

## ارزیابی کارایی استفاده از پودر یونجه در تولک‌بری اجباری بر فراسنجه‌های مرفومتريک روده و عملکرد مرغان تخمگذار تجاری

احسان شهرامی<sup>۱\*</sup>، مریم رضائیان<sup>۲</sup>

۱) گروه علوم دامی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان قزوین، قزوین - ایران

۲) گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران

(دریافت مقاله: ۱۲ اردیبهشت ماه ۱۳۹۴، پذیرش نهایی: ۲۳ تیر ماه ۱۳۹۴)

### چکیده

**زمینه مطالعه:** استفاده از روش رایج گرسنگی در تولک‌بری مرغ‌های تخمگذار می‌تواند با تأثیرات منفی بر ساختار و محیط میکروبی روده سبب افزایش احتمال آلودگی سالمونلایی در پرند شده شود. **هدف:** هدف از این آزمایش بررسی اثرات استفاده از پودر یونجه به عنوان یک ماده خوراکی پر فیبر در تولک‌بری اجباری، بر خصوصیات مرفومتريک روده و عملکرد مرغ‌های تخمگذار تجاری بود. **روش کار:** در این آزمایش از ۱۰۸ قطعه مرغ تخمگذار از سویه‌های لاین (W-۳۶) در سن ۷۴ هفتگی در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با ۳ تیمار و ۶ تکرار استفاده شد. تیمارهای مورد استفاده در این آزمایش جهت اعمال تولک‌بری پرند شده به مدت ۱۲ روز شامل: ۱- گروه شاهد تغذیه شده با جیره کامل تخمگذاری (FF) ۲- گروه محروم از غذا (FW)، ۳- گروه تغذیه شده با جیره تولک حاوی ۹۰٪ پودر یونجه به همراه ۱۰٪ جیره تخمگذاری (A۹۰)، بودند. در انتهای دوره تولک (روز دوازدهم) نمونه‌گیری از بخش‌های مختلف روده مرغ‌ها انجام شد. رکورد تولید پرندگان به مدت ۱۲ هفته پس از تولک ثبت گردید. **نتایج:** پرندگان گرسنه در هر سه منطقه از روده، کمترین ارتفاع پرز را در میان گروه‌های آزمایشی داشتند ( $p < 0.05$ ). بیشترین میانگین عمق کریپت‌ها در ناحیه دئودنوم مربوط به گروه گرسنه بود ( $p < 0.05$ ). در هر سه منطقه از روده، کمترین مقادیر شاخص پرز و سطح پرز در میان گروه‌های آزمایشی مربوط به گروه گرسنه بود ( $p < 0.05$ ). بیشترین و کمترین میانگین تعداد سلول‌های گابلت در هر سه منطقه روده به ترتیب مربوط به گروه‌های A۹۰ و گرسنه بود ( $p < 0.05$ ). بیشترین میانگین توده تخم مرغ تولیدی پس از تولک، در گروه A۹۰ مشاهده شد ( $p < 0.05$ ). مناسب‌ترین ضریب تبدیل غذایی نیز مربوط به گروه A۹۰ بود که اختلاف آن فقط با گروه شاهد معنی‌دار بود ( $p < 0.05$ ). نتیجه‌گیری نهایی: استفاده از پودر یونجه در تولک‌بری مرغ‌های تخمگذار تجاری تأثیرات مطلوبی بر خصوصیات مرفومتريک روده در خلال این دوره و بهبود عملکرد پس از تولک داشت.

**واژه‌های کلیدی:** تولک‌بری اجباری، پودر یونجه، مرفولوژی روده، عملکرد، مرغ‌های تخمگذار

### مقدمه

موکوس در تمامی نقاط روده مشاهده شد (۲۴). از میان بخش‌های مختلف روده بخش ایلئومی به واسطه نزدیکی با سکوم، که به عنوان پناهگاهی برای جمعیت بزرگی از میکروارگانیزم‌ها شناخته شده است، از ویژگی و اهمیت خاصی برخوردار است و نیز به عنوان بخشی از روده که اغلب توسط سالمونلا کلونیزه می‌شود شناخته شده است (۹). تحقیقات نشان می‌دهند که گرسنگی طولانی مدت سبب تخلیه کامل محتویات سکوم نمی‌شود (۱۲) و ممکن است سبب افزایش کلونیزه شدن سالمونلا در آن شود (۱۹). از سوی دیگر تخریب پرزهای روده و کاهش ضخامت موسین در خلال گرسنگی طولانی مدت، امکان این که سالمونلا یا سایر اجرام بیماریزا در خلال گرسنگی طولانی مدت به درون ایلئوم آزاد شوند و از طریق پرزهای آسیب دیده سبب عفونت سیستماتیک پرند شوند، را به وجود می‌آورد.

اخیراً استفاده از جیره‌های حاوی فیبر بالا به عنوان رژیم‌های غذایی قابل استفاده در برنامه‌های تولک‌بری مورد توجه قرار گرفته اند (۱۴، ۵، ۶). یک رژیم غذایی پر فیبر معمولاً در مقایسه با رژیم کم فیبر دارای انرژی قابل متابولیسم کمتری است (۲۷). جیره‌های دارای مقادیر زیاد فیبر، سریعتر باعث سیری شده و پرندگانی که به صورت فیزیکی سیر می‌شوند متحمل استرس کمتری می‌شوند. از این رو جیره‌های با فیبر بالا برای القای

تحقیقات فراوانی در خصوص جنبه‌های منفی استفاده از روش محرومیت غذایی برای تولک‌بری در گله‌های مسن تخمگذار انجام شده است (۱۲، ۱۸، ۲۰). مشخص شده که تولک‌بری به وسیله محروم کردن پرندگان از خوراک، حساسیت پرندگان نسبت به آلودگی سالمونلایی را افزایش می‌دهد (۸، ۲۰). همچنین محرومیت غذایی سبب افزایش استرس در مرغان تخمگذار و کاهش عملکرد سیستم ایمنی پرند از طریق افزایش نسبت هتروفیل به لنفوسیت می‌گردد (۱۲).

