

## تأثیر روش‌های مختلف تجویز پروبیوتیک در هجری بر عملکرد رشد و سیستم ایمنی جوجه‌های گوشتی

علیرضا مقدم محمد امیر کریمی ترشیزی\* شعبان رحیمی

گروه پرورش و تولید طیور، دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس، تهران - ایران

(دریافت مقاله: ۲۴ بهمن ماه ۱۳۸۷، پذیرش نهایی: ۲۹ خرداد ماه ۱۳۸۸)

### چکیده

به دنبال آشکار شدن جنبه‌های منفی استفاده از آنتی‌بیوتیک‌های محرک رشد در تغذیه طیور، استفاده از پروبیوتیک‌ها به عنوان میکروارگانسیم‌هایی با اثرات مفید بر میزبان، مورد توجه فزاینده قرار گرفته است. به منظور بررسی تأثیر روش‌های مختلف تجویز پروبیوتیک در هجری بر عملکرد رشد، فاکتورهای خونی و سیستم ایمنی، تعداد ۳۰۰ قطعه جوجه خروس گوشتی راس (۳۰۸) در پنج گروه آزمایشی شامل شاهد و چهار روش تجویز به صورت تزریق به تخم مرغ، دهانی، افشانه و کلواکی با ۳ تکرار و ۲۰ قطعه جوجه در هر واحد آزمایشی مورد بررسی قرار گرفتند. نمونه‌گیری از خون به منظور بررسی فاکتورهای خونی در سن ۴۰ روزگی انجام شد، همچنین عملکرد تولید و سیستم ایمنی پرنده‌ها تا سن ۴۲ روزگی مورد بررسی قرار گرفت. روش‌های تجویز پروبیوتیک در هجری بر افزایش وزن روزانه در دوره پایانی، خوراک مصرفی در دوره پایانی و کل دوره، وزن نسبی بورس در ۲۸ روزگی، پاسخ ایمنی سلولی به دی‌نیتر و کلروبنزن در ۲۸ و ۳۸ روزگی ( $p < 0.05$ )، وزن نسبی طحال در ۴۲ روزگی، و افزایش وزن روزانه در کل دوره ( $p < 0.01$ ) تأثیر معنی‌داری داشت و نیز بر کلسترول و تری‌گلیسرید پلاسما، هموگلوبین خون، عیار پادتن تولیدی علیه گلوبول قرمزگوسفند، پاسخ ایمنی به فیتوها گلو تینین، وزن نسبی طحال در ۲۸ روزگی و وزن نسبی بورس در ۴۲ روزگی تأثیر معنی‌داری نداشت ( $p > 0.05$ ). به طور کلی تجویز زود هنگام پروبیوتیک به روش دهانی باعث بهبود عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی می‌شود.

واژه‌های کلیدی: روش تجویز، پروبیوتیک، عملکرد، جوجه گوشتی.

شاهد و تزریق به تخم مرغ مؤثر می‌باشد (۱۲). این آزمایش‌ها نشان داد که تزریق کشت‌های حذف رقابتی به تخم‌های نطفه دار، چه در مرغ و چه در بوقلمون، امکان پذیر بوده و می‌تواند اثرات مفیدی بر پرنده داشته باشد، اما مشکلاتی نیز بر سر راه استفاده از آن‌ها از این طریق وجود دارد که از جمله می‌توان به استفاده از میکروب‌های روده‌ای غیراختصاصی، استفاده از میکروب‌های روده‌ای تولیدکننده گاز، پروتئولیتیک‌های مضر و تولیدکننده سموم میکروبی اشاره نمود (۴). Nummi و Pivnick در سال ۱۹۸۲ برای اولین بار از روش آئروسول برای مصرف کشت‌های حذف رقابتی استفاده کردند و کاهش کلنی‌سازی سالمونلا و افزایش مقاومت پرنده در پی استفاده از این روش گزارش شد. بهبود عملکرد و کاهش کلنی‌سازی باکتری‌های بیماری‌زا در سکوم گروه دریافت‌کننده کشت‌های حذف رقابتی از طریق اسپری گزارش شده است (۸). در شرایط طبیعی، تغذیه مستقیم جوجه‌ها توسط والدین و همچنین حرکت مکشی مقعد در پرنده‌گان غیرمستقل، ورود جمعیت میکروبی را از محیط برای استقرار در قسمت خلفی دستگاه گوارش تسهیل می‌کند، این عمل به آشامیدن کلواکی معروف است (۲). Corrier و همکاران در سال ۱۹۹۴ برای اولین بار کشت حذف رقابتی را با الهام از این پدیده از طریق مخرج تجویز نمودند. نتایج آن‌ها نشان داد تجویز این کشت‌ها از این طریق باعث کاهش استقرار سالمونلا در سکوم می‌شود. همچنین کاهش استقرار سالمونلا در سکوم پرنده‌های دریافت‌کننده پروبیوتیک حاوی مخلوطی از باکتری‌های یوفاژها و سویه‌هایی از باکتری‌های لاکتوباسیل از طریق کلواک و در

### مقدمه

بسیاری از هجری‌های تجاری آلوده به سالمونلا و بسیاری دیگر از پاتوژن‌های روده‌ای می‌باشند که ممکن است میزان فعالیت و تأثیر کشتهای حذف رقابتی را در جوجه‌ها و بوقلمون‌ها محدود نماید (۳). از طرفی با توجه به شرایط هجری، جوجه‌هایی که از تخم خارج می‌شوند میکروفلوراندکی رادر دستگاه گوارش خود دارند لذا به شدت مستعد آلودگی‌های سالمونلایی می‌باشند (۱۳). جوجه‌های تازه از تخم خارج شده که فاقد یا دارای فلور روده‌ای اندکی هستند، در مقایسه با بزرگسالان حساسیت بیشتری در برابر آلودگی دهانی با این ارگانسیم‌ها دارند. البته با بکارگیری اصل انحصار رقابتی تا حد زیادی می‌توان برای این مشکل غلبه نمود (۷).

