نشریه دامپزشکی
در
پژوهش و سازندگی شماره ۱۱۵ تابستان ۱۳۹۶
DOI: 10.22034/vj.2017.109234

بررسی اثرات سطوح مختلف پروبیوتیک بتاپلاس بر ساختار بافت‌شناسی دوازده بلدرچین ژاپنی *(Coturnix Japonica)*

• **محمدرضا اسدی**
عضو هیات علمی موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی،
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی
تاریخ دریافت: بهمن ۹۴ تاریخ پذیرش: خرداد ۹۵
Email: asadimohammadreza@yahoo.com

چکیده

یکی از روش‌های نوین جهت حفظ سلامت گله، استفاده از پروبیوتیک‌ها به جای آنتی بیوتیک‌ها می‌باشد. هدف از این تحقیق بررسی اثر سطوح مختلف پروبیوتیک بتاپلاس در جیره غذایی بر هیستومورفومتری بخش دوازدهه بلدرچین ژاپنی بود. در این مطالعه،تعداد ۲۸۸ قطعه جوجه بلدرچین ژاپنی، در قالب طرح بلوک کاملاً تصادفی ودر شش گروه مورد استفاده قرار گرفتند.شش گروه مورد استفاده به ترتیب شامل یک گروه شاهد با دریافت جیره معمولی، گروه‌های دریافت‌کننده سه سطح ۰/۵، ۱ و ۱/۵گرم در کیلوگرم از پروبیوتیک بتاپلاس، گروه دریافت‌کننده بتاپلاس با دوز ۱ گرم بر کیلوگرم به همراه جیره با کمبود پروتئین و نهایتاً گروه تیماربا دریافت جیره با کمبود پروتئین و بدون پروبیوتیک بود. پس از ۵ هفته،بلدرچین‌ها کشتار و نمونه‌های روده جهت انجام مراحل بافت‌شناسی اخذ شدند. روده‌ها پس از فیکس شدن وارد مراحل بافت‌شناسی شده و پس از تهیه مقاطع بافتی از نظر طول وضخامت پرزها، عمق وعرض کریپت‌ها، ضخامت لایه عضلانی و اپی‌تلیوم و تعداد سلول‌های جامی‌شکل مورد ارزیابی قرار گرفتند. نتایج حاصل از این بررسی نشان داد که پروبیوتیک بتاپلاس سبب افزایش معنی‌دار فراسنجه‌های طول پرز، عمق کریپت و ضخامت لایه اپی‌تلیال می گردد(P<۰/۰۵).در نهایت چنین می‌توان نتیجه‌گیری کرد که استفاده از بتاپلاس می‌تواند با بهبود فراسنجه‌های بافتی بخش دوازدهه، نقش قابل توجهی در ارتقاء عملکردگوارشی گله‌های بلدرچین داشته باشد.

کلمات کلیدی: هیستومورفومتری؛ بلدرچین؛پروبیوتیک؛ بتاپلاس؛ روده

● Veterinary Journal (Pajouhesh & Sazandegi) No 115 pp: 158-166

Study on the effects of betaplus probiotic on the duodenal histology in Japanese quail (***Coturnix Japonica***)

By: Asadi, M.R., Razi Vaccine & Serum Research Institute, Agricultural Research, Educationa and Extension Organisation (AREEO), Tehran, Iran.

Email:asadimohammadreza@yahoo.com

Received: 2016-02-01 Accepted: 2016-06-12

Use of probiotics instead of antibiotics is one of the new methods to maintain herd health. This study was conducted to evaluate the effects of different levels of dietary betaplus probiotic on duodenal histomorphometry in Japanese quail. In this study 288 Japanese quail were subjected in a randomized block design within 6 groups. 6 groups included a control group receiving normal diet, groups receiving three levels of betaplus probiotic (0.5, 1and1.5 g/kg diet), group receiving betaplus at the dose rate of 1g/kg diet with protein deficiency and finally, group receiving diet with protein deficiency and without probiotic. After 5 weeks, quails were slaughtered and intestinal samples were collected. After fixation and preparation of histological sections, villi length and thickness, crypts depth and width, epithelial and muscular thickness and the number of goblet cells were evaluated. The results showed the significant increase in parameters including villi length, crypt depth, and thickness of the epithelium in groups received beta-plus probiotic($P<0.05$). Finally, it can be concluded that use of betaplus probiotic may have a significant role in increasing the digestive efficiency of quail herds by improving tissue parameters of the duodenum.

Key words: histomorphometric; quail; probiotic; betaplus; intestine

مقدمه

رشد چشمگیر نیازهای انسانی به پروتئین‌های حیوانی سبب اهلی‌سازی و پرورش بسیاری از حیوانات و گونه‌های جدید شده است. صنعت طیور به عنوان یک صنعت زودبازده در این زمینه همواره مورد توجه قرار گرفته است.بلدرچین به لحاظ سن پایین قابل عرضه به بازار (حدود ۶-۵ هفتگی برای مصرف گوشت)، ضریب تبدیل غذایی مطلوب، نیاز به فضای پرورشی کم نسبت به مرغ، مقاومت نسبت به بیماری‌ها و دارا بودن هزینه کم برای پرورش، توجه پرورش‌دهندگان تجاری را به خود جلب کرده است (۲۰).

امروزه کاهش استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها و سایر فرآورده‌های دارویی در پرورش طیور موضوع مهمی در تولید و سلامت خوراک انسان است و تلاش‌های روزافزونی برای بهبود بهداشت خوراک، حفظ آسایش و سلامت طیور و کاهش نگرانی از پیامدهای زیست محیطی پرورش طیور، در جریان است (۱۳).یکی از روش‌های به کار رفته جهت حفظ سلامت گله و در عین حال کاهش استفاده از آنتی بیوتیک‌ها، استفاده از غذاهای میکروبی به خصوص پروبیوتیک‌ها می‌باشد که اخیراً مورد توجه محققین و پرورش دهندگان قرار گرفته است (۹). پروبیوتیک‌ها مکمل‌های میکروبی زنده‌ای هستند که از طریق بهبود تعادل میکروبی روده اثرات مفیدی را بر میزبان اعمال می‌کنند. اثر مفید پروبیوتیک‌ها از راه‌های متفاوتی مانند تحریک سیستم ایمنی، رقابت با میکروب‌های بیماری‌زا در روده، تولید آنزیم‌های گوارشی و بهبود عملکرد طیور گزارش شده است (۱۹). روده باریک اصلی‌ترین محل جذب مواد غذایی در تمام حیوانات می‌باشد. قسمت دوازدهه روده باریک محل اصلی گوارش شیمیایی است که آنزیم‌های روده‌ای و لوزالمعده نقش عمده‌ای در این گوارش دارنداز این رو یکی از مهمترین قسمت‌های دخیل در گوارش مواد غذایی قسمتی از دوازدهه می‌باشد (۱۰).

