مجله تحقیقات دامپزشکی، ۱۳۸۹، دوره ۶۵، شماره ۲، ۹۶-۹۱

تأثیر روش‌های مختلف تجویز پروبیوتیک در هچری 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 آشکارشدن جنبه‌های منفی استفاده از آنتی بیوتیک‌های محرک رشد در تغذیه طیور، استفاده از پروبیوتیک‌ها به عنوان میکروارگانیسم‌هایی با اثرات مفید بر میزبان، مورد توجه فزاینده قرارگرفته است. به منظور بررسی تأثیر روش‌های مختلف تجویز پروبیوتیک در هچری بر عملکرد رشد، فاکتورهای خونی وسیستم 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 کلوآکی با ۳ تکرار و ۲۰ قطعه جوجه در هر واحد آزمایشی مورد بررسی قرارگرفتند. نمونه‌گیری از خون به منظور بررسی فاکتورهای خونی در سن ۴۰ روزگی انجام شد، همچنین عملکرد تولید وسیستم ایمنی پرنده‌ها تا سن ۴۲ روزگی مورد بررسی قرارگرفت. روش‌های تجویز پروبیوتیک در هچری 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 دی‌نیتروکلروبنزن 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 معنی داری داشت و نیز بر کلسترول و تری‌گلیسرید پلاسما، هموگلوبین خون، عیار پادتن تولیدی علیه گلبول قرمز گوسفند، پاسخ ایمنی به فیتوهماگلوتینین، وزن نسبی طحال در ۲۸ روزگی و وزن نسبی بورس در ۴۲ روزی تأثیر معنی داری 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.

مقدمه

بسیاری از هچری‌های 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 هچری، جوجه‌هایی که از تخم خارج می‌شوند میکروفلور اندکی را در دستگاه گوارش خود دارند لذا به شدت مستعد آلودگی‌های سالمونلایی می‌باشند (۱۳). جوجه‌های تازه از تخم خارج شده که فاقد و یا دارای فلور روده‌ای اندکی هستند، در مقایسه با بزرگسالان حساسیت بیشتری در برابر آلودگی دهانی با این ارگانیسم‌ها دارند. البته با بکارگیری اصل انحصار رقابتی تا حد زیادی می‌توان بر این مشکل غلبه نمود (۷).

Nurmi و Rantala 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 پرندهٔ بالغ مطرح کردند. Edens و همکاران در سال ۱۹۹۷، بهبود وزن بدن و کاهش درصد تلفات را در گروه دریافت کننده 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 گاواژ دهانی، به جوجه‌های تازه از تخم خارج شده تجویز کردند و گزارش نمودند که روش گاواژ دهانی بر کاهش درصد پرنده‌های سالمونلا مثبت در کل دوره نسبت به 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 تولید کننده گاز، پروتئولیتیک‌های مضر و تولید کننده سموم میکروبی اشاره نمود (۴). Pivnick و Nurmi در سال ۱۹۸۲ برای اولین بار از روش آئروسل برای مصرف کشت‌های حذف رقابتی استفاده کردند و کاهش کلنی سازی سالمونلا و افزایش مقاومت پرنده در پی استفاده از این روش گزارش شد. بهبود عملکرد و کاهش کلنی سازی باکتری‌های بیماریزا در سکوم گروه دریافت کننده کشت‌های حذف رقابتی از طریق اسپری گزارش شده است (۸). در شرایط طبیعی، تغذیه مستقیم جوجه‌ها توسط والدین و همچنین حرکت مکشی مقعد در پرندگان غیرمستقل، ورود جمعیت میکروبی را از محیط برای استقرار در قسمت خلفی دستگاه گوارش تسهیل می‌کند، این عمل به آشامیدن کلوآکی 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 دریافت کننده پروبیوتیک حاوی مخلوطی از باکتریوفاژها و سویه‌هایی از باکتری‌های لاکتوباسیل از طریق کلوآک و در

*)نویسنده مسؤول: تلفن: ۴۸۲۹۲۳۴۸-۰۲۱، نمابر: ۴۸۲۹۲۲۰۰-۰۲۱ Email: karimitm@modares.ac.ir

