



## مقایسه‌ی اثر دریافت پروبیوتیک از مسیر دهان با مسیر کلوآک (تنقیه) بر ریخت‌شناسی روده‌ی باریک و عملکرد بلدرچین‌های ژاپنی

کاظم سیفی<sup>۱</sup>، محمد امیر کریمی ترشیزی<sup>۲</sup>، شعبان رحیمی<sup>۳</sup> و اسدالله تیموری یانسری<sup>۴</sup>

۱ و ۴- دانشجوی دکتری و دانشیار، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

۲- استادیار، دانشگاه تربیت مدرس، (نویسنده مسوول: karimitm@modares.ac.ir)

۳- استاد، دانشگاه تربیت مدرس

تاریخ دریافت: ۹۲/۲/۱۷ تاریخ پذیرش: ۹۲/۱۲/۴

### چکیده

در این پژوهش، اثر مسیرهای مختلف دریافت پروبیوتیک بر عملکرد و ریخت‌شناسی روده باریک بلدرچین ژاپنی بررسی شد. تعداد ۱۴۴ قطعه جوجه یک روزه بلدرچین ژاپنی پس از خروج از تخم به سه گروه آزمایشی تقسیم شدند و به روش‌های مختلف، پروبیوتیک به دستگاه گوارش آنها وارد شد. گروه‌های آزمایشی: الف) شاهد (پروبیوتیک دریافت نمود)، ب) گاوآژ دهانی (پروبیوتیک را به صورت مصرف اجباری به روش تخلیه به درون کلوآک دریافت نمود). در پایان روز ۳۵ پس از توزین تمامی پرندها، تعداد سه پرند از هر تکرار (۱۲ قطعه بلدرچین برای هر گروه آزمایشی) به روش جابجایی مهره گردن کشته شدند و نمونه‌گیری از روده باریک آنها انجام شد. بیشترین وزن بدن، افزایش وزن و مصرف خوراک در گروه گاوآژ دهانی مشاهده شد که با گروه شاهد تفاوت معنی‌دار داشت ( $P < 0.05$ )، اما با گروه کلوآکی تفاوت معنی‌داری نشان نداد. ضریب تبدیل غذایی در بین گروه‌های آزمایشی تفاوت معنی‌داری نداشت. آنالیز داده‌ها نشان داد که مسیرهای مختلف ورود پروبیوتیک به دستگاه گوارش، تفاوت معنی‌داری در طول دوازدهه ایجاد نکردند، اما ورود پروبیوتیک از مسیر کلوآک باعث افزایش طول ایلوم شد ( $P < 0.05$ ). ارتفاع پرز و عمق کریپت ناحیه دوازدهه در گروه دهانی بیشتر از شاهد بود ( $P < 0.05$ )، اما نسبت به گروه کلوآکی افزایش معنی‌داری نداشت. در ایلوم، گروه کلوآکی پرزهای بلندتری نسبت به گروه گاوآژ دهانی و شاهد داشت ( $P < 0.05$ ). عمق کریپت دوازدهه در گروه گاوآژ دهانی بیشتر از گروه شاهد بود ( $P < 0.05$ )، اما نسبت به گروه کلوآکی افزایش معنی‌داری نداشت. عمق کریپت‌های ایلوم در بلدرچین‌های گروه کلوآکی بیشتر از گروه شاهد بود ( $P < 0.05$ ). هرچند که افزایش اندکی نسبت به گروه گاوآژ دهانی داشت. در هر دو گروه تیمار شده با پروبیوتیک، سلول‌های گابلت تولیدکننده موسین اسیدی و گابلت‌های تولیدکننده موسین خنثی در هر دو بخش روده باریک، بیشتر از گروه شاهد بودند ( $P < 0.05$ ). بر اساس نتایج این تحقیق مسیر ورود پروبیوتیک بر محل تأثیرگذاری آن در روده و ریخت‌شناسی روده موثر است.

واژه‌های کلیدی: بلدرچین، پروبیوتیک، ریخت‌شناسی دستگاه گوارش، روده کوچک

### مقدمه

به ایمنی، سلامت و افزایش کارایی رشد پرند کمک می‌نماید. جوجه‌های تازه از تخم خارج شده، دارای دستگاه گوارش سترون<sup>۱</sup> می‌باشند که در طبیعت عوامل باکتریایی مفید (همزیست)<sup>۲</sup> را از والدین و محیط پیرامون خود (آشپانه، خوراک و مدفوع پرندگان دیگر) دریافت می‌نمایند. در سیستم‌های صنعتی، به دلیل پرورش در آشیانه‌های تمیز و بهداشتی، ضد عفونی تخم‌ها، استفاده از جوجه کشی‌های ضد عفونی شده، دور بودن از والدین و پرندهای بالغ و پرورش در سالن‌های ضد عفونی شده، تشکیل جمعیت میکروبی مفید در دستگاه گوارش به تعویق می‌افتد. به همین دلیل جوجه‌ها به ویژه در اوایل زندگی نسبت به باکتری‌های بیماری‌زا بسیار حساس هستند. به مجموعه میکروارگانیسم‌های موجود در دستگاه