پروبیوتیک بتاپلاس متشکل از باسیلوس سوبتیلیس و باسیلوس لیشنی‌فرمیس همراه با بتائین است. این باسیل‌ها برای اینکه بتوانند در روده باریک مستقر شوند به گیرنده‌های واقع در پرزها متصل می‌شوند. این خود بیانگر ارتباط بسیار نزدیک بین باکتری‌ها و پرزهای روده باریک است. باکتری‌های باسیلوس سوبتیلیس و باسیلوس لیشنی فرمیس هر دو در روده باریک مستقر هستند (۱۰). در مطالعه‌ای نشان داده شده است که افزودن دو باکتری باسیلوس سوبتیلیس و باسیلوس لیشنی فرمیس به جیره غذایی جوجه-های گوشتی باعث افزایش در طول پرزها و عمق کریپت‌ها در ابتدای روده باریک شده ولی بر پارامتر عرض پرز تأثیری نداشته است. بر اساس این مطالعه مناسب‌ترین مکان برای استقرار دو باکتری فوق قسمت ۱۰ درصد ابتدایی روده می‌باشد (۱۹).

مشخص شده است که هضم و جذب ترکیبات مختلف خوراک علاوه بر ارتباطی که با نواحی مختلف دستگاه گوارش و کیفیت خوراک دارد، با فلور میکروبی موجود در دستگاه گوارش نیز مرتبط است. به علاوه سه جزء مهم در فرآیند هضم و جذب، یعنی دیواره لوله گوارش، خوراک و

میکروارگانیسم‌ها همگی در ارتباط متقابل با یکدیگر بوده و روی هم تأثیر می‌گذارند (۱۰).

با توجه به نقشی که دوازدهه در هضم مواد غذایی بر عهده دارد، و با در نظر گرفتن محل استقرار باکتری‌های *باسیلوس سوبتیلیس* و *باسیلوس لیشنی‌فرمیس*، هدف از تحقیق حاضر بررسی سطوح مختلف پروبیوتیک بتاپلاس در جیره غذایی بر ساختار بافت‌شناسی بخش دوازدهه روده کوچک بلدرچین است.

مواد و روش کار

این آزمایش در یکی از مزرعه‌های پرورش بلدرچین واقع در روستای رنگرز از توابع شهرستان شهریار و طی ماه‌های تیر و مرداد سال ۱۳۹۳ انجام گردید.بعد از آماده‌سازی سالن جهت اجرای آزمایش، تعداد ۲۸۸ قطعه جوجه بلدرچین ژاپنی سه روزه در این آزمایش استفاده شد. در این آزمایش از ۲۴ واحد (پن) آزمایشی به ابعاد ۶۰ سانتی‌متر طول و ۶۰ سانتی‌متر عرض استفاده شد، تعداد ۴۸ قطعه جوجه به هر واحد آزمایشی اختصاص داده شد.طی دوره پرورش نور سالن توسط لامپهای ۲۰۰ وات موجود در سقف سالن تامین شد. در طی ۴۸ ساعت اول ورود جوجه‌ها، نور دائم و از روز سوم به بعد در طول شبانه روز ۲۳ ساعت روشنایی و ۱ ساعت تاریکی در شب اعمال شد تا میزان تاریکی به ۶ ساعت افزایش یافت. همچنین کنترل رطوبت و دمای سالن از طریق هیتر و هواکش انجام شد. درجه حرارت سالن در هفته اول ۳۷ درجه سانتی‌گراد و در پایان هر هفته ۲/۵ درجه سانتیگراد کاهش داده شد و در نهایت در محدوده ۲۶-۲۷ درجه سانتیگراد تا پایان دوره آزمایش ثابت نگه داشته شد. تهویه سالن توسط دو پنجره و دو عدد هواکش تعبیه شده در آن‌ها، تأمین شد. از آنجایی که تهیه و نگهداری خوراک تازه مهم است خوراک در ظروفی که درپوش مناسبی داشتند در فضای تمیز، خشک و خنک و عاری از جانوران موذی ذخیره شدند. قبل از این که جوجه‌ها در زیر مادر مصنوعی قرار گیرند، کف با کاغذ پوشانده و خوراک روی آن پاشیده شد و دان خوری و آبخوری از غذا و آب پر شد (۲).تا سن۵روزگی برای تغذیه جوجه‌ها از سینی دانخوری و سپس تا پایان دوره از دانخوری مخصوص تهیه شده برای جلوگیری از هدر رفت دان استفاده گردید.

یک جیره پایه برای بلدرچین بر اساس ذرت و سویا مطابق با استفاده از احتیاجات مواد غذائی توصیه شده (۱۴) تنظیم شد. ترکیب جیره پایه و ترکیب مواد مغذی جیره‌های مورد استفاده به ترتیب در جدول۱ و جدول۲ گزارش شده است.

این آزمایش به صورت تصادفی در قالب طرح بلوک کاملاً تصادفی با ۲۸۸ قطعه جوجه بلدرچین ژاپنی نر و ماده شامل ۶ تیمار، ۴ تکرار، در هر تکرار ۱۲ قطعه و سهم هر تیمار ۴۸ قطعه انجام شد. بدین ترتیب ۶ تیمار مورد استفاده شامل یک گروه شاهد با دریافت جیره معمولی (Control)، گروه‌های دریافت کننده ۳ سطح ۰/۵، ۱ و ۱/۵ (به ترتیب ۵۰ درصد کمتر از دوز پیشنهادی شرکت سازنده سین-بیوتیک(۸) (T1)، دوز پیشنهادی شرکت سازنده سین‌بیوتیک (T2) و ۵۰ درصد بیشتر از دوز پیشنهادی شرکت سازنده سین‌بیوتیک (T3) گرم در کیلوگرم بتاپلاس، گروه دریافت کننده بتاپلاس با دوز پیشنهادی شرکت سازنده به همراه جیره با کمبود پروتئین (T4) و نهایتاًیک سطح شاهد بدون اضافه کردن منبع پروبیوتیکی و با دریافت جیره با کمبود پروتئین بود(۱۰درصد کمتر از جیره معمولی) (T۵).روزانه تمام واحدهای آزمایشی از لحاظ وجود تلفات بازدید و در صورت مشاهده تلفات در پن جوجه تلف شده مربوط به پن توزین و ثبت می‌شد.