Rantala و Nurmi در سال ۱۹۷۳ برای اولین بار استفاده از "کشت حذف رقابتی" (CE) را جهت افزایش مقاومت پرنده‌های جوان بر علیه آلودگی‌های سالمونلایی بوسیله تجویز دهانی محتویات روده‌ای پرنده بالغ مطرح کردند. Edens و همکاران در سال ۱۹۹۷، بهبود وزن بدن و کاهش درصد تلفات را در گروه دریافت‌کننده لاکتوباسیلوس روتری از طریق تزریق به تخم مرغ نسبت به شاهد گزارش نمودند. در تحقیقی دیگر کشت حذف رقابتی را از طریق تزریق به تخم مرغ در روز ۱۸ انکوباسیون و نیز گاوژ دهانی، به جوجه‌های تازه از تخم خارج شده تجویز کردند و گزارش نمودند که روش گاوژ دهانی بر کاهش درصد پرنده‌های سالمونلا مثبت در کل دوره نسبت به



گردید. کلسترول موجود در نمونه‌های پلاسما با استفاده از روش آنزیمی CHOD-PAP و با کیت تجاری شرکت پارس آزمون تعیین شد (۱۷). متوسط غلظت هر یک از فاکتورها در هر دو پرنده یک واحد برای تجزیه آماری استفاده شد.

به منظور آزمون میزان کارایی سیستم ایمنی همورال، در سن ۳۵ روزگی به ۶ قطعه جوجه از هر گروه، مقدار ۰/۱ میلی لیتر از سوسپانسیون گلبول قرمز گوسفند ۵ درصد شسته شده در بافر فسفات استریل به عضله سینه تزریق گردید و در سن ۴۰ روزگی از این جوجه‌ها خونگیری به عمل آمده و پس از جداسازی سرم، میزان پادتن ضد گلبول قرمز گوسفند در سرم خون این جوجه‌ها به روش هم‌گلوتیناسیون تعیین شد (۱۵). در سن ۲۸ و ۴۲ روزگی از گروه آزمایشی ۳ پرنده به طور تصادفی انتخاب و پس از کشتار، وزن طحال و بورس به عنوان دو عضولنفوئیدی اندازه‌گیری شد.

برای ارزیابی پاسخ ایمنی سلولی از دو آزمون افزایش ضخامت پوست پس از تزریق دی نیتروکلروبنزن طبق شرح Verma و همکاران در سال ۲۰۰۴ و نیز افزایش ضخامت پرده پا پس از تزریق فیتوهماگلوتینین طبق شرح Peterson و همکاران در سال ۱۹۹۹ با اندکی تغییر، عمل شد. بدین صورت که در سن ۲۸ روزگی، ۲ پرنده از هر گروه آزمایشی پس از علامت‌گذاری با رنگ‌های مختلف، با ریختن ۰/۲۵ میلی لیتر دی نیتروکلروبنزن (محلول حاوی ۱۰ mg/ml DNCB می‌باشد) در ناحیه بدن پر در سمت راست بدن به وسعت ۱۰ سانتیمتر مربع، چالش داده شدند. از نسبت ۴:۱ استون و روغن زیتون به عنوان حلال استفاده شد. در نوبت دوم، با ۰/۲۵ ml محلول دی نیتروکلروبنزن (۱ mg/ml) و ۱۰ روز پس از اولین چالش و در محل قبلی، چالش داده شدند. به منظور بررسی میزان واکنش، ضخامت پوست در زمان صفر، پیش از چالش و ۲۴ ساعت پس از چالش اندازه‌گیری شد. به منظور بررسی میزان تکثیر سلول‌های T در ۴۲ روزگی، ۱۲ و ۲۴ ساعت پس از تزریق فیتوهماگلوتینین (PHA-M) به پرده انگشت سوم پای راست، میزان افزایش در قطر محل تزریق اندازه‌گیری شده و به عنوان معیاری برای سنجش سیستم ایمنی سلولی منظور شد. داده‌های آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با استفاده از نرم افزار SAS (۱۸)، آنالیز شده و مقایسه میانگین‌ها به طریق دانکن صورت گرفت. سطح معنی دار ( $p < 0/05$ ) در نظر گرفته شد.

## نتایج

در جدول (۱) تأثیر روش‌های مختلف تجویز پروبیوتیک در هجری بر افزایش وزن روزانه، مصرف خوراک روزانه و ضریب تبدیل غذایی جوجه‌های گوشتی در دوره‌های مختلف نشان داده شده است. در دوره پایانی ( $p < 0/05$ ) و کل دوره ( $p < 0/01$ )، گروه دهانی بالاترین افزایش وزن را نسبت به سایر گروه‌ها داشته است. مصرف خوراک روزانه نیز در دوره پایانی و کل دوره تحت تأثیر روش‌های مختلف تجویز در هجری قرار گرفته است ( $p < 0/05$ ). در دوره پایانی گروه دهانی و شاهد به ترتیب بالاترین مصرف خوراک را داشته‌اند. در کل دوره مصرف خوراک در گروه‌های کلواکی و تزریق به تخم مرغ از سایر