در طبیعت و هم در شرایط پرورش صنعتی، پرندگان در سراسر عمر خود در مواجهه با عوامل (میکروارگانیسم‌های) گوناگونی قرار دارند که بسیاری از آنها بیماری‌زا بوده و برخی هم همزیستی مسالمت آمیز با پرند دارند. میکروارگانیسم‌هایی که زودتر وارد دستگاه گوارش (روده) میزبان شوند با اشغال جایگاه‌های اتصال در سطح روده و مسیرهای رقابتی دیگر، شاید برای همیشه در روده وجود داشته باشند و تعیین کننده الگوی جمعیت میکروبی در طول دوره عمر<sup>۳</sup> پرند باشند (۵). ورود زودتر میکروارگانیسم‌های مفید (نسبت به انواع مضر)، سبب مقاومت پرند به عوامل بیماری‌زا می‌شود و با پایدار نگه داشتن شرایط مناسب روده که محل هضم و جذب است

1- Life span

2- Sterile

3- Commensal

میکروارگانسیم پروبیوتیکی را در حجم ۵۰ میکرولیتر تعلیق میکروارگانسیسمی و به صورت مصرف اجباری به روش گاواژ یا تخلیه به درون چینه‌دان دریافت نمود، (پ کلواکی (۱۰<sup>۷</sup>) واحد تشکیل‌دهنده کلونی میکروارگانسیم پروبیوتیکی را در حجم ۱۰ میکرولیتر تعلیق میکروارگانسیسمی و به صورت مصرف اجباری به روش تخلیه به درون کلواک دریافت نمود)، پروبیوتیک مورد استفاده، محصول شرکت تجاری پروتکسین (Protexin, Somerset, UK) بود که دارای ۲×۱۰<sup>۹</sup> واحد تشکیل‌دهنده کلونی در هر گرم و مخلوطی از چندین گونه‌ی باکتری و قارچ است. این میکروارگانسیسم‌ها عبارتند از:

*Lactobacillus acidophilus* PXN 35  
*Enterococcus faecium* PXN 33  
*Candida pintolopesii* PXN 70  
*L. plantarum* PXN 47,  
*L. bulgaricus* PXN 39,  
*Bifidobacterium bifidum* PXN 23,  
*Aspergillus oryzae* PXN 68,  
*L. rhamnosus* PXN 54,  
*Streptococcus thermophilus* PXN 66

آزمایش شمارش تعداد کل میکروارگانسیسم‌ها که با هدف اطمینان از درستی ادعای شرکت سازنده در مورد تعداد کلنی موجود در محصول انجام شد، ادعای سازنده را تأیید نمود.

برای به حجم رساندن تعلیق میکروارگانسیسمی، از آب مقطر سترون استفاده شد. فرمول جیره غذایی پرنده‌ها (جدول ۱) بر اساس توصیه انجمن ملی تحقیقات ایالات متحده آمریکا تنظیم شد (۱۵). پژوهش در قالب طرح کاملاً تصادفی در چهار تکرار و سه پرنده در هر تکرار انجام شد. در روز ۳۵ دوره پرورش، پرنده‌ها به تفکیک هر پن (تکرارهای تیمارهای آزمایشی) توزین شدند و تعداد سه قطعه بلدرچین در هر تکرار (۱۲ قطعه برای هر تیمار آزمایشی)، به روش جابجایی مهره گردن<sup>۳</sup> به منظور نمونه‌برداری از روده‌ی باریک کشتار شدند. طول بخش‌های دوازدهه و ایلئوم از روده باریک به تفکیک پرنده‌های هر گروه اندازه‌گیری شدند. اندازه یک سانتی‌متر از قسمت میانی هر یک از بخش‌های روده پس از شستشو با بافر فسفات برای مطالعه ریخت‌شناسی، در فرمالین ۱۰٪ به مدت ۲۴ ساعت تثبیت شدند. نمونه‌های تثبیت شده پس از شستشو، به روش استاندارد معمول در بافت‌شناسی، فرآوری و در پارافین قالب‌گیری شدند. سپس برش‌هایی به ضخامت ۵ میکرومتر با استفاده از میکروتوم چرخان دستی تهیه و پس از پارافین‌زدایی با

گوارش که در بر گیرنده انواعی از باکتری‌ها و قارچ‌ها می‌باشد (۱) جمعیت (فلور)<sup>۱</sup> میکروبی گفته می‌شود. طیف (جمعیت) میکروبی موجود در دستگاه گوارش، با حفظ سلامت و فیزیولوژی روده، نقش مهمی در فرایند هضم و جذب مواد مغذی ایفا می‌کند.

پس از ممنوعیت استفاده از آنتی‌بیوتیک‌های محرک رشد در برخی کشورها، توجه زیادی به پروبیوتیک‌ها به عنوان جایگزین آنتی‌بیوتیک‌ها شده است. پروبیوتیک‌ها، باکتری‌های مفیدی هستند که با بهبود سلامت روده، نتایج مثبتی بر سلامت و رشد میزبان بر جای می‌گذارند (۹). فواید استفاده از پروبیوتیک‌ها در پژوهش‌های زیادی به اثبات رسیده است. ایده استفاده از پروبیوتیک‌ها در طیور، از سال ۱۹۷۳ و زمانی که نورمی و رانتالا جوجه‌های جوان را در مواجهه با باکتری‌های روده پرنده بالغ قرارداد و شاهد جلوگیری از عفونت آنها بودند شکل گرفت (۱۱). اثر مفید پروبیوتیک‌ها از راه‌هایی چون تحریک سیستم ایمنی، رقابت با عوامل بیماری‌زا در روده، تولید آنزیم‌های گوارشی و بهبود عملکرد طیور گزارش شده است (۱۸).

