Archive of SID

نشریه علوم دامی
(پژوهش و سازندگی)

شماره ۱۲۸، پاییـز ۱۳۹۹
ص‌ص: ۸۳~۹۶

تأثیر جیره‌های غنی شده با پروبیوتیک، پری‌بیوتیک و کنجاله سویا تخمیری بر عملکرد، مورفولوژی روده و جمعیت سالمونلا در جوجه‌های گوشتی چالش یافته با سالمونلا تیفی–موریوم

- **حسین محب الدینی** (نویسنده مسئول)
استادیار گروه علوم دامی، دانشگاه محقق اردبیلی.
- **وحید جزی**
دانش‌آموخته مقطع کارشناسی ارشد تغذیه طیور، دانشکده علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان.
- **اکرم شبانی**
دانش‌آموخته مقطع دکتری تغذیه طیور، دانشکده علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان.
- **امین عشایری‌زاده**
دانش‌آموخته مقطع دکتری تغذیه طیور، دانشکده علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان.
- **رضا برکتین**
دانش‌آموخته مقطع دکتری تغذیه طیور، موسسه تحقیق و توسعه، دانشگاه آدلاید استرالیا.

تاریخ دریافت : آبان ۱۳۹۷ تاریخ پذیرش : شهریور ۱۳۹۸
شماره تماس نویسنده مسئول: ۰۹۱۴۴۵۵۹۹۵۴
Email: mohebodini@yahoo.com

شناسه دیجیتال (DOI): 10.22092/asj.2019.124243.1813

چکیده

هدف از این مطالعه بررسی اثرات جیره های غنی شده با پروبیوتیک، پری بیوتیک و کنجاله سویای تخمیری بر عملکرد، مورفولوژی روده و جمعیت سالمونلا در جوجه‌های گوشتی مواجهه یافته با *سالمونلا تیفی‌موریوم* بود. تعداد ٤٥٠ قطعه جوجه گوشتی سویه راس ۳۰۸ در قالب طرح کاملاً تصادفی به ۵ تیمار آزمایشی با ٦ تکرار و هر تکرار با ۱۵ جوجه اختصاص داده شد. تیمارهای آزمایشی شامل ۱)جیره پایه (بر اساس ذرت و کنجاله سویا) و بدون مواجهه با سالمونلا (شاهد منفی)، ۲) جیره پایه و مواجهه یافته با سالمونلا (شاهد مثبت)، ۳) جیره پایه بعلاوه ۰/۰۲ درصد پروبیوتیک، ٤) جیره پایه بعلاوه ۰/۲ درصد پری‌بیوتیک و ۵) جیره حاوی کنجاله سویای تخمیری بودند. جوجه‌های تمامی گروه ها به جز شاهد منفی در پایان روز سوم پرورش، با *سالمونلا تیفی‌موریوم* از طریق دهان چالش داده شدند. نتایج آزمایش نشان داد که در مقایسه با گروه شاهد مثبت، تغذیه جیره‌های حاوی پروبیوتیک، پری‌بیوتیک و کنجاله سویای تخمیری سبب بهبود چشمگیر فراسنجه‌های عملکرد جوجه های چالش یافته شد (P<۰/۰۵). در ۷ و ١٤ روز پس از چالش، درصد آلودگی در تیمارهای پروبیوتیک، پری‌بیوتیک و کنجاله سویای تخمیری کمتر از تیمار شاهد مثبت، بود. ارتفاع پرز و نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت در دئودنوم و ژژنوم گروه شاهد مثبت کمتر از سایر گروه‌های چالش یافته بود (P<۰/۰۵). به طور کلی، نتایج نشان داد که استفاده از کنجاله سویای تخمیری، پروبیوتیک و پری بیوتیک در جیره غذایی می تواند سبب بهبود عملکرد رشد، مورفولوژی روده و کاهش کلونیزاسیون سالمونلا در جوجه های گوشتی مواجهه با *سالمونلا تیفی‌موریوم* گردد. بنابراین، کنجاله سویای تخمیری به دلیل داشتن نقشی شبیه به پروبیوتیک‌ها و پری‌بیوتیک‌ها در کنترل آلودگی‌های سالمونلایی می‌تواند به عنوان یک منبع پروتئینی فرآسودمند در تغذیه جوجه‌های گوشتی مورد توجه قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: باکتری‌های اسید لاکتیکی، تخمیر میکروبی، سلامت روده، سالمونلا.

www.SID.ir

Archive of SID

Animal Science Journal (Pajouhesh & Sazandegi) No 128 pp: 83-96

Impact of fortification of diets with probiotic, prebiotic and fermented soybean meal on performance, intestinal morphology, and Salmonella population in broiler chickens challenged with *Salmonella typhimurium*

1:*Mohebodini, H. Assistant Professor, Department of Animal Science, University of Mohaghegh Ardabili
2:Jazi, V. MSc., Department of Animal Nutrition, Faculty of Animal Science, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources
3:Shabani, A. Ph.D, Department of Animal Nutrition, Faculty of Animal Science, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources
4:Ashayerizadeh, A. Ph.D, Department of Animal Nutrition, Faculty of Animal Science, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources
5:Barekatain, R. Assistant Professor, Department of Animal Science, Research and Development Institute, Roseworthy Campus, University of Adelaide, Roseworthy, Australia

Received: November 2018 **Accepted: September 2019**

The aim of this study was to investigate the effects of fortification of diets with probiotic and prebiotic with fermented soybean meal on performance, intestinal morphology and Salmonella population in broiler chickens exposed to *Salmonella typhimurium*. A total of 450 Ross 308 broiler chickens were allocated into 5 experimental treatments with 6 replicates of chicks each using a completely randomized design. Experimental treatments included: 1) basal diet (corn and soybean meal) without exposure to salmonella (negative control), 2) basal diet and exposed to Salmonella (positive control), 3) basal diet plus 0.02% probiotic, 4) basal diet plus 0.2% prebiotic and 5) diet containing fermented soybean meal. All chicks except negative control were orally challenged with *Salmonella typhimurium* at the end of 3 d of rearing. The results showed that in compared to positive control group, feeding diets containing probiotic, prebiotic and fermented soybean meal significantly improved performance parameters in challenged chicks ($P < 0.05$). At d 7 and 14 post-challenge, the percentage of contamination in probiotic, prebiotic, and fermented soybean meal treatments were less than positive control treatment. Villus height and villus height ratio to crypt depth in duodenum and jejunum of positive control group were lower compared with other challenged groups ($P<0.05$). In general, the results indicated that the use of fermented soybean meal, probiotic and prebiotic in diet could improve the growth performance, intestinal morphology and reduce colonization of salmonella in broiler chickens exposed to *Salmonella typhimurium*. Therefore, fermented soybean meal due to having a similar role to probiotics and prebiotics in controlling salmonella contamination, could be considered as a functional protein source in broiler chickens feeding.

Key words: Lactic acid bacteria, Microbial fermentation, Intestinal health, Salmonella.

مقدمه

یکی از شایع‌ترین سروتیپ‌های سالمونلا، *سالمونلا تیفی‌موریوم*[1] است که به عنوان مهم‌ترین عامل مسمومیت با منشأ غذایی (غذازاد) در انسان مطرح می‌باشد و معمولاً از طریق محصولات آلوده طیور نظیر گوشت و تخم‌مرغ منتقل می‌شود. از این‌رو، کنترل شیوع عفونت ناشی از *سالمونلا تیفی‌موریوم* در گله‌های طیور، جهت حفظ امنیت غذایی محصولات، کاهش عفونت‌های دستگاه گوارش و متعاقباً کاهش مرگ و میر از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (Rajani و همکاران، ۲۰۱۶). این موضوع سبب شده است تا محققین با بکارگیری راه‌کارهای تغذیه ای نظیر تغییر فرمولاسیون جیره و یا استفاده از مواد افزودنی به عنوان عاملی بالقوه بتوانند استراتژی مناسبی را در جهت کاهش آلودگی سالمونلایی در دستگاه گوارش حیوانات اتخاذ کنند (Ashayerizadeh و همکاران، ۲۰۱۷). در ابتدا استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها به عنوان گزینه مناسب برای کنترل و درمان

www.SID.ir

Archive of SID

عفونت های باکتریایی رایج شد؛ اما به دنبال افزایش نگرانی‌ها مبنی بر امکان ایجاد مقاومت و تجمع بقایای آنتی‌بیوتیک‌ها در محصولات، استفاده از این ترکیبات دارویی در تغذیه طیور ممنوع شد (Cheng و همکاران، ۲۰۱۴). سپس استفاده از جایگزین‌های آنتی‌بیوتیکی نظیر پروبیوتیک‌ها، پری‌بیوتیک‌ها و اسیدهای آلی به دلیل تأثیر مثبت بر تعادل فلور میکروبی دستگاه گوارش توجه زیادی را به خود معطوف کرد (دانشیار و همکاران، ۱۳۹۳؛ Jazi و همکاران، ۲۰۱۸a). اثرات مفید پروبیوتیک‌ها و پری‌بیوتیک‌ها بر شاخص‌های عملکردی و وضعیت سلامت پرندگان در مطالعات مختلفی گزارش شده است (Biloni و همکاران، ۲۰۱۳؛ Salim و همکاران، ۲۰۱۳؛ Pourabedin و همکاران، ۲۰۱۷؛ Ding و همکاران، ۲۰۱۷). با این حال، استفاده از این افزودنی‌ها به دلیل عواملی نظیر سن و نژاد طیور، ترکیب جیره، زمان مصرف، نوع این ترکیبات و همچنین میزان استفاده از آنها همیشه اثر مثبتی بر عملکرد و سلامت پرندگان نداشته است (Van der Aar و همکاران، ۲۰۱۷).