پارامترهای موردارزیابی

در بررسی پارامترهای هیستومورفومتری پس از نمونه برداری از قسمت دوازدهه روده کوچک، نمونه‌ها به داخل فرمالین ۱۰درصدی بافری منتقل و پس از ۲۴ ساعت تعویض فرمالین صورت گرفت. پس از در نظر گرفتن مدت زمان ۱ هفته برای مرحله فیکس شدن، نمونه‌ها وارد مراحل روتین بافت‌شناسی شده و از آن‌ها مقاطع ۶-۵ میکرومتری تهیه شد (۶). مقاطع تهیه شده توسط رنگ‌آمیزی‌های هماتوکسیلین- ائوزین (برای بررسی‌های مورفومتری) و PAS (پریودیک اسید شیف) جهت شمارش سلول‌های جامی رنگ‌آمیزی شدند. شاخص‌های هیستومورفومتری اندازه گیری شده در قسمت دوازدهه شامل طول پرزها، ضخامت پرزها، عمق کریپت‌ها، عرض کریپت‌ها، ضخامت لایه عضلانی، ضخامت اپی‌تلیوم، و تعداد سلول های جامی شکل بود. تمام پارامترها بر اساس واحد میکرومتر اندازه گیری شد. شمارش تعداد سلول‌های جامی نیز در طول ۲۰۰ میکرومتر از مخاط روده شمارش شد.مطالعات هیستومورفومتری توسط دوربین دیجیتالی Dino-Lite lens و برنامه Dino-capture 2 software انجام گرفت.

برای بررسی داده ها از نرم افزار SPSS. ver 19 استفاده شد. توزیع داده ها بوسیله آزمون K-S کنترل شد و چون توزیع همه داده‌ها نرمال بود برای تجزیه تحلیل آنها از آزمونهای پارامتریک استفاده شد. برای مقایسه دو گروهی از t-test و برای مقایسه چند گروهی از آنالیز واریانس یک طرفه استفاده گردید. در صورت نیاز از تست تعقیبی Tukey بدنبال ANOVA استفاده شد. نتایج بصورت میانگین ± خطای معیار نشان داده شده و سطح معنی داری P<۰/۰۵ انتخاب شد.

نتایج

در بررسی نتایج هیستومورفومتری دوازدهه بین گروه‌های تیمار و شاهد از نظر طول پرز، گروه کنترل با تمام گروه‌ها به جز گروه T3 دارای اختلاف معنی‌دار بود. گروه T1 نیز علاوه بر گروه کنترل با گروه‌های T2، T3 و T4 دارای اختلاف معنی‌دار بود. گروه T3 تنها با دو گروه T2 و T5 دارای اختلاف معنی‌دار بود. این در حالی بود که گروه T4 با تمام گروه‌ها به جز گروه T3 دارای اختلاف معنی دار بود. نهایتاً گروه T5 نیز با هر سه گروه کنترل، T3 و T4 دارای اختلاف معنی دار بود. در بررسی این پارامتر بیشترین میزان طول کرک مربوط به گروه کنترل (۹۶۷/۹۳ ±۲۹/۶۴ µm) و کمترین میزان مربوط به گروه T1 (۳۰۹/۸۸ ±۱۲/۱۲ µm) بود (P<۰/۰۵) (جدول-۳، شکل-۱).

در بررسی ضخامت پرزها بین گروه‌های تیمار و شاهد، تنها دو گروه T2 و T5 با گروه کنترل دارای اختلاف معنی‌دار بودند. همچنین گروه T4 نیز با دو گروه T2 و T5 دارای اختلاف معنی‌دار بود. سایر گروه‌ها با یکدیگر فاقد اختلاف معنی‌داری بودند. این در حالی بود که بیشرین میزان ضخامت پرز مربوط به گروه T5 (۱۴۵/۳۳ ±۱۱/۶۴ µm) و کمترین میزان مربوط به گروه کنترل (۹۲/۷۷ ±۱,۲۹ µm) بود (P<۰/۰۵) (جدول-۳، شکل-۱).

جدول۱- اجزاء مواد خوراکی جیره‌های مورد استفاده در کل دوره

ماده خوراکی	درصد	مقدار (کیلوگرم)	ماده خوراکی	درصد	مقدار (کیلوگرم)
ذرت	۴۷/۸۲	۴۷/۸۲	نمک	۰/۲۷	۰/۲۷
کنجاله سویا	۳۵/۲	۳۵/۲	مکمل ویتامینه۱	۰/۲۵	۰/۲۵
گلوتن ذرت	۷/۰۰	۷/۰۰	مکمل معدنی۲	۰/۲۵	۰/۲۵
گندم	۵/۰۰	۵/۰۰	جوش شیرین	۰/۳	۰/۳
روغن سویا	۱/۲۶	۱/۲۶	دی ال-متیونین	۰/۱۸	۰/۱۸
دی کلسیم فسفات	۰/۸	۰/۸	ال-ترئونین	۰/۱۲	۰/۱۲
کربنات کلسیم	۱/۳۵	۱/۳۵	ال-لیزین هیدرو کلراید	۰/۲	۰/۲
مجموع= ۱۰۰ %					

در هر کیلوگرم این مکمل تأمین‌کننده‌ی ۹۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین A، ۲۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین D3، 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 اسید پانتوتنیک، ۲/۹ میلی‌گرم پیریدوکسین، ۶/۶ میلی گرم ریبوفلاوین، ۱/۸ میلی‌گرم تیامین بود.
۲- هر کیلوگرم خوراک این مکمل، تأمین کننده‌ی ۱۰ میلی‌گرم مس، ۰/۹۹ میلی‌گرم ید، ۵۰ میلی‌گرم آهن، ۹۹ میلی‌گرم اکسید منگنز، ۰/۲ میلی‌گرم سلنیوم و ۸۴ میلی‌گرم کولین بود.