نتیجه بهبود عملکرد پرنده گزارش شده است (۶). پاسخ حاصله از روش‌های متفاوت فعالیت پروبیوتیک‌ها وابسته به فاکتورهای زیادی می‌باشد از آن جمله می‌توان به ضرورت اطمینان از کاربرد مؤثر و تجویز صحیح و به موقع پروبیوتیک‌ها اشاره کرد. بدیهی است که اغلب روش‌های مؤثر تجویز پروبیوتیک بواسطه مصرف اولیه و زود هنگام پرنده از پروبیوتیک می‌باشد (۸). با توجه به نتایج تحقیقات انجام شده، می‌توان اینطور نتیجه گرفت که زمان و روش استفاده از این کشته‌ها می‌تواند بر میزان اثرگذاری پروبیوتیک‌ها و در نتیجه عملکرد پرنده مؤثر باشد. هدف از انجام این تحقیق بررسی میزان تأثیر هر یک از روش‌های تجویز پروبیوتیک تجاری "پروتکسین" در هجری بر عملکرد تولید، فاکتورهای خونی و سیستم ایمنی در جوجه‌های گوشتی می‌باشد.

## مواد و روش کار

در این آزمایش تعداد ۳۰۰ قطعه جوجه خروس گوشتی نژاد راس (۳۰۸) در پنج تیمار با سه تکرار و ۲۰ قطعه جوجه در هر واحد آزمایشی مورد بررسی قرار گرفتند. تیمارها شامل ۱- گروه شاهد بدون مکمل پروبیوتیکی، ۲- گروه تزریق به تخم مرغ؛ در روز هجدهم جنینی به تعداد ۱۸۰ تخم مرغ پس از ضد عفونی کردن پوسته در محل اتا فک هوایی با سواب آغشته به تنطوید، مقدار ۰/۱ میلی لیتر محلول پروبیوتیک در محل کیسه هوایی تزریق و محل تزریق با چسب مایع پوشانده شد. پس از خروج جوجه‌ها از تخم و تعیین جنسیت، تعداد ۶۰ قطعه جوجه خروس به طور تصادفی انتخاب و در واحدهای آزمایشی مربوطه قرار گرفتند، ۳- گروه دهانی؛ مقدار ۰/۱ میلی لیتر محلول پروبیوتیک (محلول حاوی  $10^7$  میکروارگانیزم پروبیوتیک در هر میلی لیتر آب) را در یک روزگی از طریق گاوآژ دهانی دریافت کردند، ۴- گروه افشانه؛ ۰/۲۵ میلی لیتر به ازای هر جوجه افشانه فراورده‌های پروبیوتیکی را در جعبه‌های حمل جوجه یک روزه دریافت کردند (محلول حاوی  $10^7$  میکروارگانیزم پروبیوتیک در هر میلی لیتر آب)، ۵- گروه کلواکی؛ مقدار ۰/۱ میلی لیتر پروبیوتیک (محلول حاوی  $10^7$  میکروارگانیزم پروبیوتیک در هر میلی لیتر آب) را در یک روزگی از طریق رکتوم دریافت کردند. پروبیوتیک مورد استفاده در این آزمایش پروبیوتیک تجاری پروتکسین بود، که حاوی هفت سویه باکتری و دو گونه قارچ و مخمر می‌باشد.

جیره آزمایشی برای هر پنج گروه یکسان و بر پایه ذرت و سویا تهیه شده بود. متغیرهای مورد بررسی در این آزمایش شامل افزایش وزن روزانه، مصرف خوراک روزانه و ضریب تبدیل غذایی در دوره‌های مختلف پرورش، شاخص تولید در سن ۴۲ روزگی، فاکتورهای خونی شامل کلسترول پلاسما، تری گلیسرید پلاسما، هموگلوبین خون و نیز کارایی سیستم ایمنی بودند.

به منظور بررسی فاکتورهای خونی در ۴۰ روزگی از هر واحد آزمایشی، از تعداد ۲ قطعه پرنده از طریق ورید بال با سرنگ‌های آغشته به هپارین، مقدار ۲ میلی لیتر خون اخذ شد. غلظت هموگلوبین خون با استفاده از روش سیانومیت هموگلوبین و کیت تجاری شرکت زیست شیمی ایران تعیین



جدول ۱- تأثیر روش های مختلف تجویز پروبیوتیک در هجری بر افزایش وزن روزانه، مصرف خوراک روزانه و ضریب تبدیل غذایی جوجه های گوشتی ab میانگین های با حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی دارمی باشند ( $p < 0.05$  و  $p < 0.01$  \*\*= SEM اشتباه معیار میانگین).