امروزه استفاده از خوراک‌های تخمیری در تغذیه به دلیل اثرات مثبت آنها بر عملکرد و سلامت عمومی حیوانات بیش از پیش مورد توجه قرار گرفته است (Niba و همکاران، ۲۰۰۹). خوراک های تخمیری به واسطه ویژگی های منحصربفرد آنها نظیر غلظت بالای اسید لاکتیک و حضور باکتری‌های اسید لاکتیکی میتوانند سبب ایجاد تعادل در فلور میکروبی دستگاه گوارش حیوان شوند. ظاهراً، باکتری‌های اسید لاکتیکی و اسیدهای آلی موجود در خوراک‌های تخمیری با اسیدی کردن بخش‌های مختلف دستگاه گوارش و ترویج باکتری های مفید می توانند سبب بهبود سد دفاعی بخش‌های ابتدایی دستگاه گوارش در برابر باکتری‌های بیماری‌زا شوند که در نتیجه باعث ارتقاء سطح بهداشت دستگاه گوارش می‌شوند (Ashayerizadeh و همکاران، ۲۰۱۷). همچنین، خوراک های تخمیری با فراهم نمودن انرژی و مواد مغذی برای گونه‌های مفید میکروبی، می‌توانند تراکم و ترکیب جمعیت میکروبی دستگاه گوارش طیور را تغییر دهند (Niba و همکاران، ۲۰۰۹). بنابراین، این ویژگی‌های منحصر بفرد خوراک‌های تخمیری بسیار شبیه به نقش پروبیوتیک-ها و پری‌بیوتیک‌ها در بهبود سلامت دستگاه گوارش می‌باشد (Chiang و همکاران، ۲۰۱۰). از سوی دیگر، در گزارشات مختلفی اثرات مثبت تکنیک تخمیر میکروبی بر کاهش سطح ترکیبات ضد تغذیه ای محصولات پروتئینی و بهبود ارزش تغذیه-ای آنها تأیید شده است (Gao و همکاران، ۲۰۱۳؛ Kook و همکاران، ۲۰۱۴؛ Jazi و همکاران، ۲۰۱۷). کنجاله سویا مرسوم-ترین و ایده آل ترین منبع پروتئینی در تهیه خوراک طیور است. با این وجود، کنجاله سویا دارای فاکتورهای ضدتغذیه‌ای نظیر بازدارنده تریپسین، پلی ساکاریدهای غیرنشاسته ای و اسید فایتیک است که تأثیر سوئی بر هضم و جذب مواد مغذی خوراک می-گذارد. Feng و همکاران (۲۰۰۷) گزارش نمودند که کاهش مقدار فعالیت بازدارنده تریپسین در کنجاله سویا در اثر تخمیر با قارچ *آسپرژیلوس اورایزا*[۲] سبب بهبود عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی شد. اخیراً، Jazi و همکاران (۲۰۱۸b) در پژوهشی تاثیر کنجاله سویای تخمیری بر فلور میکروبی دستگاه گوارش بلدرچین‌های ژاپنی را مورد ارزیابی قرار دادند. این محققین بیان داشتند که استفاده از محصولات تخمیری در تغذیه بلدرچین‌ها سبب افزایش جمعیت باکتری‌های اسید لاکتیکی در چینه‌دان و کاهش کلی‌فرم‌ها در سکوم می‌شود. با این حال، اطلاعات بسیار محدودی پیرامون تأثیر استفاده از خوراک های تخمیری در تغذیه جوجه های گوشتی در مواجهه با سالمونلا وجود دارد. همچنین با توجه به اینکه محصولات تخمیری می‌توانند در دستگاه گوارش دارای نقشی شبیه به مکمل های پروبیوتیکی و پری‌بیوتیکی باشند، این آزمایش با هدف مقایسه اثربخشی پروبیوتیک، پری‌بیوتیک و کنجاله سویا تخمیری بر عملکرد، مورفولوژی روده و جمعیت سالمونلا در جوجه‌های گوشتی چالش یافته با *سالمونلا تیفی-موریوم* انجام شد.

مواد و روش‌ها

در مطالعه حاضر، باکتری‌های *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*[۳] PTCC1643، *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*[۴] PTCC1058 و *باسیلوس سابتیلیس*[۵] PTCC1156 و همچنین قارچ *آسپرژیلوس*

www.SID.ir

Archive of SID

اوریزا PTCC5163 به شکل ویال‌های لئوفیلیزه از مرکز کلکسیون قارچ و باکتری سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه و به ترتیب با استفاده از محیط‌های کشت MRS-agar[۶] و Nutrient-agar در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و PDA[۷] در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد فعال‌سازی شدند. تهیه کشت آغازگر از باکتری ها و قارچ، به ترتیب با استفاده از محیط‌های MRS-broth و PDA در طی انکوباسیون در دماهای ۳۷ و ۲۵ درجه سانتی گراد انجام شد. سپس به هر کیلوگرم از کنجاله سویا، ۱ لیتر از ترکیب آب مقطر و کشت آغازگر (حاوی حداقل 10^5 واحد تشکیل کلنی در میلی‌لیتر) اضافه شد. مخلوط حاصل درون مخازن ویژه (دارای سوپاپ یکطرفه جهت خروج گازهای تولید شده و ممانعت از ورود هوا) در مدت ۷ روز در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد تخمیر شد (Wang و همکاران، ۲۰۱۴). نهایتاً، کنجاله سویا تخمیری به مدت ۳ روز در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد خشک شد. برای تعیین pH خوراک‌ها، ۲۰ گرم نمونه به داخل بشر ۲۵۰ میلی‌لیتری منتقل و به آن ۲۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر افزوده شد. سپس میزان pH به وسیله pH متر دیجیتالی (pH Meter CG 804, SCHOTT GERATE) اندازه‌گیری شد (Chiang و همکاران، ۲۰۱۰). برای تعیین جمعیت باکتری‌های اسید لاکتیک، ۱ گرم از کنجاله سویای خام و یا تخمیر شده با ۹ میلی لیتر محلول بافر پپتون واتر رقیق شد و جهت ساخت سری رقیق سازی از محلول بافر پپتون واتر استفاده شد. سپس ۰/۱ میلی‌لیتر از رقت مناسب بر روی پلیت‌های حاوی محیط کشت MRS-agar گسترش داده شد. پلیت ها در شرایط بی هوازی به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. پس از شمارش تعداد کلنی ها در هر پلیت، عدد حاصل در عکس رقت ضرب و نتیجه به عنوان تعداد واحد تشکیل کلنی در یک گرم نمونه گزارش شد (Ashayerizadeh و همکاران، ۲۰۱۷). همچنین، مقدار پروتئین خام در کنجاله سویای تخمیری و خام به وسیله دستگاه کجلدال و مطابق با روش‌های استاندارد (۲۰۰۵) AOAC تعیین شد. برای اندازه گیری پروتئین خام، نمونه‌ها در فلاسک کجلدال (Behr Labor-technik GmbH, D-40599 Dusseldorf) هضم شدند و سپس با استفاده از دستگاه تقطیر اتوماتیک کجلدال (wasserdampf destillierer S4, behr Labor-Technik, Dusseldorf) تقطیر با ضریب تبدیل ۶/۲۵ و توسط دستگاه تیتراتور اوتوماتیک (Titro line, Schott Industruments) با اسید کلریدریک ۰/۱ نرمال تیتر شدند. فعالیت بازدارنده تریپسین بر اساس روش Smith و همکاران (۱۹۸۰) اندازه‌گیری شد و نتایج آن به صورت میلی گرم در هر گرم نمونه بیان شد. به طور خلاصه، در ابتدا نمونه ها با استفاده از اسید کلریدریک ۰/۰۵ مولار عصاره گیری شدند و سپس محلول حاصل به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۱۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. مقدار جذب محلول برای ارزیابی بازدارنده تریپسین به همراه ان-آلفا-بنزویئیل-دی ال-آرژنین- نیترو آنیلید به عنوان سوبسترای ویژه توسط دستگاه اسپکتوفتومتر (HG-AAS; AA6501, Shimadzu Ltd, Japan) در طول موج ۴۱۰ نامتر به همراه محلول بلانک قرائت شد و مقداربازدارنده تریپسین در نمونه‌ها محاسبه گردید. نتایج مربوط به فعالیت بازدارنده تریپسین، پروتئین، pH و جمعیت باکتری های اسید لاکتیکی در کنجاله سویا معمولی و تخمیری بر مبنای آزمون T-test و با استفاده از نرم‌افزار SAS (۲۰۰۳) آنالیز شدند.