روش‌های معمول مصرف پروبیوتیک در پژوهش‌ها و در مرغداری‌ها، همراه خوراک و یا به میزان کمتری در آب آشامیدنی می‌باشد، اما بر اساس فرضیه استفاده از پروبیوتیک‌ها، یعنی جای‌گیری سریعتر باکتری‌های مفید (پروبیوتیک‌ها) در دستگاه گوارش (به ویژه روده) و چسبیدن به گیرنده‌های سطح درونی لوله گوارش و به این ترتیب مانع از چسبیدن باکتری‌های بیماری‌زا به بافت پوششی دستگاه گوارش، بهتر است استفاده از پروبیوتیک‌ها در اولین فرصت پس از خروج جوجه‌ها از تخم انجام شود (۲۱).

همچنین مشخص شده است که وضعیت سلامت روده و ویژگی‌های فیزیولوژیکی مربوط به پرزهای آن که محل اصلی هضم و جذب مواد مغذی است، در حضور و عدم حضور میکروارگانسیسم‌ها، رفتار متفاوتی نشان می‌دهد.

در این پژوهش کارایی دو روش مصرف زودهنگام پروبیوتیک (در جوجه‌کشی) بر عملکرد و ریخت‌شناسی روده باریک بلدرچین ژاپنی بررسی شد.

### مواد و روش‌ها

تعداد ۱۴۴ قطعه جوجه یک روزه بلدرچین ژاپنی پس از خروج از تخم، بی‌درنگ در محل جوجه‌کشی به سه گروه آزمایشی تقسیم شدند و به روش‌های مختلف، پروبیوتیک به دستگاه گوارش آنها وارد شد. گروه‌های آزمایشی: الف) شاهد (پروبیوتیک دریافت نمود)، ب) گاواژ دهانی (۱۰<sup>۷</sup>) واحد تشکیل‌دهنده کلونی (cfu)<sup>۲</sup>

همان‌طور که در جدول ۲ گزارش شده است، وزن بدن در ۳۵ روزگی، میزان افزایش وزن و مصرف خوراک در طول دوره پرورش، در گروه دهانی بیشتر از گروه شاهد بودند. در شرایط پرورش صنعتی، به دلیل سترون نبودن واحدهای جوجه‌کشی و مسیر انتقال جوجه‌های یک روزه از جوجه‌کشی به مزرعه، احتمال آلوده شدن جوجه‌ها به انواع عوامل بیماری‌زا وجود دارد. در عین حال در جوجه‌های یک روزه، هنوز جمعیت میکروارگانیسم‌های محافظ در روده تشکیل نشده است که به ویژه در هچری‌های آلوده به شدت مشکل‌ساز خواهد بود. مصرف پروبیوتیک با روش‌های زودهنگام (مصرف در محل واحد جوجه‌کشی) می‌تواند برای کنترل این مشکل مفید باشد. پیش‌تر مصرف زودهنگام پروبیوتیک بر کاهش میزان و شدت آلودگی به سالمونلا در جوجه مرغ (۱۰،۴) و جوجه بلدرچین (۲۱) به اثبات رسیده است. در پژوهش حاضر، مصرف زودهنگام پروبیوتیک در هچری باعث بهبود عملکرد نسبت به گروه شاهد شد که یکی از دلایل آن می‌تواند استقرار سریع‌تر میکروارگانیسم‌های مفید در دستگاه گوارش باشد که نتیجه آن جلوگیری از افزایش جمعیت انواع مضر است که با بهبود شرایط عمومی پرنده به صورت بهبود عملکرد نمود پیدا می‌کند. تغییرات بافت شناسی و آنزیمی روده می‌تواند به عنوان شاخصی برای ارزیابی کنش روده به‌کار رود (۲۴،۲۲). اثر میکروارگانیسم‌ها بر فیزیولوژی (ریخت‌شناسی) دیواره روده و نیز سطح جذب مواد مغذی به اثبات رسیده است (۱۶). در این پژوهش تفاوت مشهود و معنی‌دار طول روده به ویژه در ناحیه ایلیم در بلدرچین‌های دریافت‌کننده پروبیوتیک مشاهده شد. در ناحیه ایلیم، بیشترین طول در گروهی که پروبیوتیک را از مسیر کلوآک دریافت کرده بودند مشاهده شد. در این بررسی مشاهده می‌شود که عمیق‌ترین کریپت‌ها و بلندترین پرزها مربوط به گروه‌های دریافت‌کننده پروبیوتیک است که با گزارش رحیمی و همکاران (۱۶) مطابقت داشت. افزایش طول روده باریک به همراه افزایش ارتفاع پرزها، منجر به وسیع‌تر شدن سطح جذبی دستگاه گوارش می‌شود. دیواره روده دارای چهار لایه است که به ترتیب از درون به بیرون شامل: مخاط، زیر مخاط، عضلانی و سروز می‌باشد (۴). کریپت (حفره)‌های لیبرکوهن<sup>۲</sup> در بخش مخاط که درونی‌ترین لایه است، قرار دارند. کریپت‌ها عامل تولید سلول‌های جذبی روده<sup>۳</sup> می‌باشند که پس از تولید در کریپت، در طول پرز<sup>۴</sup> حرکت نموده و در حرکت به سمت نوک پرز توانایی جذب مواد غذایی را کسب می‌نمایند (۲۲،۱۴).