| شاخص تولید | ضریب تبدیل غذایی |        |        | مصرف خوراک روزانه (گرم) |                      |        | افزایش وزن روزانه (گرم) |                     |        | تیمار            |
|------------|------------------|--------|--------|-------------------------|----------------------|--------|-------------------------|---------------------|--------|------------------|
|            | کل               | پایانی | آغازین | کل*                     | پایانی*              | آغازین | کل**                    | پایانی*             | آغازین |                  |
| ۲۸۶/۹۰     | ۱/۷۱             | ۲/۱۵   | ۱/۳۶   | ۹۸/۴۸ <sup>ab</sup>     | ۱۵۲/۷۵ <sup>ab</sup> | ۴۴/۲۱  | ۵۲/۱۵ <sup>b</sup>      | ۷۰/۷۰ <sup>ab</sup> | ۳۳/۵۹  | شاهد             |
| ۳۰۸/۲۱     | ۱/۶۸             | ۲/۰۶   | ۱/۲۹   | ۹۵/۹۷ <sup>b</sup>      | ۱۴۷/۵۱ <sup>b</sup>  | ۴۴/۴۳  | ۵۱/۷۰ <sup>b</sup>      | ۷۰/۸۹ <sup>ab</sup> | ۳۲/۴۹  | تزریق به تخم مرغ |
| ۳۲۸/۴۷     | ۱/۶۶             | ۲/۰۶   | ۱/۲۴   | ۱۰۲/۵۴ <sup>a</sup>     | ۱۵۸/۵۴ <sup>a</sup>  | ۴۶/۵۴  | ۵۶/۱۳ <sup>a</sup>      | ۷۶/۴۷ <sup>a</sup>  | ۳۵/۷۶  | دهانی            |
| ۲۸۵/۴۰     | ۱/۷۲             | ۲/۲۰   | ۱/۲۵   | ۹۸/۱۱ <sup>ab</sup>     | ۱۵۱/۴۱ <sup>b</sup>  | ۴۴/۸۳  | ۵۱/۵۶ <sup>b</sup>      | ۶۸/۴۹ <sup>b</sup>  | ۳۴/۶۲  | افشانه           |
| ۳۰۴/۱۷     | ۱/۶۵             | ۲/۰۶   | ۱/۲۴   | ۹۶/۲۷ <sup>b</sup>      | ۱۴۹/۰۴ <sup>b</sup>  | ۴۳/۷۱  | ۵۲/۸۲ <sup>ab</sup>     | ۷۲/۱۰ <sup>ab</sup> | ۳۳/۵۳  | کلواکی           |
| ۶/۶۲       | ۰/۰۱۳            | ۰/۰۲۵  | ۰/۰۰۹  | ۰/۸۳۹                   | ۱/۴۳۲                | ۰/۴۲۲  | ۰/۵۵۲                   | ۰/۰۸۷               | ۰/۰۶۶  | SEM              |

جدول ۲- تأثیر روش های مختلف تجویز پروبیوتیک در هجری بر فاکتورهای خونی (میلیگرم در دسی لیتر).

| تیمار            | کلیستروپلازما | تری گلیسرید پلازما | هموگلوبین خون |
|------------------|---------------|--------------------|---------------|
| شاهد             | ۱۴۱/۷۰        | ۱۰۱/۵۲             | ۷/۵۳          |
| تزریق به تخم مرغ | ۱۳۹/۷۰        | ۱۰۳/۲۷             | ۷/۱۵          |
| دهانی            | ۱۴۳/۹۵        | ۱۰۸/۵۲             | ۸/۳۴          |
| افشانه           | ۱۳۷/۹۸        | ۹۹/۱۰              | ۶/۷۱          |
| کلواکی           | ۱۳۱/۹۸        | ۱۰۹/۸۷             | ۷/۴۹          |
| SEM              | ۵/۳۶          | ۶/۵۲               | ۰/۲۴          |

SEM اشتباه معیار میانگین

### بحث

نتایج حاصل از این بررسی نشان می دهد که تجویز پروبیوتیک از طریق تزریق به تخم مرغ موجب کاهش ۲/۶۲ درصدی خوراک مصرفی در این گروه نسبت به شاهد شده است ( $p < 0.05$ ), که می تواند دلیلی بر بهبود ضریب تبدیل غذایی نسبت به گروه های افشانه و شاهد باشد هر چند اختلاف ضریب تبدیل غذایی از نظر آماری معنی دار نمی باشد ( $p > 0.05$ ). کلنی سازی عوامل بیماریزا می تواند قبل از ورود جوجه به سالن پرورش صورت گرفته و باعث آلودگی پرنده جوان به عوامل بیماریزا شود. استفاده از پروبیوتیک ها در هجری و حتی پیش از خروج جوجه ها از تخم و به صورت تزریق به تخم مرغ می تواند در کاهش آلودگی های سالمونلایی و در نهایت بهبود عملکرد پرنده مؤثر باشد (۳). با توجه به نحوه دریافت پروبیوتیک در این روش که از طریق نوک زدن پرنده به پرده های داخلی تخم مرغ و دریافت پروبیوتیک از ابتدای دستگاه گوارش می باشد، احتمالاً تشکیل کلنی فلور مفید را در چینه دان سرعت بخشیده و علاوه بر کاهش استقرار عوامل بیماریزا، باعث کاهش خوراک مصرفی از طریق هضم اولیه مواد غذایی در چینه دان شده است که البته نیاز به بررسی های بیشتری دارد. البته تزریق غلط و غیر بهداشتی پروبیوتیک می تواند نتایج را عوض کرده و حتی استرس را زوده و باعث گسترش آلودگی ها شود (۱۲).

نتایج آزمایش بهبودی را در عملکرد پرنده های دریافت کننده پروبیوتیک از طریق افشانه نشان نمی دهد. با توجه به این که نحوه دریافت پروبیوتیک در این روش از طریق عمل نوک زدن (piping) به سطح پرها و بدن صورت می گیرد، احتمالاً عدم بهبود عملکرد در این گروه ناشی از دریافت مقدار اندک پروبیوتیک و یا دریافت پاتوژن های موجود در روی بدن جوجه ها و محیط اطراف و در نتیجه تأثیر منفی آن ها بر عملکرد نسبت به سایر گروه های دریافت کننده پروبیوتیک می باشد. نتایج این آزمایش در روش افشانه با نتایج Ghadban در سال ۱۹۹۸ و Nurmi و Pivnick در سال ۱۹۸۲ که بیان کننده بهبود عملکرد پرنده های دریافت کننده کشت های حذف رقابتی از این طریق است مطابقت ندارد.