برای بررسی تأثیر تیمارهای آزمایشی بر عملکرد و سلامت جوجه‌های گوشتی در مواجهه با سالمونلا، تعداد ۴۵۰ قطعه جوجه یکروزه سویه راس ۳۰۸ تهیه شد. در ابتدا به منظور اطمینان از سلامت کامل جوجه ها از نقطه نظر آلودگی به سالمونلا، بر روی ۱۰ عدد از جوجه آزمایش‌های میکروبی جستجوی سالمونلا انجام شد. برای بررسی آلودگی جوجه ها به سالمونلا از دستگاه گوارش آنها به ویژه روده‌ها نمونه گیری شد. سپس یک گرم نمونه به داخل لوله‌های استریل حاوی ۹ میلی‌لیتر محلول پپتون واتر منتقل شد. پس از ۲۴ ساعت ۱۰۰ میکرولیتر از محلول به لوله های حاوی ۱۰ میلی‌لیتر محلول TSB[۸] منتقل و به مدت ۲۰ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شدند. سپس ۰/۱ میلی‌لیتر از محلول بر روی پلیت‌های حاوی محیط کشت XLT-4 agar[۹]

www.SID.ir

Archive of SID

گسترش داده شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی-گراد در گرمخانه قرار گرفتند (Bell و Kyriakides، ۲۰۰۲). نیازهای تغذیه‌ای جوجه‌ها از جداول احتیاجات سویه (راس ۳۰۸) استخراج و جیره‌ها با استفاده از نرم‌افزار UFFDA[10] تنظیم گردید . مشخصات ترکیب جیره‌ها برای دوره های آغازین (۱۰-۱ روزگی) و رشد (۲۴-۱۱ روزگی) در جدول ۱ ارائه شده است. گروه های آزمایشی شامل ۱) جیره پایه (بر اساس ذرت و کنجاله سویا) و بدون مواجهه با سالمونلا (شاهد منفی)، ۲) جیره پایه و مواجهه یافته با سالمونلا (شاهد مثبت)، ۳) جیره پایه بعلاوه ۰/۰۲ درصد پروبیوتیک لاکتوفید (شرکت تک ژن زیست، تهران، ایران)، ۴) جیره پایه بعلاوه ۰/۲ درصد پری‌بیوتیک زایلوالیگوساکارید (شرکت بیوتکنولوژی لانگ لایو، چین) و ۵) جیره حاوی کنجاله سویا تخمیری بودند که به هر گروه ۶ تکرار متشکل از ۱۵ قطعه جوجه اختصاص یافت. جوجه‌های تمامی گروه‌ها (به استثنای شاهد منفی) ۷۲ ساعت پس از رود به سالن پرورش، با ۱×۱۰^{۵} واحد تشکیل دهنده کلنی در میلی‌لیتر کشت تازه *سالمونلا تیفی‌موریوم* ATCC14028 از طریق دهان چالش داده شدند. همچنین در همین زمان، پرندگان گروه شاهد منفی نیز ۰/۵ میلی‌لیتر از بافر فسفات (فاقد کشت سالمونلا) را به صورت دهانی دریافت کردند. لازم به ذکر است که نمونه‌هایی از خوراک و آب مصرفی نیز پیش از شروع آزمایش جهت آلودگی به سالمونلا مورد بررسی قرار گرفت. برای اطمینان از عدم گردش سالمونلا در گروه‌های آزمایشی، بستر همه گروه‌ها هر روز تعویض شد. همچنین در این راستا و به منظور نگهداری گروه شاهد منفی به صورت قرنطینه، محل این گروه جدا از سایر گروه‌ها بود و تمامی فعالیت‌های دست‌ورزی این گروه قبل از سایر گروه‌ها انجام می‌شد. در طی آزمایش، آب و خوراک به صورت آزاد در اختیار جوجه‌ها قرار داده شد و دمای سالن و سایر موارد مدیریتی پرورش بر اساس راهنمای سویه بود.

در سنین ۱، ۷، ۱۴ و ۲۱ روز پس از چالش یافتن جوجه‌ها با *سالمونلا تیفی‌موریوم*، نمونه‌ی مدفوع از کلوآک جوجه‌ها به منظور بررسی حضور سالمونلا گرفته شد. یک گرم از نمونه‌های مدفوع به داخل لوله‌های استریل حاوی ۹ میلی‌لیتر محلول پپتون واتر منتقل شد. پس از ۲۴ ساعت ۱۰۰ میکرولیتر از محلول به لوله-های حاوی ۱۰ میلی‌لیتر محلول TSB منتقل و به مدت ۲۰ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شدند. سپس ۰/۱ میلی‌لیتر از محلول بر روی پلیت‌های حاوی محیط کشت XLT-4 agar گسترش داده شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در گرمخانه قرار گرفتند (Bell و Kyriakides، ۲۰۰۲). پس از خارج کردن پلیت‌ها، وجود و یا عدم وجود سالمونلا و مقایسه بین گروه ها انجام شد. در سن ۲۴ روزگی، برای بررسی شاخص‌های موفومتریک روده، ۶ پرنده از هر واحد آزمایشی یک پرنده به طور تصادفی انتخاب و از طریق جابجایی مهره‌های گردن کشتار شدند. پس از خارج کردن روده از بدن، نمونه‌هایی (با سطح مقطع ۱×۱ سانتی متر) از قسمت میانی دئودنوم، ژژنوم و ایلئوم جمع آوری شد و بعد از شستشو با سرم فیزیولوژیک و بافر فسفات به داخل ظروف استریل حاوی فرمالین ۱۰ درصد انتقال داده شد. قطعات روده تثبیت شده در محلول فرمالین درون پارافین جامد قرار گرفتند و به وسیله دستگاه میکروتوم برش داده شدند و پس از رنگ‌آمیزی با هماتوکسیلین و ائوزین بوسیله دستگاه استریومیکروسکوپ (مدل Sigma Scan, MVX10، آمریکا) با درجه بزرگنمایی ۴۰ خصوصیات پرزها بررسی شد. برای اندازه گیری ارتفاع پرز و عمق کریپت از روش Baurhoo و همکاران (۲۰۰۷) پیروی شد. صفات عملکرد شامل مصرف خوراک، افزایش وزن و ضریب تبدیل خوراک به صورت هفتگی اندازه‌گیری شدند. داده‌های مربوط به تعداد (نسبت) پرندگان آلوده به *سالمونلا* به کل پرندگان با روش کای مربع مورد تجزیه آماری قرار گرفتند. همچنین، داده های مربوط به تلفات پیش از تجزیه آماری به آرک‌سینوس $\sqrt{٪}$ تبدیل شدند (Daneshyar و همکاران، ۲۰۱۲). داده‌های آزمایش با استفاده از نرم‌افزار SAS (۲۰۰۳) در قالب طرح کاملاً تصادفی تجزیه واریانس شدند. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون توکی در سطح آماری ۵ درصد انجام شد.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱- اجزا و ترکیب شیمیایی جیره غذایی جوجه‌های گوشتی در دوره آغازین و رشد