periodic acid- و eosin-haematoxylin-alcian blue Schiff رنگ‌آمیزی شدند (۱۳). در هر برش از تعداد ۱۰ پرز برای سنجش ارتفاع پرز<sup>۱</sup>، عمق حفره‌های کریپت و تعداد سلول‌های گابلت تولیدکننده موسین اسیدی و گابلت‌های تولیدکننده موسین خنثی، با استفاده از میکروسکوپ نوری زمینه روشن (Carl ZEISS standard 20, Germany) تصاویر دیجیتالی تهیه شد. سعی شد تا از تعداد ۱۰ پرز کنار هم داده‌برداری شود. شمارش تعداد گابلت‌ها در ۱۰۰ میکرومتر ابتدایی در دو لبه هر پرز در زیر میکروسکوپ و سپس تقسیم آن بر عدد دو انجام شد. پردازش تصاویر با استفاده از نرم‌افزار Dinocapture (Dino-lite, Ver. 3.3.0.0, Korea) انجام شد. آنالیز یافته‌های آزمایش با بهره‌گیری از نرم‌افزار SAS و مقایسه میانگین‌ها به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام شد (۲۰).

## نتایج و بحث

در جدول ۲، اثر مسیرهای مختلف دریافت پروبیوتیک بر ویژگی‌های عملکردی بلدرچین ژاپنی گزارش شده است. وزن بدن ۳۵ در سن روزگی و میزان افزایش وزن بدن در طول دوره پرورش، در بلدرچین‌های گروه دهانی بیشتر از گروه شاهد بود ( $P < 0.05$ )، اما با گروه کلوآکی تفاوت معنی‌داری نداشت. مقدار مصرف خوراک گروه دهانی بیشتر از گروه شاهد بود ( $P < 0.05$ )، اما با گروه کلوآکی تفاوتی نشان نداد. تفاوت معنی‌داری در ضریب تبدیل غذایی گروه‌های مختلف آزمایشی مشاهده نشد. آنالیز داده‌ها نشان داد که مسیرهای مختلف ورود پروبیوتیک به دستگاه گوارش، تفاوت معنی‌داری در طول دوازدهه ایجاد نکردند (جدول ۳)، اما ورود پروبیوتیک از مسیر کلوآک به افزایش طول ایلیم انجامید ( $P < 0.05$ ). ارتفاع پرز و عمق کریپت ناحیه دوازدهه در گروه دهانی بیشتر از گروه شاهد بود ( $P < 0.05$ )، اما نسبت به گروه کلوآکی افزایش معنی‌داری نداشت. در ایلیم، گروه کلوآکی پرزهای بلندتری نسبت به گروه گاواژ دهانی و شاهد داشت ( $P < 0.05$ ). عمق کریپت دوازدهه در گروه گاواژ دهانی بیشتر از گروه شاهد بود ( $P < 0.05$ )، اما نسبت به گروه کلوآکی افزایش معنی‌داری نشان نداد. عمق کریپت‌های ایلیم در بلدرچین‌های گروه کلوآکی بیشتر از گروه شاهد بود ( $P < 0.05$ )، هرچند که افزایش اندکی نسبت به گروه دهانی داشت. در هر دو گروه تیمار شده با پروبیوتیک، سلول‌های گابلت تولیدکننده موسین اسیدی و سلول‌های گابلت تولیدکننده موسین خنثی در هر دو بخش روده باریک، بیشتر از گروه شاهد بودند ( $P < 0.05$ ).

جدول ۱- ترکیب جیره پایه

| ترکیبات (/) |   |
|-------------|---|
| ۴۲/۳۲       | ذرت زرد                                       |
| ۴۰/۲۰       | کنجاله سویا (۴۴ درصد پروتئین خام)             |
| ۷/۴۸        | روغن گیاهی                                    |
| ۷/۳۰        | پودر ماهی (۶۵ درصد پروتئین خام)               |
| ۱/۲۱        | کرپنات کلسیم                                  |
| ۰/۰۱        | دی-کلسیم فسفات                                |
| ۰/۲۸        | کلرید سدیم                                    |
| ۰/۰۵        | پیش مخلوط ویتامین و مواد معدنی <sup>۱</sup>   |
| ۰/۰۳        | دی- ال- متیونین                               |
| ۰/۶۷        | سنگریزه (پر کننده)                            |
| ۳۱۳۰        | ترکیب مواد مغذی (محاسبه شده بر اساس NRC ۱۹۹۴) |
| ۲۵/۹۰       | انرژی قابل متابولیسم (kcal/kg)                |
| ۱/۴۰        | پروتئین خام (/)                               |
| ۰/۸۱        | لیزین (/)                                     |
| ۰/۸۶        | متیونین + سیستین (/)                          |
| ۰/۳۲        | کلسیم (/)                                     |
|             | فسفر غیر فیتاتی (/)                           |

۱- مقادیر تأمین شده در هر کیلوگرم جیره: ویتامین A: ۹۰۰۰ IU، ویتامین D3: ۲۰۰۰ IU، ویتامین E: ۱۸ IU، ویتامین K3: ۲ IU، ویتامین B1: ۱ IU، ویتامین B2: ۰/۶۵ IU، ویتامین B3: ۸/۹ IU، ویتامین B5: ۷/۲۹ IU، ویتامین B6: ۹۴/۲ IU، ویتامین B9: ۱ IU، ویتامین B12: ۰/۰۱۵ IU، ویتامین بیوتین: ۰/۱ IU، کولین کلراید: ۵۰۰ IU، ۲/۹۲ میلی گرم منگنز، ۵۰ میلی گرم آهن، ۷/۸۴ میلی گرم روی، ۱۰ میلی گرم مس، ۰/۷۲ میلی گرم ید و ۰/۲ میلی گرم سلنیوم.