گرسنگی طولانی مدت (بیشتر از ۳ روز) در جوجه‌های گوشتی می‌تواند منجر به کاهش محسوس پرزهای دئودنوم و ظهور واکنش‌های بزرگ در داخل سلول‌های پوششی روده گردد (۲). همچنین گرسنگی می‌تواند اثرات محسوسی روی موکوس تولید شده در روده داشته باشد. شواهد نشان می‌دهند که گرسنگی باعث کاهش مقدار و کیفیت موسین تولید شده می‌گردد که این مسئله احتمالاً در دسترسی سالمونلا به سلول‌های پوششی نقش دارد (۲۶). در مطالعه ای بر روی جوجه‌های گوشتی ۲۸ روزه که برای مدت ۷۲ ساعت گرسنه نگه داشته شدند، کاهش ضخامت لایه



اندازه‌گیری و ثبت شد (۳).

در پایان دوره تولک، تحریک نوری با استفاده از یک برنامه ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی در روز انجام شد و کلیه گروه‌ها با یک جیره تخمگذاری معمول تغذیه شدند. تولید تخم مرغ و مصرف خوراک پرندگان در گروه‌های مختلف آزمایشی به مدت ۱۲ هفته پس از دوره تولک اندازه‌گیری و ثبت گردید.

در پایان داده‌های حاصله در قالب طرح کاملاً تصادفی با استفاده از نرم افزار SAS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن استفاده شد.

## نتایج

نتایج مربوط به میانگین ارتفاع پرزهای روده در سه منطقه دئودنوم، ژوژنوم و ایلئوم مرغ‌ها در انتهای دوره تولک در جدول ۲ آورده شده است. نتایج این آزمایش نشان دادند که اختلاف میانگین ارتفاع پرزها در هر سه منطقه روده در تیمارهای مختلف آزمایشی معنی‌دار بود ( $p < 0.05$ ). در ناحیه دئودنوم بیشترین ارتفاع پرز مربوط به گروه شاهد و کمترین ارتفاع پرز مربوط به گروه FW مشاهده شد که اختلاف آنها با سایر گروه‌ها معنی‌دار

جدول ۱. ترکیب جیره تخمگذاری. هر کیلوگرم مکمل ویتامینی دارای IU ۸۵۰۰۰۰ ویتامین A، IU ۲۵۰۰۰۰۰، ویتامین D<sub>3</sub>، IU ۱۱۰۰۰ ویتامین E، mg ۲۲۰۰ ویتامین K<sub>3</sub>، mg ۱۴۷۷ ویتامین B<sub>1</sub>، mg ۴۰۰۰ ویتامین B<sub>2</sub>، mg ۷۸۴۰ ویتامین B<sub>3</sub>، mg ۳۴۶۵۰ ویتامین B<sub>5</sub>، mg ۲۴۶۴ ویتامین B<sub>6</sub>، mg ۱۱۰ ویتامین B<sub>9</sub>، mg ۱۰ ویتامین B<sub>۱۲</sub>، mg ۴۰۰۰۰۰ کولین کلراید می‌باشد. هر کیلوگرم مکمل معدنی دارای mg ۷۴۴۰۰ منگنز، mg ۷۵۰۰۰ آهن، mg ۶۴۶۷۵ روی، mg ۶۰۰۰ مس، mg ۸۶۷ ید و mg ۲۰۰ سلنیوم می‌باشد.

مواد خوراکی	جیره تخمگذاری
ذرت	۶۷/۶۴
کنجاله سویا	۲۵/۵۷
روغن گیاهی	۲/۰۹
دی کلسیم فسفات	۷/۹۲
کربنات کلسیم	۸/۱
دی ال متیونین	۰/۰۳
نمک	۰/۳۵
مکمل ویتامینی	۰/۲۵
مکمل معدنی	۰/۰۵
آنالیز مواد مغذی	
انرژی قابل متابولیسم (kcal/kg)	۲۸۲۸
پروتئین خام (%)	۱۶/۵
کلسیم (%)	۳/۵
فسفر قابل دسترس (%)	۰/۴۸
سدیم (%)	۰/۱۸
متیونین (%)	۰/۳۳
لیزین (%)	۰/۹
اسید لیپولیک (%)	۱/۶۹

پرریزی پیشنهاد شدند. فیبر رژیم غذایی نمی‌تواند توسط فرآیندهای داخلی حیوان میزبان هضم شود در عوض میکروارگانیسم‌های موجود در دستگاه گوارش می‌توانند آنها را متابولیزه نمایند. این خوراک‌ها می‌توانند دستگاه گوارش حیوان را از طریق تغییر در فعالیت‌های میکروبی و نرخ عبور مواد و متابولیت‌ها متحول سازند و سبب بهبود اثرات مفید فیزیولوژیکی و کاهش استرس شوند (۲۱).

متأسفانه تحقیقات کافی در مورد تغییرات مورفولوژیک روده در خلال گرسنگی‌های طولانی مدت در مرغ‌های تخمگذار تحت شرایط تولک بری اجباری در دسترس نیست. لذا هدف از انجام این آزمایش بررسی تغییرات مورفولوژیکی روده و تغییرات ترشح موسین در مرغ‌های تخمگذار تجاری تحت شرایط تولک بری اجباری با روش‌های محرومیت از غذا و استفاده از جیره تولک حاوی پودر یونجه بود.

## مواد و روش کار

در این آزمایش از ۱۰۸ قطعه مرغ تخمگذار تجاری از سویه‌های- لاین (W<sub>36</sub>) در سن ۷۴ هفته‌گی استفاده شد. سپس رکورد تولید تخم مرغ پرندگان پیش از شروع آزمایش در یک دوره ۴ هفته‌ای در قفس‌های انفرادی و با استفاده از یک جیره تخمگذاری رایج مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. پس از طی این مدت، ۱۰۸ قطعه پرندگان سالم با تولید مشابه در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تیمار و ۶ تکرار (هر تکرار شامل ۶ پرندگان)، انتخاب و جهت ورود به فرآیند تولک بری، به قفس‌های آزمایش (۲ پرندگان در هر قفس) منتقل شدند.

**تیمارهای تولک بری مورد استفاده در این آزمایش شامل:** گروه شاهد (دریافت کننده جیره کامل تخمگذاری)، گروه محروم از غذا (گرسنه) و گروه دریافت کننده ۹۰٪ پودر یونجه به همراه ۱۰٪ جیره تخمگذاری بودند. تمامی گروه‌ها در خلال دوره تولک دسترسی آزاد به آب آشامیدنی داشتند. یک هفته پیش از شروع تولک بری، برنامه نوری به ۸ ساعت روشنایی و ۱۶ ساعت تاریکی در روز تغییر داده شد. پرندگان برای مدت ۱۲ روز تولک برده شدند.