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 زودهنگام پرنده از پروبیوتیک می‌باشد (۸). با توجه به نتایج تحقیقات انجام شده، می‌توان اینطور نتیجه گرفت که زمان و روش استفاده از این کشتها 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 هچری 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 اتاقک هوایی با سواب آغشته به تنطورید، مقدار ۰/۱ میلی‌لیتر 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 میلی‌لیتر محلول پروبیوتیک (محلول حاوی 10^7 میکروارگانیسم پروبیوتیک در هر میلی‌لیتر آب) را در یک روزگی از طریق گاواژ دهانی دریافت کردند، ۴- گروه افشانه: ۰/۲۵ میلی‌لیتر به ازای هر جوجه افشانه فراورده‌های پروبیوتیکی را در جعبه‌های حمل جوجه یک روزه دریافت کردند (محلول حاوی 10^7 میکروارگانیسم پروبیوتیک در هر میلی‌لیتر آب)، ۵- گروه کلوآکی: مقدار ۰/۱ میلی‌لیتر پروبیوتیک (محلول حاوی 10^7 میکروارگانیسم پروبیوتیک در هر میلی‌لیتر 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 میلی‌لیتر خون اخذ شد. غلظت هموگلوبین خون با استفاده از روش سیانومیت هموگلوبین و کیت تجاری شرکت زیست شیمی ایران تعیین 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 پرندهٔ یک واحد برای تجزیهٔ آماری استفاده شد.

به منظور آزمون میزان کارایی سیستم ایمنی هومورال، در سن ۳۵ روزگی به ۶ قطعه جوجه از هر گروه، مقدار ۰/۱ میلی‌لیتر 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 هماگلوتیناسیون تعیین شد (۱۵). در سنین ۲۸ و ۴۲ روزگی از گروه آزمایشی ۳ پرنده به طور تصادفی انتخاب و پس از کشتار، وزن طحال و بورس به عنوان دو عضو لنفوئیدی 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 میلی‌لیتر دی‌نیتروکلروبنزن (محلول حاوی ۱۰ mg/ml DNCB می‌باشد) در ناحیهٔ بدون 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 دی‌نیتروکلروبنزن (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 نرم‌افزار SAS (۱۸)، آنالیز شده و مقایسه میانگین‌ها به طریق دانکن صورت گرفت. سطح معنی‌دار ($p<0/05$) در نظر گرفته شد.

نتایج

در جدول (۱) تأثیر روش‌های مختلف تجویز پروبیوتیک در هچری 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 هچری قرار گرفته است ($p<0/05$). در دورهٔ پایانی گروه دهانی و شاهد به ترتیب بالاترین مصرف خوراک را داشته‌اند. در کل دوره مصرف خوراک در گروه‌های کلوآکی و تزریق به تخم مرغ از سایر

جدول۱- تأثیر روش‌های مختلف تجویز پروبیوتیک در هچری بر افزایش وزن روزانه، مصرف خوراک روزانه و ضریب تبدیل غذایی جوجه‌های گوشتی ab میانگین‌های با حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی‌دارمی باشند (p<۰/۰۵ =* و p<۰/۰۱ =**) SEM اشتباه معیار میانگین.

تیمار	افزایش وزن روزانه (گرم)			مصرف خوراک روزانه (گرم)			ضریب تبدیل غذایی			شاخص تولید
	آغازین	پایانی*	کل**	آغازین	پایانی*	کل*	آغازین	پایانی	کل	
شاهد	۳۳/۵۹	۷۰/۷۰ab	۵۲/۱۵b	۴۴/۲۱	۱۵۲/۷۵ab	۹۸/۴۸ab	۱/۲۶	۲/۱۵	۱/۷۱	۲۸۶/۹۰
تزریق به تخم مرغ	۳۲/۴۹	۷۰/۸۹ab	۵۱/۷۰b	۴۴/۴۳	۱۴۷/۵۱b	۹۵/۹۷b	۱/۲۹	۲/۰۶	۱/۶۸	۳۰۸/۲۱
دهانی	۳۵/۷۶	۷۶/۴۷a	۵۶/۱۲a	۴۶/۵۴	۱۵۸/۵۴a	۱۰۲/۵۴a	۱/۲۴	۲/۰۶	۱/۶۶	۳۲۸/۴۷
افشانه	۳۴/۶۲	۶۸/۴۹b	۵۱/۵۶b	۴۴/۸۳	۱۵۱/۴۱b	۹۸/۱۱ab	۱/۲۵	۲/۲۰	۱/۷۲	۲۸۵/۴۰
کلوآکی	۳۳/۵۳	۷۲/۱۰ab	۵۲/۸۲ab	۴۳/۷۱	۱۴۹/۰۴b	۹۶/۲۷b	۱/۲۴	۲/۰۶	۱/۶۵	۳۰۴/۱۷
SEM	۰/۰۶۶	۰/۰۸۷	۰/۵۵۲	۰/۴۲۲	۱/۴۳۲	۰/۸۳۹	۰/۰۰۹	۰/۰۲۵	۰/۰۱۳	۶/۶۲

جدول ۲- تأثیر روش‌های مختلف تجویز پروبیوتیک در هچری بر فاکتورهای خونی (میلیگرم‌در دسی لیتر).