جدول ۲- اثر مسیرهای مختلف دریافت پروبیوتیک بر عملکرد بلدرچین ژاپنی

| ضریب تبدیل غذایی | مصرف خوراک (گرم)    | افزایش وزن بدن (گرم) | وزن بدن در ۳۵ روزگی (گرم) | وزن بدن در یک روزگی (گرم) |        |
|------------------|---------------------|----------------------|---------------------------|---------------------------|--------|
| ۲/۷۴             | ۶۰۶/۳۷ <sup>b</sup> | ۲۲۱/۵۴ <sup>b</sup>  | ۲۲۹/۵۵ <sup>b</sup>       | ۸/۰۱                      | شاهد   |
| ۳/۰۱             | ۷۰۴/۳۷ <sup>a</sup> | ۲۳۳/۳۵ <sup>a</sup>  | ۲۴۱/۵۰ <sup>a</sup>       | ۸/۱۵                      | دهانی  |
| ۳/۰۰             | ۶۷۹/۳۳ <sup>a</sup> | ۲۲۶/۱۰ <sup>ab</sup> | ۲۳۴/۰۵ <sup>ab</sup>      | ۷/۹۵                      | کلواکی |
| ۰/۰۵۷            | ۰/۰۲۱               | ۰/۰۰۹                | ۰/۰۰۹                     | ۰/۶۲۷                     | p      |
| ۰/۰۵۶            | ۱۶/۴۰۸              | ۳/۰۶۲                | ۱/۸۴۵                     | ۰/۱۵۶                     | SEM    |

ab در هر ستون میانگین‌های با حروف نامشابه دارای تفاوت معنی دار می باشند ( $P < 0.05$ ).

جدول ۳- اثر مسیرهای مختلف دریافت پروبیوتیک بر برخی ویژگی‌های فیزیولوژیکی روده باریک بلدرچین ژاپنی

| ایلیوم                              |                     |                       |                     | دوازدهه                             |                    |                       |                    |                      |        |
|-------------------------------------|---------------------|-----------------------|---------------------|-------------------------------------|--------------------|-----------------------|--------------------|----------------------|--------|
| سلول‌های گابلت                      | عمق کریبت           | ارتفاع پرز (میکرومتر) | طول (سانتی‌متر)     | سلول‌های گابلت                      | عمق کریبت          | ارتفاع پرز (میکرومتر) | طول (سانتی‌متر)    |                      |        |
| تعداد در ۱۰۰ میکرومتر از ارتفاع پرز | (میکرومتر)          | (میکرومتر)            | (سانتی‌متر)         | تعداد در ۱۰۰ میکرومتر از ارتفاع پرز | (میکرومتر)         | (میکرومتر)            | (سانتی‌متر)        |                      |        |
| اسیدی                               | خنثی                |                       |                     | اسیدی                               | خنثی               |                       |                    |                      |        |
| ۱۱/۰۳ <sup>b</sup>                  | ۱۱/۵۰ <sup>b</sup>  | ۱۱/۳۶ <sup>b</sup>    | ۲۴۷/۵۹ <sup>b</sup> | ۲۱/۲۵ <sup>d</sup>                  | ۱۰/۹۳ <sup>c</sup> | ۱۰/۴۰ <sup>b</sup>    | ۲۳/۵۹ <sup>b</sup> | ۸۰۹/۷۶ <sup>d</sup>  | ۱۰/۰۰  |
| ۱۱/۳۷ <sup>ab</sup>                 | ۱۱/۷۵ <sup>ab</sup> | ۱۲/۹۳ <sup>a</sup>    | ۲۵۹/۰۱ <sup>d</sup> | ۲۳/۸۷ <sup>a</sup>                  | ۱۱/۷۳ <sup>a</sup> | ۱۲/۰۰ <sup>a</sup>    | ۲۶/۰۷ <sup>a</sup> | ۸۷۰/۵۱ <sup>a</sup>  | ۱۰/۸۷  |
| ۱۱/۶۷ <sup>a</sup>                  | ۱۱/۹۷ <sup>a</sup>  | ۱۳/۳۸ <sup>a</sup>    | ۲۸۰/۴۱ <sup>a</sup> | ۲۴/۸۷ <sup>a</sup>                  | ۱۱/۹۷ <sup>a</sup> | ۱۲/۰۷ <sup>a</sup>    | ۲۵/۶۸ <sup>a</sup> | ۸۴۲/۷۱ <sup>ab</sup> | ۱۰/۵۰  |
| <۰/۰۰۱                              | ۰/۰۰۰۸              | <۰/۰۰۱                | <۰/۰۰۱              | ۰/۰۰۰۲                              | ۰/۰۰۰۸             | ۰/۰۰۱۳                | <۰/۰۰۱             | ۰/۰۰۰۸               | ۰/۰۵۳۹ |
| ۰/۰۹۴                               | ۰/۰۶۶               | ۰/۲۷۳                 | ۴/۳۸۳               | ۰/۴۹۷                               | ۰/۱۳۹              | ۰/۳۹۷                 | ۰/۳۴۸              | ۸/۳۹۲                | ۰/۱۵۶  |