بعد از کشتار پرندگان در انتهای دوره تولک (پایان روز دوازدهم) قسمت‌های مختلف روده جداسازی گردید. برای اندازه‌گیری خصوصیات مورفومتریک، نمونه‌های ۱Cm از نواحی دئودنوم، ژوژنوم و ایلئوم جدا و با محلول استریل (PBS) شسته و برای تثبیت در محلول فرمالین ۱۰٪ قرار داده شد. سپس از نمونه‌های قالب‌گیری شده در پارافین، با میکروتوم چرخان مقاطع عرضی به ضخامت ۵μm تهیه شد و در ادامه با هموتوکسیلین و ائوزین رنگ آمیزی شدند. جهت شمارش سلول‌های گابلت از روش رنگ آمیزی پریودیک اسید شیف (PAS) استفاده شد (۲۴). از نمونه‌ها به کمک میکروسکوپ نوری عکس گرفته شد و قسمت‌های مختلف پرز (ارتفاع پرز، عمق کریبت، سطح پرز و شاخص پرز) توسط نرم افزار (Dino Capture)



بود ( $p < 0.05$ ). در منطقه ژوژنوم همچنان بیشترین ارتفاع پرز متعلق به گروه شاهد بود که اختلاف معنی داری با دو گروه دیگر داشت ( $p < 0.05$ ) اما اختلاف معنی داری بین گروه‌های FW و A90 مشاهده نشد. در منطقه ایلئوم نیز بیشترین ارتفاع پرز در گروه شاهد دیده شد که اختلاف آن فقط با گروه FW معنی دار بود ( $p < 0.05$ ).

نتایج مربوط به میانگین عمق کریبت‌های روده در سه منطقه دئودنوم، ژوژنوم و ایلئوم مرغ‌ها در انتهای دوره تولک در جدول ۳ آورده شده است. تفاوت میانگین عمق کریبت در بین تیمارها فقط در منطقه دئودنوم معنی دار بود ( $p < 0.05$ ). بیشترین میانگین عمق کریبت در این منطقه در گروه FW مشاهده شد که اختلاف معنی داری با هر دو گروه دیگر داشت ( $p < 0.05$ ).

نتایج مربوط به میانگین شاخص پرزهای روده در سه منطقه دئودنوم، ژوژنوم و ایلئوم مرغ‌ها در انتهای دوره تولک در جدول ۴ آورده شده است. نتایج این آزمایش نشان دادند که اختلاف میانگین شاخص پرزها در هر سه منطقه روده در تیمارهای مختلف آزمایشی معنی دار بود ( $p < 0.05$ ). در ناحیه دئودنوم بیشترین میانگین شاخص پرز در گروه A90 مشاهده شد که اختلاف آن فقط با گروه FW معنی دار بود ( $p < 0.05$ ). در مناطق ژوژنوم و ایلئوم، گروه شاهد بیشترین میانگین شاخص پرز را داشت اما اختلاف آن فقط با گروه FW معنی دار بود ( $p < 0.05$ ).

نتایج مربوط به میانگین سطح پرزهای روده در سه منطقه دئودنوم، ژوژنوم و ایلئوم مرغ‌ها در انتهای دوره تولک در جدول ۵ آورده شده است. نتایج این آزمایش نشان دادند که اختلاف میانگین سطح پرزها در هر سه منطقه روده در تیمارهای مختلف آزمایشی معنی دار بود ( $p < 0.05$ ). در نواحی دئودنوم و ایلئوم بیشترین میانگین سطح پرز مربوط به گروه شاهد و کمترین سطح پرز مربوط به گروه FW بود ( $p < 0.05$ ). در منطقه ژوژنوم همچنان بیشترین میانگین سطح پرز در گروه شاهد دیده شد اما اختلاف آن فقط با گروه FW معنی دار بود ( $p < 0.05$ ).

نتایج مربوط به میانگین تعداد سلول‌های گابلت روده در سه منطقه دئودنوم، ژوژنوم و ایلئوم مرغ‌ها در انتهای دوره تولک در جدول ۶ آورده شده است. نتایج این آزمایش نشان دادند که اختلاف میانگین تعداد سلول‌های گابلت در هر سه منطقه روده در تیمارهای مختلف آزمایشی معنی دار بود ( $p < 0.05$ ). در هر سه منطقه از روده میانگین تعداد سلول‌های گابلت در تیمار A90 بیشتر از سایر گروه‌ها بود ( $p < 0.05$ ). کمترین میانگین سلول‌های گابلت نیز در گروه FW مشاهده شد ( $p < 0.05$ ).

نتایج مربوط به میانگین توده تخم مرغ تولیدی مرغ‌ها در دوره‌های زمانی مختلف پس از تولک در جدول ۷ آورده شده است. نتایج این آزمایش نشان دادند که اختلاف میانگین توده تخم مرغ تولیدی در دوره‌های مختلف تولید پس از تولک معنی دار بود ( $p < 0.05$ ). بالاترین میانگین توده تخم مرغ تولیدی در ۴ هفته اول پس از تولک در گروه شاهد مشاهده گردید ( $p < 0.05$ ) اما اختلاف معنی داری بین سایر گروه‌ها وجود نداشت. بیشترین

جدول ۲. میانگین ارتفاع پرزهای سه منطقه روده در تیمارهای آزمایشی در پایان دوره تولک (μm). تیمارها: FF: گروه شاهد (دریافت کننده جیره کامل تخمگذاری)، FW: گروه محروم از غذا و A90: گروه دریافت کننده ۹۰٪ پودر یونجه به همراه ۱۰٪ جیره تخمگذاری. میانگین‌ها با حروف متفاوت در هر ستون با یکدیگر تفاوت معنی دار دارند.

تیمارها	میانگین ارتفاع پرزهای روده		
	دئودنوم	ژوژنوم	ایلئوم
FF	۱۷۰۸/۱ <sup>a</sup>	۱۲۳۴/۱ <sup>a</sup>	۸۳۴/۲ <sup>a</sup>
FW	۱۲۸۲/۳ <sup>c</sup>	۹۶۹/۶ <sup>b</sup>	۶۵۳/۶ <sup>b</sup>
A90	۱۵۴۶/۲ <sup>b</sup>	۱۲۲۶/۱ <sup>b</sup>	۷۹۰/۹ <sup>a</sup>
SEM	۴۷/۱۵	۳۸/۴	۳۴/۸
P-value	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۲

جدول ۳. میانگین عمق کریبت‌های سه منطقه روده در تیمارهای آزمایشی در پایان دوره تولک (μm). تیمارها: FF: گروه شاهد (دریافت کننده جیره کامل تخمگذاری)، FW: گروه محروم از غذا و A90: گروه دریافت کننده ۹۰٪ پودر یونجه به همراه ۱۰٪ جیره تخمگذاری. میانگین‌ها با حروف متفاوت در هر ستون با یکدیگر تفاوت معنی دار دارند.