جدول۲- ترکیب مواد مغذی جیره‌های مورد استفاده.

ترکیب مواد مغذی	مقدار
انرژی قابل متابولیسم (Kcal/ Kg)	۲۹۰۰
پروتئین (%)	۲۴
لیزین (%)	۱/۲۸
متیونین (%)	۰/۵۰
متیونین+ سیستئین (%)	۰/۸۲
ترئونین (%)	۱/۰۲
تریپتوفان (%)	۰/۲۸
آرژنین (%)	۱/۵۵
ایزولوسین (%)	۰/۹۸
کلسیم (%)	۰/۸۰
فسفر قابل دسترس (%)	۰/۳۰
سدیم (%)	۰/۱۵

در بررسی پارامتر عمق کریپت، گروه‌های T4 و T5 با هر سه گروه T1، T2 و T3 دارای اختلاف معنی‌دار بودند. سایر گروه‌ها فاقد اختلاف معنی‌دار با یکدیگر بودند. در رابطه با این پارامتر نیز بیشترین عمق کریپت مربوط به گروه T3 (۱۵۸/۵۶ ±۲۴/۵۷ µm) و کمترین میزان آن مربوط به گروه T1 (۶۲/۹۹ ±۲/۵۴ µm) بود (P<۰/۰۵) (جدول-۳، شکل-۱).

بررسی عرض کریپت نشان داده که گروه کنترل تنها با دو گروه T1 و T2 دارای اختلاف معنی‌دار است. همچنین گروه T1 با گروه‌های T2 و T5 دارای اختلاف معنی‌دار بود. گروه T2 به جز گروه کنترل با سایر گروه‌ها دارای اختلاف معنی‌دار بود. سایر گروه‌ها فاقد اختلاف معنی‌دار با یکدیگر بودند. این در حالی بود که در بررسی این پارامتر بیشترین میزان مربوط به گروه T2 (۵۰/۸۰ ±۱/۶۲ µm) و کمترین میزان مربوط به گروه T1 (۲۶,۹۱ ±۱,۸۸ µm) بود (P<۰/۰۵) (جدول-۳، شکل-۱).

در بررسی تعداد سلول‌های جامی بین گروه‌های تیمار و شاهد، تنها اختلاف معنی‌دار مشاهده شده مابین گروه T4 با دو گروه T1 و T2 بود. این در حالی بود که سایر گروه‌ها فاقد اختلاف معنی‌دار با یکدیگر بودند. همچنین بیشترین تعداد سلول‌های جامی شکل مربوط به گروه T2 (۱۷/۰۰ ±۲/۴۱) و کمترین تعداد مربوط به گروه T4 (۱۰/۰۰ ±۰/۴۰) بود (P<۰/۰۵) (جدول-۳، شکل-۲).

در بررسی ضخامت اپی‌تلیوم پوشاننده سطح روده، هر دو گروه T4 و T5 نه تنها نسبت به یکدیگر، بلکه نسبت به سایر گروه‌ها نیز دارای اختلاف معنی دار بودند. و این در حالی بود که بین سایر گروه‌ها اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. در این بررسی بیشترین ضخامت اپی‌تلیوم متعلق به گروه T4 (۲۳/۳۶ ±۱/۸۶ µm) و کمترین ضخامت مربوط به گروه T5 (۸,۱۶ ±۱,۱۴ µm) بود. (P<۰/۰۵) (جدول-۳، شکل-۱).

نهایتاً در بررسی ضخامت لایه عضلانی بخش دوازدهه، نشان داده شد که گروه شاهد به جز با گروه T3 با سایر گروه‌ها دارای اختلاف معنی‌دار است. همچنین گروه T1 به جز با گروه T4 با سایر گروه‌ها دارای اختلاف معنی‌دار بود. گروه T2 نیز به جز با گروه T5 با سایر گروه‌ها دارای اختلاف معنی‌دار بود. و به همین ترتیب گروه T3 به جز با گروه کنترل، و گروه T5 به جز با گروه T2 با سایر گروه‌ها دارای اختلاف معنی‌دار بودند. در بررسی این پارامتر نیز بیشترین ضخامت لایه عضلانی مربوط به گروه T4 (۸۰,۳۹ ±۲/۳۸ µm) و کمترین میزان آن مربوط به گروه T3 (۲۹/۵۷ ±۱/۳۷ µm) بود (P<۰/۰۵) (جدول ۳، شکل-۱).

بحث و نتیجه‌گیری

امروزه ایمنی مواد غذایی به طور جدی‌تری نسبت به قبل مورد توجه قرار گرفته است. به تازگی بسیاری از کشورها تمایل به عدم استفاده از آنتی‌بیوتیک به دلیل عوارض جانبی در انسان و پرنده دارند. محققان به دنبال کاهش به کارگیری مواد افزودنی در خوراک، مانند آنتی بیوتیک‌ها در تغذیه طیور هستند.جمعیت میکروبی روده باریک در ابتدا به استرپتوکوکسی‌های مدفوعی و کلی‌فرم‌ها محدود است. سپس لاکتوباسیل‌ها به تدریج غالب می‌شوند. در سکوم نیز به طور مشابه گونه‌های مدفوعی شامل استرپتوکوکسی‌ها، اشریشیاکولی، باکتروئیدها، و لاکتوباسیلوس‌ها، طیف غالب هستند. بنابراین، گونه‌های لاکتوباسیلوس، جزو فلور طبیعی میکروب‌های کانال گوارش طیور محسوب می‌شوند.با این وجود، در شرایط تنش‌زا، فلور میکروبی تغییر می‌کند. این موضوع منجر به برهم زدن تعادل جمعیت میکروبی لوله گوارش، و به تبع آن، کاهش توان ساز و کارهای دفاعی بدن شده که پیامد نهایی آنها، حساسیت در برابر بیماری است. غالباً در چنین شرایطی، افزودنی‌های خوراکی ضد میکروبی همچون آنتی‌بیوتیک‌ها، به منظور حذف میکروارگانیسم‌های زیان آور، بهبود رشد و راندمان مصرف خوراک مورد استفاده قرار می-گیرند. با این وجود، در بسیاری از کشورها، به علت نگرانی عمومی از اثرات احتمالی پس مانده‌های آنتی بیوتیکی و یا بروز گونه‌های باکتری مقاوم به دارو، استفاده از آنتی بیوتیک ممنوع شده است (۱۲). در مطالعه حاضر بیشترین میانگین طول پرز و عمق کریپت در گروه دریافت‌کننده بتاپلاس با دوز ۱/۵گرم در کیلوگرم مشاهده شد. همچنین در گروه دریافت‌کننده بتاپلاس با دوز

جدول ۳- نتایج بررسی هیستومورفومتری بخش دوازدهه روده کوچک بین گروه‌های تیمار و کنترل. حروف غیر مشابه نشان دهنده دارا بودن اختلاف معنی‌دار بین گروه‌ها می‌باشد (P<۰/۰۵).