ab در هر ستون میانگین‌های با حروف نامشابه دارای تفاوت معنی دار می باشند ( $P < 0.05$ ).  
\*: سلول‌های گابلت تولیدکننده موسین اسیدی و سلول‌های گابلت تولیدکننده موسین خنثی

بنابراین، افزایش تعداد و اندازه کریبت‌ها، مرحله‌ای مهم و اساسی در تعیین تعداد سلول‌های پرزها است که خود عامل تعیین‌کننده ارتفاع و عرض پرز می‌باشد. شاید بتوان دلیل احتمالی بلندتر بودن پرزها<sup>۱</sup> در بلدرچین‌های گروه‌های دهانی و کلواکی در این پژوهش را افزایش عمق

1- Goblet

سلول‌های موجود در حفره کریبت، سلول‌های نابالغی هستند که در طول پرز بسته به نوع هدفی که مورد نیاز است به سلول‌های جذبی، جامی شکل<sup>۱</sup> و انواع دیگر سلول‌ها تمایز حاصل کرده و بالغ می‌شوند. کریبت‌های عمیق‌تر، تعداد سلول بیشتری هم دارند،

2- Villi

نشخوارکنندگان حجیم نبوده و محل قرارگیری جمعیت میکروبی نمی‌باشد. به همین دلیل، محل اصلی لانه‌گزینی میکروارگانسیم‌ها، انتهای دستگاه گوارش (به ویژه ایلوم و روده‌های کور) است. خوراکی‌های با قابلیت هضم پایین پس از عبور از بخش‌های اصلی مرتبط با هضم و جذب، در ایلوم و روده‌های کور مورد هضم میکروبی قرار می‌گیرند که به دلیل محدود بودن غلظت اکسیژن بیشتر از نوع تخمیر است (۱۴). این پدیده منجر به فراهمی انرژی و منابع غنی مواد مغذی در انتهای روده خواهد شد. این موضوع می‌تواند دلیل محکمی برای توجیه و تفسیر یافته‌های بخش ایلوم در بررسی حاضر باشد.

در مورد مصرف اجباری پروبیوتیک از راه کلوآک پژوهش‌های کمی انجام شده است. در شرایط طبیعی، تغذیه مستقیم جوجه‌ها توسط والدین و نیز حرکت مکشی مقعد در پرندگان دیررس<sup>۴</sup>، ورود جمعیت میکروبی به دستگاه گوارش پرنده را تسهیل می‌نماید، این عمل به آشامیدن کلوآکی<sup>۵</sup> معروف است. در مطالعه Cox و همکاران (۳)، که جوجه‌ها را با دو روش کلوآکی و دهانی با سالمونلا درگیر نمودند، عفونت روده‌ای بیشتری در روش کلوآکی حاصل شد. هاشم‌زاده و همکاران (۱۰) روش کلوآکی دریافت پروبیوتیک را بر کاهش عفونت سالمونلایی بسیار کارآمد گزارش کردند. در پژوهش پیشین ما، مصرف پروبیوتیک با روش‌های ترکیبی کلوآکی- تزریقی (تزریق پروبیوتیک به تخم نطفه‌دار و سپس وارد کردن آن از مسیر کلوآک به جوجه‌های هچ شده از تخم‌های تزریق شده) و کلوآکی- افشانه (افشانه بر جوجه‌های تازه از تخم خارج شده و سپس وارد کردن آن از مسیر کلوآک به جوجه‌های افشانه شده) در کاهش تعداد بلدرچین‌های آلوده به سالمونلا اینتریتیدیس موثر بودند (۲۱). کارآمدتر بودن روش کلوآکی در مورد ایجاد تغییرات مثبت گزارش شده در پژوهش حاضر، شاید به دلیل ورود مستقیم میکروارگانسیم‌های پروبیوتیکی به روده (سکوم و ایلوم) و مواجه نشدن با pH پایین معده، املاح صفراوی و آنزیم‌های بخش‌های بالایی روده باریک باشد، در حالی که در روش مصرف از مسیر دهان (روش گاوآژ دهانی)، رویارویی میکروارگانسیم‌های پروبیوتیکی با شرایط اسیدی معده، آنزیم‌های گوارشی بخش‌های بالایی روده و نمک‌های صفراوی، احتمال این که بخشی از میکروارگانسیم‌های مصرف شده کارایی خود را از دست دهند دور از ذهن نیست.