تیمار	کلسترول پلاسما	تری گلیسرید پلاسما	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
کلوآکی	۱۳۱/۹۸	۱۰۹/۸۷	۷/۴۹
SEM	۵/۳۶	۶/۵۲	۰/۲۴
SEM اشتباه معیار میانگین			

گروه‌ها کمتر شده است. ضریب تبدیل غذایی در هیچ یک از دوره‌های پرورش تحت تأثیر تیمارهای آزمایش قرار نگرفته است (p>۰/۰۵)، اما به طور کلی بهبود ضریب تبدیل غذایی در گروه‌های دهانی و کلوآکی نسبت به سایر گروه‌های آزمایشی مشاهده می‌شود. استفاده از پروبیوتیک به روش دهانی باعث افزایش شاخص تولید شد و کمترین مقدار مربوط به گروه شاهد بود.

با توجه به جدول (۲) کلسترول پلاسما، تری گلیسرید پلاسما و هموگلوبین خون تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفته اما به طور کلی به غیر از گروه تجویز دهانی، می‌توان مقداری کاهش در کلسترول پلاسمای گروه‌های دریافت کننده پروبیوتیک در این آزمایش، نسبت به شاهد مشاهده کرد (p>۰/۰۵).

جدول (۳) تأثیر روش‌های مختلف تجویز پروبیوتیک در هچری را بر سیستم ایمنی جوجه‌های گوشتی نشان می‌دهد. 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 گروه‌های آزمایش نشان می‌دهد (p<۰/۰۵). وزن نسبی طحال در ۴۲ روزگی در گروه تزریق به تخم مرغ از سایر گروه‌ها بیشتر شده است (p<۰/۰۱). عیار پادتن علیه گلبول قرمز گوسفند تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفته است (p>۰/۰۵). افزایش نسبی قطر پوست پس از چالش با DNCB در نوبت اول در گروه‌های تزریق به تخم مرغ و دهانی نسبت به شاهد کمتر بوده است و در نوبت دوم گروه افشانه بالاترین و گروه کلوآکی پایین ترین میزان افزایش نسبی قطر پوست پس از چالش را داشته‌اند (p<۰/۰۵).

بحث

نتایج حاصل از این بررسی نشان می‌دهد 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<۰/۰۵)، که می‌تواند دلیلی بر بهبود ضریب تبدیل غذایی نسبت به گروه‌های افشانه و شاهد باشد هر چند اختلاف ضریب تبدیل غذایی از نظر آماری معنی‌دار نمی‌باشد (p>۰/۰۵). کلنی سازی عوامل بیماریزا می‌تواند قبل از ورود جوجه به سالن پرورش صورت گرفته و باعث آلودگی پرنده جوان به عوامل بیماریزا شود. استفاده از پروبیوتیک‌ها در هچری و حتی پیش از خروج جوجه‌ها از تخم و به صورت تزریق به تخم مرغ می‌تواند در کاهش آلودگی‌های 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 پرده‌های داخلی تخم مرغ و دریافت پروبیوتیک از ابتدای دستگاه گوارش می‌باشد، 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 بررسی‌های بیشتری دارد. البته تزریق غلط و غیر بهداشتی پروبیوتیک می‌تواند نتایج را عوض کرده و حتی استرس زا بوده و باعث گسترش آلودگی‌ها شود (۱۲).