	طول پرز	ضخامت پرز	عمق کریپت	عرض کریپت	تعداد سلول جامی	ضخامت بافت پوششی	ضخامت لایه عضلانی
شاهد	۹۶۷/۹۳ ±۲۹/۶۴ a	۹۲/۷۷ ±۱/۲۹ ac	۱۰۱/۶۲ ±۱/۵۶ ac	۴۲/۱۸ ±۲/۵۴ ac	۱۴/۷۵ ±۰/۸۵ ab	۱۳/۴۹ ±۰/۷۹ a	۳۱,۰۷ ±۰/۹۷ a
T1	۳۰۹/۸۸ ±۱۲/۱۲ b	۱۱۸/۵۰ ±۶/۵۸ abc	۶۲/۹۹ ±۲/۵۴ a	۲۶/۹۱ ±۱/۸۸ b	۱۵/۵۰ ±۰/۶۴ a	۱۴/۴۵ ±۰/۳۹ a	۷۳/۶۴ ±۴/۱۷ b
T2	۴۷۷/۵۱ ±۲۸/۳۹ c	۱۴۴/۸۲ ±۲/۰۷ b	۸۹/۲۹ ±۳/۱۵ a	۵۰/۸۲ ±۱/۶۲ c	۱۷/۰۰ ±۲/۴۱ a	۱۵/۰۰ ±۰/۶۸ a	۵۵/۳۹ ±۱/۳۷ c
T3	۸۵۶/۹۹ ±۶/۸۶ ad	۱۱۴/۵۸ ±۹/۳۳ abc	۱۵۸/۵۶ ±۲۴/۵۷ bc	۳۳/۸۵ ±۱/۹۷ ab	۱۲/۰۰ ±۰/۷۰ ab	۱۸/۳۸ ±۱/۰۵ a	۲۹/۵۷ ±۱/۳۷ a
T4	۷۴۴/۷۹ ±۲۱/۹۹ d	۱۰۶/۳۳ ±۶/۴۸ c	۱۳۹/۰۶ ±۷/۵۹ c	۳۵/۳۲ ±۱/۹۵ ab	۱۰/۰۰ ±۰/b۴۰	۲۳/۳۶ ±۱/۸۶ b	۸۰/۳۹ ±۲/۳۸ b
T5	۳۳۶/۸۲ ±۴۹/۹۴ bc	۱۴۵/۳۳ ±۱۱/۶۴ b	۶۴/۴۲ ±۱/۶۴ a	۴۰/۶۸ ±۲/۹۵ a	۱۵/۰۰ ±۰/۴۰ ab	۸/۱۶ ±۱/۱۴ c	۴۸/۰۹ ±۲/۷۷ c

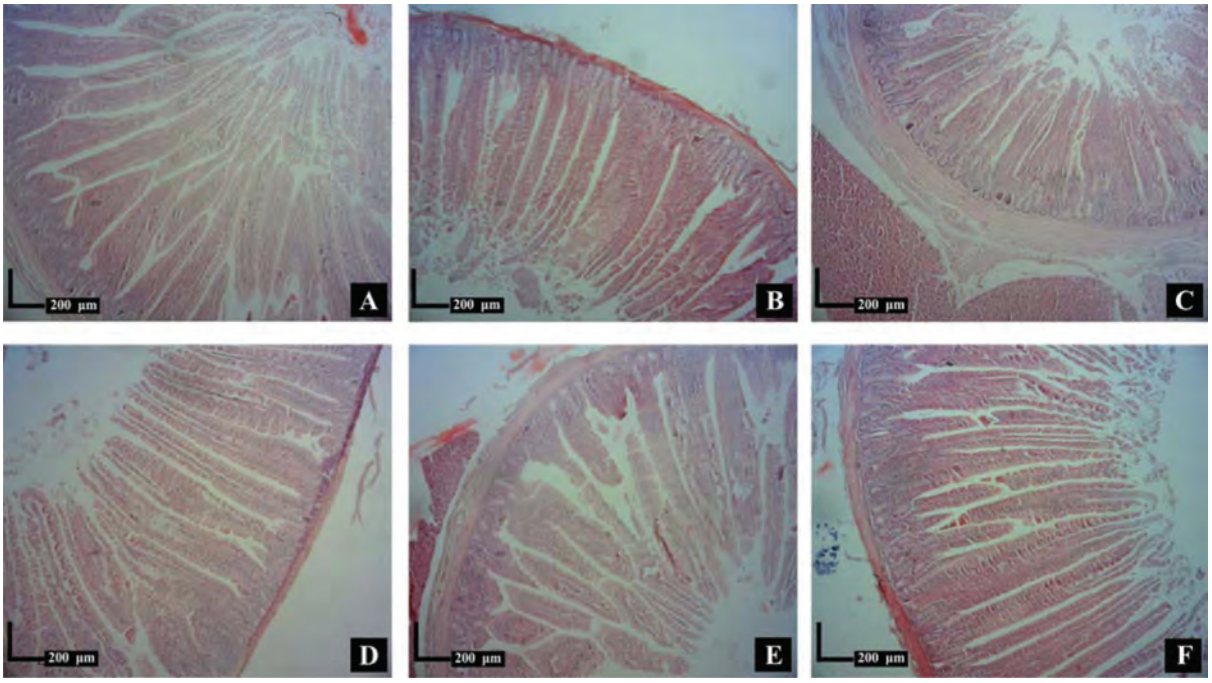
۱/۵گرم در کیلوگرم نسبت به دوزهای ۰/۵ و ۱ گرم در کیلوگرم ضخامت اپی‌تلیوم بیشتری مشاهده شد. در حالی که بیشترین تعداد سلول جامی و عرض کریپت مربوط به دوز ۱ گرم در کیلوگرم بتاپلاس بود.