نتایج این آزمایش نشان دهنده بهبود ۷/۶ درصدی میانگین افزایش وزن بدن در کل دوره در گروه دهانی نسبت به شاهد است ( $p < 0.01$ ), اما اختلافی

گروه ها کمتر شده است. ضریب تبدیل غذایی در هیچ یک از دوره های پرورش تحت تأثیر تیمارهای آزمایش قرار نگرفته است ( $p > 0.05$ ), اما به طور کلی بهبود ضریب تبدیل غذایی در گروه های دهانی و کلواکی نسبت به سایر گروه های آزمایشی مشاهده می شود. استفاده از پروبیوتیک به روش دهانی باعث افزایش شاخص تولید شد و کمترین مقدار مربوط به گروه شاهد بود.

با توجه به جدول (۲) کلیستروپلازما، تری گلیسرید پلازما و هموگلوبین خون تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفته اما به طور کلی به غیر از گروه تجویز دهانی، می توان مقداری کاهش در کلیستروپلازما گروه های دریافت کننده پروبیوتیک در این آزمایش، نسبت به شاهد مشاهده کرد ( $p > 0.05$ ).

جدول (۳) تأثیر روش های مختلف تجویز پروبیوتیک در هجری را بر سیستم ایمنی جوجه های گوشتی نشان می دهد. با توجه به جدول وزن نسبی بورس در ۲۸ روزگی در گروه افشانه بالاترین مقدار و در گروه دهانی پایین ترین مقدار را نسبت به سایر گروه های آزمایش نشان می دهد ( $p < 0.05$ ). وزن نسبی طحال در ۴۲ روزگی در گروه تزریق به تخم مرغ از سایر گروه ها بیشتر شده است ( $p < 0.01$ ). عیار پادتن علیه گلبول قرمز گوسفند تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفته است ( $p > 0.05$ ). افزایش نسبی قطر پوست پس از چالش با DNCB در نوبت اول در گروه های تزریق به تخم مرغ و دهانی نسبت به شاهد کمتر بوده است و در نوبت دوم گروه افشانه بالاترین و گروه کلواکی پایین ترین میزان افزایش نسبی قطر پوست پس از چالش را داشته اند ( $p < 0.05$ ).



جدول ۳- تأثیر روش های مختلف تجویز پروبیوتیک در هجری بر سیستم ایمنی جوجه های گوشتی<sup>۱</sup> مقادیر وزن نسبی در هزار ضرب شده اند. DNCB دی نیترو کلرو بنزن abc میانگین با حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی دار می باشند ( $p < 0.05$  و  $p < 0.01$ )\*. SEM اشتباه معیار میانگین.

| تیمار            | وزن نسبی <sup>۱</sup> |                  |                   |      | عیار پادتن علیه گلبول قرمز گوسفند | افزایش نسبی قطر پوست پس از چالش با DNCB |                     | افزایش نسبی قطر پرده پاپس از تزریق فیتوهماکلو تینین |       |
|------------------|-----------------------|------------------|-------------------|------|-----------------------------------|---|---------------------|---|-------|
|                  | طحال در روز           |                  | بورس در روز       |      |                                   | ۲۸ ×                                    | ۳۸ ×                | ۱۲h   | ۲۴h   |
|                  | ۲۸                    | ۴۲ × x           | ۲۸ ×              | ۴۲   |                                   | ۱/۱۹۳ <sup>a</sup>                      | ۰/۴۶۶ <sup>ab</sup> | ۰/۶۵۷   | ۰/۹۰۲ |
| شاهد             | ۰/۰۹                  | ۱/۲ <sup>b</sup> | ۱/۹ <sup>ab</sup> | ۱/۶  | ۲/۳۳                              | ۰/۳۴۲ <sup>bc</sup>                     | ۰/۶۱۴               | ۰/۷۱۳   |       |
| تزریق به تخم مرغ | ۱/۴                   | ۱/۷ <sup>a</sup> | ۲/۰ <sup>ab</sup> | ۱/۴  | ۲/۱۷                              | ۰/۹۴۷ <sup>b</sup>                      | ۰/۶۳۱               | ۰/۷۸۰   |       |
| دهانی            | ۱/۳                   | ۱/۲ <sup>b</sup> | ۱/۷ <sup>b</sup>  | ۱/۴  | ۲/۰۰                              | ۰/۵۰۵ <sup>a</sup>                      | ۰/۷۹۱               | ۰/۹۴۹   |       |
| افشانه           | ۱/۰                   | ۱/۲ <sup>b</sup> | ۲/۳ <sup>a</sup>  | ۱/۴  | ۲/۱۷                              | ۱/۰۵۶ <sup>ab</sup>                     | ۰/۶۲۴               | ۰/۸۲۲   |       |
| کلواکی           | ۰/۸                   | ۱/۱ <sup>b</sup> | ۲/۱ <sup>ab</sup> | ۱/۵  | ۲/۵۰                              | ۰/۳۰۶ <sup>c</sup>                      | ۰/۶۲۴               | ۰/۸۲۲   |       |
| SEM              | ۰/۰۹                  | ۰/۰۷             | ۰/۱۱              | ۰/۱۲ | ۰/۱۴                              | ۰/۰۴۵                                   | ۰/۰۲۴               | ۰/۰۴۳   |       |

در آزمایش Mohan و همکاران در سال ۱۹۹۶ میزان هموگلوبین خون در جوجه های گوشتی با افزایش سطوح مختلف پروبیوتیک در جیره کاهش یافت که علت آن به خاطر رقابت پروبیوتیک با بدن برای تحصیل اسید فولیک غذا ذکر شده است، به این صورت که اسید فولیک غذا کمتر در دسترس بدن جوجه ها قرار می گیرد و جوجه ها علائم کم خونی را نشان می دهند. احتمالاً تجویز زود هنگام پروبیوتیک پروتکسین نتواند بر فاکتورهای خونی موثر باشد و تداوم استفاده تأثیر بیشتری داشته باشد. بهبود عملکرد رشد و کاهش نیافتن هموگلوبین خون می تواند نقطه مثبتی از تأثیر زود هنگام تجویز پروبیوتیک ها باشد.

