



"مقاله پژوهشی"

اثرات سطوح افزایشی اسیدیفایر در آب آشامیدنی بر عملکرد رشد، جمعیت میکروبی و ریخت‌شناسی روده کوچک جوجه‌های گوشتی

مازیار محیطی اصلی^۱ و مطهر رهنمای قلعه رودخانه^۲

۱- دانشیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران، (نویسنده مسوول: mmohiti@guilan.ac.ir)

۲- دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۱/۳ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۳/۲۷

صفحه: ۴۰ تا ۵۰

چکیده مبسوط

مقدمه و هدف: اسیدهای آلی یکی از جایگزین‌های آنتی‌بیوتیک‌های محرک رشد هستند که اثرات مفیدی بر عملکرد حیوان و جمعیت میکروبی دستگاه گوارش دارند. به طور کلی، افزودن اسیدهای آلی به خوراک سبب کاهش pH خوراک و دستگاه گوارش، تحریک رشد، کمک به غلبه جمعیت باکتری‌های مفید بر باکتری‌های بیماری‌زا و کاهش متابولیت‌های سمی تولید شده توسط باکتری‌های مضر می‌شوند.

مواد و روش‌ها: تعداد ۲۴۰ قطعه جوجه گوشتی یک‌روزه سویه راس ۳۰۸ در آزمایشی به ۴ تیمار آزمایشی، ۴ تکرار و ۱۵ قطعه جوجه در هر تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی تقسیم شدند. تیمارهای آزمایشی شامل سطوح صفر، ۲۰۰، ۳۰۰ و ۵۰۰ میلی‌لیتر اسیدیفایر در ۱۰۰۰ لیتر آب آشامیدنی بودند.

یافته‌ها: ضریب تبدیل خوراک در جوجه‌هایی که دو سطح ۲۰۰ و ۵۰۰ میلی‌لیتر اسیدیفایر در ۱۰۰۰ لیتر آب آشامیدنی دریافت کردند، نسبت به تیمار شاهد کاهش یافت ($p < 0.01$). شاخص کارایی اروپایی در تمام سطوح اسیدیفایر نسبت به تیمار شاهد بیشتر بود و روند افزایشی خطی معنی‌داری داشت ($p < 0.05$). جوجه‌هایی که ۵۰۰ میلی‌لیتر اسیدیفایر در آب دریافت کردند، کمترین ضریب تبدیل خوراک (۱/۶۴) در برابر (۱/۸۰)؛ ($p < 0.01$) و بیشترین شاخص کارایی اروپایی (۳۹۴) در برابر (۳۳۲)؛ ($p < 0.05$) را نسبت به شاهد داشتند. وزن بورس فابریوس، طحال و پانکراس در جوجه‌های دریافت کننده سطوح مختلف اسیدیفایر بیشتر از گروه شاهد بود ($p < 0.05$). pH پیش معده و ژژنوم جوجه‌هایی که ۵۰۰ میلی‌لیتر اسیدیفایر و pH دوازدهم جوجه‌هایی که ۳۰۰ میلی‌لیتر اسیدیفایر دریافت نمودند، نسبت به تیمار شاهد کاهش یافت ($p < 0.05$). افزودن اسیدیفایر به آب آشامیدنی جوجه‌های گوشتی تفاوتی در شمار باکتری‌های لاکتوباسیلوس، کلی‌فرم‌ها و اشریشیا کلی در ایلئوم ایجاد نکرد ($p > 0.05$). ضخامت لایه لامینا پروپریا در جوجه‌هایی که سطح ۳۰۰ میلی‌لیتر اسیدیفایر دریافت کردند، نسبت به سطح ۲۰۰ میلی‌لیتر اسیدیفایر افزایش یافت ($p < 0.05$). افزودن سطوح مختلف اسیدیفایر به آب آشامیدنی جوجه‌های گوشتی اثری بر عیار آنتی‌بادی علیه SRBC و نیوکاسل نداشت.

نتیجه‌گیری: نتایج نشان می‌دهند که سطح ۵۰۰ میلی‌لیتر اسیدیفایر در ۱۰۰۰ لیتر آب آشامیدنی با افزایش وزن اندام‌های گوارشی نظیر پانکراس نسبت به تیمار شاهد و اسیدی کردن نواحی ابتدایی دستگاه گوارش، سبب بهبود عملکرد رشد می‌شود.

واژه‌های کلیدی: اسیدیفایر، پاسخ ایمنی، جوجه گوشتی، ریخت‌شناسی روده، عملکرد رشد، جمعیت میکروبی روده

مقدمه

نگرانی‌های اخیر مصرف‌کنندگان محصولات دام و طیور در خصوص مقاومت میکروب‌ها به آنتی‌بیوتیک، سبب شده تا پژوهش‌های بسیاری به منظور یافتن جایگزین‌های مناسب برای آنتی‌بیوتیک‌ها انجام شود. پروبیوتیک‌ها، پری‌بیوتیک‌ها، اسیدهای آلی، ترکیبات گیاهی و آنزیم‌ها به‌عنوان جایگزین‌هایی برای آنتی‌بیوتیک‌های محرک رشد در جیره غذایی طیور مورد ارزیابی قرار گرفته‌اند. در بین این افزودنی‌ها، اسیدهای آلی یکی از گزینه‌های در دسترس و موثر هستند. به‌طور کلی، افزودن اسیدهای آلی به خوراک طیور سبب کاهش pH خوراک و دستگاه گوارش، بهبود رشد، افزایش جمعیت باکتری‌های مفید در برابر باکتری‌های بیماری‌زا و کاهش متابولیت‌های سمی (مانند آمونیاک و آمین‌ها) تولید شده توسط میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا می‌شود. علاوه بر این، اسیدیفایرها با کاهش pH روده می‌توانند هضم و جذب مواد مغذی را افزایش داده و زیست‌فراهمی مواد مغذی را بهبود دهند (۳۹).

اسیدهای آلی از غشاء سلولی باکتری‌ها عبور نموده و در داخل سیتوزول تفکیک شده و با تولید یون هیدروژن منجر به کاهش pH سلول می‌شوند. همچنین آنیون‌های به وجود آمده سبب اختلال در سنتز DNA و در نتیجه کاهش ساخت پروتئین سلولی شود و در این حالت سلول مجبور است با

صرف انرژی سعی در تنظیم pH داخلی نماید که به تدریج سبب کاهش رشد و از بین رفتن باکتری‌های مضر می‌شود (۹). بنابراین نخستین اثر ضدباکتری اسیدهای آلی به‌دلیل توانایی آنها در اختلال تنظیم pH درون سلولی است که منجر به کاهش پایداری باکتری‌ها می‌شود. علاوه بر این، اسیدهای آلی سبب کاهش pH دستگاه گوارش، بهبود آنزیم‌های گوارشی و فعالیت فیتاز میکروبی می‌شوند و می‌توانند اثرات مفیدی بر قابلیت هضم داشته باشند (۱۲). آثار مفید اسیدهای آلی بر سلامت دستگاه گوارش سبب شده تا در پاسخ‌های ایمنی ذاتی و اختصاصی طیور نیز موثر باشند.