مقدار اجزای خوراک (گرم در کیلوگرم)	دروه آغازین (۰ تا ۱۰ روزگی)		دوره رشد (۱۱ تا ۲۴ روزگی)	
	کنجاله سویای خام	کنجاله سویای تخمیری	کنجاله سویای خام	کنجاله سویای تخمیری
ذرت	۵۰۵/۸	۵۳۶/۶	۵۱۰/۷	۵۴۲/۴
کنجاله سویا	۳۸۱/۱	۰	۳۹۲/۰	۰
کنجاله سویای تخمیری	۰	۳۵۶/۲	۰	۳۶۶/۴
گلوتن ذرت	۳۰	۳۰	۰	۰
روغن	۳۷/۴	۳۱/۳	۵۷/۴	۵۱/۱
کربنات کلسیم	۸/۱	۸/۳	۶/۸	۷
دی کلسیم فسفات	۲۱/۲	۲۱/۳	۱۹/۲	۱۹/۲
نمک	۳	۳	۳	۳
جوش شیرین	۰/۷	۰/۷	۰/۹	۰/۹
مکمل ویتامینی[۱]	۲/۵۰	۲/۵۰	۲/۵۰	۲/۵۰
مکمل معدنی[۲]	۲/۵۰	۲/۵۰	۲/۵۰	۲/۵۰
متیونین	۳/۲	۳/۲	۳/۱	۳/۱
لیزین	۳/۲	۲/۹	۱/۲	۰/۹
ترئونین	۱/۳	۱/۵	۰/۷	۱
جمع	۱۰۰۰	۱۰۰۰	۱۰۰۰	۱۰۰۰
انرژی قابل متابولیسم ظاهری (Kcal/Kg)	۳۰۰۰	۳۰۰۰	۳۱۰۰	۳۱۰۰
پروتئین خام (٪)	۲۳/۰۸	۲۳/۰۸	۲۱/۵۳	۲۱/۵۳
کلسیم (٪)	۰/۹۶	۰/۹۶	۰/۸۷	۰/۸۷
فسفر قابل دسترس (٪)	۰/۴۸	۰/۴۸	۰/۴۳	۰/۴۳
سدیم (٪)	۰/۱۶	۰/۱۶	۰/۱۶	۰/۱۶
کلر (٪)	۰/۲۳	۰/۲۳	۰/۲۳	۰/۲۳
لیزین (٪)	۱/۳	۱/۳	۱/۱۵	۱/۱۵
متیونین (٪)	۰/۶۴	۰/۶۴	۰/۵۹	۰/۵۹
اسیدهای آمینه گوگرددار (٪)	۰/۹۴	۰/۹۴	۰/۸۷	۰/۸۷
ترئونین (٪)	۰/۸۶	۰/۸۶	۰/۷۷	۰/۷۷
تریپتوفان (٪)	۰/۲۳	۰/۲۳	۰/۲۳	۰/۲۲
آرژنین (٪)	۱/۳۰	۱/۲۸	۱/۲۸	۱/۲۶
ایزولوسین (٪)	۰/۹۰	۰/۸۷	۰/۸۵	۰/۸۳
لوسین (٪)	۱/۸۳	۱/۸۲	۱/۵۸	۱/۵۷
والین (٪)	۰/۸۸	۰/۸۷	۰/۸۳	۰/۷۸
تعادل کاتیون-آنیون (میلی اکی والان بر کیلوگرم)	۲۰۶	۲۰۴	۲۲۱	۲۱۸

[۱] هر ۲/۵ کیلوگرم مکمل ویتامینی تأمین کننده موارد زیر است: ۱۱۰۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین A، ۱۸۰۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین D، ۳۶۰۰۰ واحد میلی‌گرم ویتامین E، ۵۰۰۰ میلی‌گرم ویتامین k، ۱۶۰۰ میلی‌گرم کوبالامین، ۱۵۳۰ میلی‌گرم تیامین، ۷۵۰۰ میلی‌گرم ریبوفلاوین، ۱۲۲۴۰ میلی‌گرم پانتوتنیک اسید، ۳۰۴۰۰ میلی‌گرم نیاسین، ۱۵۳۰ میلی‌گرم پیردوکسین، ۵۰۰۰ میلی‌گرم بیوتین و ۶۵۰ میلی‌گرم کولین کلراید.

[۲] هر ۲/۵ کیلوگرم از مکمل معدنی تأمین‌کننده مواد زیر است: ۱۶۱/۲۵ گرم منگنز، ۸۴/۵ گرم روی، ۲۵۰ گرم آهن، ۲۰ گرم مس، ۱۶۰۰ گرم ید، ۴۷۵ گرم کبالت و ۲۰ گرم سلنیوم.

www.SID.ir

Archive of SID

نتایج و بحث

تخمیر میکروبی کنجاله سویا

بکارگیری تکنیک تخمیر میکروبی به طور مؤثری سبب کاهش pH و بازدارنده تریپسین و افزایش جمعیت باکتری‌های اسید لاکتیکی و پروتئین خام در کنجاله سویای تخمیری نسبت به کنجاله سویای معمولی شد (جدول ۲، P<۰/۰۵).

Wang و همکاران (۲۰۱۴) گزارش کردند که تخمیر کنجاله سویا با *آسپرژیلوس اوریزا* و *لاکتوباسیلوس کازئی*[11] سبب کاهش pH و افزایش غلظت اسید لاکتیک شد. در مطالعه حاضر، از باکتری‌های *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*، *لاکتوباسیلوس اسیدفیلوس*، *باسیلوس سابتیلیس* و قارچ *آسپرژیلوس اوریزا* برای تخمیر کنجاله سویا استفاده شد. *آسپرژیلوس اوریزا* با مصرف اکسیژن موجود در مخزن تخمیر سبب فراهم شدن محیط بی‌هوازی برای رشد و تکثیر باکتری‌های بی‌هوازی شد. سپس فعالیت‌های زیستی باکتری‌ها از طریق کاهش pH سبب اختصاصی شدن شرایط محیطی برای رشد باکتری‌های تولید کننده اسید لاکتیک می‌شود. در طول دوره تخمیر با افزایش جمعیت باکتری‌های اسید لاکتیکی و متعاقباً افزایش تولید اسید به ویژه اسید لاکتیک، pH بستر به طور چشمگیری کاهش یافت. در آزمایش حاضر، میزان فعالیت بازدارنده تریپسین و پروتئین خام، تحت تأثیر فعالیت متابولیکی میکروارگانیسم های تخمیر قرار گرفت. همسو با این نتایج، Gao و همکاران (۲۰۱۳) گزارش نمودند که در مقایسه با کنجاله سویای معمولی، تخمیر میکروبی سبب کاهش میزان بازدارنده تریپسین و افزایش محتوای پروتئین خام کنجاله شد. کاهش میزان فعالیت بازدارنده تریپسین می‌تواند به دلیل تجزیه و تغییر ساختار آن و یا تغییر جایگاه فعال تریپسین باشد (Jazi و همکاران، ۲۰۱۸b). افزایش سطح پروتئین خام کنجاله سویای تخمیری در این مطالعه ممکن است به دلیل افزایش جمعیت میکروارگانیسم‌ها (چون بخش اعظم بیومس میکروبی از پروتئین تشکیل شده است)، فعالیت‌های پروتئولیتیکی میکروارگانیسم‌ها، ترشح آنزیم‌ها و یا تولید پروتئین میکروبی باشد (Ashayerizadeh و همکاران، ۲۰۱۷).

جدول ۲- میزان بازدارنده تریپسین، پروتئین خام، pH و جمعیت باکتری‌های اسید لاکتیکی در کنجاله سویای خام و تخمیری

ترکیبات	تیمارها		معیار خطا
	کنجاله سویای خام	کنجاله سویای تخمیری	
بازدارنده تریپسین (میلی‌گرم در کیلوگرم)	۲/۶۸[a]	۰/۷۳[b]	۰/۱۶
پروتئین خام (درصد)	۴۴/۲۹[b]	۴۶/۷۵[a]	۰/۲۶
pH	۶/۱۴[a]	۴/۰۱[b]	۰/۰۹
باکتری‌های اسید لاکتیکی (log_{10} CFU/g)	۳/۴۹[b]	۱۰/۰۸[a]	۰/۲۵

[a-b] در هر ردیف میانگین‌های با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی‌دار هستند (P<۰/۰۵)

عملکرد

نتایج تأثیر تیمارهای آزمایشی بر شاخص‌های عملکرد رشد (افزایش وزن روزانه، مصرف خوراک روزانه و ضریب تبدیل خوراک) و درصد تلفات پرندگان چالش یافته با *سالمونلا تیفی-موریوم* در جدول ۳ ارائه شده است. شاخص های عملکرد جوجه-های گوشتی در کل دوره پرورش، تحت تأثیر چالش سالمونلایی قرار گرفت. به گونه ای که کمترین مقدار مصرف خوراک روزانه و افزایش وزن روزانه و بیشترین ضریب تبدیل خوراک متعلق به پرندگان گروه کنترل مثبت (چالش یافته با سالمونلا) بود (P<۰/۰۵). با این حال، استفاده از کنجاله سویا تخمیری و یا افزودنی‌های خوراکی پروبیوتیک و پری‌بیوتیک در جیره سبب

www.SID.ir

Archive of SID

بهبود افزایش وزن روزانه، مصرف خوراک روزانه و ضریب تبدیل خوراک نسبت به گروه کنترل مثبت شد (P<۰/۰۵). از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری میان فراسنجه‌های عملکرد در گروه دریافت کننده جیره حاوی کنجاله سویا تخمیری با گروه-های دریافت کننده جیره‌های حاوی پروبیوتیک و پری بیوتیک مشاهده نشد (P>۰/۰۵). ضریب تبدیل خوراک پرندگان تغذیه شده با جیره حاوی کنجاله سویا تخمیری تفاوت معنی‌داری با پرندگان گروه کنترل منفی (بدون چالش با سالمونلا) نداشت (P>۰/۰۵). همچنین، نتایج این آزمایش نشان داد که چالش سالمونلایی اثر معنی‌داری بر میزان مرگ و میر پرندگان در تیمارهای آزمایشی نداشته است (P>۰/۰۵).

