تاثیر استفاده‌ی همزمان از پروبیوتیک و پریبیوتیک در مرغان تخمگذار بر روی جمعیت میکروبی روده ها

ابوالفضل زارعی[۱]، مجتبی پور خلیلی[۲]، بنفشه غلام حسینی[۳] و حامد نجفی[۴]

چکیده

این آزمایش جهت ارزیابی تاثیر استفاده‌ی همزمان از پروبیوتیک و پریبیوتیک در مرغان تخمگذار بر روی جمعیت میکروبی روده ها انجام شد. تعداد ۶۰ مرغ تخمگذار های‌لاین W-36 در سن ۴۰ هفتگی انتخاب شدند و به مدت ۱۲ هفته جیره‌های آزمایشی را مصرف نمودند. این آزمایش شامل ۴ تیمار و هر تیمار دارای ۵ تکرار و هر تکرار شامل ۳ نمونه بود و به صورت طرح بلوک کامل تصادفی انجام شد. تیمارها عبارت بودند از: شاهد، جیره‌ی پایه + پروبیوتیک، جیره‌ی پایه + پریبیوتیک و جیره‌ی پایه + پروبیوتیک + پریبیوتیک. در پایان دوره آزمایش، پس از نمونه برداری، شمارش باکتریهای پلی فرم و لاکتوباسیل از انتهای سکوم انجام گردید. نتایج بدست آمده تغییرات معنی‌داری را در جمعیت کلی‌فرم‌ها و لاکتوباسیل‌های موجود در سکوم نشان ندادند. ولی با این حال نتایج نشان دادند که جمعیت لاکتوباسیل‌ها در گروه‌های مصرف‌کننده‌ی پروبیوتیک نسبت به گروه‌هایی که از پروبیوتیک استفاده نکردند بیشتر بود.

کلمات کلیدی: پروبیوتیک، پریبیوتیک، مرغ تخمگذار، جمعیت میکروبی

۱- عضو هیات علمی گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج
۲- دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج
۳- عضو هیات علمی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج
۴- دانش آموخته دکترای حرفه ای دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

با توجه به گسترش مصرف انواع مواد افزودنی در غذا و افزایش چشمگیر تولیدات جهانی فرآورده‌های دام و طیور، براحتی می‌توان حجم و میزان دارو و مواد شیمیایی که از این رهگذر به عنوان یک آلاینده محیط زیست را تهدید نموده و سلامت مصرف‌کنندگان این قبیل فرآورده‌ها را به مخاطره می‌افکند برآورد نمود. بر اساس گزارشات موجود، افزایش روز افزون ناهنجاری‌های مادرزادی، بیماری‌های مزمن، عدم تاثیر داروهای آنتی‌بیوتیک، فزونی پدیده‌ی مقاومت میکروبی و صدها عارضه‌ی کوچک و بزرگ دیگر که به عنوان معضلات بهداشتی کنونی جوامع بشری یاد می‌شود، به مصرف بی رویه‌ی همین مواد نسبت داده شده است. در عین حال، به لحاظ نقش ارزنده‌ی این ترکیبات در افزایش بهره‌وری در تولیدات دام و طیور، در اکثر موارد استفاده‌ی مکرر از آنها اجتناب‌ناپذیر گردیده است. لذا داشتن انواعی از افزودنی‌ها که ضمن حفظ ویژگی‌های مطلوب فاقد تبعات سوء بهداشتی و زیست محیطی باشند، سالهاست که توجه همه‌ی پژوهشگران را در سطح جهان به خود معطوف داشته است. منع مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها در برخی از کشورها محققین را بر آن داشت تا توجه خود را به ترکیباتی بی خطر و طبیعی معطوف کنند. پروبیوتیک‌ها و پری‌بیوتیک‌ها را می‌توان یکی از دستاوردهای مثبت محققین دانست که با توجه به سوابق تاریخی و با الهام از شرایط طبیعی میکروارگانیسم‌ها در دستگاه گوارش و تعادل موجود در طبیعت تهیه شده و به عنوان جایگزین آنتی‌بیوتیک‌ها و مواد محرک رشد در غذای دام و طیور به صنعت عرضه گردیده است. طبق آخرین تعاریف سازمان خوار و بار جهانی و سازمان جهانی بهداشت در سال ۲۰۰۱ و رید و همکاران در سال ۲۰۰۳ پروبیوتیک‌ها را به این صورت تعریف کردند: میکروارگانیسم‌های زنده که وقتی به مقدار کافی استفاده شوند، تاثیرات سودمندی برای سلامتی میزبان دارند. همچنین گیبسون و همکاران در سال ۲۰۰۴ تعریف جدیدی از پریبیوتیک‌ها ارائه کردند: یک ماده‌ی خوراکی انتخابی تخمیر شده که هم در ترکیب و هم در فعالیت میکروفلور دستگاه گوارش باعث ایجاد تغییرات سودمندی می‌شود(گیبسون و همکاران، ۲۰۰۴). باید به این نکته تاکید کرد که همه‌ی کربوهیدرات‌های غیرقابل هضم و همه‌ی قسمت‌های فیبری جیره پریبیوتیک محسوب نمی‌شوند. تشخیص داده شده که باکتری‌های ساکن دستگاه گوارش نقش مهمی در خصوصیات آن و سلامت میزبان بازی می‌کند(فالک و همکاران، ۱۹۹۸). باکتری‌های روده تاثیرات مهمی بر روی عملکرد سد مخاطی و بلوغ روده داشته و برای تکامل بافت لنفی ضروری می‌باشند. کمبود یا عدم وجود این باکتری‌ها موجب نقص در عملکرد سد روده‌ای و کاهش پاسخ IgA می شود (هوپر و همکاران، ۲۰۰۱). انتهای روده‌ی بزرگ با بیش از ۱۰۰ میلیارد میکروارگانیسم بیشترین جمعیت باکتریایی را شامل می‌شود(بویل و تانگ، ۲۰۰۶). یکی از وظایف اصلی میکروفلور دستگاه گوارش، تخمیر اجزای غیر قابل هضم در جیره بوده که موجب تامین انرژی برای حیوان می‌شود. منبع اصلی انرژی برای تخمیر، کربوهیدرات‌ها می‌باشند که شامل پلی‌ساکاریدهای بزرگ (مثل سلولز و همی‌سلولز)، الیگوساکاریدها و الکل‌های غیر قابل جذب می‌باشد(کامینگز و همکاران، ۱۹۹۶). تخمیر فقط شامل کربوهیدرات‌ها نمی‌شود، بلکه