نتایج آزمایش بهبودی را در عملکرد پرنده‌های دریافت کننده پروبیوتیک از طریق افشانه نشان نمی‌دهد. با توجه به این‌که نحوه دریافت پروبیوتیک در این روش از طریق عمل نوک زدن (piping) به سطح پرها و بدن صورت می‌گیرد، احتمالاً عدم بهبود عملکرد در این گروه ناشی از دریافت مقدار اندک پروبیوتیک و یا دریافت پاتوژن‌های موجود در روی بدن جوجه‌ها و محیط اطراف و در نتیجه تأثیر منفی آن‌ها بر عملکرد نسبت به سایر گروه‌های دریافت کننده پروبیوتیک می‌باشد. نتایج این آزمایش در روش افشانه با نتایج Ghadban در سال ۱۹۹۸ و Pivnick و Nurmi در سال ۱۹۸۲ که بیان کننده بهبود عملکرد پرنده‌های دریافت کننده کشت‌های 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<۰/۰۱)، اما اختلافی

جدول ۳- تأثیر روش‌های مختلف تجویز پروبیوتیک در هچری بر سیستم ایمنی جوجه‌های گوشتی ۱ مقادیر وزن نسبی در هزار ضرب شده‌اند. DNCB دی نیتروکلروبنزن abc میانگین با حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند (p<۰/۰۵ =* و p<۰/۰۱ =**). SEM اشتباه معیار میانگین.

تیمار	وزن نسبی[۱]				عیار پادتن علیه گلبول قرمز گوسفند	افزایش نسبی قطر پوست پس از چالش با DNCB		افزایش نسبی قطر پرده پا پس از تزریق فیتوهماگلوتینین	
	طحال در روز		بورس در روز						
	۲۸	۴۲××	۲۸×	۴۲		۲۸×	۳۸×	۱۲h	۲۴h
شاهد	۰/۹	۱/۲ b	۱/۹ ab	۱/۶	۲/۳۳	۱/۱۹۳ a	۰/۴۶۶ ab	۰/۶۵۷	۰/۹۰۲
تزریق به تخم مرغ	۱/۴	۱/۷ a	۲/۰ ab	۱/۴	۲/۱۷	۰/۸۶۸ b	۰/۳۴۲ bc	۰/۶۱۴	۰/۷۱۳
دهانی	۱/۳	۱/۲ b	۱/۷ b	۱/۴	۲/۰۰	۰/۹۴۷ b	۰/۴۶۴ ab	۰/۶۳۱	۰/۷۸۰
افشانه	۱/۰	۱/۲ b	۲/۳ a	۱/۴	۲/۱۷	۱/۰۵۶ ab	۰/۵۰۵ a	۰/۷۹۱	۰/۹۴۹
کلوآکی	۰/۸	۱/۱ b	۲/۱ ab	۱/۵	۲/۵۰	۱/۰۲۹ ab	۰/۳۰۶ c	۰/۶۲۴	۰/۸۲۲
SEM	۰/۰۹	۰/۰۷	۰/۱۱	۰/۱۲	۰/۱۴	۰/۰۴۵	۰/۰۲۴	۰/۰۳۲	۰/۰۴۳

بین گروه دهانی و کلوآکی از این نظر وجود ندارد. با توجه به نتایج اخیر می‌توان چنین بیان کرد که احتمالاً کنترل دقیق دوز مصرفی پروبیوتیک و اطمینان از دریافت زودهنگام و به مقدار کافی آن توسط پرنده باعث بهبود عملکرد پرنده در گروه‌های دهانی و کلوآکی شده است. افزایش خوراک مصرفی در گروه دهانی می‌تواند 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 معنی‌داری ندارد.

همان‌طور که در نتایج مشاهده شد کاهش خوراک مصرفی در گروه کلوآکی و افزایش وزن بالاتر این 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 کربوهیدرات‌ها، پروتئین‌ها، چربی‌ها و مواد معدنی شرکت کرده و در سنتز ویتامین‌ها سهیم هستند، از طرفی سکوم به عنوان عضوی برای تخمیر میکروبی مواد غیر قابل هضم در پرنده می‌باشد (۲۰)، که می‌توانند دلایلی بر عملکرد بهتر این گروه نسبت به گروه‌های شاهد و افشانه باشند.