با توجه به نتایج ارزیابی شاخص های مربوط به سیستم ایمنی همورال، به نظر می رسد روش های تجویز زود هنگام پروبیوتیک بر سیستم ایمنی همورال تأثیری نداشته ولی ایمنی سلولی را تحت تأثیر قرار داده است. افزایش ۴۱/۷ درصدی وزن نسبی طحال در گروه تزریق به تخم مرغ در ۴۲ روزگی و افزایش ۲۱ درصدی وزن نسبی بورس در گروه افشانه نسبت به شاهد در ۲۸ روزگی، نشان دهنده تأثیر این روش ها بر سیستم ایمنی می باشد، اما عیار پادتن تولیدی علیه گلبول قرمز گوسفند این موضوع را تأیید نمی کند. بورس به عنوان یک عضو لنفوئیدی در ابتدای زندگی نقش بسیار مهمتری نسبت به روزهای پایانی دارد و با افزایش سن وزن آن کاهش می یابد و از میزان تأثیر گذاری آن کاسته می شود، لذا با توجه به نتایج بدست آمده، تجویز پروبیوتیک در هجری می تواند در میزان مقاومت بدن در روزهای ابتدایی مؤثرتر بوده و با افزایش سن از تأثیر آن نسبت به پرندگی گروه شاهد کاسته می شود.

اجزای دیواره سلولی باکتری ها نقش مهمی در برهم کنش باکتری ها و میزبان دارند. این اجزا شامل پپتیدوگلیکان ها و لیپوپلی ساکاریدهای باکتری ها می باشند. هر دو نوع ملکول، فعال کننده قوی سیستم ایمنی هستند. پپتیدوگلیکان ها در هر دو گروه باکتری های گرم مثبت و منفی و لیپوپلی ساکاریدها فقط در باکتری های گرم منفی وجود دارند. این مولکول ها به طور مداوم در حین تکثیر و مرگ سلولی رها می شوند (۱۳). تحریک سیستم ایمنی و تقویت پاسخ پادتن، به نوع پادکن و نحوه ایجاد

بین گروه دهانی و کلواکی از این نظر وجود ندارد. با توجه به نتایج اخیر می توان چنین بیان کرد که احتمالاً کنترل دقیق دوز مصرفی پروبیوتیک و اطمینان از دریافت زود هنگام و به مقدار کافی آن توسط پرندگی باعث بهبود عملکرد پرندگی در گروه های دهانی و کلواکی شده است. افزایش خوراک مصرفی در گروه دهانی می تواند با افزایش وزن بیشتر این گروه و بالا رفتن انرژی نگهداری در این گروه مرتبط باشد ولی خوراک مصرفی در این گروه نسبت به شاهد اختلاف معنی داری ندارد.

همان طور که در نتایج مشاهده شد کاهش خوراک مصرفی در گروه کلواکی و افزایش وزن بالاترین گروه منجر به بهبود ضریب تبدیل غذایی و در نهایت عملکرد رشد این گروه نسبت به شاهد شده است. مشخص شده است که فلور موجود در پروبیوتیک نقش مهمی در قابلیت هضم و جذب مواد غذایی داشته و در متابولیسم مواد مغذی نظیر کربوهیدرات ها، پروتئین ها، چربی ها و مواد معدنی شرکت کرده و در سنتز ویتامین ها سهیم هستند، از طرفی سکوم به عنوان عضوی برای تخمیر میکروبی مواد غیر قابل هضم در پرندگی می باشد (۲۰)، که می توانند دلایلی بر عملکرد بهتر این گروه نسبت به گروه های شاهد و افشانه باشند.

نتایج این آزمایش اختلافی را بین گروه های آزمایشی در فاکتورهای خونی نشان نمی دهد. ولی به طور کلی مقداری کاهش در کلسترول پلاسما گروه های پروبیوتیکی نسبت به شاهد مشهود است ( $p > 0.05$ ). کاهش کلسترول پلاسما در پی استفاده از پروبیوتیک ها در جیره غذایی جوجه های گوشتی توسط Mohan و همکاران در سال ۱۹۹۶ گزارش شده است. آن ها تأثیر پروبیوتیک ها بر هضم و جذب چربی ها را از طریق تأثیر بر نمک های صفاوی دلیل کاهش کلسترول پلاسما بیان نمودند. Kim و همکاران در سال ۲۰۰۳ کاهش کلسترول پلاسما را در پی استفاده مداوم از گونه قارچی اسپرژیلوس اریزا در جیره غذایی تا پایان هفته پنجم گزارش کردند. این محققین توانایی این گونه قارچی در ممانعت از تولید آنزیم های کلیدی در سنتز کلسترول به عنوان مثال ۳- هیدروکسیل-۳- متیل گلو تاریل- کوآنزیم A ردوکتاز را به عنوان دلیل کاهش کلسترول پلاسما بیان کردند.



تزیق به تخم مرغ باعث کاهش خوراک مصرفی و افزایش وزن نسبی طحال در ۴۲ روزگی شد. گروه افشانه باعث افزایش وزن نسبی بورس در ۲۸ روزگی شد و مشخص شد روش های تجویز پروبیوتیک بر عملکرد و سیستم ایمنی مؤثر می باشند.

در نهایت تجویز پروبیوتیک هادر هجری به عنوان راهی برای کاهش تأثیر آلودگی های موجود در هجری بر پرند و بهبود عملکرد توصیه می شود. بهترین روش تجویز باید با توجه به هدف از تجویز پروبیوتیک انتخاب شود و نیز به منظور بهره بیشتر از نتایج مثبت پروبیوتیک ها، می توان تلفیق روشهای مناسب را بررسی نمود که البته نیاز به تحقیقات بیشتر در این زمینه ضروری به نظر می رسد.