www.SID.ir

شامل دیگر اجزای جیره مثل پروتئین‌ها و گلیکوپروتئین‌ها هم می‌شود. محصولات اصلی تخمیر اسیدهای چرب کوتاه زنجیر می‌باشند. تخمیر قسمت‌های پروتئینی جیره منجر به تولید متابولیت‌های مضری مثل آمونیاک، آمین‌ها و ترکیبات فنلی می‌شود(مک‌فارلن و همکاران، ۱۹۸۶). فعالیت‌های تخمیری در قسمت‌های مختلف روده فرق می‌کند، ولی در سکوم و کولون شاهد بیشترین فعالیت تخمیری می‌باشیم. لذا در این قسمت‌ها رشد باکتری‌ها سریع بوده، PH پائین(۶- ۵) و تولید اسیدهای چرب کوتاه زنجیر زیاد است(مک‌فارلن و همکاران، ۱۹۹۲). اسیدهای چرب کوتاه زنجیر شامل استات، پروپیونات و بوتیرات بوده که مولکول‌های آلی کوچکی بوده و توسط عمل انتشار جذب می‌شوند. جذب یون‌هایی مثل کلسیم، منیزیوم و آهن در حضور اسیدهای چرب کوتاه زنجیر در سکوم افزایش می‌یابد(یونس و همکاران، ۲۰۰۱). اسیدهای چرب کوتاه زنجیر نه تنها منبع انرژی برای بافت‌ها هستند، بلکه تاثیرات فیزیولوژیکی مهمی بر روی بدن حیوان دارند(کامینگز و همکاران، ۱۹۸۷). یکی از وظایف عمده‌ی میکروارگانیسم‌ها، حفظ روده‌ها در مقابل عوامل بیماریزای بیرونی می‌باشد. حیواناتی که دستگاه گوارش آنها خالی از میگروارگانیسم‌ها باشد بیشتر مستعد درگیری با بیماری می‌باشند(تاگوچی و همکاران، ۲۰۰۲). مشخص شده است که برخی از باکتری‌ها تاثیرات مثبتی بر روی سلامتی دارند، لذا به منظور تغییر ترکیب میکروفلور روده تدابیری اندیشیده و راهکارهایی ارائه شده است. اگرچه استفاده از آنتی‌بیوتیک ها برای حذف گونه‌های ناخواسته، برای مدیریت باکتری‌های دستگاه گوارش یک اصل است، ولی نگرانی‌هایی درباره‌ی سازگاری باکتری‌ها، افزایش مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها و ناپایداری سایر باکتری‌ها موجب شده که تحقیق برای یک جایگزین به این منظور آغاز شود. با تولد حیوان، میکروارگانیسم‌های دستگاه گوارش به صورت انتخابی شروع به استقرار و تکثیر می‌کنند، به نحوی که پس از مدتی یک سری از میکروارگانیسم‌های دستگاه گوارش به صورت بومی در می‌آیند. ترکیب میکروفلور روده‌ی باریک تقریبا ثابت است، ولی در عین حال این ترکیب می‌تواند تحت تاثیر عوامل مختلفی قرار گیرد. این عوامل شامل سن، جیره، محیط، استرس و داروها می‌باشد. ما در این آزمایش تاثیر استفاده از پروبیوتیک و پریبیوتیک را بر روی جمعیت میکروبی روده‌ها در مرغان تخمگذار مورد بررسی قرار دادیم.