در گزارشی با استفاده از یک فرآورده تجاری به نام پروبیولاک (Pro-biolac) که حاوی ۶ سویه میکروارگانیسم مختلف بود، در جیره طیور مشاهده شد که افزودن پروبیوتیک به میزان ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم در جیره موجب افزایش وزن جوجه‌ها و کاهش حساسیت آن‌ها در چالش با *اشریشیا کولی* می‌گردد (۱۷).پژوهشگران بر این باورند که باکتری‌های دارای توان مقاومت در برابر آنتی‌بیوتیک، هنگام حضور در بدن حیوان، این مقاومت را کسب نموده‌اند. چنین سویه‌های مقاومی، سپس از طریق غذا یا در اثر تماس با حیوان یا مواد دفعی از حیوان به انسان منتقل می‌شوند. لذا، استفاده غیر اصولی از آنتی‌بیوتیک‌ها، عرصه گسترده‌ای از تکاپو و تلاش را برای پژوهشگران فراهم نموده تا با دستکاری اکوسیستم میکروبی موجود در لوله گوارش حیوانات، شرایط لازم را برای دستیابی به حداکثر بازده تولید فراهم نمایند. از جمله نتایج حاصل از تلاش‌های پژوهشگران در رفع نقیصه مذکور، استفاده از افزودنی‌های غذایی میکروبی (با منشاء میکروبی) است. استفاده از این مواد به دلیل اینکه سبب بروز علائم غیرطبیعی در لوله معدی- روده‌ای نمی‌شوند و علاوه بر آن موجب تقویت فلور طبیعی و مطلوب لوله گوارش می-شوند، برای بروز توانایی تولید یا رشد بهینه حیوان بسیار مناسب می‌باشند(۱).

در مطالعه‌ای عملکرد رشد مرغ‌های گوشتی و تجاری را با جیره حاوی مکمل سین‌بیوتیک (مانان الیگوساکارید و باسیلوس سابتیلیس) در مقایسه با جیره حاوی پروبیوتیک (باسیلوس سابتیلیس) و یا پری-بیوتیک (مانان الیگوساکارید) به تنهایی، بررسی نموده و دریافتند که مکمل سین‌بیوتیک موجب بهبود معنی‌داری در افزایش وزن جوجه‌ها شد (۱۶). با توجه مطالعه ذکر شده، به احتمال زیاد استفاده از یک پری‌بیوتیک در کنار پروبیوتیک بتاپلاس بتواند اثرات مطلوب بیشتر از خود نشان دهد.

بسیاری از محققان داده‌هایی را در خصوص استفاده از باکتری‌ها برای کنترل و یا ارتقاء شرایط زیست محیطی مناسب جهت استقرار جمعیت میکروبی ایده‌آل در دستگاه گوارش حیوانات بدست آورده‌اند. این موجودات با کمک در سوخت وساز و سرکوب سایر باکتری‌های نامطلوب عمل می‌کنند (۵). برخی پژوهشگران پروبیوتیک‌ها را مکمل‌های غذایی می‌دانند که محتوی انواع باکتری‌های زنده‌ای هستند که به طور طبیعی در برخی نواحی رودهٔ حیوانات سالم نیز یافت می‌شوند (۱۵).

مطالعات انجام شده بر روی جوجه‌های گوشتی با استفاده از گونه‌های لاکتوباسیل به عنوان نوعی پروبیوتیک که به طور طبیعی درروده



شکل ۱- مقاطع بافت‌شناسی دوازدهه گروه‌های تیمار و شاهد (رنگ آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین × ۴۰).
A: گروه شاهد / B: گروه تیمار ۱ / C: گروه تیمار ۲ / D: گروه تیمار ۳ / E: گروه تیمار ۴ / F: گروه تیمار ۵

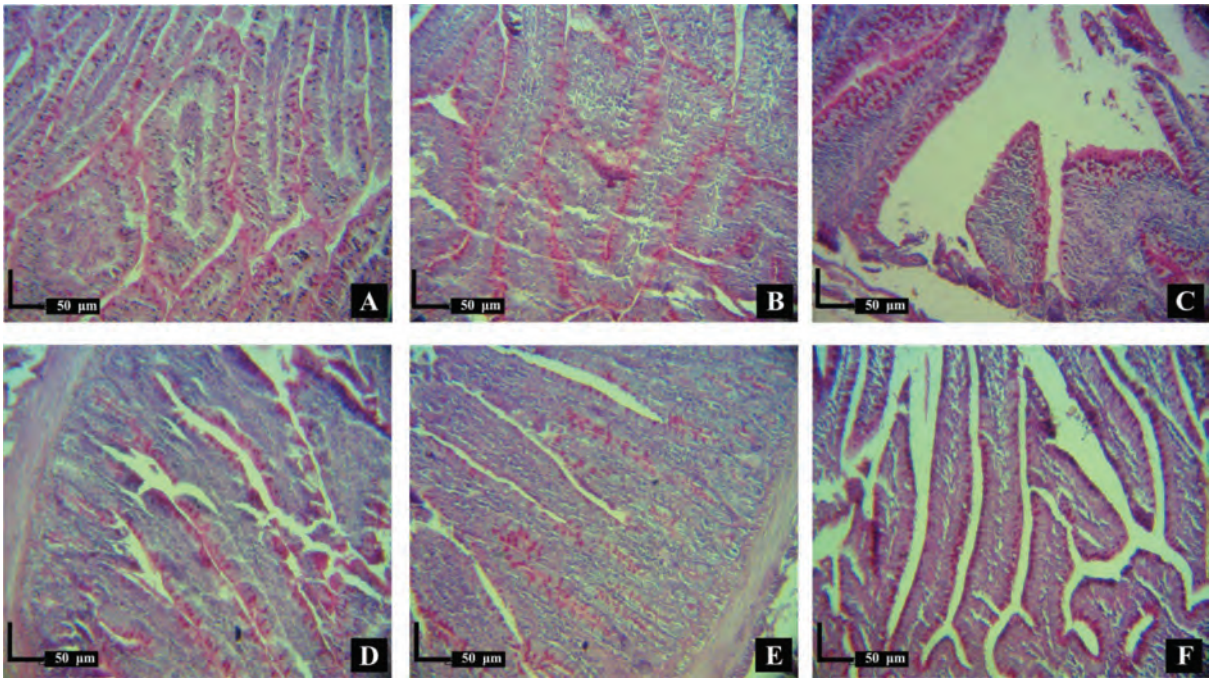
طیورحضوردارند، نشان دادکه پروبیوتیک‌ها جمعیت میکروبی کمپیلوباکترها (campylobacter) را در دستگاه گوارش جوجه‌ها کاهش می‌دهند. همچنین مشاهده گردید که کاهش مشابهی در تعداد کامپیلوباکترهای روده‌ای و مواد دفعی جوجه‌های گوشتی که با پروبیوتیک‌ها تیمار شده‌اند، در قیاس با گروه شاهد وجود دارد (۱۵). پروبیوتیک‌ها همچنین باعث تغییرسوخت‌وسازمیکروبی،کاهش pH روده و تحریک سیستم ایمنی بدن طیور می‌گردند (۱۷، ۲۱).نحوه عمل پروبیوتیک‌ها ممکن است با تولید مواد آنتی‌بیوتیکی، مهار رشد باکتری‌های مضر، تغییر متابولیسم میکروبی، کاهش pH در روده و تحریک سیستم ایمنی بدن همراه باشد (۱۸).