اثرات منفی آلودگی های سالمونلایی بر عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی در گزارشات مختلفی ارائه شده است (Rajani و همکاران، ۲۰۱۶ و Ashayerizadeh و همکاران، ۲۰۱۷؛ Jazi و همکاران، ۲۰۱۸a) که در توافق با نتایج آزمایش حاضر می‌باشد. کاهش عملکرد رشد مشاهده شده در پرندگان چالش یافته با سالمونلا می‌تواند تا حدودی به دلیل کاهش اشتها و مصرف خوراک این پرندگان باشد. همچنین آلودگی سالمونلایی در پرندگان می‌تواند سبب تحریک سیستم ایمنی، به ویژه پاسخ‌های ایمنی مرتبط با مخاط روده ای شود. فعال شدن پاسخ های ایمنی و به دنبال آن آزاد سازی سیتوکین های پیش التهابی نیازمند انرژی و پروتئین بیشتری می‌باشد که می‌تواند با افزایش احتیاجات نگهداری پرندگان، رشد آنها را به طور منفی تحت تأثیر خود قرار دهد (Shao و همکاران، ۲۰۱۳). در مقابل، برخی از محققین گزارش کرده اند که چالش پرندگان با *سالمونلا تیفی‌موریوم* هیچ تأثیری بر عملکرد رشد آنها ندارد (Amerah و همکاران، ۲۰۱۲)؛ که این تفاوت ممکن است به دلیل تفاوت در سن، گونه و یا سویه حیوان، میزان دز تلقیح سالمونلا و یا ترکیبات خوراک باشد (Malago و همکاران، ۲۰۰۳). در آزمایش حاضر، استفاده از تیمارهای حاوی کنجاله سویای تخمیری، پروبیوتیک و پری-بیوتیک در مقایسه با تیمار کنترل مثبت سبب بهبود افزایش وزن و ضریب تبدیل خوراک جوجه ها شد. در رابطه با تأثیر تغذیه منابع پروتئینی تخمیری بر عملکرد رشد جوجه های گوشتی چالش یافته با سالمونلا گزارشات بسیار محدودی منتشر شده است. همچنین، د ر اکثر مطالعات هدف اصلی محققان از فرآوری میکروبی منابع پروتئینی، دستیابی به محصولات پروتئینی با کیفیت بالاتر (از طریق کاهش ترکیبات ضد تغذیه‌ای) بوده، لذا با توجه به اینکه این خوراک‌ها سرشار از باکتری‌های سودمند و سازگار با دستگاه گوارش هستند، بررسی خواص ضدباکتریایی این خوراک‌ها و مقایسه آنها با مکمل‌های پروبیوتیکی و پری بیوتیکی تا به حال مورد ارزیابی قرار نگرفته است. اخیراً، در یک مطالعه محققین دریافتند که جایگزینی ۵۰ درصدی کنجاله کلزا تخمیری با کنجاله سویا در جیره غذایی پرندگان چالش یافته با سالمونلا می‌تواند باعث بهبود عملکرد جوجه‌ها شود (Ashayerizadeh و همکاران، ۲۰۱۷). اثرات مثبت و مفید خوراک‌های تخمیری بر صفات عملکردی جوجه‌های گوشتی در شرایط بدون چالش باکتریایی در مطالعات متعددی گزارش شده است. برای مثال، Jazi و همکاران (۲۰۱۷) گزارش کردند که استفاده از سطوح ۱۰ و ۲۰ درصد کنجاله پنبه دانه تخمیری در مقایسه با کنجاله پنبه‌دانه معمولی سبب بهبود پارامترهای رشد پرندگان شد. همچنین Shabani و همکاران (۲۰۱۸) نشان دادند که جایگزینی ضایعات ماهی تخمیری با کنجاله سویا در جیره سبب بهبود افزایش وزن و ضریب تبدیل خوراک جوجه‌های گوشتی شد. در توضیح بهبود عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با کنجاله سویای تخمیری می توان به کاهش مقدار بازدارنده تریپسین و بهبود سطح کیفی کنجاله سویا از طریق افزایش قابلیت هضم پذیری پروتئین و اسیدهای آمینه اشاره نمود (Feng و همکاران، ۲۰۰۷؛ Sun و همکاران، ۲۰۱۴). همچنین، این نوع خوراک ها به دلیل دارا بودن pH پایین و میکروارگانیسم‌های مفید (نظیر باکتری‌های اسیدلاکتیکی) می‌توانند خواص پروبیوتیکی از خود نشان دهند. بنابراین تغذیه خوراک‌های تخمیری با اسیدی کردن بخش‌های مختلف دستگاه گوارش می تواند سبب فراهم نمودن شرایط لازم برای رشد باکتری‌های تولید کننده اسید لاکتیک شود که در نهایت باعث بهبود سلامت دستگاه گوارش می‌شود

www.SID.ir

Archive of SID

(Ashayerizadeh و همکاران، ۲۰۱۷؛ Jazi و همکاران، ۲۰۱۷).

اثرات مثبت پروبیوتیک‌های بر پایه باکتری‌های اسید لاکتیک بر عملکرد رشد جوجه های گوشتی در مطالعه حاضر موافق با یافته-های Biloni و همکاران (۲۰۱۳) می‌باشد. مهم‌ترین مکانیسم پروبیوتیک‌ها برای افزایش عملکرد رشد شامل بهبود جمعیت میکروبی دستگاه گوارش از طریق افزایش اسیدیته، تولید اسیدهای چرب کوتاه زنجیرو مهار کلونیزاسیون باکتری‌های بیماری‌زا و تعدیل پاسخ‌های ایمنی می‌باشند (نایب پور و همکاران، ۱۳۹۰؛ دانشیار و همکاران، ۱۳۹۳؛ Jazi و همکاران، ۲۰۱۸a). تغذیه پرندگان با جیره های حاوی پری بیوتیک زایلوالیگوساکارید باعث باز یابی عملکرد رشد از دست رفته در اثر آلودگی سالمونلا شد.

مشابه با این نتایج، گزارش شده است که استفاده از پری‌بیوتیک-های بر پایه مانان و زایلو در سطح ۰/۲ درصد در جیره غذایی سبب بهبود عملکرد جوجه‌های گوشتی چالش یافته با سالمونلا گردید (Rajani و همکاران، ۲۰۱۶؛ Pourabedin و همکاران، ۲۰۱۷؛ Jazi و همکاران، ۲۰۱۸a). اثرات مثبت و مفید پری-بیوتیک‌ها بر عملکرد رشد را می‌توان به تعدیل بیان سیتوکین‌ها، خصوصیات تخمیری این ترکیبات و همچنین ویژگی‌های باندشوندگی الیگوساکاریدها با باکتری‌های بیماری‌زا مرتبط دانست (Rajani و همکاران، ۲۰۱۶).