تیمارها	میانگین عمق کریبت‌های روده		
	دئودنوم	ژوژنوم	ایلئوم
FF	۲۳۶/۵ <sup>b</sup>	۱۵۷/۷	۱۴۹/۹
FW	۲۵۰/۹ <sup>a</sup>	۱۶۸/۱	۱۶۲/۲
A90	۲۳۲/۲ <sup>b</sup>	۱۶۶/۳	۱۶۲/۸
SEM	۷/۳۵	۱۰/۳۹	۸/۲۷
P-value	۰/۰۰۵	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱

جدول ۴. میانگین شاخص پرز (ارتفاع پرز به عمق کریبت) سه منطقه روده در تیمارهای آزمایشی در پایان دوره تولک. تیمارها: FF: گروه شاهد (دریافت کننده جیره کامل تخمگذاری)، FW: گروه محروم از غذا و A90: گروه دریافت کننده ۹۰٪ پودر یونجه به همراه ۱۰٪ جیره تخمگذاری. میانگین‌ها با حروف متفاوت در هر ستون با یکدیگر تفاوت معنی دار دارند.

تیمارها	میانگین شاخص پرز		
	دئودنوم	ژوژنوم	ایلئوم
FF	۷/۲۶ <sup>a</sup>	۷/۸۹ <sup>a</sup>	۵/۳۱ <sup>a</sup>
FW	۵/۱۶ <sup>b</sup>	۵/۵۸ <sup>b</sup>	۴/۰۹ <sup>b</sup>
A90	۷/۲۷ <sup>a</sup>	۷/۳۲ <sup>a</sup>	۵/۱۲ <sup>a</sup>
SEM	۰/۲۲	۰/۲۶	۰/۲۱
P-value	۰/۰۰۷	۰/۰۰۱	۰/۰۰۷

جدول ۵. میانگین سطح پرزهای سه منطقه روده در تیمارهای آزمایشی در پایان دوره تولک (μm<sup>2</sup>). تیمارها: FF: گروه شاهد (دریافت کننده جیره کامل تخمگذاری)، FW: گروه محروم از غذا و A90: گروه دریافت کننده ۹۰٪ پودر یونجه به همراه ۱۰٪ جیره تخمگذاری. میانگین‌ها با حروف متفاوت در هر ستون با یکدیگر تفاوت معنی دار دارند.

تیمارها	میانگین سطح پرزهای روده		
	دئودنوم	ژوژنوم	ایلئوم
FF	۱۴۵۰۷۱۶ <sup>a</sup>	۷۳۷۱۴۲ <sup>a</sup>	۴۰۱۰۳۲ <sup>a</sup>
FW	۷۱۰۶۲۲ <sup>c</sup>	۵۴۸۶۷۴۵ <sup>b</sup>	۲۳۴۷۱۶ <sup>c</sup>
A90	۱۱۱۹۲۸۲ <sup>b</sup>	۷۳۱۰۲۹ <sup>a</sup>	۳۱۰۱۲۷ <sup>b</sup>
SEM	۷۱۶۴۴/۶	۲۹۱۳۷/۸	۳۸۰۰۴/۸
P-value	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۱۱



اول پس از تولک وجود نداشت. بیشترین میانگین ضریب تبدیل غذایی بین هفته‌های پنجم تا هشتم پس از تولک در گروه FW مشاهده شد که اختلاف آن فقط با گروه A90 معنی‌دار بود ( $p < 0/05$ ). بین هفته‌های نهم تا دوازدهم بیشترین میانگین ضریب تبدیل غذایی مربوط به گروه شاهد بود که اختلاف معنی‌داری با هر دو گروه داشت ( $p < 0/05$ ). در مجموع ۱۲ هفته، میانگین ضریب تبدیل غذایی پس از دوره تولک در گروه شاهد بیشتر از سایر گروه‌های آزمایشی حاصل شد اما اختلاف آن فقط با گروه A90 معنی‌دار بود ( $p < 0/05$ ).

### بحث

نتایج این آزمایش نشان داد که طول پرزهای روده در نواحی مختلف روده مرغ‌های گرسنه در مقایسه با سایر گروه‌های آزمایشی به طور معنی‌داری کوتاه‌تر بود همچنین افزایش عمق کریپت‌ها در منطقه دئودنوم در مرغ‌های گرسنه مشاهده شد. تغییرات در وضعیت مواد مغذی به ویژه گرسنگی سبب تغییرات در ساختار و عملکرد مخاط روده می‌شود (۷،۱۰). گزارش شده که گرسنگی سه روزه سبب کاهش پرزهای دئودنومی و تکثیر سلولی در داخل کریپت‌های روده نیمچه‌های لگهورن شد (۲۸). گزارش‌های دیگری در خصوص محو شدن ریز پرزها از سطح پرزهای روده جوجه‌های ۴۵ روزه لگهورن سفید در نتیجه گرسنگی ۳ روزه به ثبت رسیده است (۲۳). Yamauchi و Tarachai در سال ۲۰۰۰ کاهش معنی‌دار طول پرزهای دئودنوم را همراه با کاهش میتوز سلولی در نیمچه‌های لگهورن ۱۴۲ روزه تحت شرایط ۵ روز گرسنگی در مقایسه با گروه شاهد (تغذیه کامل) گزارش نموده‌اند. Yamauchi و Shamoto در سال ۲۰۰۰ افزایش مدت زمان مورد نیاز برای ترمیم پرزها در مرغ‌های ۵ روز گرسنه در مقایسه با مرغ‌های ۳ روز گرسنه گزارش نمودند. Smirnov و همکاران در سال ۲۰۰۴ خصوصیات ریخت‌شناسی و تشریح موسین در جوجه‌های ۲۸ روزه که به مدت ۳ روز گرسنه نگه داشته شدند را در مقابل گروه شاهد (تغذیه کامل) مورد مقایسه قرار داد و کاهش معنی‌دار مساحت پرزها در نواحی دئودنوم، ژوژنوم و ایلیوم در مرغ‌های گرسنه نسبت به مرغ‌های شاهد را گزارش نمود. نتایج آزمایش حاضر به وضوح کاهش معنی‌دار طول پرزها و سطح پرزها در هر ۳ منطقه از روده را در مرغ‌های ۱۲ روز گرسنه نگه داشته شده در مقایسه با مرغ‌های تولک برده شده توسط روش تغذیه با پودر یونجه و تغذیه کامل را نشان می‌دهد. افزایش عمق کریپت‌ها در مرغ‌های گرسنه در این آزمایش نیز می‌تواند به دلیل افزایش تخریب و آتروفی سلول‌های پوششی نوک پرز در اثر گرسنگی و در نتیجه افزایش بازچرخ سلول‌های تولیدکننده مخاط در عمق کریپت‌ها به منظور ساخت و جایگزین نمودن آنها با سلول‌های آتروفی شده باشد.