مواد و روش‌ها

تعداد ۶۰ عدد مرغ تخمگذار Hy line W-36 در سن ۴۰ هفتگی با وزن تقریبی ۱۴۰۰ گرم انتخاب شده و به ۴ گروه تقسیم شدند. طرح آزمایشی به صورت بلوک کامل تصادفی شامل ۴ تیمار، هر کدام دارای ۵ تکرار و هر تکرار شامل ۳ نمونه بود. جیره‌های آزمایشی عبارت بودند از: ۱) شاهد A (جیره‌ی پایه)، ۲) گروه B (جیره‌ی پایه + میزان ۵۰ گرم پروتکسین در هر تن جیره)، ۳) گروه C (جیره‌ی پایه + میزان ۷۰۰ گرم مانان‌الیگوساکارید در هر تن جیره)، ۴) گروه D (جیره‌ی پایه + استفاده‌ی همزمان از پروبیوتیک و پری‌بیوتیک). با استفاده از کاتالوگ مرغ تخمگذار های‌لاین W-36 نیاز مرغ‌ها تعیین شد و با استفاده از نرم‌افزار UFFDA جیره‌ای برای مرغ‌ها تنظیم

www.SID.ir

گردید ترکیب جیره‌ی غذایی در جداول زیر نوشته شده است:

جدول ۱- جیره پایه مورد استفاده در این آزمایش. (۵۸-۴۵ هفتگی، تنظیم شده بر اساس مصرف ۱۰۰ گرم خوراک)

اقلام غذایی	درصد مواد غذایی
ذرت	۴۸
سویا	۲۵/۱
گندم	۱۰
روغن	۳/۷
کربنات‌کلسیم	۱۰/۰۳
دی‌کلسیم‌فسفات	۲/۰۹
دی ال متیونین	۰/۱۷
نمک	۰/۲۵
جوش‌شیرین	۰/۲۱
مکمل معدنی و ویتامینی	۰/۵

جدول ۲- آنالیز مواد مغذی جیره‌ی پایه

مواد مغذی	مقدار تامین شده توسط جیره
انرژی قابل متابولیسم	۲۹۰۰
پروتئین خام	۱۵/۲۵
لیزین	۰/۷۸
متیونین	۰/۳۷
متیونین + سیستئین	۰/۶۷
فسفر(قابل دسترس)	۰/۴۶
کلسیم	۴/۳۵
کلر	۰/۱۸
سدیم	۰/۱۸
ترئونین	۰/۶
تریپتوفان	۰/۱۹
آرژنین	۱/۰۳
ایزولوسین	۰/۸۸
والین	۰/۷۵

www.SID.ir

مرغان تخمگذار در همه‌ی گروه‌ها ابتدا به مدت ۲ هفته جیره‌ی پایه و سپس به مدت ۱۰ هفته از جیره‌های آزمایشی مصرف کردند. در طول دوره‌ی آزمایش ساعات روشنایی و تاریکی سالن به ترتیب ۱۶ و ۸ ساعت بود. جهت مطالعه و بررسی تاثیر پروبیوتیک و پری‌بیوتیک‌ها بر روی جمعیت لاکتوباسیل‌ها و کلی‌فرم‌های موجود در سکوم در انتهای دوره‌ی آزمایش از هر تیمار ۳ مرغ انتخاب گردید و پس از کشتار، از سکوم آنها نمونه تهیه و در ظرف مخصوص قرار داده شد. در ادامه این ظروف در فریزر قرار داده شدند و نهایتا همه‌ی نمونه‌های تهیه شده به آزمایشگاه میکروبیولوژی انتقال گردیدند. جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار SPSS استفاده گردید. از آزمون چند دامنه‌ای دانکن نیز برای مقایسه میانگین گروه‌های آزمایشی در ارتباط با صفت مورد آزمایش استفاده شد.