جدول ۳- تأثیر تیمارهای آزمایشی بر عملکرد (گرم) و درصد تلفات جوجه‌های گوشتی چالش یافته با *سالمونلا تیفیموریوم* در ۲۴ روزگی

	تیمارها					معیار خطا
	کنترل منفی	کنترل مثبت	سویای تخمیری	پروبیوتیک	پری‌بیوتیک	
افزایش وزن روزانه	۴۰/۵۰^{a}	۳۴/۸۱^{c}	۳۹/۰۹^{b}	۳۸/۳۰^{b}	۳۷/۸۰^{b}	۰/۴۵
مصرف خوراک روزانه	۵۷/۶۷^{a}	۵۳/۳۲^{c}	۵۶/۵۰^{ab}	۵۵/۷۳^{b}	۵۵/۶۰^{b}	۰/۵۵
ضریب تبدیل خوراک	۱/۴۲^{c}	۱/۵۳^{a}	۱/۴۴^{bc}	۱/۴۵^{b}	۱/۴۷^{b}	۰/۰۱
تلفات (٪)	۱/۱۰	۳/۳۳	۲/۲۲	۳/۳۳	۲/۲۲	۰/۹۷

$^{a-c}$در هر ردیف میانگین‌های با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی‌دار هستند (P<۰/۰۵)

بازیابی سالمونلا از کلوآک

نتایج تأثیر تیمارهای آزمایشی بر بازیابی *سالمونلا تیفی‌موریوم* از کلوآک جوجه‌های گوشتی در روزهای مختلف (۱، ۷، ۱۴ و ۲۱) پس از چالش در جدول ۴ گزارش شده است . نتایج نشان داد که گروه شاهد منفی (بدون چالش با سالمونلا) از نظر وجود سالمونلا در تمامی زمان‌های نمونه‌گیری صد درصد منفی بود که بیانگر رعایت دقیق موارد بهداشتی و اصول قرنطینه بین گروه‌های آزمایشی است. در مقابل، یک روز پس از چالش (روز ۴ آزمایش)، حضور سالمونلا در تمامی پرندگان چالش یافته با سالمونلا مثبت تشخیص داده شد (P<۰/۰۵). با این حال، در مقایسه با گروه کنترل مثبت، استفاده از جیره‌های حاوی کنجاله سویای تخمیری، پروبیوتیک و پری‌بیوتیک باعث کاهش میزان آلودگی سالمونلا در روزهای ۷ و ۱۴ پس از چالش شد (P<۰/۰۵). در ۲۱ روز پس از چالش، تست آلودگی سالمونلا در تمامی گروه‌های آزمایش منفی بود (P>۰/۰۵).

مشابه با نتایج آزمایش حاضر، استفاده از کنجاله کلزا تخمیری در جیره جوجه‌های گوشتی سبب کاهش کلونیزاسیون روده‌ای سالمونلا در سن ۱۰ روزگی شد (Ashayerizadeh و همکاران، ۲۰۱۷). همچنین در مطالعه‌ی Yuan و همکاران (۲۰۱۷) جایگزینی کنجاله سویا تخمیری با کنجاله سویا در جیره سبب افزایش جمعیت باکتری‌های اسید لاکتیکی و کاهش تعداد

www.SID.ir

Archive of SID

اشریشیا کلای در نمونه‌های مدفوع خوکچه‌ها شد. Naji و همکاران (۲۰۱۵) گزارش کردند که جمعیت لاکتوباسیلوس‌ها و کلی‌فرم‌ها در سکوم جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با خوراک‌های تخمیری به ترتیب به طور معنی داری بیشتر و کمتر از گروه شاهد بود. همچنین کاهش میزان کلونیزاسیون روده‌ای سالمونلا از طریق افزودن پروبیوتیک‌های اسیدلاکتیکی به خوراک جوجه‌های گوشتی را محققین زیادی تصدیق کرده‌اند (Biloni و همکاران، ۲۰۱۳؛ Prado-Rebolledo و همکاران، ۲۰۱۷). در رابطه با مکانیسم اثر پروبیوتیک‌ها و خوراک های تخمیری بر روند بهبود فلور میکروبی می‌توان عنوان نمود که خوراک‌های تخمیری به دلیل تولید اسید لاکتیک، اسیدهای چرب فرار و کاهش pH، نقش مهمی در کنترل جمعیت باکتری‌های دستگاه گوارش و همچنین ازدیاد باکتری های اسیدلاکتیکی دارند (Van Winsen و همکاران، ۲۰۰۱؛ دانشیار و همکاران، ۱۳۹۳). در همین راستا، Niba و همکاران (۲۰۰۹) خوراک های تخمیری را به دلیل داشتن خصوصیات پروبیوتیکی، "فرمبیوتیک" اطلاق نمودند. بنابراین، با افزایش اسیدیته دستگاه گوارش، اسیدهای چرب از طریق تشکیل منافذی در غشاء سلولی باکتری‌های گرم منفی نظیر سالمونلا، سبب کاهش pH محیط داخلی سلول باکتری می‌شوند که در نتیجه موجب متوقف کردن نیروی محرک پروتون و فرآیندهای آنزیمی شده و نهایتاً سلول باکتری از بین می‌رود (Van Winsen و همکاران، ۲۰۰۱).

در مطالعه‌ی Pourabedin و همکاران (۲۰۱۷)، افزودن پری-بیوتیک زایلوالیگوساکارید به جیره جوجه‌های گوشتی چالش یافته با *سالمونلا تیفی‌موریوم* سبب کاهش میزان کلونیزاسیون روده‌ای سالمونلا گردید. همچنین Ding و همکاران (۲۰۱۷) گزارش کردند که استفاده از زایلوالیگوساکارید در جیره مرغهای تخمگذار سبب کاهش باکتری‌های *اشریشیا کلای*[12] و افزایش جمعیت بیفیدوباکتریا و افزایش غلظت بوتیریک اسید و استیک اسید در محتویات سکوم شد. این کاهش میزان کلونیزاسیون سالمونلا می تواند به علت کاهش pH ایجاد شده توسط اسیدهای چرب کوتاه زنجیر تولید شده و یا فراهم شدن جایگاه اتصال بر روی پری‌بیوتیک‌ها برای سالمونلا و دفع آنها از دستگاه گوارش رخ داده باشد (Ding و همکاران، ۲۰۱۷).

جدول ٤- تأثیر تیمارهای آزمایشی بر بازیابی *سالمونلا* از کلوآک جوجه‌های گوشتی در روزهای مختلف پس از چالش

	تیمارها					معیار خطا
	کنترل منفی	کنترل مثبت	سویای تخمیری	پروبیوتیک	پری بیوتیک	
تعداد روز پس از چالش						
۱	(۰/۹۰) ٪۰^{b}	(۹۰/۹۰)* ٪۱۰۰^{a}	(۹۰/۹۰) ٪۱۰۰^{a}	(۹۰/۹۰) ٪۱۰۰^{a}	(۹۰/۹۰) ٪۱۰۰^{a}	۸/۸۶
۷	(۰/۹۰) ٪۰^{c}	(۶۸/۹۰) ٪۷۵^{a}	(۲۵/۹۰) ٪۲۷^{b}	(۳۳/۹۰) ٪۳۶^{b}	(۴۰/۹۰) ٪۴۴^{ab}	۹/۱۲
۱۴	(۰/۹۰) ٪۰^{b}	(۲۱/۹۰) ٪۲۳^{a}	(۹/۹۰) ٪۱۰^{b}	(۹/۹۰) ٪۱۰^{b}	(۴/۹۰) ٪۱۶^{ab}	۵/۲۰
۲۱	(۰/۹۰) ٪۰	(۰/۹۰) ٪۰	(۰/۹۰) ٪۰	(۰/۹۰) ٪۰	(۰/۹۰) ٪۰	–

*در تعداد کل پرنده‌های چالش داده شده / تعداد کل پرنده‌های آلوده (درصد)

a-c در هر ردیف میانگین‌های با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی‌دار هستند (P<۰/۰۵)

www.SID.ir

Archive of SID

مورفولوژی روده

تأثیرتیمارهای آزمایشی بر پارامترهای مورفولوژی روده جوجه‌های چالش یافته با *سالمونلا تیفی‌موریوم* در جدول ۵ ارائه شده است. در روز ۲۴ آزمایش، مخاط روده‌ای پرندگان به موجب القاء *سالمونلا تیفی‌موریوم* دستخوش تغییرات قابل توجهی شد. به طوری که ارتفاع پرز و نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت در دئودنوم و ژژنوم پرندگان چالش یافته با سالمونلا کمتر از گروه شاهد منفی بود ($P<۰/۰۵$). استفاده از کنجاله سویا تخمیری و یا افزودنی‌های پروبیوتیک و پری‌بیوتیک در جیره پرندگان چالش یافته با سالمونلا در مقایسه با پرندگان گروه شاهد مثبت سبب بهبود ارتفاع پرز و نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت شد. عمق کریپت در سایر بخش‌های روده کوچک و ارتفاع پرز و نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت در ایلئوم در تحت تأثیر چالش و تیمارهای آزمایش قرار نگرفت ($P>۰/۰۵$).