نتایج آزمایش‌های متعدد نشان داده‌اند که پری بیوتیک‌ها و اساساً مانان الیگوساکاریدها تأثیرات مثبتی بر روی ریخت‌شناسی و موسین روده

جدول ۶ میانگین تعداد سلول‌های گابلت سه منطقه روده در تیمارهای آزمایشی در پایان دوره تولک (تعداد در هر پرز). تیمارها: FF: گروه شاهد (دریافت‌کننده جیره کامل تخم‌گذاری)، FW: گروه محروم از غذا و A90: گروه دریافت‌کننده ۹۰٪ پودر یونجه به همراه ۱۰٪ جیره تخم‌گذاری. میانگین‌ها با حروف متفاوت در هر ستون با یکدیگر تفاوت معنی‌دار دارند.

تیمارها	میانگین تعداد سلول‌های گابلت		
	دئودنوم	ژوژنوم	ایلیوم
FF	۱۴۵/۷ <sup>b</sup>	۱۵۰/۷ <sup>b</sup>	۱۲۳/۱ <sup>b</sup>
FW	۱۱۹/۱ <sup>c</sup>	۱۲۱ <sup>c</sup>	۹۸/۲ <sup>c</sup>
A90	۲۹۵/۵ <sup>a</sup>	۲۸۶/۹ <sup>a</sup>	۲۳۲/۲ <sup>a</sup>
SEM	۶/۲۵	۷/۰۴	۶/۴۴
P-value	<0/001	<0/001	<0/001

جدول ۷ میانگین توده تخم مرغ تولیدی در دوره‌های مختلف پس از تولک در تیمارهای آزمایشی (گرم برای هر پرنده). تیمارها: FF: گروه شاهد (دریافت‌کننده جیره کامل تخم‌گذاری)، FW: گروه محروم از غذا و A90: گروه دریافت‌کننده ۹۰٪ پودر یونجه به همراه ۱۰٪ جیره تخم‌گذاری. میانگین‌ها با حروف متفاوت در هر ستون با یکدیگر تفاوت معنی‌دار دارند.

تیمارها	میانگین توده تخم مرغ تولیدی			
	۰-۴ هفتگی	۵-۸ هفتگی	۹-۱۲ هفتگی	۱۲-۰ هفتگی
FF	۲۳/۳ <sup>a</sup>	۴۳/۸۲ <sup>b</sup>	۴۹/۹۱ <sup>c</sup>	۳۸/۸۹ <sup>b</sup>
FW	۱۷/۲۲ <sup>b</sup>	۴۴/۱۲ <sup>ab</sup>	۵۵/۵۶ <sup>b</sup>	۳۸/۹۱ <sup>b</sup>
A90	۱۸/۶۳ <sup>b</sup>	۴۷/۰۳ <sup>a</sup>	۵۹/۹۳ <sup>a</sup>	۴۷/۶۱ <sup>a</sup>
SEM	۰/۵۶	۰/۳۲	۰/۴۴	۰/۴۹
P-value	<0/001	<0/001	<0/001	<0/001

جدول ۸ میانگین ضریب تبدیل غذایی در دوره‌های مختلف پس از تولک در تیمارهای آزمایشی. تیمارها: FF: گروه شاهد (دریافت‌کننده جیره کامل تخم‌گذاری)، FW: گروه محروم از غذا و A90: گروه دریافت‌کننده ۹۰٪ پودر یونجه به همراه ۱۰٪ جیره تخم‌گذاری. میانگین‌ها با حروف متفاوت در هر ستون با یکدیگر تفاوت معنی‌دار دارند.

تیمارها	میانگین ضریب تبدیل غذایی			
	۰-۴ هفتگی	۵-۸ هفتگی	۹-۱۲ هفتگی	۱۲-۰ هفتگی
FF	۳/۹۷	۲/۱۱ <sup>ab</sup>	۲/۱۸ <sup>a</sup>	۲/۴۱ <sup>a</sup>
FW	۴/۶۱	۲/۲۴ <sup>a</sup>	۱/۹۶ <sup>b</sup>	۲/۳۷ <sup>ab</sup>
A90	۴/۵۶	۲/۰۲ <sup>b</sup>	۱/۹۲ <sup>b</sup>	۲/۲۹ <sup>b</sup>
SEM	۰/۶۶	۰/۰۹	۰/۰۸	۰/۰۷
P-value	<0/001	<0/001	<0/001	<0/001

میانگین توده تخم مرغ بین هفته‌های پنجم تا هشتم پس از تولک در گروه A90 مشاهده شد که اختلاف آن فقط با گروه شاهد معنی‌دار بود ( $p < 0/05$ ). بین هفته‌های نهم تا دوازدهم نیز همچنان بیشترین میانگین توده تخم مرغ در گروه A90 به دست آمد که اختلاف معنی‌داری با هر دو گروه داشت ( $p < 0/05$ ). در مجموع ۱۲ هفته رکوردگیری پس از دوره تولک بیشترین میانگین توده تخم مرغ تولیدی مربوط به گروه A90 بود که اختلاف معنی‌داری با هر دو گروه دیگر داشت ( $p < 0/05$ ).