طبق مطالعات انجام گرفته هر گونه تغییر در طول پرزها باعث افزایش جذب مواد هضم شده می‌گردد. همچنین سلول‌های پوششی پرزها دارای انواع مختلف می‌باشند. این سلول‌ها شامل سلول‌های جاذب (انتروسیت‌ها)، سلول‌های جامی‌شکل و سلول‌های انتروکرومافین می‌باشند. مهم‌ترین سلول‌های کرک‌ها، انتروسیت‌ها هستند که عمل جذب را بر عهده دارند و در قسمت‌های رأسی پرز فراوان‌ترند. بر اساس گزارشات ارائه شده اندازه‌گیری طول پرزها و مشاهده شکل آن‌ها، شاهدی بر تعداد انتروسیت‌های پرزها است (۱۱). در مطالعه حاضر نشان داده شد که با افزایش دوز بتاپلاس طول پرز و عمق کریپت به عنوان دو شاخص مهم بافت‌شناسی روده‌ای نیز افزایش می‌یابد. اما با افزایش دوز هیچ تغییری در ضخامت اپی‌تلیوم دوازدهه مشاهده نشد.

آنگل (Angel) در سال ۱۹۹۱ با مقایسه جوجه‌های عاری از میکروب و جوجه‌های بومی به این نتیجه رسید که حضور میکروب‌های غیرآسیب‌زا سبب افزایش طول پرز، کریپت‌ها و تکثیر سلولی می‌گردد. این تأثیرپذیری در مناطق بالاتر روده نسبت به بخش‌های پایینی بیشتر می‌باشد (۳).در تحقیق حاضر مشاهده شد که با افزایش دوز بتاپلاس جیره، طول پرزها و عمق کریپت افزایش می‌یابد. نتایج حاصل از این تحقیق در رابطه با افزایش طول پرز و عمق کریپت با گزارشات پیشین ارائه شده در این زمینه همخوانی داشت.

اعمال محدودیت غذایی در طیور منجر به کاهش نوسازی و تشکیل سلول‌های اپی‌تلیالی گشته و پرزها کوتاه‌تر و نازکتر خواهند شد (۷).در تحقیق حاضر نیز گروه‌های دریافت‌کننده جیره با کمبود پروتئین و بدون پروبیوتیک بتاپلاس، دارای کمترین میانگین طول پرز بود که با گزارشات پیشین ارائه شده همخوانی داشت.

همچنین کریپت‌های طویل‌تر دارای سلول‌های ترشحی بیشتری می‌باشند و افزایش عمق کریپت‌ها ابتدای روده به علت افزودن پروبیوتیک مصرفی در جیره می‌تواند دلیلی بر تحریک تقسیم سلولی در این غدد توسط پروبیوتیک باشد (۱۹) .در تحقیق حاضر مشاهده شد که با افزایش دوز بتاپلاس عمق کریپت‌ها نیز افزایش می‌یابد. یافته حاصل از این بررسی در مورد عمق کریپت نیز با گزارشات ارائه شده در این زمینه همخوانی داشت.



شکل۲- مقاطع بافت‌شناسی دوازدهه گروه‌های تیمار و شاهد (رنگ آمیزی PAS × ۱۰۰).

A: گروه شاهد / B: گروه تیمار ۱ / C: گروه تیمار ۲ / D: گروه تیمار ۳ / E: گروه تیمار ۴ / F: گروه تیمار ۵

مطالعات انجام شـــده در اســـتفاده از کشـــت‌های میکربـــی به عنوان پروبیوتیک در تغذیه بلدرچین نشان داد که کاربرد پروبیوتیک لاکتو- ساک (Lacto-sacc) بـــه عنوان مکمل غذایی به میزان ۲- ۱ گرم در هر کیلوگرم جیره غذایی در ســـطح احتمال ۱درصد تأثیر معنـــی داری بر بهبود تولید تعـــداد و اندازه تخم های آنها با واحـــد پرنده/روز/تخم به عنوان معیاری از بازدهٔ غذایی در مقایســـه با بلدرچینهای تخمگذار شـــاهد داشته‌اند (۲۱). همچنیـــن اضافه کـــردن مکمل پروبیوتیـــک به میـــزان ۲- ۱ گرم در هر کیلوگرم جیره‌ها ســـبب افزایش مشـــخصی در قابلیت هضمی پروتئین در مقایســـه با جیرهٔ شاهد بوده است (۲۰).در مطالعه دیگری که بر روی تأثیر لاکتوباســـیلوس به عنوان نوعی پروبیوتیک در غذای جوجه های گوشـــتی انجام گرفت، نشـــان داده شـــد که افزودن این نوع پروبیوتیک به جیره‌ای متشـــکل از مواد "کم مغذی" (low nutrient) اجازه می‌دهد که جوجه‌های گوشـــتی به خوبی جوجه‌های تغذیه شـــده با جیرهٔ شـــاهد رشد کنند زیرا بازدهی مواد مغذی بیشـــتری خواهند داشت. مصرف جیره حاوی مواد "کم مغذی" همراه با پروبیوتیک مقدار فســـفر دفعی همراه مدفوع را قریب ۳۳ درصد بدون تأثیر منفی بر میزان اســـتحکام استخوان ها کاهش می‌دهد و این کاهش از طریق اندازه‌گیری فســـفر موجود در بستر نیز قابل تشخیص بوده‌اند(۳).با توجه به گزارشـــات ارائه شده در این زمینه و با در نظر گرفتن نتایج حاصل از این تحقیق در رابطه با افزایش وابســـته به دوز طول پرزها، عمق کریپت‌ها و تا حدودی ضخامت لایه اپی‌تلیومی قسمت دوازدهه روده باریک در گروه‌های دریافت‌کننده بتاپلاس، به نظر می‌رســـد که اســـتفاده از بتاپـــلاس با دوز ۱/۵ گرم در کیلوگـــرم در بازده کلی گله بلدرچین نقش موثرتری نسبت به دوزهای پایین‌تر داشته باشد.