شاخص های ارتفاع پرز و نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت نشانگر هضم مواد مغذی، ظرفیت جذب و همچنین سلامت روده می-باشند. در مطالعه‌ی Rajani و همکاران (۲۰۱۶) کاهش ارتفاع پرز و نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت در هر سه ناحیه روده باریک پرندگان چالش یافته با *سالمونلا تیفی‌موریوم* گزارش شده است. همچنین Shao و همکاران (۲۰۱۳) نشان دادند که آلودگی جوجه های گوشتی با *سالمونلا تیفی‌موریوم* موجب کاهش ارتفاع پرز و مساحت پرزهای روده شد. در مطالعه حاضر، تغییرات بافت شناسی ایجاد شده در اثر چالش سالمونلایی با کاهش ارتفاع پرزها و میزان کلونیزاسیون سالمونلا تعیین شد که می تواند به طور مستقیم با کاهش عملکرد رشد ارتباط داشته باشد. در توضیح بهبود مورفولوژی روده جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با پری-بیوتیک زایلوالیگوساکارید، Jazi و همکاران (۲۰۱۸a) بیان کردند که الیگوساکاریدها می‌توانند سبب افزایش جمعیت باکتری های مفید و به دنبال آن تولید اسیدهای چرب کوتاه زنجیر شوندکه مسبب کاهش کلونیزاسیون باکتری‌های بیماری‌زا در دستگاه گوارش می باشند. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که استفاده از پروبیوتیک و کنجاله سویا تخمیری پس از چالش سالمونلایی باعث بهبود پارامترهای مورفولوژی روده پرندگان شد. این یافته‌ها نشان می‌دهد که استفاده از پروبیوتیک‌ها و یا خوراک‌های تخمیری در جیره جوجه های گوشتی می تواند تا حدودی آسیب-های مخاط روده‌ای را کاهش دهد. همسو با نتایج حاضر، اثرات مثبت خوراک‌های تخمیری و پروبیوتیک‌ها در توسعه و بهبود پارامترهای مورفولوژی روده جوجه‌های گوشتی در مطالعات پیشین تأکید شده است (Feng و همکاران، ۲۰۰۷؛ Jazi و همکاران، ۲۰۱۸b؛ Salim و همکاران، ۲۰۱۳؛ Zhang و همکاران، ۲۰۱۶). با توجه به اثرات مستقیم متابولیت‌های حاصل از فلور میکروبی دستگاه گوارش بر ساختار و عملکرد روده، از مهم-ترین دلایل بهبود مورفولوژی روده در پرندگان تغذیه شده با پروبیوتیک ها و کنجاله سویا تخمیری می توان به افزایش باکتری-های مفید نظیر باکتری‌های اسید لاکتیکی در دستگاه گوارش اشاره کرد؛ زیرا این باکتری ها از طریق مکانیسم‌های نظیر تحریک تکثیر سلول‌های اپیتلیومی روده، رقابت با پاتوژن‌ها، تولید باکتریوسین‌ها، افزایش اسیدیته دستگاه گوارش از طریق تولید اسیدهای چرب کوتاه زنجیره و متعاقباً کاهش فعالیت آنزیم‌های باکتریایی و تولید آمونیاک، مانع از آسیب به مخاط روده می‌شوند (Salim و همکاران، ۲۰۱۳؛ Baurhoo و همکاران، ۲۰۰۷). بعلاوه، یکی دیگر از دلایل بهبود مورفولوژی روده در پرندگان تغذیه شده با کنجاله سویای تخمیری احتمالاً کاهش میزان ترکیبات ضدتغذیه‌ای موجود در کنجاله سویا نظیر آنتی‌ژنیک و آلرژنیک ها باشد. این ترکیبات با ایجاد التهاب در روده می‌توانند در عملکرد روده اختلال ایجاد کنند (Jazi و همکاران، ۲۰۱۸b).

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۵- تأثیر تیمارهای آزمایشی بر موفولوژی روده جوجه‌های گوشتی چالش یافته با *سالمونلا تیفیموریوم* در ۲۴ روزگی

	تیمارها					معیار خطا
	کنترل منفی	کنترل مثبت	سویای تخمیری	پروبیوتیک	پری‌بیوتیک	
دئودنوم						
ارتفاع پرز (میکرومتر)	۸۹۵^{a}	۷۸۴^{c}	۸۴۶^{b}	۸۴۰^{b}	۸۳۶^{b}	۹/۴۶
عمق کریپت (میکرومتر)	۱۸۲	۱۹۱	۱۸۵	۱۸۱	۱۸۳	۴/۰۶
ارتفاع پرز: عمق کریپت	۴/۹۱^{a}	۴/۱۰^{c}	۴/۵۷^{b}	۴/۶۳^{b}	۴/۵۸^{b}	۰/۰۷
ژوژنوم						
ارتفاع پرز (میکرومتر)	۵۹۸^{a}	۴۶۴^{c}	۵۵۳^{b}	۵۴۹^{b}	۵۴۱^{b}	۱۱/۲۳
عمق کریپت (میکرومتر)	۱۴۱	۱۳۶	۱۳۹	۱۴۳	۱۴۰	۲/۵۸
ارتفاع پرز: عمق کریپت	۴/۲۴^{a}	۳/۴۰^{c}	۳/۹۶^{b}	۳/۸۴^{b}	۳/۸۵^{b}	۰/۰۵
ایلئوم						
ارتفاع پرز (میکرومتر)	۴۱۵	۳۸۱	۳۹۳	۴۰۴	۳۸۷	۱۱/۱۲
عمق کریپت (میکرومتر)	۲۱۰	۱۱۷	۱۱۸	۱۲۰	۱۲۳	۴/۱۰
ارتفاع پرز: عمق کریپت	۳/۴۸	۳/۲۴	۳/۳۲	۳/۳۸	۳/۱۴	۰/۱۰

$^{a-d}$در هر ردیف میانگین‌های با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی‌دار هستند ($P<0/05$)

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این آزمایش نشان داد که استفاده از کنجاله سویا تخمیری، پروبیوتیک و پری‌بیوتیک باعث بهبود عملکرد رشد، کاهش میزان کلونیزاسیون سالمونلا و سلامت روده جوجه‌های گوشتی پس از چالش با *سالمونلا تیفی‌موریوم* شد. به طورکلی، استفاده از کنجاله سویا تخمیری در جیره علاوه بر نقشی شبیه به افزودنی‌های خوراکی در کنترل آلودگی‌های سالمونلایی می‌تواند به عنوان یک منبع پروتئینی فرآسودمند در برنامه‌های تغذیه‌ای فاقد آنتی-بیوتیک برای جوجه‌های گوشتی مورد توجه قرار گیرد.

پاورقی‌ها

1- *Salmonella typhimurium*
2- *Aspergillus oryzae*
3- *Lactobacillus acidophilus*
4- *Lactobacillus plantarum*
5- *Bacillus subtilis*
6- Potato Dextrose Agar (PDA)
7- Modified Rogosa broth (MRS-broth)
8- Trypticase Soy broth (TSB)
9- Xylose Lysine Tergitol-4 Agar
10- User-Friendly Feed Formulation Done Again (UFFDA)
11- *Lactobacillus casei*
12- *Escherichia coli*

www.SID.ir

Archive of SID

منابع

دانشیار، م.، احمد آلی، ا.، عنایتی، د. (۱۳۹۳). افزودنی‌های خوراکی و محرک های رشد در تغذیه طیور، انتشارات آموزش و ترویج کشاورزی. صفحه ۴۴-۱۰۵.

بیات‌پور، م.، فرهومند، پ.، دانشیار، م. (۱۳۹۰). بررسی عملکرد و سیستم ایمنی هومورال (تیتر پادتن در مقابل واکسن گامبورو، غلظت سرولوپلاسمین و نسبت هتروفیل به لنفوسیت) جوجه های گوشتی تغذیه شده با سطوح مختلف پروبیوتیک و روغن سویا. نشریه دامپزشکی. صفحه ۶۷-۷۵.

AOAC. (2005). Association of official analytical chemists. 2005. 21th ed. Gaithersburg, M. D.: AOAC International.

Amerah, A.M., Mathis, G. and Hofacre, C.L. (2012). Effect of xylanase and a blend of essential oils on performance and Salmonella colonization of broiler chickens challenged with *Salmonella enterica*. *Poultry Science*. 91: 943-947.

Ashayerizadeh, A., Dastar B., Shams Shargh M., Sadeghi Mahoonak, A. and Zerehdaran, S. (2017). Fermented rapeseed meal is effective in controlling *Salmonella enterica serovar Typhimurium* infection and improving growth performance in broiler chicks. *Veterinary Microbiology*. 201: 93-102.

Baurhoo, B., Phillip, L. and Ruiz-Feria. C.A. (2007). Effects of purified lignin and mannan oligosaccharides on intestinal integrity and microbial populations in the caeca and litter of broiler chickens. *Poultry Science*. 86: 1070-1078.

