکیب به عنوان محرک رشد طبیعی و بهبوددهنده سیستم ایمنی در جوجه‌های گوشتی می‌تواند با بهبود شاخص‌های هیستومورفولوژیکی روده باعث بهبود فاکتورهای رشد گردد.

سپاسگزاری

نگارندگان مراتب سپاس خود را از کلیه دست‌اندرکاران آزمایشگاه بافت‌شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز به‌ویژه جناب آقای دکتر سید اسماعیل صفوی به‌خاطر انجام بررسی‌های هیستولوژی ابراز می‌دارند.

تعارض منافع

نویسندگان اظهار می‌دارند که در این مطالعه هیچ‌گونه تضاد منافعی وجود ندارد.

منابع

- Aliakbarpour, H., Karimi Tarshizy, M., Rezaeian, M., Kelarikelaei, K. and Dozori, R. (2015). Effect of probiotics in broiler diets on growth, immune system organs and small intestinal morphology in the first week of age. Journal of Veterinary Research, 60(3): 92-98. [In Persian]
- Chichlowski, M.J., Croom, B.W., Mc Bride, L., Danile, G.D. and Kaci, D.C. (2007). Direct fed microbial primalc and sally nomay cine modulate whole body and intestinal oxygen consumption and intestinal mucosal cytokine production in the broiler chick. Poultry Science, 86(2): 1100-1106.
- Jafari Ahangari, Y., Parizadian Kavan, B. and Hoseini Zadeh, M. (2010). Effect of probiotics on performance and safety parameters of broiler chickens. Journal of Research in Livestock Production, 8(2): 3-8. [In Persian]
- Kabir, M.L., Rahman, M.B., Rahman, M.M. and Ahmed, S.U. (2004). The dynamics of probiotics on growth performance and immune response in broilers. Poultry Science, 3(4): 361-364.
- Karimi, K. and Rahimi, Sh. (2003). Effect of different levels of Probiotics on performance of broiler chickens. Journal of Research and Development in Cattle Breeding and Aquaculture, 60(2): 19-24. [In Persian]
- Khaksefifi, A. and Ghoorchi, T. (2006). Effect of probiotic on performance and immune competence in broiler chicks. Poultry Science, 43(3): 296-300.

- Laudadio, V., Passantino, L., perillo, A., Lopresti, G. and Passantino, A. (2011). Productive performance and histological features of intestinal mucosa of broiler chickens fed different dietary protein levels. Poultry Science, 91(1): 265-270.
- Mir Babaei Langerodi, N., Mohammadi, M. and Rostaei Ali Mehr, M. (2012). Effect of Probiotic protexin and formic acid on performance of broiler chickens. Journal of Research in Livestock Production, 38(4): 380-386. [In Persian]
- Mortazavian, A. and Sohrab Vandi, S. (2006). Probiotics and Probiotic Food Products. Iran: Tehran, Ata Publication, pp: 20-76. [In Persian]
- Sucio, I., Miclea, I. and Lonzone, T.D. (1990). Effect of replacing part of the protein in the diet with urea, in the present of volcanic tuff zeolite, on the performance of broiler chickens. Buletinul Institutului Agronomic, 44(2): 33-18.
- Teshfam, M., Rahimi, S.H. and Karimi, K. (2005). Effect of probiotics on intestinal mucosal morphology of broiler chickens. Journal of Veterinary Research, 24(2): 18-23. [In Persian]
- Zakia, A., Mahmed, M., Zahraa, H. and Ghamdi, E.L. (2008). Multiple environmental stresses and broiler internal organs somatic indices under controlled environment. International Journal of Poultry Science, 7(4): 1089-1094.

The effect of combination of probiotic, lactase enzyme and special antibodies on growth factors and histomorphology of small intestine in broiler chickens

Sarvghad, M.H.[1], Zakeri, A.[2*]

1- Graduate of Animal Nutrition, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran.
2- Assistant Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran.
*Corresponding author's email: zakeri@iaut.ac.ir
(Received: 2017/4/5 Accepted: 2018/4/29)

Abstract

Improvement of the immune system response along with increase in performance and growth factors are important goals of the modern poultry industry. The aim of this study was to determine the effect of combination of probiotic, lactase enzyme and special antibodies on improving the small intestinal histomorphology and growth factors in broiler chickens. For this purpose, 96 broilers (Ross 308) were distributed randomly into two groups of 48 with 4 replicates of 12 chicks. In the experimental group, two grams of the test compound was used in water for 42 days. All birds were weighed at the end of each week in order to investigate their growth factors. For histomorphological characterization, two broilers from each replicate were selected and the entire small intestine was removed and sent to the histology lab. The results indicated a significant difference in growth factors between the two groups from the third to the sixth week ($p<0.01$). Crypt depth, villi height, thickness of muscular and mucosal layers and the number of goblet cells in different parts of the intestine was significantly different between the two groups ($p<0.01$). The results showed that this compound can improve intestinal histomorphology and increase nutrient absorption and efficiency of food and improve growth factors therefore it seems that its use can improve the standard of growth in the poultry industry.
Conflict of interest: None declared.
Keywords: Probiotic, Lactase enzyme, Small intestine, Growth factor, Broiler chickens.