افزودن مقادیر بسیار کم افزودنی‌ها به خوراک و مخلوط کردن آن به‌طور یکنواخت کار ساده‌ای نیست، در نتیجه احتمال این که برخی از حیوانات مقادیر نامناسب افزودنی را دریافت نمایند، زیاد است. همچنین کاهش خوراک مصرفی در شرایط تنش و بیماری موجب دریافت ناکافی افزودنی‌های مورد نظر می‌شود. لذا به‌منظور اطمینان از دریافت مقادیر لازم افزودنی‌ها، پیشنهاد شده است که ترکیباتی مانند اسیدهای آلی در آب آشامیدنی اضافه شوند (۳۷، ۴۷). علاوه بر این، اسیدی کردن آب آشامیدنی سبب کاهش رشد باکتری‌ها در آب و تشکیل بیوفیلم در لوله‌های آب شده لذا آلودگی آب آشامیدنی و بروز دیس‌باکتریوسیز و انتریت باکتریایی را در جوجه‌های گوشتی کاهش می‌دهد (۴۷). هدف از انجام این

روی بستری از پوشال در قفس زمینی به طول ۱/۶، عرض ۰/۸ و ارتفاع ۱ متر به مدت ۴۲ روز پرورش یافتند. در تمام طول دوره پرورش آب و خوراک به صورت آزاد در اختیار پرنده‌ها قرار داشت. اجزاء و ترکیبات شیمیایی جیره غذایی مورد استفاده در دوره پرورش بر اساس احتیاجات تغذیه‌ای جوجه گوشتی راس ۳۰۸ تنظیم شد (جدول ۱). تیمارهای آزمایشی شامل: ۱- شاهد (بدون اسید آلی)، ۲- ۲۰۰ میلی‌لیتر، ۳- ۳۰۰ میلی‌لیتر و ۴- ۵۰۰ میلی‌لیتر اسیدفایر +۴ در ۱۰۰۰ لیتر آب آشامیدنی بودند. اسیدفایر تجاری مورد استفاده در این پژوهش محصول شرکت توسعه بن دار فرآور بود که ترکیبی از اسیدهای فرمیک، پروپیونیک، لاکتیک، سیتریک و سوربیک بود. در ۳ روز ابتدایی پرورش از آب‌خوری کله قندی و بعد از آن تا پایان دوره از آب‌خوری نیل استفاده شد. برای هر قفس زمینی به طور جداگانه یک مخزن در بسته ۱۰ لیتری مدرج تعبیه شد که به ۳ نازل آب‌خوری که در هر قفس زمینی قرار داشتند متصل بود.

آزمایش، بررسی اثرات افزودن سطوح افزایشی اسیدفایر در آب آشامیدنی بر عملکرد رشد، pH قسمت‌های مختلف دستگاه گوارش، پاسخ‌های ایمنی، میکروفلور و ریخت‌شناسی روده جوجه‌های گوشتی بود.

مواد و روش‌ها

پرنده‌ها، تیمارهای آزمایشی و مدیریت پرورش

این آزمایش در ایستگاه آموزشی - پژوهشی پرورش طیور دانشکده کشاورزی دانشگاه گیلان از ۱۰ اردیبهشت تا ۲۱ خرداد ۱۳۹۸ انجام شد. میانگین ارتفاع محل از سطح دریا ۱۰- متر و واجد آب و هوای مرطوب است. پرورش در سالنی به ابعاد ۳۸ در ۱۱ متر و با استفاده از ۲۴۰ قطعه جوجه گوشتی یک‌روزه نر سویه راس ۳۰۸، در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تیمار آزمایشی، ۴ تکرار و ۱۵ قطعه جوجه گوشتی در هر واحد آزمایشی انجام شد. وزن اولیه جوجه‌ها به طور ۳±۴۳ گرم بود. جوجه‌های گوشتی در هر واحد آزمایشی

جدول ۱- اجزا و ترکیب جیره غذایی جوجه‌های گوشتی

Table 1. Ingredients and composition of broiler's diet

اجزا جیره (%)	آغازین	رشد	پایانی	ترکیبات محاسبه شده	آغازین	رشد	پایانی
	(۱۰۰-)	(۲۴-۱۱)	(۴۲-۲۵)		(روزگی)	(روزگی)	(روزگی)
ذرت	۵۲/۱۵	۵۴/۶۱	۵۹/۴۱	انرژی قابل متابولیسم (kcal/kg)	۲۸۵۰	۲۹۵۰	۳۰۵۰
کنجاله سویا	۳۹/۸	۳۸/۲۱	۳۲/۹۵	پروتئین خام (%)	۲۲/۱۷	۲۰/۴۶	۱۸/۵۹
روغن سویا	۱/۶۲	۳/۱۹	۳/۹۱	متیونین قابل هضم (%)	۰/۶۱	۰/۵۶	۰/۵۱
کنجاله گلوتن ذرت	۱/۹۶	۰/۰۰	۰/۰۰	متیونین + سیستین قابل هضم (%)	۰/۹۰	۰/۸۳	۰/۷۶
کربنات کلسیم	۰/۹۸	۰/۹۰	۰/۸۴	لیزین قابل هضم (%)	۱/۲۲	۱/۰۹	۰/۹۸
دی کلسیم فسفات	۱/۹۸	۱/۷۶	۱/۵۸	ترئونین قابل هضم (%)	۰/۸۲	۰/۷۳	۰/۶۶
کلرید سدیم	۰/۲۳	۰/۲۷	۰/۲۲	والین قابل هضم (%)	۰/۹۱	۰/۸۵	۰/۷۷
بیکربنات سدیم	۰/۱۵	۰/۱۱	۰/۱۹	آرژنین قابل هضم (%)	۱/۳۳	۱/۲۷	۱/۱۴
ال- ترئونین ۹۹%	۰/۱۱	۰/۰۷	۰/۰۶	ایزولوسین قابل هضم (%)	۰/۸۳	۰/۷۸	۰/۷۰
دی ال- متیونین ۹۹%	۰/۳۱	۰/۲۸	۰/۲۶	کلسیم (%)	۰/۹۶	۰/۸۷	۰/۷۹
ال- لیزین ۷۸%	۰/۲۰	۰/۱۱	۰/۱۱	فسفر قابل دسترس (%)	۰/۴۸	۰/۴۴	۰/۴۰
پیش مخلوط ویتامینی ۱	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	سدیم (%)	۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۵
پیش مخلوط معدنی ۲	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	توازن الکترولیت‌ها (mEq/kg)	۲۲۸	۲۲۳	۲۱۰

۱- مکمل ویتامینی در هر کیلوگرم جیره ۹۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین A، ۲۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین D3، ۱۸ واحد بین‌المللی ویتامین E، ۲ میلی‌گرم ویتامین K3، ۱/۸ میلی‌گرم B1، ۶/۶ میلی‌گرم B2، ۲۰ میلی‌گرم B3، ۱۰ میلی‌گرم ویتامین B5، ۳ میلی‌گرم B6، ۱ میلی‌گرم B9، ۰/۰۱۵ میلی‌گرم B12، ۰/۰۱ میلی‌گرم ویتامین H2، ۵۰۰ میلی‌گرم کولین و ۱ میلی‌گرم آنتی‌اکسیدان تأمین می‌نمود.

۲- مکمل معدنی در هر کیلوگرم جیره مقدار ۵۰ میلی‌گرم آهن، ۱۰۰ میلی‌گرم منگنز، ۸۵ میلی‌گرم روی، ۱۰ میلی‌گرم مس، ۱ میلی‌گرم ید و ۰/۲ میلی‌گرم سلنیوم تأمین می‌نمود.

عملکرد رشد

مصرف آب و خوراک، وزن بدن پرنده‌ها و تلفات در روزهای ۰، ۷، ۱۴، ۲۱، ۲۸، ۳۵ و ۴۲ آزمایش اندازه‌گیری و ثبت شد. از این داده‌ها برای محاسبه افزایش وزن روزانه (BWG)، خوراک مصرفی روزانه (ADFI)، آب مصرفی روزانه (ADWI) و ضریب تبدیل خوراک (FCR) به صورت هفتگی استفاده شد. در انتها شاخص کارایی اروپایی (EEF) نیز محاسبه شد. در روز ۱۰ پرورش، واکسن نیوکاسل سویه B1 به صورت قطره چشمی و سن ۱۹ و ۲۹ روزگی، سویه لاسوتا به صورت آشامیدنی به پرندگان تزریق گردید. ۴-۵ ساعت قبل از کشتار آب و خوراک از دسترس پرنده خارج گردید. در

پایان دوره از هر قفس زمینی دو قطعه جوجه با وزن نزدیک به میانگین آن قفس زمینی انتخاب شدند و بعد از شماره‌گذاری پا و ثبت وزن زنده، ذبح و بلافاصله پرنکی شدند.

pH دستگاه گوارش

برای اندازه‌گیری pH، بلافاصله پس از کشتار مقدار یک گرم از محتویات چینه‌دان، پیش‌معدة، سنگدان، دوازدهه، ژژنوم، ایلئوم و روده کور در ۲ میلی‌لیتر آب دیونیزه در لوله آزمایش مخلوط شد و با استفاده از دستگاه ورتکس همگن شد و با استفاده از دستگاه pH متر دیجیتال (WTW, Inolab 7310) اندازه‌گیری شد (۵).