بر اساس نتایج این تحقیق، مسیر ورود فرآورده پروبیوتیکی به بدن تعیین‌کننده جایگاه مشاهده اثر

کریپت به جهت مصرف پروبیوتیک دانست. لایه مخاط در طول روده نازک‌تر شده و طول پرز و عمق کریپت‌ها کاهش می‌یابد. اثر متقابل جمعیت میکروبی و ریخت‌شناسی دیواره روده به طور واضح توسط تغییر در فیزیولوژی دستگاه گوارش حیوانات عاری از میکروب در مقایسه با شاهد بیان شده است. پرزها در حیوانات عاری از میکروب به طور معمول هم شکل و باریک بوده و کریپت‌ها کم عمق‌تر می‌باشند. همچنین لامینا پروپریا در حیوانات عاری از میکروب نازک‌تر بوده و سلول‌های کمتری دارد. این موضوع بر این نکته اشاره دارد که بافت‌های زاینده کمتری برای نگهداری موکوس عاری از میکروب مورد نیاز است. در یک بررسی رولس و همکاران (۱۹)، نسبت جایگزینی سلول‌های پوششی (اپیتلیوم) روده در موش‌ها و جوجه‌های عاری از میکروب را نزدیک به ۵۰ درصد گروه‌های دارای فلور طبیعی گزارش نمودند.

یکی از وظایف بافت پوششی روده علاوه بر جذب مواد مغذی، جلوگیری از عبور میکروارگانسیم‌ها و مواد غیر مغذی و سموم از دیواره روده می‌باشد (۸). برخی از انواع میکروارگانسیم‌ها با تحریک تراوش موکوس توسط سلول‌های گابلت، موجب افزایش ضخامت لایه موکوسی می‌شوند و یا با تقویت اتصال‌های محکمی<sup>۳</sup> که بین سلول‌های بافت پوششی روده وجود دارد، از عبور میکروارگانسیم‌ها و مواد غیر مغذی از عرض دیواره روده جلوگیری می‌کنند (۲). کارکرد مشخص و روشنی برای انواع مختلف سلول‌های گابلت ذکر نشده است (۲۳)، اما گفته می‌شود که موسین اسیدی در برابر گلیکوزیدازهای باکتریایی و پروتئازهای میزبان مقاوم است (۱۷،۶). در شرایط گرسنگی و تغذیه نامناسب، موکوس بافت پوششی روده که از جنس گلیکوپروتئین است می‌تواند منبع تغذیه‌ای برای میزبان باشد (۱۲). علاوه بر اعمال گفته شده، موسین نقش ویژه‌ای در جذب کاتیون‌ها از روده دارد، به دلیل بار منفی زیاد موسین بافت پوششی روده، کاتیون‌ها پیش از ورود به انتروسیت‌ها، به طور مستقیم به آنیون‌های موسین می‌چسبند (۷).

در این مطالعه بیشترین تعداد هر دو نوع سلول گابلت در پرنده‌هایی که پروبیوتیک مصرف کرده بودند مشاهده شد. در این مورد هم مانند عمق کریپت و ارتفاع پرز، به ویژه در ناحیه ایلوم، بیشترین اندازه‌ها در بلدرچین‌هایی که پروبیوتیک را از راه کلوآک دریافت کرده بودند، مشاهده شد. به دلیل فیزیولوژی ویژه دستگاه گوارش پرندگان که در پاسخ به سیر تکاملی پرواز شکل گرفته است، بخش پیشین دستگاه گوارش بر خلاف

پروبیوتیک بر ریخت‌شناسی روده می‌باشد و بیشترین  
تأثیر در جایگاه نزدیک به محل تجویز پروبیوتیک مشاهده  
می‌شود.