نتایج و بحث

کلی‌فرم‌ها

نتایج جدول آنالیز واریانس مربوط به جمعیت کلی‌فرم‌ها نشان می‌دهد که اثر تیمار غیر معنی‌دار می‌باشد($p<۰/۰۵$). مقایسه‌ی میانگین بین تیمارها نشان می‌دهد که جمعیت کلی‌فرم‌ها در گروه مصرف‌کننده‌ی پروبیوتیک و پریبیوتیک نسبت به سایر گروه‌ها بیشتر است. در سکوم و کولون ما شاهد بیشترین فعالیت تخمیری می‌باشیم. لذا در این قسمت‌ها رشد باکتری‌ها سریع بوده و PH پائین می‌باشد. شاید یکی از علل بیشتر بودن تعداد کلی‌فرم ها این مورد باشد. مطالعات نشان داده است که پری‌بیوتیک‌ها در بعضی موارد خاص، قادر به کاهش برخی از گونه‌های باکتریایی موجود در روده هستند. در اینجا هم شاید باعث شده که جمعیت کلی‌فرم‌ها نسبت به گروه شاهد کاهش یابد. همچنین رشد برخی از باکتری‌های پاتوژن به خصوص جمعیت باکتری‌های گرم منفی در روده‌ها، با ترشح هورمون‌هایی مثل اپی‌نفرین و نوراپی‌نفرین که بر اثر استرس تولید می‌شوند، تحریک می‌شود (لایت، ۲۰۰۴)

لاکتوباسیل‌ها

نتایج جدول آنالیز واریانس مربوط به جمعیت لاکتوباسیل‌ها حاکی از غیر معنی‌دار بودن اثر تیمار می‌باشد($p<۰/۰۵$). مقایسه میانگین بین تیمارها نشان می‌دهد در گروه‌هایی که از پروبیوتیک استفاده کرده‌ایم نسبت به گروه‌هایی که از پروبیوتیک استفاده نکرده‌ایم جمعیت لاکتوباسیل‌ها بیشتر است. شاید علت آن استفاده از پروبیوتیکی است که چندین گونه‌ی مختلف لاکتوباسیل را دارا می‌باشد و یک جمعیت بزرگ لاکتوباسیل را ما به همراه خوراک وارد دستگاه گوارش مرغ می‌کنیم. مکانیسم اثر پروبیوتیک‌ها بر روی جمعیت میکروارگانیسم‌های دستگاه گوارش ممکن است شامل تنظیم PH روده‌ها، خاصیت آنتاگونیسم آنها با باکتری‌های پاتوژن از طریق تولید ترکیبات ضد میکروبی و یا رقابت با باکتری‌های پاتوژن برای اتصال به موقعیت‌های موجود در روده، مواد مغذی و عوامل رشد

Archive of SID

www.SID.ir

باشد (پاروز و همکاران، ۲۰۰۶)

مقایسه میانگین جمعیت میکروبی روده (Log C.F.U/gr)

تیمار	کلی‌فرم	لاکتوباسیل
شاهد	۵/۵۱ ± ۰/۷۱	۸/۴۹ ± ۰/۵۶
پروبیوتیک	۵/۷۸ ± ۰/۶۶	۹/۱۸ ± ۰/۴۱
پریبیوتیک	۵/۶۱ ± ۰/۵۶	۸/۶۱ ± ۰/۲۶
پروبیوتیک+پریبیوتیک	۵/۴۸ ± ۱/۲۹	۸/۹۴ ± ۰/۴۴
SE	۰/۵۷	۰/۲۱