نتایج مربوط به میانگین ضریب تبدیل غذایی مرغ‌ها در دوره‌های زمانی مختلف پس از تولک در جدول ۸ آورده شده است. نتایج این آزمایش نشان دادند که اختلاف معنی‌داری در میانگین ضریب تبدیل غذایی در ۴ هفته



مشاهده تفاوت معنی‌دار در شمار سلول‌های گابلت در نواحی مختلف روده، کاهش ضخامت لایه موکوس را در جوجه‌های ۳ روز گرسنه نگه‌داشته شده در مقایسه با گروه شاهد گزارش نمودند. نظیر چنین کاهش در ضخامت لایه موکوس توسط Thompson و Applegate در سال ۲۰۰۶ در جوجه‌های گرسنه به مدت ۲۴ ساعت نیز گزارش شده است. کاهش ضخامت لایه موکوس تحت شرایط گرسنگی به ویژه گرسنگی طولانی مدت، نگرانی در خصوص کلونیزه شدن باکتری‌های بیماری‌زا در ایلئوم و ورود آنها به سلول‌های پوششی را افزایش می‌دهد (۲۶).

به نظر می‌رسد افزایش شمار سلول‌های گابلت در تیمار دریافت‌کننده یونجه در این آزمایش در مقایسه با سایر گروه‌های آزمایشی، هم مربوط به اثرات پری بیوتیکی فروکتو الیگوساکاریدهای موجود در یونجه و هم ناشی از محتوای بالای فیبر موجود در این جیره و مواد ضد تغذیه‌ای موجود در بخش فیبر آن باشد. افزایش ترشح موسین می‌تواند در خلال دوره تولک به عنوان سدی در برابر نفوذ عوامل بیماری‌زا به سلول‌های پوششی عمل نماید. خالی بودن دستگاه گوارش در خلال دوره گرسنگی ۱۲ روزه در تیمار مرغ‌های گرسنه در این آزمایش نیز می‌تواند دلیل کاهش نسبی شمار سلول‌های گابلت در این گروه باشد. کاهش سلول‌های گابلت با کاهش ترشح موسین و کاهش ضخامت لایه موکوس همراه است که این مسئله می‌تواند خطر نفوذ عوامل پاتوژن به ویژه سالمونلا را به سلول‌های اپیتلیال را افزایش دهد.

بر اساس نتایج به دست آمده از این آزمایش، بالاتر بودن میانگین توده تخم مرغ تولیدی ۴ هفته اول پس از تولک در گروه شاهد، احتمالاً به دلیل عدم توقف کامل تولید در این گروه در مقایسه با گروه‌های تولک رفته است. اما در ۴ هفته دوم با کاهش میزان تولید تخم مرغ و همچنین کاهش وزن تخم مرغ تولیدی در گروه شاهد (به دلیل تولک زودتر) نسبت به سایر گروه‌ها، توده تخم مرغ تولیدی در این گروه پایین‌تر از سایر گروه‌ها شد. در ۴ هفته سوم نیز به تبع افزایش سطح تولید در گروه‌های تولک برده شده، گروه شاهد پایین‌ترین توده تخم مرغ تولیدی را در مقایسه با سایر گروه‌ها داشت. در مجموع ۱۲ هفته تولید پس از تولک، پایین‌ترین میانگین توده تخم‌مرغ تولیدی در گروه شاهد را می‌توان با عدم تولک روی کامل این گروه از مرغ‌ها و بالاتر بودن میانگین توده تخم مرغ تولیدی در گروه تغذیه شده با پودر یونجه را نیز با پتانسیل این ماده خوراکی در بهبود ساختار و عملکرد جذب روده‌ای پرندگان مرتبط دانست. این مشاهدات با یافته‌های Landers و همکاران در سال ۲۰۰۵ مطابقت داشت.

ضریب تبدیل غذایی بهتر در مرغ‌های تغذیه شده با پودر یونجه در مقایسه با سایر گروه‌ها در خلال ۱۲ هفته تولید پس از تولک در این آزمایش، می‌تواند به دلیل تولید بالاتر تخم مرغ و راندمان بهتر جذب پرندگان باشد. این نتایج با نتایج برخی از محققین مطابقت داشت (۵، ۱۴).

داشته‌اند (۱۳، ۱۵). Iji و همکاران در سال ۲۰۰۱ گزارش نمودند که جیره حاوی مانان الیگوساکاریدها باعث افزایش طول پرز به عمق کریپت در جوجه‌های گوشتی ۲۱ روزه شد اما دلیل افزایش این نسبت بیشتر مربوط به افزایش ارتفاع پرزها بود تا کاهش عمق کریپت‌ها. Marcovic و همکاران در سال ۲۰۰۹ گزارش نمودند که در یک دوره ۴۲ روزه در جوجه‌های گوشتی، مانان الیگوساکارید تجاری و پروبیوتیک میکروبی سبب افزایش ارتفاع و عرض پرزها و کاهش عمق کریپت‌ها در تمامی نواحی روده در مقایسه با گروه شاهد و محرک رشد فلاووماسین شدند. Shane در سال ۲۰۰۱ نیز گزارش نمود که استفاده از مانان الیگوساکارید تجاری سبب اصلاح ریخت‌شناسی و ترکیب موسین روده می‌شود. پودر یونجه به عنوان یک ماده خوراکی فیبری، حاوی مقادیر قابل ملاحظه از پلی ساکاریدهای غیر نشاسته‌ای (NSP) اساساً از نوع فروکتو الیگوساکارید می‌باشد (۶). ترکیب مذکور به عنوان پری بیوتیک می‌تواند توجیه‌کننده ساختار مناسب تر بافتی نظیر ارتفاع و سطح پرز بیشتر و نسبت طول پرز به عمق کریپت بیشتر مشاهده شده در گروه دریافت‌کننده پودر یونجه در مقایسه با گروه گرسنه در این آزمایش باشد.

نتایج این آزمایش نشان داد که تعداد و تراکم سلول‌های گابلت در پرزهای نواحی مختلف روده مرغ‌های تغذیه شده با جیره‌های حاوی پودر یونجه در مقایسه با سایر گروه‌ها به طور قابل ملاحظه‌ای بالاتر بود و در مقابل میانگین تعداد سلول‌های گابلت در هر پرز در مرغ‌های گرسنه پایین‌تر از گروه شاهد بود. سطح جذبی روده کوچک توسط لایه‌ای از موکوس مترشحه از سلول‌های گابلت پوشیده شده است. تصور می‌شود که لایه موکوسی که بر سطح سلول‌های پوششی روده ترشح می‌شود به عنوان اولین مانع بر علیه نفوذ عفونت‌های روده‌ای محسوب می‌شود (۲۴).