### تشکر و قدردانی

این تحقیق با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه تربیت مدرس در قالب طرح پژوهشی هیات علمی انجام شده است. بدینوسیله از مساعدت مدیریت و کارکنان محترم شرکت جوجه کشی ایران و آلمان در اجرای این تحقیق سپاسگزاری می شود.

### References

- Ahmad, I. (2006) Effect of probiotics on broilers performance. *Int. J. Poult. Sci.* 5: 593-597.
- Corrier, D. E., Nisbet, D. J., Hollister, A. G., Beier, R. C., Scanlan, C. M., Hargis, B. M., DeLoach, J. R., (1994) Resistance against *Salmonella enteritidis* cecal colonization in Leghorn chicks by vent lip application of cecal bacterial culture. *Poult. Sci.* 73:648-652.
- Cox, N. A., Bailey, J. S., Blankenship, L. C., Gildersleeve, R. P. (1992) In ovo administration of a competitive exclusion culture treatment to broiler embryos. *Poult. Sci.* 71:1781-1784.
- Edens, F. W., Parkhurst, C. R., Casas, I. A., Dobrogosz, W. J. (1997) Principles of ex ovo competitive exclusion and in ovo administration of *Lactobacillus reuteri*. *Poult. Sci.* 76:179-196.
- Farnell, M. B., Donoghue, A. M., Solis de los Santos, F., Blore, P. J. (2006) Upregulation of oxidative burst and degranulation in chicken heterophils stimulated with probiotic bacteria. *Poult. Sci.* 85: 1900-1906.
- Filho, A. L. O., Higgins, J. P., Higgins, S. E., Gaona, G., Wolfenden, A. D., Tellez, G., Hargis, B. M. (2007) Ability of bacteriophages isolated from different sources to reduce *Salmonella enterica* serovar

ایمنی و تعداد باکتری های موجود در پروبیوتیک -ها و زمینه ژنتیکی میزبان بستگی دارد (۹). بهبود و تحریک سیستم ایمنی بدن به وسیله پروبیوتیک ها، ممکن است به سه طریق مشخص شود: ۱- افزایش فعالیت ماکروفاژی که از طریق افزایش توانایی فاگوسیتوز میکروارگانیسم ها نمایان می شود. ۲- افزایش تولید پادتن عمومی، که معمولاً از نوع ایمنوگلوبولین های M (IgM) و G (IgG) و اینترفرون ها هستند. ۳- افزایش تولید پادتن موضعی در سطوح مخاطی بدن، از قبیل دیواره روده. این نوع پادتن ها معمولاً از نوع IgA هستند (۱).

تست ازدیاد حساسیت تأخیری می تواند حساسیت پوست را نسبت به یک پادکن و یادسته ای از پادکن ها مشخص نماید. به کار بردن مواد شیمیائی مستقیماً در روی پوست ممکن است منجر به حساس شدن سیستمیک بدن نسبت به متابولیت های آن ماده شیمیائی شود. سرنوشت واکنش های شیمیائی این مواد حساس کننده دقیقاً معلوم نیست ولی مواد حساس کننده ای مثل دی نیتروکلرو بنزن (DNCB)، با پروتئین های مختلف پوست ایجاد کمپلکس های دی نیترو فنیل - پروتئین می کنند. توانایی یک ماده که بدن قبلاً با آن برخورد نداشته در ایجاد حساسیت تماسی، می تواند به عنوان معیاری برای سنجش ایمنی بکار رود (۱۹).

نتایج سیستم ایمنی خود مؤید این موضوع می باشند که احتمالاً در روش تزیق به تخم مرغ و افشانه نقش پاتوژن های غیر اختصاصی می تواند مؤثر باشد و احتمالاً دلیلی بر افزایش وزن نسبی طحال و بورس به عنوان دو عضولنفوئیدی در این گروه ها باشد. بیان شده که پروبیوتیک ها از دو طریق بر سیستم ایمنی بدن، چه اکتسابی و چه ذاتی، تأثیر می گذارند. یکی از طریق موادی که توسط باکتری ها تولید شده و بر دسترسی مواد مغذی تأثیر می گذارند و دیگری از طریق رقابت با عوامل میکروبی دیگر چه از طریق مواد ترشخی و چه از طریق رقابت بر سر مکان های اتصال در دستگاه گوارش (۵)، به عنوان مثال تولید و فعالیت هتروفیل ها در ایمنی ذاتی، تحت تأثیر بتا- گلوکان تولیدی توسط پروبیوتیک تجویز شده از طریق دهانی، افزایش می یابد (۱۱). صرف این که میزان عیار پادتن تولیدی علیه گلوبول قرمز اختلاف معنی داری را از نظر آماری نشان نمی دهد، نمی تواند دلیلی بر بی تأثیر بودن روش های تجویز بر سیستم ایمنی همورال باشد، زیرا سیستم ایمنی اکتسابی از پیچیدگی زیادی برخوردار می باشد. ضمن این که با توجه به نتایج عملکرد، احتمالاً روش های مختلف از طریق تغییر در دسترسی مواد مغذی در نواحی مختلف بر اساس روش تجویز، اثر خود را بر عملکرد می گذارند. لذا شاید بتوان این موضوع را با نتایج سیستم ایمنی نیز مرتبط دانست. البته اطلاعات در این زمینه کافی نبوده و فقط به گزارش نتایج بدست آمده بسنده می شود.