شمارش کلنی‌های باکتریایی

برای سنجش اثر اسیدیفایر بر فلور میکروبی روده، محتویات ایلئوم برای شمارش باکتری‌های اشرشیاکلی، لاکتوباسیلوس و کلی‌فرم‌ها جمع‌آوری شد و برای انجام آزمایش میکروفلور به آزمایشگاه ارسال شد. لوله‌های آزمایش ابتدا در دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد اتوکلاو شدند. سپس یک گرم از محتویات ایلئوم در ۹ میلی‌لیتر محلول نمکی استریل برای تهیه سریال‌های رقت از ۱-۱۰ تا ۹-۱۰ رقیق سازی شد و سه رقت ۴-۱۰، ۵-۱۰ و ۶-۱۰ کشت داده شد. ۱۰۰ میکرولیتر از رقت‌های ذکر شده در سطح پلت‌های حاوی محیط کشت به صورت خطی پخش شد. به منظور تعیین شمارش باکتری از محیط کشت MRS آگار برای لاکتوباسیلوس، محیط کشت EMB آگار برای اشرشیاکلی و محیط کشت MacConkey آگار برای کلی‌فرم‌ها استفاده شد (۳۸). آنکوباسیون محیط کشت MRS آگار به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد در شرایط بی‌هوازی انجام شد. جهت ایجاد شرایط بی‌هوازی از یک جار با درپوش محکم و شمع استفاده شد و پس از قرار دادن پلیت‌ها در جار، شمع روشن را در آن قرار داده تا با مصرف اکسیژن موجود در آن باعث تولید دی‌اکسید کربن و هیدروژن شده و شرایط بی‌هوازی مورد نظر را فراهم کند. محیط کشت EMB و MacConkey آگار به مدت ۴۸-۲۴ ساعت در دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد آنکوباسیون شدند و تعداد کلنی‌های تهیه شده برای هر یک از محتویات ایلئوم تعیین شد (۳۳).

ریخت‌شناسی روده کوچک

برای بررسی ریخت‌شناسی روده کوچک، نمونه بافت از بخش میانی ایلئوم گرفته شد و در ظرف حاوی فرمالین ۱۰ درصد به آزمایشگاه بافت‌شناسی انتقال داده شد. نمونه‌ها در ابتدا تثبیت، سپس در پارافین قالب گیری شدند و توسط میکروتوم برش داده و رنگ‌آمیزی شدند. برای رنگ‌آمیزی ابتدا نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه توسط زایلین پارافین‌زدایی شدند و با سریال رقت‌های اتانول رهیدراته شدند و توسط هماتوکسیلین و اتوزین رنگ آمیزی شدند و دهیدراتاسیون به وسیله سری رقت‌های الکل اتانول صورت پذیرفت. در نهایت نمونه‌های رنگ‌آمیزی شده توسط میکروسکوپ نوری بررسی، اندازه‌گیری و تصویربرداری شدند. فاصله‌ی راس پرز تا پایه‌ی پرز به‌عنوان طول پرز اندازه‌گیری شد. عرض قسمت میانی پرزها به‌عنوان عرض پرزها گزارش شد. فاصله‌ی بین پایه‌ی پرز تا بخش انتهایی لایه‌ی مخاطی به‌عنوان عمق کریپت اندازه‌گیری شد. نسبت طول پرز به عمق کریپت و مساحت ظاهری پرز محاسبه شد. ضخامت لایه لامینا پروپریا و تونیکا ماسکولاریس نیز اندازه‌گیری شد.

پاسخ‌های ایمنی

در روزهای ۱۳ و ۳۰ پرورش، برای تست عیار آنتی‌بادی علیه SRBC، سوسپانسیون ۵ درصد گلوبول قرمز گوسفندی (SRBC) به عضله سینه همه جوجه‌ها تزریق شد (۱۶) و در روزهای ۲۸ و ۳۵ پرورش از دو قطعه پرنده خونگیری شد. برای آزمایش عیار آنتی‌بادی علیه نیوکاسل در روز ۴۲ پرورش از دو قطعه پرنده خونگیری شد و ۲۴ ساعت بعد سرم جدا

شده در میکروتیوب ریخته شد و جهت تعیین عیار آنتی‌بادی به آزمایشگاه منتقل شد. واکنش آگلوتیناسیون، یک روش کمی برای اندازه‌گیری آنتی‌بادی اختصاصی است. تولید پادتن‌های هموگلوئینه کننده SRBC عموماً به عنوان یک روش سریع و آسان برای اندازه‌گیری حساسیت ایمنی در مرغ‌ها استفاده می‌شود. روش انجام آزمایش برای اندازه‌گیری پادتن تام ضد SRBC به این صورت است که در ابتدا، نمونه‌های سرم خون را از حالت فریز خارج کرده و در دمای محیط گذاشته تا ذوب شود. سپس برای غیر فعال کردن سیستم کمپلمان، ابتدا سرم خون در دمای ۵۶ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه گرمخانه گذاری شد. سپس در داخل همه ۹۶ خانه میکروپلیت، به مقدار ۲۵ میکرولیتر مرکاپتواتانول ریخته شد. ۲۵ میکرولیتر از سرم خون به دومین چاهک ردیف اول میکروپلیت اضافه شد با استفاده از سمپلر، چند مرتبه محتویات داخل چاهک پر و خالی شد و ۲۵ میکرولیتر از محلول بدست آمده به چاهک بعدی منتقل شد و این کار تا آخرین چاهک ادامه پیدا کرد و در آخر ۲۵ میکرولیتر از محتویات آخرین چاهک دور ریخته شد تا حجم همه چاهک‌ها ۲۵ میکرولیتر شود. به این ترتیب رقت‌های ۱/۲، ۱/۴، ۱/۸، ۱/۱۶، ۱/۳۲، ۱/۶۴، ۱/۱۲۸، ۱/۲۵۶، ۱/۵۱۲، ۱/۱۰۲۴، داخل چاهک‌های میکروپلیت ایجاد شد. این مراحل برای هر نمونه سرم در دو ردیف انجام شد تا از دقت آزمایش اطمینان حاصل شود در انتها ۲۵ میکرولیتر از محلول ۰/۲۵ درصد گلوبول قرمز به همه چاهک‌های میکروپلیت اضافه شد میکروپلیت‌ها رو به صورت ۸ لاتین تکان داده و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ ساعت آنکوباسیون گردید. عکس رقت اولین خانه‌ای که ۵۰ درصد آگلوتیناسیون در آن صورت گرفته بود به عنوان عیار پادتن ضد SRBC ثبت شد (۱۸). برای اندازه‌گیری عیار ایمونوگلوبولین G، مانند مراحل فوق سیستم کمپلمان را غیر فعال کرده و ۲۵ میکرولیتر از نمونه سرم خون یا ۲۵ میکرولیتر محلول ۰/۲ مولار ۲- مرکاپتواتانول، در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت یک ساعت گرمخانه گذاری شد. از آنجایی که ایمونوگلوبولین M به ۲- مرکاپتواتانول حساس است و در حضور آن تخریب می‌شود و افزودن این ماده می‌توان ایمونوگلوبولین M را حذف کرد و عیار مشاهده شده میزان ایمونوگلوبولین G است. بعد از این، نمونه‌های سرم حاوی ۲- مرکاپتواتانول برای تهیه رقت‌های مختلف استفاده شد و سایر مراحل مانند محاسبه عیار کل انجام شد. از تفاضل عیار ایمونوگلوبولین G از عیار Anti-SRBS کل، عیار ایمونوگلوبولین M بدست آمد.

تجزیه و تحلیل آماری

داده‌های بدست آمده ابتدا برای توزیع نرمال آزمون شدند، در مواردی که توزیع داده‌ها نرمال نبود داده‌ها تبدیل شدند و در نهایت تمامی داده‌هایی که توزیع نرمال داشتند، با استفاده از رویه GLM نرم‌افزار آماری SAS (۴۶) مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. برای بررسی روند خطی تغییرات از آنالیز تابعیت^۱ استفاده شد. به منظور بررسی صفات مربوط به عملکرد از طرح کاملاً تصادفی با زیر مشاهده و برای بررسی pH بخش‌های مختلف دستگاه گوارش، ایمنی، فلور میکروبی

کاهش pH روده می‌شوند که عملکرد پرنده را بهبود می‌بخشند (۴۳) و از طریق حفظ سلامتی دستگاه گوارش سبب بهبود عملکرد رشد و ضریب تبدیل خوراک خواهند شد (۱۳).