مطالعات نشان می‌دهند که پری بیوتیک‌های خوراکی می‌توانند از طریق افزایش شمار سلول‌های گابلت سبب افزایش ترشح ترکیبات مخاطی و ممانعت علیه باکتری‌های بیماری‌زا شوند (۱). گزارش شده که الیگوساکاریدهای حاوی مانوز می‌توانند از طریق تحریک ترشح کبدی پروتئین متصل شونده به مانوز، روی بهبود سیستم ایمنی اثر بگذارند. گزارش‌هایی نیز در خصوص افزایش تعداد سلول‌های گابلت در ناحیه ژوژنوم جوجه‌های گوشتی دریافت‌کننده مانان الیگوساکاریدها در مقایسه با جوجه‌های دریافت‌کننده تیمار شاهد وجود دارد (۱۳). همچنین نشان داده شده است که عوامل تغذیه‌ای نظیر فیبرهای غذایی بر میزان ترشح موسین تأثیر گذار هستند و ترشح آنرا افزایش می‌دهند (۴، ۱۷، ۲۵). از سوی دیگر برخی مواد ضد تغذیه‌ای موجود در خوراک نیز به واسطه سایش دادن لایه موکوس، سبب افزایش ترشح موسین می‌شوند (۱۶).

گزارش‌هایی نیز در خصوص اثرات گرسنگی بر روی شمارش سلول‌های گابلت و ترشح موسین وجود دارد. Smirnov و همکاران در سال ۲۰۰۴ با آزمایش بر روی جوجه‌های گوشتی ۲۸ روزه، علی‌رغم عدم



## References

1. Bansil, R., Bradley, S., Turner, B. (2006) Mucin structure aggregation physiological functions and biomedical applications. *Curr Opin Colloid Interface Sci.* 11: 164-170.
2. Bayer, R.C., Rittenburg, J.H., Bird, F.H., Chawan, C.B., Allen, M. (1981) Influence of short term fasting on chicken alimentary canal mucosa. *Poult Sci.* 60: 1293-1302.
3. Bradly, G.L., Savage, T.F., Timm, K.I. (1994) The effect of supplementing diets with *Saccharomyces cerevisiae* var. Boulardii on male poult performance and ileal morphology. *Poult Sci.* 73: 1766-1770.
4. Cowieson, A.J., Acamovic, T., Bedford, M.R. (2004) The effects of phytase and phytic acid on the loss of endogenous amino acids and minerals from broiler chickens. *Br Poult Sci.* 45: 101-108.
5. Donalson, L.M., Kim, W.K., Herrera, P., Woodward, C.L., Kubena, L.F., Nisbet, D.J., Ricke, S.C. (2005) Utilizing different ratios of alfalfa and layer ration for molt induction and performance in commercial laying hens. *Poult Sci.* 84: 362-369.
6. Donalson, L.M., McReynolds, J.L., Kim, W.K., Herrera, P., Chalova, V.I., Woodward, C.L., Kubena, L.F., Nisbet, D.J., Ricke, S.C. (2008) The influence of a fructooligosaccharide prebiotic combined with alfalfa molt diets on the gastrointestinal tract fermentation, *Salmonella enteritidis* and intestinal shedding in laying hens. *Poult Sci.* 87: 1253-1262.
7. Dou, Y., Gregersen, S., Zhao, J., Zhuang, F., Gregersen, H. (2002) Morphometric and biomechanical intestinal remodeling induced by fasting in rats. *Dig Dis Sci.* 47: 1158-1168.
8. Durant, J.A., Corrier, D.E., Byrd, J.A., Stanker, L.H., Ricke, S.C. (1999) Feed deprivation affects crop environment and modulates *Salmonella Enteritidis* colonization and invasion of leghorn hens. *Appl Environ Microbiol.* 65: 1919-1923.
9. Fanelli, M.J., Sadler, W.W., Franti, C.E., Brownell, J.R. (1971) Localization of *Salmonella* within the intestinal tract of chickens. *Avian Dis.* 15: 366-375.

## تشکر و قدردانی

بدین وسیله از مدیریت وقت (جناب آقای مهندس ترینیا) و کارکنان محترم مرکز آموزش جهاد کشاورزی استان قزوین و کارشناس محترم آزمایشگاه بافت شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران جناب آقای مهندس ابراهیم پور و که نهایت همکاری را در اجرای این طرح مبذول فرمودند، تشکر و قدردانی می‌شود.

10. Ferraris, R.P., Carey, H.V. (2000) Intestinal transport during fasting and malnutrition. *Ann Rev Nutr.* 20: 195-219.
11. Hinton, A.J., Buhr, R.J., Ingram, K.D. (2000) Physical, chemical, and microbiological changes in the ceca of broiler chickens subjected to incremental feed withdrawal. *Poult Sci.* 79: 483-488.
12. Holt, P.S. (2003) Molting and *Salmonella enterica* serovar Enteritidis infection: the problem and some solutions. *Poult Sci.* 82: 1008-1010.
13. Iji, P.A., Saki, A.A., Tivey, D.R. (2001) Intestinal development and body growth of broiler chicks on diets supplemented with non-starch polysaccharides. *Anim Feed Sci Technol.* 89: 175-188.
14. Landers, K.L., Woodward, C.L., Li, X., Kubena, L.F., Nisbet, D.J., Ricke, S.C. (2005) Alfalfa as a single dietary source for molt induction in laying hens. *Biores Technol.* 96: 565-570.
15. Marcovic, R., Sefer, D., Krstic, M., Petrujkic, B. (2009) Effect of different growth promoters on broiler performance and gut morphology. *Arch Med Vet.* 41: 163-169.
16. Montagne, L., Toullec, R., Lalles, J.P. (2000) Calf intestinal mucin: Isolation, partial characterization, and measurement in ileal digesta with an enzyme-linked immunosorbent assay. *J Dairy Sci.* 83: 507-517.
17. Montagne, L., Crevieu-Gabriel, I., Toullec, R., Lalles, J.P. (2003) Influence of dietary protein level and source on the course of protein digestion along the small intestine of the veal calf. *J Dairy Sci.* 86: 934-943.
18. Park, S.Y., Birkhold, S.G., Kubena, L.F., Nisbet,