به طور کلی با توجه به نتایج بدست آمده از این تحقیق، بالاترین افزایش وزن و کمترین ضریب تبدیل غذایی به ترتیب در گروه های تجویز دهانی و کلواکی مشاهده شد. با در نظر گرفتن شاخص تولید به عنوان معیاری از عملکرد رشد، بهترین عملکرد در گروه تجویز دهانی مشاهده شد. گروه





- Enteritidis in vitro and in vivo. *Poult. Sci.* 86: 1904-1909.
7. Fuller, R. (1992) Problems and prospects. In *Probiotics: The Scientific Basis*. Edited by Roy Fuller. Chapman and Hall, London, UK. pp. 377-386.
  8. Ghadban, G. S. (2002) Probiotics in broiler production- a review. *Arch. Geflügelk.* 22: 49-58.
  9. Haghghi, H.R., Gong, J., Gyles, C. L., Hayes, M. A., Sanei, B., Parvizi, P., Gisavi, H., Chambers, J. R., Sharif, S. (2005) Modulation of antibody-mediated immune response by probiotics in chickens. *Clin. Diagn. Lab. Immun.* 12: 1387-1392.
  10. Kim, S. H., Park, S. Y., Yu, D. J., Lee, S. J., Ryu, K. S., Lee, D. G. (2003) Effects of feeding *Aspergillus oryzae* ferments on performance, intestinal microflora, blood serum components and environmental factors in broiler. *Korean J. Poult. Sci.* 30: 151-159.
  11. Lowry, V. K., Farnell, P. J., Ferro, C. L., Swaggerty, A. B., Kogut, M. H. (2005) Purified  $\beta$ -glucan as an abiotic feed additive up-regulates the innate immune response in immature chickens against *Salmonella enterica* serovar Enteritidis. *Int. J. Food Microbiol.* 98: 309-318.
  12. Meijerhof, R., Hulet, R. M. (1997) In ovo injection of competitive exclusion culture in broiler hatching eggs. *J. Appl. Poult. Res.* 6: 260-266.
  13. Mohan, B., Kadirvel, R., Natarajan, A., Bhaskaran, M. (1996) Effect of probiotic supplementation on growth, nitrogen utilization and serum cholesterol in broilers. *Br. Poult. Sci.* 37:395-401.
  14. Nurmi, E., Rantala, M. (1973) New aspects of *Salmonella* infection in broiler production. *Nature.* 241: 210-211.
  15. Peterson, A. L., Qureshi, M. A., Ferket, P. R., Fuller, J. C. Jr. (1999) Enhancement of cellular and humoral immunity in young broilers by the dietary supplementation of  $\beta$ -hydroxy- $\beta$ -methylbutyrate. *Immunopharm. Immuno.* 21:307-330.
  16. Pivnick, H., Nurmi, E. (1982) The Nurmi concept and its role in the control of *Salmonella* in poultry. In *Developments in Food Microbiology*. Edited by Roland Davis. Applied Sci. Publishers. London, pp. 41-70.
  17. 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. *Clin. Chem.* 19:1350-1356.
  18. SAS Institute. (1990) *SAS/STAT® User's guide*, release 6.03 edition. SAS institute Inc., Cary, NC.
  19. Verma, J., Johri, T. S., Swain, B. K., Ameena, S. (2004) Effect of graded levels of aflatoxin, ochratoxin and their combinations on the performance and immune response of broilers. *Br. Poult. Sci.* 45: 512-518.
  20. Yeo, J., Kim, K. I. (1997) Effect of feeding diets containing an antibiotic, a probiotic, or yucca extract on growth and intestinal urease activity in broiler chicks. *Poult. Sci.* 76:381-385.

# EFFECT OF HATCHERY PROBIOTIC ADMINISTRATION METHODS ON PERFORMANCE, AND IMMUNE RESPONSE IN BROILER CHICKENS

Moghaddam, A. R., Karimi Torshizi, M. A.\*, Rahimi, Sh.

*Department of Poultry Science, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran- Iran.*

(Received 13 February 2009 , Accepted 19 June 2009)

---

**Abstract:**

Probiotics are beneficial microorganisms which will be considered as alternatives to antibiotic growth promoters. The aim of the present study was to investigate the effect of probiotic administration in hatchery on performance, blood parameters and immune response of broilers. Three hundred 1-d-old male chicks (Ross 308) were assigned to five experimental groups of three replications. Birds of control group did not receive any probiotic. Birds of the remaining 4 experimental groups received probiotics in hatchery via following routes of administration including: in ovo injection, oral, spray and cloacal, respectively. Administration methods of probiotic in hatchery significantly influenced body weight gain in finisher period ( $p < 0.05$ ), feed intakes in finisher and total periods ( $p < 0.05$ ), relative weight of bursa of Fabricius in day 28 ( $p < 0.05$ ), cell mediated immunity, in terms of mean skin thickness sensitivity to dinitrochlorobenzene (DNCB) in days 28 and 38 ( $p < 0.05$ ), body weight gains in total period and relative weight of spleen in day 42 ( $p < 0.01$ ). Concentration of blood haemoglobin, plasma cholesterol and triglyceride, SRBC antibody, the T-cell mediated response against PHA-M mitogen, relative weight of spleen in day 28 and relative weight of bursa of Fabricius in day 42, were not influenced by various methods of probiotic administration in hatchery ( $p > 0.05$ ). Additionally, these data suggest that oral administration of probiotic in hatchery improved broilers performance.

**Key words:** administration, probiotic, hatchery, broilers, performance.

\*Corresponding author's email: [karimitm@modares.ac.ir](mailto:karimitm@modares.ac.ir), Tel: 021- 48292348, Fax: 021-48292200