#### منابع

- Chichlowski, M., J. Croom, B.W. McBride, G.B. Havenstein and M.D. Koci. 2007. Metabolic and physiological impact of probiotics or direct-fed-microbials on poultry: A brief review of current knowledge. *International Journal of Poultry Science*, 6: 694-704.
- Chichlowski, M., W.J. Croom, B.W. McBride, R. Qiu, C.C. Chiang, L.R. Daniel, G.B. Havenstein and M.D. Koci. 2007. Micro-architecture and spatial relationship between bacteria and ileal, cecal and colonic epithelium in chicks fed a direct-fed microbial and Salinomycin. *Poultry Science*, 86: 1121-1129.
- Cox, N.A., Bailey, J.S., Mauldin, J.M. and Blankenship, L.C. 1990. Presence and impact of *Salmonella* contamination in commercial broiler hatcheries. *Poultry Science*, 69:1606-1609.
- Denbow, D.M. 2000. Gastrointestinal anatomy and physiology. In: Sturkie's avian physiology. Edited by G.C. Whittow. Academic press. California. USA.
- Ducluzeau, R. 1993. Development, equilibrium and role of microbial flora in the newborn. *Ann. Pediatr.* 40: 13-22.
- Fontaine, N., J.C. Meslin, C. Lory and C. Andrieux. 1996. Intestinal mucin distribution in the germ-free rat and in heteroxenic rat harbouring a human bacterial flora: Effect on inulin in the diet. *British Journal of Nutrition*. 75: 882-892.
- Forstner, J.F. and G.G. Forstner. 1975. Calcium binding to intestinal goblet cell mucin. *Biochem. Biophys. Acta* 386: 283-292.
- Forstner, J.F. and G.G. Forstner. 1994. Gastrointestinal Mucus. In: Johnson LR, ed. *Physiology of the Gastrointestinal Tract*. 3<sup>rd</sup> Ed. New York: Raven Press.
- Fuller, R. 1989. Probiotics in man and animals. *Journal of Applied Bacteriology*, 66: 365-378.
- Hashemzadeh, Z., M.A. Karimi Torshizi, Sh. Rahimi, V. Razban and T. Zahraei Salehi. 2010. Prevention of *Salmonella* in neonatal broiler chicks by probiotic administration in hatchery evaluated by cultcher and PCR techniques. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 12: 425 -432.
- Higgins, S.E., G.F. Erf, J.P. Higgins, S.N. Henderson, A.D. Wolfenden, G. Gaona-Ramirez and B.M. Hargis. 2007. Effect of probiotic treatment in broiler chicks on intestinal macrophage numbers and phagocytosis of *Salmonella enteritidis* by abdominal exudate cells. *Poultry Science*, 86: 2315-2321.
- Jacobsen, C.N., V. Rosenfeldt Nielsen, A.E. Hayford, P.L. Moller, K.F. Michaelsen, A. Paerregaard, B. Sandstrom, M. Tvede and M. Jakobsen. 1999. Screening of probiotic activities of forty-seven strains of *Lactobacillus spp.* by *in vitro* techniques and evaluation of the colonization ability of five selected strains in humans. *Applied and Environmental Microbiology*, 65: 4949-4956.
- Kierrnan, J.A. 2008. *Histological and histochemical methods*. 4<sup>th</sup> ed. Scion, Bloxham UK.
- Klasing, K.C. 1998. *Comparative Avian Nutrition*. CABI, New York, USA.
- National Research Council. 1994. *Nutrient requirements of poultry*. 9<sup>th</sup> revised ed. National Academy Press. Washington, DC.
- Rahimi, S., L. Grims, O. Fletcher, E. Oviedo and B.W. Sheldon. 2009. Effect of direct-fed microbial (Primalac) on structure and ultrustructure of small intestine in turkey poults. *Poultry Science*, 88: 491-503.
- Roberton, A.M. and D.P. Wright. 1997. Bacterial glycosulfatases and sulfomucin degradation. *Canadian Journal of Gastroenterology and Hepatology*. 11: 361-366.
- Rolfe, R.E. 2000. The role of probiotic cultures in the control of gastrointestinal health. *Journal of Nutrition*. 130: 396-402.
- Rolls, B.A., A. Turvey and M.E. Coates. 1978. The influences of the gut microflora and dietary fibers on epithelial cell migration in the chick intestine. *British Journal of Nutrition*. 39: 91-98.
- SAS Institute. 1990. *SAS/STAT® User's guide*, release 6.03 edition. SAS institute Inc., Cary, NC.
- Seifi, K. and M.A. Karimi Torshizi. 2011. Efficiency of early (in Hatchery) probiotic administration methods against *Salmonella* colonization in Japanese quail. *Veterinary J. (Pajouhesh & Sazandegi)* 90: 40-47. (In Persian)
- Sklan, D. and Y. Noy. 2000. Hydrolysis and absorption in the small intestines of posthatch chicks. *Poultry Science*, 79: 1306-1310.
- Uni, Z., A. Smirnov and D. Sklan. 2003. Pre- and posthatch development of goblet cells in the broiler small intestine: Effect of delayed access to feed. *Poult. Sci.* 98: 320-327.
- Yamauci, K. 2002. Review on chicken intestinal villus histological alterations related with intestinal function. *Poultry Science*, 39: 229-242.

## The Comparison of Probiotics Intake Via Oral and Enema (Cloaca) Routes on Intestinal Morphology and Performance of Japanese Quails

Kazem Seifi<sup>1</sup>, Mohammad Amir Karimi Torshizi<sup>2</sup>, Shaban Rahimi<sup>3</sup> and Asadollah Teimouri Yansari<sup>4</sup>

---

1 and 4- Ph.D. Student and Associate Professor, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University

2 - Assistant Professor, Tarbiat Modares University (Corresponding author: karimitm@modares.ac.ir)

3- Professor, Tarbiat Modares University

Received: May 7, 2013

Accepted: February 23, 2014

---

### Abstract

In present study the effect of different routes of probiotic administration on performance and small intestinal morphology of Japanese quails was studied. Total of 144 Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*) one-day old chicks were divided into 3 experimental groups after hatch including: A. control (without probiotics), B. oral group (dosed by  $10^7$  cfu/50  $\mu$ l probiotics via oesophageal gavage) and C. vent lip group (dosed  $10^7$  cfu/10  $\mu$ l probiotics directly into vent). Protexin (Protexin, Somerset, UK) was used as probiotics. On d 35 after all birds weighed, three birds in every pen (12 in each experimental group) were killed via cervical dislocation. One cm of midpoint of duodenum and ileum were cut for histomorphology assays. Oral group had higher body weight, body weight gain and feed intake than control ( $P < 0.05$ ). Ileum was longer in vent lip group than the other groups ( $P < 0.05$ ). Oral-treated birds had higher duodenum villus height and crypt depth than control birds ( $P < 0.05$ ). In the cloacal-treated quails, ileum had higher villus height than the other birds ( $P < 0.05$ ) and deeper crypt than control birds ( $P < 0.05$ ). The numbers of both types of goblet cells (acidic mucin producer and neutral mucin producer) were higher in birds received probiotics ( $P < 0.05$ ). Based on the results the entrance route of probiotics could influence the location of intestinal morphological changes.

**Keywords:** Quail, Probiotic, Gut morphology, Small intestine