- D.J., Ricke, S.C. (2004) Effects of high zinc diets using zinc propionate on molt induction, organs, and postmolt egg production and quality in laying hens. *Poult Sci.* 83: 24-33.
19. Ramirez, G.A., Sarlin, L.L., Caldwell, D.J., Yezak Jr., C.R., Hume, M.E., Corrier, D.E., DeLoach, J.R., Hargis, B.M. (1997) Effect of feed withdrawal on the incidence of *Salmonella* in the crops and ceca of market age broiler chickens. *Poult Sci.* 76: 654-656.
20. Ricke, S. (2003) The gastrointestinal tract ecology of *Salmonella Enteritidis* colonization in molting hens. *Poult Sci.* 82: 1003-1007.
21. Rijnen, M.M.J.A., Heetkamp, J.W., Verstegen, M.W.A., Schrama, J.W. (1999). Effects of dietary fermentable carbohydrates on physical activity and energy metabolism in group-housed sows. *Proceedings of the ASAS Meetings.* p.182.
22. Shamoto, K., Yamauchi, K. (2000) Recovery responses of chick intestinal villus morphology to different refeeding procedures. *Poult Sci.* 79: 718-723.
23. Shamoto, K., Yamauchi, K., Kamisoyama, H. (1999) Morphological alterations of the duodenal villi in chicks refeed rice bran or grower mash after fasting. *Jpn Poult Sci.* 36: 38-46.
24. Smirnov, A., Sklan, D., Uni, Z. (2004) Mucin dynamics in the chick small intestine are altered by starvation. *J Nutr.* 134: 736-742.
25. Tanabe, H., Sugiyama, K., Matsuda, T., Kiriya, S., Morita, T. (2005) Small intestinal mucins are secreted in proportion to the settling volume in water of dietary indigestible components in rats. *J Nutr.* 135: 2431-2437.
26. Thompson, K.L., Applegate, T.J. (2006) Feed withdrawal alter small intestinal morphology and mucus of broilers. *Poult Sci.* 85: 1535-1540.
27. Wenk, S. (2001). The role of dietary fiber in the digestive physiology of the pig. *Anim Feed Sci Technol.* 90: 21-33.
28. Yamauchi, K., Kamisoyama, H., Isshiki, Y. (1996) Effects of fasting and refeeding on structures of the intestinal villi and epithelial cells in White Leghorn hens. *Br Poult Sci.* 37: 909-921.
29. Yamauchi, K., Tarachai, P. (2000) Changes in intestinal villi, cell area and intracellular autophagic vacuoles related to intestinal function in chickens. *Br Poult Sci.* 41: 416-423.



## An evaluation of alfalfa for molt induction on intestinal morphometric parameters and performance of commercial laying hens

Shahrami, E.<sup>1\*</sup>, Rezaian, M.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Animal Sciences, Qazvin Aricultural and Natural Resources Research and Education Center, Qazvin-Iran

<sup>2</sup>Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran-Iran

(Received 2 May 2015, Accepted 14 July 2015)

### Abstract:

**BACKGROUND:** The use of feed withdrawal for molt induction can negatively affected the structure and microbial environment of intestine and lead to greater intestinal colonization by salmonella infection. **OBJECTIVES:** The aim of the present experiment was to determine the effects of alfalfa as a high fiber ingredient for molt induction on intestinal morphometric characteristics and performance of commercial laying hens. **METHODS:** In this experiment 108 Hy-line (W36) laying hens aged 74 weeks in a completely randomized design with 3 treatments and 6 replicates were used. Using treatments for 12 days molt period were included: 1- control group fed with layer ration (FF), 2- feed withdrawal group (FW), 3- group fed with 90% alfalfa and 10% layer ration (A90). Performance of birds was monitored for 12 weeks after the end of the molting period. **RESULTS:** Feed withdrawal hens had lowest villus height in all three regions of the intestine ( $p < 0.05$ ). The highest average of deudenal crypt depths was observed in FW hens. In all three regions of the intestine, the lowest amounts of villus index and villus surface was observed in FW hens ( $p < 0.05$ ). In all three regions of the intestine, the highest and lowest average of goblet cells was seen in the A90 and FW hens respectively. The highest mean of post molt egg mass was observed in FW hens ( $p < 0.05$ ). The best FCR was seen in the A90 group. **CONCLUSIONS:** The use of alfalfa-riched feed for molt induction of laying hens results in improvement of morphometric characteristic of intestine and post molt performance.

**Keyword:** alfalfa, forced molting, intestinal morphology, laying hens, performance

### Figure Legends and Table Captions

**Table 1.** Layer ration. Vitamin premix: A, 8500000 IU; D, 2500000 IU; E, 11000 IU; K3, 2200 mg; B1, 1477 mg; B2, 4000 mg; B3, 7840 mg; B5, 34650 mg; B6, 2464 mg; B9, 110 mg; B12, 10 mg; choline chloride, 400000 mg. Mineral premix: Mn, 74400 mg; Fe, 75000 mg; Zn, 64675 mg; Cu, 6000 mg; I, 867 mg; Se, 200 mg.

**Table 2.** Mean villus height at the end of molt period ( $\mu\text{m}$ ). FF: control, FW: feed withdrawal, A90: 90% alfalfa + 10% layer ration. Mean with different letters in the same row differ ( $p < 0.05$ ).

**Table 3.** Mean crypt depth at the end of molt period ( $\mu\text{m}$ ). FF: control, FW: feed withdrawal, A90: 90% alfalfa + 10% layer ration. Mean with different letters in the same row differ ( $p < 0.05$ ).

**Table 4.** Mean villus index at the end of molt period. FF: control, FW: feed withdrawal, A90: 90% alfalfa + 10% layer ration. Mean with different letters in the same row differ ( $p < 0.05$ ).

**Table 5.** Mean villus surface at the end of molt period ( $\mu\text{m}^2$ ). FF: control, FW: feed withdrawal, A90: 90% alfalfa + 10% layer ration. Mean with different letters in the same row differ ( $p < 0.05$ ).

**Table 6.** Mean goblet cell counts at the end of molt period. FF: control, FW: feed withdrawal, A90: 90% alfalfa + 10% layer ration. Mean with different letters in the same row differ ( $p < 0.05$ ).

**Table 7.** Mean egg mass at the post molt production (gr). FF: control, FW: feed withdrawal, A90: 90% alfalfa + 10% layer ration. Mean with different letters in the same row differ ( $p < 0.05$ ).

**Table 8.** Means of feed conversion rate at the post molt. FF: control, FW: feed withdrawal, A90: 90% alfalfa + 10% layer ration. Mean with different letters in the same row differ ( $p < 0.05$ ).

\*Corresponding author's email: e.shahrami@gmail.com, Tel: 021-33227240, Fax: 021-33426860

J. Vet. Res. 70, 3:349-356, 2015