آزمایشات مختلف نشان داده که وضعیت میکروبی روده‌ها تاثیر بسزایی بر روی عملکرد طیور دارد. در این آزمایش استفاده از پروبیوتیک به میزان ۵۰ گرم در تن و استفاده از پریبیوتیک به مقدار ۷۰۰ گرم در تن و همچنین استفاده‌ی همزمان از آنها تاثیر مثبتی بر روی جمعیت لاکتوباسیل‌ها گذاشته است. استفاده‌ی همزمان از پروبیوتیک و پریبیوتیک به دلیل مکانیسم‌های جداگانه‌ی آنها تاثیرات بسیار خوبی در مورد صفات مورد آزمایش داشته و تاثیر فزاینده‌ای بر روی عملکرد مرغان تخمگذار گذاشته است. با تغییر جمعیت میکروبی روده و افزایش تعداد باکتری‌های تولیدکننده‌ی اسیدلاکتیک ما شاهد کاهش PH دستگاه گوارش می‌باشیم که باعث افزایش حلالیت مواد مغذی موجود در خوراک شده و به دنبال آن افزایش راندمان جذب خوراک دیده می‌شود. همچنین تغییرات خوبی که در وضعیت بافت‌شناسی روده‌ها مشاهده شد نیز در افزایش عملکرد مرغان تخمگذار تاثیرگذار بوده است.

Archive of SID

www.SID.ir

منابع

۱- قدرت ع. ۱۳۸۹. بررسی اثر مصرف نانونقره و پروبیوتیک‌ها و اثر متقابل آنها بر عملکرد جوجه‌های گوشتی. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه آزاد کرج.

۲- قیصری ع، آذربایجانی ع، احمدی ف. ۱۳۸۷. فرهنگ جامع علوم طیور. اصفهان: انتشارات ارکان دانش، ۶۰۷ صفحه

3- Boyle,RJ, Tang MLK. 2006. The role of probiotics in the management of allergic disease. Clinicaland Experimental Allergy, 36(5): 568–576.

4- Cummings JH, Beatty ER, Kingman SM, Bingham SA, Englyst HN. 1996. Digestion and physiological properties of resistant starch in the human large bowel. British Journal of Nutrition, 75(5): 733–747.

5- Falk PG, Hooper LV, Midtvedt T, Gordon JI. 1998. Creating and maintaining the gastrointestinal ecosystem, what we know and need to know from gnotobiology. Microbiol Mol Biol Rev, 62: 1157–1170.

6- FAO/WHO Joint Expert Consultation on Evaluation of Health and Nutritional Properties of Probiotics in Food Including Powder Milk with Live Lactic Acid Bacteria, October 2001.

7- Fuller R. 1989. Probiotics in man and animals. Journal App Bacteriol, 66: 365–378.

8- Gibson GR, Probert HM, VanLoo JAE, Rastall RA, Roberfroid MB. 2004. Dietary modulation of the human colonic microbiota: Updating the concept of prebiotics, Nutr Res Rev, 17: 259–275.

9- Hooper LV, Wong MH, Thelin A, Hansson L, Falk PG, Gordon JI. 2001. Molecular analysis of commensal host microbial relationships in the intestine. Science 2001, 291 (5505): 881–884.

10- Hy-line international, 2009. variety w-36 Commercial Management Guide 2009-2011. Hy line international, westdes moines, Iowa, 44 p.

11- Lyte M. 2004. Microbial endocrinology and infectious disease in the 21st century. Trends Microbiol, 12: 14–20.

12- Macfarlane GT, Gibson GR, Cummings JH. 1992. Comparison of fermentation reactions in different regions of the human colon. Journal of Applied Bacteriology, 72(1): 57–64.

13- Macfarlane,G.T.,Cummings,J.H.,Allison,C., Protein degradation by human intestinal bacteria. Journal of General Microbiology 1986, 132,1647–1656.

14- Parvez S, Malik KA, Ah Kang S, Kim HY. 2006. Probiotics and their fermented food products are

Archive of SID

www.SID.ir

beneficial for health. J Appl Microbiol, 100(6): 1171–1185.

15- Reid G, Sander ME, Gaskins HR, Gibson GR, Mercenier A, Rastall R, Roberfroid M, Rowland I, Cherbut C, Klaenhammer TR. 2003. New scientific paradigms for probiotics and prebiotics. Journal Clin Gastroentrol, 37: 105–118.

16- Taguchi H, Takahashi M, Yamaguchi H, Osaki T, Komatsu A, Fujioka Y, Kamiya S. 2002. Experimental infection of germ free mice with hyper toxigenic enterohaemorrhagic Escherichia coli O157:H7, strain 6. Journal of Medical Microbiology, 51(4): 336–343.

17- Younes H, Coudray C, Bellanger J, Demigne C, Rayssiguier Y, Remesy C. 2001. Effects of two fermentable carbohydrates (inulin and resistant starch) and their combination on calcium and magnesium balance in rats. British Journal of Nutrition, 86(4): 479–485.

Archive of SID

www.SID.ir