در تحقیقی نشان داده شد که افزودن اسید آلی به صورت مقطعی و در کل دوره به آب آشامیدنی سبب افزایش وزن بیشتر و بهبود ضریب تبدیل خوراک شد در حالی که اثری بر مصرف خوراک نداشت (۲۳). در تحقیقی دیگر نشان داده شد که افزودن سطوح ۰/۷ و ۱/۴ درصد اسید استیک در جیره سبب افزایش وزن جوجه‌های گوشتی و بهبود ضریب تبدیل خوراک شد (۴۲). تحقیقات نشان داد که افزودن اسید آلی به جیره سبب افزایش وزن و بهبود ضریب تبدیل خوراک شد ولی اثری بر مصرف خوراک نداشت (۴۲، ۴۱، ۳۶). مطالعات نشان داد که با استفاده از ۰/۲۵، ۰/۵ و ۰/۷۵ درصد اسید استیک در جیره غذایی، افزایش وزن روزانه نسبت به گروه شاهد منفی بالاتر بود (۱۴). در تحقیقی گزارش شد که افزودن ۳ کیلوگرم در تن مکمل اسید آلی اثری بر مصرف خوراک، افزایش وزن و ضریب تبدیل خوراک جوجه‌های بلدرچین ژاپنی نداشت (۴۸). در تحقیق دیگری نیز نشان داده شد که استفاده از ۱/۵ درصد ترکیبی از اسیدهای فرمیک، لاکتیک، مالیک، سیتریک، تارتاریک و ارتوفسفریک اثری بر مصرف خوراک، افزایش وزن و ضریب تبدیل خوراک جوجه‌های گوشتی نداشت (۳۵).

و ریخت‌شناسی از طرح کاملاً تصادفی با چهار تیمار و چهار تکرار و دو زیر مشاهده در هر تکرار استفاده شد. مقایسه میانگین تیمارها برای صفات مورد نظر از آزمون توکی استفاده شد ($p < 0/05$).

نتایج و بحث عملکرد رشد

مطابق جدول ۲، افزودن سطوح مختلف اسیدفایر در آب آشامیدنی اثری بر مصرف خوراک و آب جوجه‌های گوشتی نداشت ($p > 0/05$). اثر معنی‌داری از افزودن اسیدفایر در آب آشامیدنی بر وزن پایان دوره و افزایش وزن روزانه مشاهده نشد ($p > 0/05$). در جوجه‌هایی که سطوح ۲۰۰ و ۵۰۰ میلی‌لیتر اسیدفایر در ۱۰۰۰ لیتر آب آشامیدنی دریافت کردند، ضریب تبدیل خوراک نسبت به تیمار شاهد کمتر بود ($p < 0/01$) و کمترین ضریب تبدیل خوراک را جوجه‌هایی که ۵۰۰ میلی‌لیتر اسیدفایر را دریافت کردند، داشتند ($p < 0/05$). شاخص کارایی اروپایی در تمام تیمارهای اسیدفایر نسبت به تیمار شاهد بیشتر بود و روند خطی معنی‌دار شد ($p < 0/05$). بطور کلی، افزودن ۵۰۰ میلی‌لیتر اسیدفایر در ۱۰۰۰ لیتر آب آشامیدنی سبب بهبود عملکرد رشد شد و جوجه‌های گوشتی مورد آزمایش در این تیمار بیشترین وزن را داشتند. اسیدهای آلی تجزیه پروتئین را در معده افزایش داده و قابلیت هضم پروتئین و آمینواسید را افزایش می‌دهند، همچنین سبب

جدول ۲- اثر سطوح مختلف اسیدفایر ۴+ بر عملکرد جوجه‌های گوشتی

Table 2. Effect of different levels of Acidifier 4+ on performance of broilers

تیمارها	وزن پایان دوره (گرم)	افزایش وزن روزانه (گرم)	خوراک مصرفی روزانه (گرم)	آب مصرفی روزانه (میلی‌لیتر)	ضریب تبدیل خوراک	شاخص کارایی اروپایی
(میلی‌لیتر/۱۰۰۰)						
صفر	۲۶۵۵	۶۲/۱۹	۱۱۱/۸	۲۱۵/۸	۱/۸۰ ^a	۳۳۲/۸
۲۰۰	۲۷۲۰	۶۳/۷۴	۱۰۶/۵	۲۰۹/۷	۱/۶۷ ^b	۳۷۴/۸
۳۰۰	۲۷۱۹	۶۳/۷۲	۱۰۸/۸	۲۰۷/۹	۱/۷۱ ^{ab}	۳۶۶/۹
۵۰۰	۲۸۰۱	۶۵/۶۹	۱۰۷/۷	۲۰۵/۵	۱/۶۴ ^c	۳۹۶/۳
SEM	۳۴/۷۸	۰/۸۲۶	۱/۱۲	۳/۰۰	۰/۰۲۰	۹/۴۳
اثر				سطح معنی‌داری (p-value)		
تیمار	۰/۵۷۲	۰/۵۶۵	۰/۴۱۰	۰/۵۰۰	۰/۰۱۲	۰/۱۰۲
روند خطی	۰/۱۵۲	۰/۱۴۸	۰/۲۶۴	۰/۲۳۶	۰/۰۰۳	۰/۰۱۷
درجه دوم	۰/۳۶۹	۰/۳۶۳	۰/۳۶۲	۰/۳۴۷	۰/۰۱۱	۰/۰۵۹

ab: میانگین‌های دارای حروف نامشابه در هر ستون، دارای تفاوت معنی‌دار با یکدیگر هستند ($p < 0/05$). SEM: میانگین خطای استاندارد

وزن نسبی اندام‌های داخلی

نتایج مربوط به وزن نسبی اندام‌های گوارشی و ایمنی، قلب و چربی محوطه بطنی جوجه‌های گوشتی در سن ۴۲ روزگی در جدول ۳ نشان داده شده است. در جوجه‌هایی که سطوح افزایشی اسیدفایر را مصرف کردند، وزن پانکراس و بورس فابریسیوس به صورت خطی افزایش ($p < 0/05$) و وزن قلب کاهش ($p < 0/01$) یافت. همچنین وزن طحال روند افزایشی ($p = 0/079$) داشت. مصرف سطوح مختلف اسیدفایر اثری بر وزن چینه‌دان، پیش‌معده، سنگدان، کبد و چربی محوطه بطنی نداشت ($p > 0/05$). تیموس، بورس فابریسیوس و طحال از اندام‌های لنفوی مهم در طیور می‌باشند که تغییرات وزن این

اندام‌ها بر عملکرد ایمنی و مقاومت میزبان به بیماری‌ها موثر است (۲۱). سلول‌های بورس از اولویت بالایی برای مصرف گلوکز، ایزولوسین و لیزین برخوردار هستند، در حالی که سلول‌های تیموس اولویت بسیار کمی برای دریافت این مواد مغذی دارند. بنابراین، در مواجهه با محدودیت مواد مغذی، سلول‌های بورس توانایی خود را برای به دست آوردن گلوکز و لیزین تنظیم می‌کنند، در حالی که میزان مواد مغذی اختصاص یافته به تیموسیت‌ها کاهش می‌یابد بنابراین تیموس نسبت به محدودیت غذایی، کمبود انرژی و اسید آمینه حساس است و سبب کاهش سریع تعداد سلول‌ها و وزن آن می‌شود (۲۶). کاهش وزن نسبی قلب نتیجه نسبتاً جدیدی است که در

در تحقیقی گزارش شد که تغذیه جوجه‌های گوشتی با سطح ۰/۲ درصد ترکیب اسیدهای آلی پروپیونیک و فرمیک اثری بر وزن کبد و چربی محوطه بطنی نداشت (۶). در آزمایشی نشان داده شد که استفاده از ۰/۵ درصد اسید سیتریک و ۰/۵ درصد اسید استیک و ترکیب این دو در جیره جوجه‌های گوشتی اثری بر وزن اندام‌های داخلی در سن ۳۵ روزگی نداشت (۲۴). افزودن ۰/۲۵ درصد اسید استیک در آب آشامیدنی جوجه‌های گوشتی اثری بر وزن اندام‌های داخلی نداشت (۲۸). مطالعات نشان دادند که افزودن اسیدهای آلی اثری بر وزن نسبی لاشه و اجزای داخلی جوجه‌های گوشتی ندارد (۲،۷،۸،۳۴).