نتایج این آزمایش اختلافی را بین گروه‌های آزمایشی در فاکتورهای خونی نشان نمی‌دهد. ولی به طور کلی مقداری کاهش در کلسترول پلاسمای گروه‌های پروبیوتیکی نسبت به شاهد مشهود است (p>۰/۰۵). کاهش کلسترول پلاسما در پی استفاده از پروبیوتیک‌ها در جیره غذایی جوجه‌های گوشتی توسط Mohan و همکاران در سال ۱۹۹۶ گزارش شده است. آن‌ها تأثیر پروبیوتیک‌ها بر هضم و جذب چربی‌ها را از طریق تأثیر بر نمک‌های صفراوی دلیل کاهش کلسترول پلاسما بیان نمودند. Kim و همکاران در سال ۲۰۰۳ کاهش کلسترول پلاسما را در پی استفاده مداوم از گونه قارچی آسپرژیلوس اریزا در جیره غذایی تا پایان هفته پنجم گزارش کردند. این محققین توانایی این گونه قارچی در ممانعت از تولید آنزیم‌های کلیدی در سنتز کلسترول به عنوان مثال ۳- هیدروکسیل-۳- متیل گلوتاریل- کوآنزیم A ردوکتاز را به عنوان دلیل کاهش کلسترول پلاسما بیان کردند.

در آزمایش Mohan و همکاران در سال ۱۹۹۶ میزان هموگلوبین خون در جوجه‌های گوشتی با افزایش سطوح مختلف پروبیوتیک در جیره کاهش یافت که علت آن به خاطر رقابت پروبیوتیک با بدن برای تحصیل اسیدفولیک غذا ذکر شده است، به این صورت که اسیدفولیک غذا کمتر در دسترس بدن جوجه‌ها قرار می‌گیرد و جوجه‌ها علائم کم خونی را نشان می‌دهند. احتمالاً تجویز زودهنگام پروبیوتیک پروتکسین نتواند بر فاکتورهای خونی موثر باشد و تداوم استفاده تأثیر بیشتری داشته باشد. بهبود عملکرد رشد و کاهش نیافتن هموگلوبین خون می‌تواند نقطه مثبتی از تأثیر زود هنگام تجویز پروبیوتیک‌ها باشد.

با توجه به نتایج ارزیابی شاخص‌های مربوط به سیستم ایمنی همورال، به نظر می‌رسد روش‌های تجویز زودهنگام 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 روش‌ها بر سیستم ایمنی می‌باشد، اما عیار پادتن تولیدی علیه گلبول قرمز گوسفند این موضوع را تأیید نمی‌کند. بورس به عنوان یک عضو لنفوئیدی در ابتدای زندگی نقش بسیار مهمتری نسبت به روزهای پایانی دارد و با افزایش سن وزن آن کاهش می‌یابد و از میزان تأثیرگذاری آن کاسته می‌شود، لذا با توجه به نتایج بدست آمده، تجویز پروبیوتیک در هچری می‌تواند در میزان مقاومت بدن در روزهای ابتدایی مؤثرتر بوده و با افزایش سن از تأثیر آن نسبت به پرنده‌های گروه شاهد کاسته می‌شود.

اجزای دیوارهٔ سلولی باکتری‌ها نقش مهمی در برهم کنش باکتری‌ها و میزبان دارند. این اجزا شامل پپتیدوگلایکان‌ها و لیپوپلی‌ساکاریدهای باکتری‌ها می‌باشند. هر دو نوع ملکول، فعال کنندهٔ قوی سیستم ایمنی هستند. پپتیدوگلایکان‌ها در هر دو گروه باکتری‌های گرم مثبت و منفی و لیپوپلی‌ساکاریدها فقط در باکتری‌های گرم منفی وجود دارند. این مولکول‌ها به طور مداوم در حین تکثیر و مرگ سلولی رها می‌شوند (۱۳). تحریک سیستم ایمنی و تقویت پاسخ پادتن، به نوع پادگن و نحوه ایجاد

ایمنی و تعداد باکتری‌های موجود در پروبیوتیک‌ها و زمینه ژنتیکی میزبان بستگی دارد (۹). بهبود و تحریک سیستم ایمنی بدن به وسیله پروبیوتیک‌ها، ممکن است به سه طریق مشخص شود: ۱- افزایش فعالیت ماکروفاژی که از طریق افزایش توانایی فاگوسیتوز میکروارگانیسم‌ها نمایان می‌شود. ۲- افزایش تولید پادتن عمومی، که معمولاً از نوع ایمنوگلوبولین‌های (IgM) M و (IgG) G و اینتروفرون‌ها هستند. ۳- افزایش تولید پادتن موضعی در سطوح مخاطی بدن، از قبیل دیواره روده. این نوع پادتن‌ها معمولاً از نوع IgA هستند (۱).