Bell, C. and Kyriakides, A. (2002). Salmonella: a practical approach to the organism and its control in foods, Blackwell Publishing Ltd., Oxford, GB.

Biloni, A., Quintana, C.F., Menconi, A., Kallapura, G., Latorre, J., Pixley, C. and Hargis, B.M. (2013). Evaluation of effects of EarlyBird associated with FloraMax-B11 on *Salmonella Enteritidis*, intestinal morphology, and performance of broiler chickens. *Poultry science*. 92: 2337-2346.

Cheng, G., Hao, H., Xie, S., Wang, X., Dai, M., Huang, L. and Yuan. Z. (2014). Antibiotic alternatives: the substitution of antibiotics in animal husbandry? *Frontiers in Microbiology*. 4: 137-156.

Chen, L., Madl, R.L. and Vadlani, P.V. (2013). Nutritional enhancement of soy meal via Aspergillus oryzae solid-state fermentation. *Cereal Chemistry*. 90: 529-534.

Chiang, G., Lu, W.Q., Piao, X.S., Hu, J.K. Gong, L.M. and Thacker, P.A. (2010) Effects of feeding solid-state fermented rapeseed meal on performance, nutrient digestibility, intestinal ecology and intestinal morphology of broiler chickens. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*. 23: 263-271.

Daneshyar, M., Kermanshahi, H. and Golian, A. (2012). The effects of turmeric supplementation on antioxidant status, blood gas indices and mortality in broiler chickens with T3-induced ascites. *British Poultry Science*. 53: 379-385.

Ding, X.M., Li, D.D., Bai, S.P., Wang, J.P., Zeng, Q.F., Su, Z.W. and Zhang, K. Y. (2017). Effect of dietary xylooligosaccharides on intestinal characteristics, gut microbiota, cecal short-chain fatty acids, and plasma immune parameters of laying hens. *Poultry Science*. 97: 874-881.

Gao, Y.L., Wang, C.S., Zhu, Q.H. and Qian, G.Y. (2013). Optimization of solid-state fermentation with *Lactobacillus brevis* and *Aspergillus oryzae* for trypsin inhibitor degradation in soybean meal. *Journal of Integrative Agriculture*. 12: 869-876.

Feng, J., Liu, X., Xu, Z.R., Wang, Y.Z. and Liu, J.X. (2007). Effects of fermented soybean meal on digestive enzyme activities and intestinal morphology in broilers. *Poultry Science*. 86: 1149-1154.

Jazi, V., Boldaji, F., Dastar, B., Hashemi, S.R. and Ashayerizadeh, A. (2017). Effects of fermented cottonseed meal on the growth performance, gastrointestinal microflora population and small intestinal morphology in broiler chickens. *British Poultry Science*. 58: 402-408.

Jazi, V., Foroozandeh, A. D., Toghyani, M., Dastar, B., Rezaie Koochaksaraie, R. and Toghyani, M. (2018a). Effects of *Pediococcus acidilactici*, mannan-oligosaccharide, butyric acid and their combination on growth performance and intestinal health in young broiler chickens challenged with *Salmonella* Typhimurium. *Poultry science*. 97: 2034-2043.

Jazi, V., Ashayerizadeh, A., Toghyani, M., Shabani, A., Tellez, G. and Toghyani, M. (2018b). Fermented soybean meal exhibits probiotic properties when included in Japanese quail diet in replacement of soybean meal. *Poultry Science*. 97: 2113-2122.

Kook, M.C., Cho, S. C., Hong, Y.H. and Park, H. (2014). *Bacillus subtilis* fermentation for enhancement of feed nutritive value of soybean meal. *Journal of Applied Biological Chemistry*. 57: 183-188.

Malago, J.J., Koninkx, J.F.J.G., Ovelgonne, H.H., van Asten, F.J.A.M., Swennenhuis, J.F. and van Dijk, J.E. (2003). Expression levels of heat shock proteins in enterocyte-like Caco-2 cells after exposure to *Salmonella enteritidis*. *Cell Stress Chaperones*. 8: 194-203.

www.SID.ir

Archive of SID

Naji, S., Al-Zamili, I. and Al-Gharawi, J. (2015). The effect of feed wetting and fermentation on the intestinal flora, humoral and cellular immunity of broiler chicks. *International Journal of Advanced Research*. 3: 87-94.

Niba, A.T., Beal, J.D., Kudi, A.C. and Brooks, P.H. (2009). Bacterial fermentation in the gastrointestinal tract of non–ruminants: influence of fermented feeds and fermentable carbohydrates. Tropical Animal Health and Production, 41: 1393–1407.

Pourabedin, M., Chen, Q., Yang, M. and Zhao, X. (2017). Mannan-and xylooligosaccharides modulate caecal microbiota and expression of inflammatory-related cytokines and reduce caecal *Salmonella Enteritidis* colonisation in young chickens. *FEMS Microbiology Ecology*. 93: 226-234.

Prado-Rebolledo, O.F., Delgado-Machuca, J.D.J., Macedo-Barragan, R.J., Garcia-Marquez, L.J., Barrera, M.J.E., Latorre, J.D., Hernandez-Velasco, X. and Tellez, G. (2017). Evaluation of a selected lactic acid bacteria-based probiotic on *Salmonella enterica serovar Enteritidis* colonization and intestinal permeability in broiler chickens. *Avian Pathology*. 46: 90-94.

Rajani, J., Dastar, B., Samadi, F., Karimi Torshizi, M.A., Abdulkhani, A. and Esfandyarpour, S. (2016). Effect of extracted galactoglucomannan oligosaccharides from pine wood (Pinus brutia) on *Salmonella Typhimurium* colonisation, growth performance and intestinal morphology in broiler chicks. *British Poultry Science*. 57: 682-692.

Salim, H.M., Kang, H.K., Akter, N., Kim, D.W., Kim, J.H., Kim, M.J., Na, J.C., Jong, H.B., Choi, H.C., Suh, O.S. Kim, W.K. (2013). Supplementation of direct-fed microbials as an alternative to antibiotic on growth performance, immune response, cecal microbial population, and ileal morphology of broiler chickens. *Poultry Science*. 92: 2084-2090.

SAS Institute, SAS User's Guide. (2003) Version 9.1 edition. SAS Institute Inc, Cary, NC.

Shabani, A., Boldaji, F., Dastar, B., Ghoorchi, T., and Zerehdaran, S. (2018). Preparation of fish waste silage and its effect on the growth performance and meat quality of broiler chickens. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 98: 4097-4103.

Shao, Y., Guo, Y. and Wang, Z. (2013). β-1, 3/1, 6-Glucan alleviated intestinal mucosal barrier impairment of broiler chickens challenged with *Salmonella enterica serovar Typhimurium*. *Poultry Science*. 92: 1764-1773.

Smith, C., Van Megen, W. Twaalfhoven, L. and Hitchcock, C. (1980). The determination of trypsin inhibitor levels in foodstuffs. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 31: 341-350.

Sun, H., Yao, X., Wang, X., Wu, Y., Liu, Y., Tang, J. and Feng, J. (2014) Chemical composition and in vitro antioxidant property of peptides produced from cottonseed meal by solid-state fermentation. *Cyta-Journal of Food*. 13: 264-272.

Van der Aar, P.J., Molist, F. and Klis, J.D. (2017). Thecentral role of intestinal health on the effect of feed additiveson feed intake in swine and poultry. *Animal Feed Science and Technology*. 233: 64-75.

Van winsen, R.L., Urlings, B.A., Lipman, L.J., Snijders, J.M., Keuzenkamp, D., Verheijden, J.H. and van Knapen, F. (2001). Effect of fermented feed on the microbial population of the gastrointestinal tracts of pigs. *Applied and Environmental Microbiology*. 67: 3071-3076.

Wang, Y., Liu, X.T., Wang, H.L., Li, D.F., Piao, X.S. and Lu, W.Q. (2014). Optimization of processing conditions for solid-state fermented soybean meal and its effects on growth performance and nutrient digestibility of weanling pigs. *Livestock Science*. 170: 91-99.

Yuan, L., Chang, J., Yin, Q., Lu, M., Di, Y., Wang, P., Wang, Z., Wang, E. and Lu, F. (2017). Fermented soybean meal improves the growth performance, nutrient digestibility, and microbial flora in piglets. *Animal Nutrition*. 3: 19-24.

Zhang, L., Zhang, L., Zeng, X., Zhou, L., Cao, G. and Yang, C. (2016). Effects of dietary supplementation of probiotic, *Clostridium butyricum*, on growth performance, immune response, intestinal barrier function, and digestive enzyme activity in broiler chickens challenged with *Escherichia coli* K88. *Journal of Animal Science and Biotechnology*. 7: 3-12.

www.SID.ir