این تحقیق با استفاده از اسیدیفایر در آب مشاهده شد. افزایش وزن نسبی قلب از جمله تغییرات فیزیولوژیکی و متابولیکی است که هنگام ابتلا به سندرم آسیت در جوجه‌های گوشتی مشاهده می‌شود. اسیدی کردن آب با اسیدهای آلی با جلوگیری از آلودگی میکروبی آب سبب کاهش باکتری‌های بیماری‌زا در دستگاه گوارش می‌شود، بنابراین عملکرد رشد و سلامت عمومی پرنده را بهبود می‌دهد. لذا اسیدهای آلی علاوه بر کاهش پاتوژن‌های دستگاه گوارش، ممکن است نتایج امیدوار کننده در کاهش ابتلاء به آسیت در جوجه‌های گوشتی داشته باشند که این مسأله می‌تواند کاربرد آنها را در آینده بیشتر گسترش دهد (۴۹).

جدول ۳- اثر سطوح افزایشی اسیدیفایر ۴+ در آب آشامیدنی بر وزن اندام‌های داخلی جوجه‌های گوشتی (درصدی از وزن زنده)
Table 3. Effect of graded levels of Acidifier4+ in drinking water on internal organs weight of broilers (% of live body weight)

تیمارها	چینه‌دان	پیش‌معد	سنگدان	کبد	پانکراس	قلب	طحال	بورس فابرسیوس	چربی محوطه بطنی
(میلی‌لیتر/۱۰۰۰ لیتر)									
صفر	۰/۲۵	۰/۲۶	۱/۱۸	۱/۲۴	۰/۲۰	۰/۳۷	۰/۰۷	۰/۱۰	۱/۳۵
۲۰۰	۰/۲۴	۰/۲۶	۱/۲۳	۱/۹۰	۰/۲۲	۰/۳۶	۰/۰۸	۰/۱۱	۱/۲۵
۳۰۰	۰/۲۶	۰/۲۸	۱/۲۰	۱/۷۹	۰/۲۱	۰/۳۳	۰/۰۹	۰/۱۲	۱/۶۴
۵۰۰	۰/۲۴	۰/۲۷	۱/۲۴	۱/۸۸	۰/۲۴	۰/۳۱	۰/۰۹	۰/۱۲	۱/۳۴
SEM	۰/۰۰۷	۰/۰۰۷	۰/۰۲۲	۰/۰۳۵	۰/۰۰۵	۰/۰۰۸	۰/۰۰۳	۰/۰۰۳	۰/۴۲۹
اثر									
تیمار	۰/۵۲۳	۰/۶۸۲	۰/۷۹۸	۰/۳۳۳	۰/۰۸۸	۰/۰۵۲	۰/۳۰۰	۰/۱۵۳	۰/۳۱۳
روند خطی	۰/۵۷۳	۰/۵۰۲	۰/۴۵۲	۰/۲۷۱	۰/۰۲۶	۰/۰۰۶	۰/۰۷۹	۰/۰۳۰	۰/۷۷۷
درجه دوم	۰/۶۵۲	۰/۷۳۵	۰/۷۵۴	۰/۴۸۲	۰/۰۸۸	۰/۰۲۲	۰/۲۰۴	۰/۰۷۳	۰/۷۹۹

ab: میانگین‌های دارای حروف نامشابه در هر ستون، دارای تفاوت معنی‌دار با یکدیگر هستند ($p < 0.05$).

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها

میکروبی خاص، بر قابلیت هضم و جذب بسیاری از مواد مغذی موثر است. بسیاری از عوامل بیماری‌زا در pH نزدیک ۷ رشد می‌کنند. در مقابل میکروارگانیزم‌های مفید در pH اسیدی (۶/۲-۵/۸) زندگی می‌کنند (۴). در تحقیقی گزارش شد که افزودن ترکیبی از اسید آلی پروپیونیک و فرمیک در سطوح ۰، ۰/۵، و ۱/۵ درصد در جیره سبب کاهش pH دئودنوم شد (۱۵). گزارش شده است که افزودن ترکیبی از اسید آلی پروپیونیک و فرمیک در سطح ۰/۲ درصد سبب کاهش pH بخش‌های مختلف روده کوچک می‌گردد (۲۴، ۱۶). در مطالعه‌ای آمده است که با افزودن سطوح مختلف اسید سیتریک (۱/۵ و ۳ درصد) به جیره جوجه‌های گوشتی، سبب کاهش pH در بخش‌های مختلف روده می‌شود (۳).

pH دستگاه گوارش

اثر سطوح افزایشی اسیدیفایر بر pH قسمتهای مختلف دستگاه گوارش در جدول ۴ نشان داده شده است. افزودن سطوح افزایشی اسیدیفایر در آب آشامیدنی جوجه‌های گوشتی سبب کاهش خطی pH پیش‌معد شد ($p < 0.01$). pH دئودنوم جوجه‌های گوشتی با مصرف سطح ۳۰۰ میلی‌لیتر اسیدیفایر نسبت به گروه شاهد کمتر بود ($p < 0.05$). pH ژژنوم جوجه‌های تغذیه شده با سطوح مختلف اسیدیفایر به صورت خطی کاهش یافت ($p < 0.01$). pH چینه‌دان، سنگدان، ایلئوم و سکوم تحت تاثیر سطوح مختلف اسیدیفایر قرار نگرفت ($p > 0.05$). سطح pH در مناطق خاصی از دستگاه گوارش به عنوان یک عامل در ایجاد جمعیت

جدول ۴- اثر سطوح افزایشی اسیدیفایر ۴+ در آب آشامیدنی بر pH دستگاه گوارش جوجه‌های گوشتی در سن ۴۲ روزگی
Table 4. Effect of graded levels of Acidifier4+ on pH of gastrointestinal tract of broilers at 42 days of age

تیمارها	چینه‌دان	پیش‌معد	سنگدان	دئودنوم	ژژنوم	ایلئوم	سکوم
(میلی‌لیتر/۱۰۰۰ لیتر)							
صفر	۴/۷۴	۳/۸۴ ^a	۳/۱۸	۵/۸۵ ^a	۵/۸۴ ^a	۶/۱۱	۶/۴۳
۲۰۰	۴/۶۹	۲/۸۹ ^b	۳/۴۶	۵/۷۸ ^{ab}	۵/۶۶ ^{ab}	۵/۷۹	۶/۶۳
۳۰۰	۴/۷۱	۲/۸۰ ^c	۳/۱۹	۵/۵۹ ^b	۵/۵۹ ^b	۶/۱۵	۶/۱۳
۵۰۰	۴/۶۸	۲/۵۳ ^d	۳/۲۱	۵/۸۰ ^{ab}	۵/۵۹ ^b	۵/۹۵	۶/۳۹
SEM	۰/۱۰۰	۰/۱۱۲	۰/۰۶۹	۰/۰۳۵	۰/۰۳۶	۰/۱۰۴	۰/۰۷۰
اثر							
تیمار	۰/۹۹۸	۰/۰۰۱	۰/۴۱۳	۰/۰۳۳	۰/۰۳۱	۰/۶۱۰	۰/۰۸۲
روند خطی	۰/۸۸۰	۰/۰۰۱	۰/۹۳۱	۰/۳۹۲	۰/۰۰۷	۰/۷۶۹	۰/۵۰۳
درجه دوم	۰/۹۸۷	۰/۰۰۱	۰/۶۴۴	۰/۰۷۷	۰/۰۱۱	۰/۹۱۹	۰/۷۸۴

ab: در هر ستون، میانگین‌های دارای حروف نامشابه دارای تفاوت معنی‌دار با یکدیگر هستند ($p > 0.05$); SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها

جمعیت میکروبی محتویات ایلئوم

بر اساس نتایج مندرج در جدول ۵، مصرف سطوح مختلف اسیدیفایر اثری بر شمار باکتری‌های کلی‌فرم و اشرشیاکلی و لاکتوباسیلوس نداشت ($p > 0.05$). با توجه به اینکه در طیور چینه‌دان قبل از پیش‌معه و سنگدان قرار دارد، خوراک مصرفی قبل از رسیدن به سایر قسمت‌ها، مدتی (به‌طور متوسط ۵۰ دقیقه) در چینه‌دان می‌ماند. نقش اصلی چینه‌دان ذخیره مواد غذایی می‌باشد. عقیده بر این است که اثرات ضد باکتریایی اسیدهای آلی به‌میزان زیادی در چینه‌دان و سنگدان صورت می‌گیرد (۲۸). pH چینه‌دان در حدود ۵/۵ می‌باشد (۱۰). بنابراین به‌علت بالاتر بودن pH چینه‌دان نسبت به pKa اکثر اسیدهای آلی، پس از ورود اسید به چینه‌دان، مقدار زیادی از اسید به پروتون و آنیون مربوطه تفکیک می‌شود. فرم یونیزه شده توانایی عبور از غشای سلولی را نداشته اثرات باکتری‌کشی را نمی‌تواند اعمال کند. بنابراین غذای وارد شده به قسمت‌های بعدی دستگاه گوارش دارای مقادیر زیادی از میکروب‌ها می‌باشد که این میکروب‌ها می‌توانند در دستگاه گوارش طیور مستقر و باعث کاهش عملکرد شوند (۱). عدم تاثیر اسیدهای آلی بر جمعیت میکروبی جوجه‌های گوشتی در

این آزمایش را می‌توان به این موضوع نسبت داد. در مطالعه‌ای با استفاده از سطوح ۰، ۱/۱، ۰/۲، ۰/۳، ۰/۴ درصد اسید استیک در آب آشامیدنی گزارش شد که تعداد کل میکروب‌های هوازی و کلی‌فرم‌ها در محتویات ایلئوم جوجه‌ها (۱۴ و ۲۸ روزگی) تفاوتی نداشت (۱). در تحقیق دیگری که اثرات افزودن اسید استیک را در سطوح (۱ و ۲ درصد) در آب آشامیدنی جوجه‌های دو سویه راس و کاب بررسی کردند گزارش شد که استفاده از این سطوح باعث کاهش جمعیت انتروکوکوس و اشرشیاکلی و افزایش جمعیت لاکتوباسیلوس در هر دو سویه در سن ۴۲ روزگی شد (۳۲). در مطالعه‌ای اثرات ترکیب اسید آلی در سطوح ۱، ۱/۵ و ۲ میلی‌لیتر، نشان دادند که سطح ۲ میلی‌لیتر در لیتر آب آشامیدنی از این اسید آلی به طور معنی‌داری سبب کاهش جمعیت سالمونلا و اشرشیاکلی روده در دوره استارتر شد (۲۷). در تحقیقی گزارش شد که استفاده از سطح ۰/۲ درصد اسید آلی پروپیونیک و فرمیک در جیره جوجه‌های گوشتی سبب کاهش تعداد باکتری‌های گرم منفی ناحیه ایلئوم و سکوم در ۴۲ روزگی شد (۱۷).

جدول ۵- اثر افزودن سطوح افزایشی اسیدیفایر ۴+ در آب آشامیدنی بر میکروفلور ایلئوم (\log_{10} CFU/g) جوجه‌های گوشتی در سن ۴۲ روزگی

تیمارها (میلی‌لیتر/۱۰۰۰ لیتر)	لاکتوباسیلوس	کلی‌فرم	اشرشیاکلی
صفر	۲/۲۱	۲/۶۲	۲/۴۹
۲۰۰	۲/۲۴	۲/۵۱	۲/۳۵
۳۰۰	۲/۲۷	۲/۶۱	۲/۵۶
۵۰۰	۲/۳۲	۲/۵۳	۲/۵۶
SEM	۰/۰۲۷	۰/۰۵۲	۰/۰۶۵
اثر		سطح معنی‌داری (p-value)	
تیمار	۰/۵۲۷	۰/۸۷۸	۰/۶۴۸
روند خطی	۰/۱۳۷	۰/۶۷۰	۰/۶۰۰
درجه دوم	۰/۳۱۳	۰/۹۰۱	۰/۶۲۶

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها

ریخت‌شناسی روده کوچک

نتایج مربوط به اثرات افزودن سطوح افزایشی اسیدیفایر در آب آشامیدنی بر ریخت‌شناسی ایلئوم جوجه‌های گوشتی در سن ۴۲ روزگی در جدول ۶ نشان داده شده است. در جوجه‌هایی که سطح ۳۰۰ میلی‌لیتر اسیدیفایر در آب آشامیدنی دریافت کردند، ضخامت لایه لامینا پروپریا در جوجه‌هایی که سطح ۳۰۰ میلی‌لیتر اسیدیفایر دریافت کردند نسبت به تیمار سطح ۲۰۰ میلی‌لیتر بیشتر بود (۴۵) در برابر ۳۳ میکرومتر؛ ($p < 0.05$). مصرف سطوح مختلف اسیدیفایر اثری بر ارتفاع، عرض و مساحت ظاهری پرز، عمق کریپت، نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت و سطح لایه تونیکا ماسکولاریس نداشت ($p > 0.05$). افزایش مساحت پرز، بخصوص در ناحیه ژژنوم سبب افزایش سطح جذب مواد مغذی می‌شود (۳۱) در این آزمایش مساحت ظاهری با افزودن سطح ۳۰۰ میلی‌لیتر اسیدیفایر نسبت به سایرین بیشتر بود. در تحقیقی گزارش شد

که افزودن سطح ۵ و ۱۰ گرم اسید فرمیک در کیلوگرم جیره جوجه‌های گوشتی سبب افزایش طول پرزهای روده می‌شود (۱۱). اسیدهای کوتاه زنجیر سبب تحریک روند تجزیه و بازسازی پرزها و کریپت‌ها در روده می‌شوند. تحقیق دیگری نشان داد که در جوجه‌های گوشتی که از ۸ تا ۲۸ روزگی با جیره‌های حاوی اسیدهای آلی تغذیه شده بودند، ارتفاع پرزها در ناحیه‌ی ژژنوم افزایش یافت در حالی که اسیدهای آلی بر سطح پرزها و عمق کریپت‌ها در ژژنوم و ایلئوم و نیز ارتفاع پرزها در ایلئوم اثر معنی‌داری نداشت (۲۵). در مطالعه‌ای دیگر نشان داده شد که افزودن ترکیبی از اسیدهای آلی اثری بر ارتفاع پرز و عمق کریپت در ناحیه ژژنوم و ایلئوم جوجه‌های گوشتی در سن ۲۱ روزگی نداشت (۲۹). در گزارشی نشان داده شد که افزودن ۵۰۰ گرم اسید بوتیریک به جیره جوجه‌های گوشتی سبب افزایش عمق کریپ و ارتفاع پرز و کاهش ضخامت اپیتلیوم روده شد (۱۹). همچنین محققان

اثرات سطوح افزایشی اسیدیفایر در آب آشامیدنی بر عملکرد رشد، جمعیت میکروبی و ریخت‌شناسی روده کوچک جوجه‌های گوشتی ۴۶

گزارش کردند که افزودن اسید آلی در سطح ۱/۵ گرم به جیره جوجه‌های گوشتی اثری بر طول پرز و عمق کریپت ندارد (۲۰). در تحقیقی گزارش شد که افزودن اسید فرمیک و اسید پروپیونیک در سطح ۳ گرم در کیلوگرم جیره جوجه‌های

جدول ۶ - اثر افزودن سطوح افزایشی اسیدیفایر ۴+ در آب آشامیدنی بر ریخت‌شناسی ایلئوم جوجه‌های گوشتی در سن ۴۲ روزگی
Table 6. Effect of graded levels of Acidifier4+ on ileal morphology of broilers at 42 days of age