تست ازدیاد حساسیت تأخیری می‌تواند حساسیت پوست را نسبت به یک پادگن و یا دسته‌ای از پادگن‌ها مشخص نماید. به کاربردن مواد شیمیائی مستقیماً در روی پوست ممکن است منجر به حساس شدن سیستمیک بدن نسبت به متابولیت‌های آن ماده شیمیایی شود. سرنوشت واکنش‌های شیمیائی این مواد حساس کننده دقیقاً معلوم نیست ولی مواد حساس کننده‌ای مثل دی نیتروکلروبنزن (DNCB)، با پروتئین‌های مختلف پوست ایجاد کمپلکس‌های دی نیتروفنیل - پروتئین می‌کنند. توانایی یک ماده که بدن قبلاً با آن برخورد نداشته در ایجاد حساسیت تماسی، می‌تواند به عنوان معیاری برای سنجش ایمنی بکار رود (۱۹).

نتایج سیستم ایمنی خود مؤید این موضوع می‌باشند که احتمالا در روش تزریق به تخم مرغ و افشانه نقش پاتوژن‌های غیراختصاصی می‌تواند مؤثر باشد و احتمالا دلیلی بر افزایش وزن نسبی طحال و بورس به عنوان دو عضو لنفوئیدی در این گروه‌ها باشد. بیان شده که پروبیوتیک‌ها از دو طریق بر سیستم ایمنی بدن، چه اکتسابی و چه ذاتی، تأثیر می‌گذارند. یکی از طریق موادی که توسط باکتری‌ها تولید شده و بر دسترسی مواد مغذی تأثیر می‌گذارند و دیگری از طریق رقابت با عوامل میکروبی دیگر چه از طریق مواد ترشحی و چه از طریق رقابت بر سر مکان‌های اتصال در دستگاه گوارش (۵)، به عنوان مثال تولید و فعالیت هتروفیل‌ها در ایمنی ذاتی، تحت تأثیر بتا- گلوکان تولیدی توسط پروبیوتیک تجویز شده از طریق دهانی، افزایش می‌یابد (۱۱). صرف این‌که میزان عیار پادتن تولیدی علیه گلبول قرمز اختلاف معنی‌داری را از نظر آماری نشان نمی‌دهد، نمی‌تواند دلیلی بر بی تأثیر بودن روش‌های تجویز بر سیستم ایمنی هومورال باشد، زیرا سیستم ایمنی اکتسابی از پیچیدگی زیادی برخوردار می‌باشد. ضمن این‌که با توجه به نتایج عملکرد، احتمالاً روش‌های مختلف از طریق تغییر در دسترسی مواد مغذی در نواحی مختلف بر اساس روش تجویز، اثر خود را بر عملکرد می‌گذارند. 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 می‌شود.

به طور کلی با توجه به نتایج بدست آمده از این تحقیق، بالاترین افزایش وزن و کمترین ضریب تبدیل غذایی به ترتیب در گروه‌های تجویز دهانی و کلوآکی مشاهده شد. با درنظر گرفتن شاخص تولید به عنوان معیاری از عملکرد رشد، بهترین عملکرد در گروه تجویز دهانی مشاهده شد. گروه تزریق 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 روش‌های تجویز پروبیوتیک بر عملکرد و سیستم ایمنی مؤثر می‌باشند.

درنهایت تجویز پروبیوتیک‌ها در هچری به عنوان راهی برای کاهش تأثیر آلودگی‌های موجود در هچری بر پرنده و بهبود عملکرد توصیه می‌شود. بهترین روش تجویز باید با توجه به هدف از تجویز پروبیوتیک انتخاب شود و نیز به منظور بهره بیشتر از نتایج مثبت پروبیوتیک‌ها، می‌توان تلفیق روشهای مناسب را بررسی نمود که البته نیاز به تحقیقات بیشتر در این زمینه ضروری به نظر می‌رسد.

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 می‌شود.

References

1. Ahmad, I. (2006) Effect of probiotics on broilers performance. Int. J. Poult. Sci. 5: 593-597.
2. 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.
3. 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.
4. 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.
5. 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.
6. 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

Enteritidis in vitro and in vivo. Poult. Sci. 86: 1904-1909.

7. Fuller, R. (1992) Problems and prospects. In Probiotics: The Scintific 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. Haghighi, 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 ?-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 β-hydroxy-β-methylbutyrate. Immmunopharm. 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.

J. Vet. Res. 65, 2:91-96, 2010

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 hundereds 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 receved 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, Tel:021- 48292348, Fax: 021-48292200**