تحقیق در مورد اثرات بتاپلاس بـــه عنوان یک پروبیوتیک، برای درک تاثیرات مفید ســـطوح مختلف آن بر رشد و ســـلامت بلدرچین‌ها و ضریب تبدیل غذایی که رابطه مســـتقیمی با ســـاختار عملکردی و بافت‌شناســـی دستگاه گوارش به خصوص روده‌باریک دارد، هنوز در ابتدای راهی طولانی است و مستلزم پژوهش‌های بیشتر، در آینده می‌باشد. اما نتایج این تحقیق نشان‌دهنده اثرات مثبت استفاده از دوزهای بالای بتاپلاس در افزایش طول پرز، عمق کریپت و تا حدودی ضخامت لایه اپی‌تلیومی بخش دوازدهه روده باریک بود.

تشکر و قدردانی

نویســـنده این مقاله بر خود لازم می‌داند از تمام عزیزانی که در اجرای این طرح همکاری نمودند تشکر و قدردانی نماید.

منابع مورد استفاده

۱. خسروی نیا، ح. و رازانی، ک. (۱۳۸۸).ایده‌های نوین پیرامون مواد محرک رشد در تغذیه طیور.چاپ اول، انتشارات پرتو واقعه.

۲. ولی، ن. (۱۳۸۸). اصول پرورش بلدرچین. چاپ اول، انتشـــارات سامان دانش.

3. Angel, C.R. 1991. Long segment filamentous organism observed in poults experimentally infected with stunting syndrome agent. *Avian Diseases* 34: 994-1001.

4. Antheony, C., J. Neguyen and A. Griffian. 1999. In vitro and in vivo evaluation of effects of sodium caprate on enteral peptide absorbtion and mucosal morphology. *International journal of pharmaceutics* 191: 15-24.

5. Babazadeh, D., T. Vahdatpour., H. Nikpiran., M.A. Jafargholipour And S. Vahdatpour. 2011. Effects of probiotic, prebiotic and synbiotic intake on blood enzymes and performance of Japanese quails (*Coturnix japonica*). *Indian Journal of Animal Sciences* 81: 870–874.

6. Bancroft, J.D. and Camble, M. 2013. Theory and practice of Histological Technique.5thedition. Churchill livingstone ednburgh, London, New York, Philadelphia, Oxford, Sydney and Torento. 179-220.

7. Bayer, R.C. 1975. Cahractristics of the absorptive surface of the small intestine of chicks. *Poultry Science* 54: 155-169.

8. Biochem company. 2014. Products for poultry. Feed safety for food safety. www. Biochem.net

9. Collins, J.K., G.C. O'sullivan., G.M. Thornton., M.M. O'sullivan and E. Geraldin. 2007. Probiotic strains from Lactobacillus salivarius and antimicrobial agents obtained there from. *International Dairy Journal* 7: 65-45.

10. Duke, G.E. 1986. Avian physiology. 4th edition. Springer verlage. N.Y: 269-288.

11. Hampson, D.J. 1986. Alteration in piglet small intestinal structure at weaning. *Research in Veterinary Science* 40: 19-40.

12. Jin, L.Z., Y.W. Ho., N. Abdullah and S. Jalaudin. 1996. Influence of dried Bacillus subtilis and lactobacilli cultures on intestinal microflora and performance in broilers. Asian- *Australian Journal of Animal Science* 9: 99–107.

13. Kruger, W.F., J.W. Bradley and V. pitterson. 1977. The interaction of gentian violet and lactobacillus organism in the diet of leghorn hens. *Poultry Science* 56: 480-486.

14. Leeson, S and J.D. Summers. 2008. Protein and amino acids in Scott's Nutrition of the Chicken. 3rd edition:126–127.

15. Liu, J.R., S.F. Lai and B. Yu. 2007. Evaluation of an intestinal Lactobacillus reuteri strain expressing rumen fungal xylanase as a probiotic for broiler chickens fed on a wheat-bassed diet. *British Poultry Science* 48: 507-514.

16. Marioka, A., E. Santin., S. Sugeta., J.G. Almeida and M. Macari. 2000. Utilization of probiotics, probiotics or synbiotics in broiler chicken diets. *Revista Brasileria de Cinecia Avicola* 3: 75-82.

17. Panada, A.K., M.R. Reddy., S.V. Rama Rao., M.V.L.N. Raju and N.K. Paraharaj. 2000. Growth carcass caracteristics, immunocomponente and response to *Escherichia coli* of broiler fed diets with various level of probiotic. *Archive fur geflugelkunde* 64: 152-156.

18. Sissons, J.W. 1989. Potential of probiotic organisms to prevent diarrhea and promote digestion in farm animal: a review. *Journal of Food and Agicultural Science* 49:1-13.

19. Teshfam, M., S. Rahimi and K. Karimi. 2004. Effect of various levels of Probiotic on Morphology of Intestinal Mucosa in Brioler chicks. *Journal of Tehran veterinary faculty* 60: 205-211.

20. Vali, N., M.A. Edriss and H.R. Rahmani. 2005. Comparison between hatching of two quail stains. *Pakistan Journal of Biological Science* 8: 1062-1063.

21. Zeweil, H.S and F.S.A. Ismail. 1998. Effect of probiotic or herbal feed additives on the production and egg quality of laying Japanese quail hens. *The Journal of Agricultural Science* 23: 1039-1048.