تیمارها	ارتفاع پرز ۱	عرض پرز ۱	مساحت ظاهری پرز ۲	عمق کریپت ۱	ارتفاع پرز به عمق کریپت	ضخامت لامینا پروپریا	سطح تونیکا ماسکولاریس ۱
(میلی‌لیتر/۱۰۰۰ لیتر)	۸۴۲	۱۲۸	۳۶۶۲۱	۱۸۷	۴/۶۹	۳۵ ^{ab}	۳۸۵
صفر	۹۰۲	۱۷۰	۴۶۹۵۱	۱۹۱	۴/۷۴	۳۳ ^b	۳۲۴
۲۰۰	۸۵۶	۱۸۸	۵۰۱۰۳	۱۸۰	۵/۶۸	۴۵ ^a	۳۹۴
۳۰۰	۹۳۶	۱۶۰	۴۷۲۰۸	۲۰۰	۴/۷۵	۴۳ ^{ab}	۳۳۸
۵۰۰	۳۰۱	۹/۱	۲۴۳۴	۸/۳	-۰/۲۲	۱/۸	۱۷/۶
SEM							
اثر	(p-value) سطح معنی‌داری هستند						
تیمار	۰/۷۱۶	۰/۳۰۱	۰/۲۲۶	۰/۸۹۳	۰/۳۵۶	۰/۰۳۲	۰/۴۵۰
روند خطی	۰/۳۴۵	۰/۳۴۹	۰/۱۱۲	۰/۶۷۲	۰/۷۱۳	۰/۰۵۵	۰/۵۴۰
درجه دوم	۰/۶۴۴	۰/۱۷۳	۰/۱۰۵	۰/۸۳۰	۰/۵۴۲	۰/۱۶۹	۰/۸۲۳

ab: میانگین‌های دارای حروف نامشابه در هر ستون، دارای تفاوت معنی‌دار با یکدیگر هستند (p<۰/۰۵).
۱: میکرومتر، ۲: میلی‌متر مربع، SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها

پاسخ‌های ایمنی

نتایج مربوط به اثر افزودن سطوح مختلف اسیدیفایر در آب آشامیدنی جوجه‌های گوشتی بر عیار آنتی‌بادی علیه SRBC (پاسخ ایمنی هومورال) در سن ۳۵ روزگی و عیار آنتی‌بادی نیوکاسل (پاسخ ایمنی سلولی) در سن ۴۲ روزگی در جدول ۷ آمده است. عیار آنتی‌بادی برای SRBC در ۲۸ روزگی بسیار پایین بود و داده‌ها قابل گزارش نبودند. بر اساس نتایج مندرج در جدول افزودن سطوح مختلف اسیدیفایر به آب آشامیدنی جوجه‌های گوشتی اثری بر عیار آنتی‌بادی SRBC نداشت. هر چند عیار آنتی‌بادی نیوکاسل با افزایش سطح اسیدیفایر بیشتر شد اما این افزایش معنی‌دار نبود (p>۰/۰۵). سیستم دفاعی بدن طیور به دو صورت به عوامل بیگانه پاسخ می‌دهد. این پاسخ‌ها به دو دسته پاسخ ایمنی سلولی و هومورال تقسیم می‌شوند. تغذیه مناسب و سلامت دستگاه گوارش موجب فعالیت بهینه سیستم ایمنی می‌شود (۲۲). مصرف اسیدهای آلی و فراهم کردن شرایط مطلوب هضم و جذب از جمله

کاهش pH می‌تواند باعث ایجاد ایمنی موثر شود. اسیدهای آلی با کاهش رشد قارچ‌ها و جلوگیری از تولید مایکوتوکسین‌ها منجر به بهبود شرایط سیستم ایمنی می‌شوند (۲۲). در تحقیقی گزارش شد که افزودن ۰/۸ درصد اسید فرمیک به صورت مخلوط در جیره جوجه‌های گوشتی اثر معنی‌داری بر ایمنی هومورال در روزهای ۲۱، ۲۸، ۳۵ و ۴۲ دوره پرورش نداشت (۳۰). در مطالعه‌ای گزارش شد که مکمل سازی جیره جوجه‌های گوشتی با اسید آلی پاسخ ایمنی علیه نیوکاسل را افزایش می‌دهد (۴۰). استفاده از اسیدهای آلی در جیره سبب بهبود سیستم ایمنی می‌شود که بستگی به مقدار آن در جیره دارد (۳). برخی از محققین گزارش کردند که دلیل افزایش در سطح آنتی‌بادی در جیره‌های حاوی پروبیوتیک، پری‌بیوتیک، گیاهان دارویی و اسید آلی در مقایسه با جیره شاهد، هیپرتروفی و هایپرپلازی اندام‌های لنفوی در گروه‌های حاوی جایگزین‌های آنتی‌بیوتیک محرک رشد بوده است (۴۰).

جدول ۷ - اثر افزودن سطوح افزایشی اسیدیفایر ۴+ در آب آشامیدنی بر پاسخ‌های ایمنی جوجه‌های گوشتی
Table 7. Effect of graded levels of Acidifier4+ on immune responses of broilers

تیمارها	SRBC (۳۵ روزگی)		
	ایمنوگلوبولین M	ایمنوگلوبولین G	ایمنی کل
(میلی‌لیتر/۱۰۰۰ لیتر)			
صفر	۲/۱۳	۸/۱۳	۱۰/۲۵
۲۰۰	۱/۳۸	۷/۷۵	۹/۱۳
۳۰۰	۱/۱۳	۷/۲۵	۸/۳۸
۵۰۰	۱/۷۵	۷/۶۳	۹/۳۸
SEM	۰/۱۸۴	۰/۴۷۴	۰/۵۰۰
اثر	(p-value) سطح معنی‌داری هستند		
تیمار	۰/۲۴۳	۰/۹۴۰	۰/۶۳۸
روند خطی	۰/۴۳۳	۰/۶۶۸	۰/۴۸۷
درجه دوم	۰/۱۲۷	۰/۸۴۹	۰/۴۵۷

gM: ایمنوگلوبولین ام، gG: ایمنوگلوبولین جی، Total: ایمنی کل
SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها

نتیجه‌گیری کلی

جوجه‌های گوشتی که بالاترین مقدار اسیدیفایر را در این تحقیق در آب آشامیدنی دریافت نمودند به طور قابل توجهی ضریب تبدیل خوراک بهتری نسبت به گروه شاهد داشتند و شاخص تولید اروپایی در آنها بهتر بود. این موضوع می‌تواند با افزایش وزن اندام‌های گوارشی مانند پانکراس که وظیفه تولید آنزیم‌های گوارشی را دارد مرتبط باشد. همچنین افزودن اسیدیفایر در آب سبب کاهش خطی pH در نواحی ابتدایی دستگاه گوارش (پیش معده، دوازدهه و ژژنوم) شد. از آنجایی که اسیدی شدن روده در نواحی انتهایی روده نظیر ایلئوم و روده کور رخ نداد، تغییری در میکروفلور ایلئوم مشاهده نشد. بنابراین، با توجه به نتایج تحقیق حاضر می‌توان نتیجه‌گیری

نمود که اسیدیفایر استفاده شده عمدتاً از طریق بهبود شرایط نواحی ابتدایی دستگاه گوارش، اثرات مفید خود را بر عملکرد جوجه‌های گوشتی اعمال نموده است و برای اینکه اسیدیفایر آلی بتوانند به نواحی انتهایی دستگاه گوارش برسند نیاز به محافظت شدن دارند.

تشکر و قدردانی

این پژوهش با حمایت مالی شرکت توسعه بن دا فرآور و طی قرارداد پژوهشی شماره ۹۸/۰۱۲۴/۰۰۰۱۵ منعقد شده با معاونت پژوهش و فناوری دانشگاه گیلان انجام شد. مجری طرح از معاون محترم پژوهشی دانشگاه گیلان جناب آقای دکتر سیدضیاءالدین میرحسینی و همچنین مدیریت شرکت توسعه بن دا فرآور کمال تشکر و قدردانی را دارد.

منابع

1. Akbari, M.R., H. Kermanshahi and G.A. Kalidari. 2004. Effect of acetic acid administration in drinking water on performance and growth characteristics and ileal microflora of broiler chickens. *Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resources*, 8(3): 138-146 (In Persian).
2. Antongiovanni, M., A. Buccioni, F. Petacchi, S. Leeson, S. Minieri, A. Martini and R. Cecchi. 2007. Butyric acid glycerides in the diet of broiler chickens: effects on gut histology and carcass composition. *Italian Journal of Animal Science*, 6: 19-25.
3. Abdel-Fattah, S.A., M.H. El-Sanhoury, N.M. El-Mednay and F. Abdul-Azeem. 2008. Thyroid activity, some blood constituents, organs morphology and performance of broiler chicks fed supplemental organic acids. *International Journal of Poultry Science*, 7: 215-222.
4. Boling-Frankenbach, S.D., J.L. Snow, C.M. Parsons and D.H. Baker. 2001. The effect of citric acid on the calcium and phosphorus requirements of chicks fed corn-soybean meal diets. *Poultry Science*, 80: 783-788.
5. Chaveerach P., D.A. Keuzenkamp., L.J.A. Lipman and F. Van Knapen. 2004. Effect of organic acids in drinking water for young broilers on *Campylobacter* infection, volatile fatty acid production, gut microflora and histological cell changes. *Poultry Science*, 83(3): 330-334.
6. Denli, M., F. Okan and K. Celik. 2003. Effect of dietary probiotic, organic acid and antibiotic supplementation to diets on broiler performance and carcass yield. *Pakistan Journal of Nutrition*, 2(2): 89-91.
7. Daskiran, M., R.G. Teeter, S.L. Vanhooser, M.L. Gibson and E. Roura. 2004. Effect of dietary acidification on mortality rates, general performance, carcass characteristics, and serum chemistry of broilers exposed to cycling high ambient temperature stress. *Journal of Applied Poultry Research*, 13: 605-613.
8. Derebas, E. and E. Demir. 2004. Effects of dietary probiotic, organic acid and antibiotic supplementation of probiotic, prebiotic and organic acids in triticale and soybean meal based broiler diets. XXII world's poultry Congress, July 6-7. Istanbul. Turkey.
9. Dibner, J.J. and P. Buttin. 2002. Use of organic acids as a model to study the impact of gut microflora on nutrition and metabolism. *Journal of Applied Poultry Research*, 11: 453-463.
10. Gauthier, R. 2002. Intestinal health, the key to productivity: The case of organic acids. Precongreso científico Avícola IASA. XXVII Convencion ANECA WPDC, Puerto Vallarta Mexico.
11. Garcia, V., P. Catala-Grogori, F. Hernandez, M.D. Megias and J. Madrid. 2007. Effect of formic acid and plant extracts on growth, nutrient digestibility, intestine mucosa morphology, and meat yield of broilers. *Journal of Applied Poultry Research*, 16: 555-562.
12. Goodarzi-Borojeni, F., A. Mader, F. Knorr, I. Ruhnke, I. Rohe. A. Hafeez, K. Manner and J. Zentek. 2014. The effects of different thermal treatments and organic acid levels on nutrient digestibility in broilers. *Poultry Science*, 93: 1159-1171.
13. Gornowicz, E. and K. Dziadek. 2002. The effect of acidifying preparations added to compound feeds on management conditions of broiler chickens. *Annals of Animal Science*, 1(1): 93-96.
14. Ghazalah, A.A., A.M. Atta, K. Elkoub, M.E.L. Moustafa and F.H. Shata. 2011. Effect of dietary supplementation of organic acids on performance, nutrients digestibility and health of broiler chicks. *International Journal of Poultry Science*, 10(3): 176-184.
15. Ghahri, H., M. Shivazad, P. Farhmand, J. Egbal and M. Najafzadeh. 2008. An investigation on the use of dietary organic acids on broiler performance. *Pajouhesh and Sazandegi*, 77: 26-33 (In Persian).

- اثرات سطوح افزایشی اسیدیفایر در آب آشامیدنی بر عملکرد رشد، جمعیت میکروبی و ریخت‌شناسی روده کوچک جوجه‌های گوشتی ۴۸
16. Gholamrezaie Sani, L., M. Mohammadi, J. Jalali Sendi, S.A. Abolghasemi and M. Roostaie Ali Mehr. 2012. Extract and leaf powder effect of artemisia annua on performance, cellular and humoral immunity in broilers. Iranian Journal of Veterinary Research, Shiraz University, 14(1): 15-20.
 17. Gunal, M., G. Yayli, O. Kaya, N. Karahan and O. Sulak. 2006. The effect of antibiotic growth promoter, probiotic or organic acid supplementation on performance, intestinal microflora and tissue of broiler. International Journal of Poultry Science, 5(2): 149-155.
 18. Grasman, K.A. 2010. In vivo functional test for assessing immunotoxicity in bird (Ed.), Immunotoxicity testing: Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology, 387-397.
 19. Haghighi- Khoshkho, P., G. Akbari Azad, F. Moayer and I. Pajouhandeh. 2010. Effect of dietary Butyrate on performance and small intestinal morphology of broilers. Journal of Veterinary Clinical Research, 1(4): 235- 242 (In Persian).
 20. Houshmand, M., K. Azhar, I. Zulkifli, M.H. Bejo and A. Kamyab. 2012. Effects of nonantibiotic feed additives on performance, immunity and intestinal morphology of broilers fed different levels of protein. South African Journal of Animal Science, 42: 22-32.
 21. Hume, M.E., D.E. Corrier, G.W. Ivie and J.R. Deloach. 1993. Metabolism of [14C] propionic acid in broiler chicks. Poultry Science, 72: 786-793.
 22. Huang, R.L., Z.Y. Deng, C. Yang, Y.L. Yin, M.Y. Xie, G.Y. Wu, T.J. Li, L.L. Li, Z.R. Tang, P. Kang, ZHP. Hou, D. Deng, H. Xiang, X.F. Kong and Y.M. Guo. 2007. Dietary oligochitosan supplementation enhances immune status of broilers. Journal of the Science of Food and Agriculture, 87: 153-159.
 23. Hamid, H., H.Q. Shi, G.Y. Ma, Y. Fan, W.X. Li, L.H. Zhao, J.Y. Zhang, C. Ji and Q.G. Ma. 2018. Influence of acidified drinking water on growth performance and gastrointestinal function of broilers. Poultry Science, 97(10): 3601-3609.
 24. Islam, M.Z., Z.H. Khandaker, S.D. Chowdhury and K.M.S. Islam. 2008. Effect of citric acid and acetic acid on the performance of broilers. Journal of the. Bangladesh Agricultural University, 6: 315-320.
 25. Iji, P.A., A. Saki and D.R. Tivey. 2001. Body and intestinal growth of broiler chicks on a commercial starter diet. 1. Intestinal weight and mucosal development. British Poultry Science, 42: 505-513.
 26. Klasing, K.C. 2007. Nutrition and the immune system. British Poultry Science, 48(5): 525-537.
 27. Khan, S., A. Sultan, A. Muhammad, N. Imtiaz, M. Mobashar, H. Khan, M. Saleem and M. Inam. 2013. Lower ileal microflora and growth performance of broilers supplemented with organic acid blend (Aciflex[®]) during starter phase. Greener Journal of Agricultural Sciences, 3: 794-800.
 28. Kopecky, J., C. Hrnčár and J. Weis. 2012. Effect of organic acids supplement on performance of broiler chickens. Animal Sciences and Biotechnologies, 45: 51-54.
 29. Maiorka, A., A.M.E. Santin, S.A. Borges, M. Opalinski and A.V.F. Silva. 2004. Evaluation of mix of fumaric, lactic, citric and ascorbic acids on starter diets of broilers. Archives of Veterinary Science, 9: 31-37.
 30. Mirbabaie langarooi, N., M. Mohammadi and M. Roostaei-Alimehr. 2013. Effect of probiotic and formic acid on immune system of broilers. Iranian Journal of Animal Science, 43(4): 449-456 (In Persian).
 31. Miles, R.D., G.D. Butcher., P.R. Henry and R.C. Littell. 2006. Effect of antibiotic growth promoters on broiler performance, intestinal growth parameters, and quantitative morphology. Poultry Science, 85: 476-485.
 32. Mustafa, M.A.GH., M. Sulaiman and L. Salahaddin. 2014. Effect of acetic acid added to drinking water of two broiler strains on performance and small intestine histological. Diyala Agricultural Sciences Journal, 6: 1-8.
 33. Moharrery, A. and M. Mahzonieh. 2005. Effect of malic acid on visceral characteristics and Coliform counts in small intestine in the broiler and layer chickens. International Journal of Poultry Science, 4(10): 761-764.
 34. Mohammadbagheri, N. and R. Najafi. 2014. The effect of citric acid and phytase on performance, blood lipid profile, immune system and some carcass characteristics of broiler chickens. Iranian Journal of Animal Science Research, 6(2): 131-139 (In Persian).
 35. Mollaei Kandelosi, M.R. and F. Mirzaeei Aghjeh Gheshlagh. 2013. Effects of probiotic *Saccharomyces cerevisia* and organic acids on performance and small intestinal morphology in broiler chickens. Research on Animal Production, 3(6): 25-34 (In Persian).
 36. Nguyen, D.H., K.Y. Lee, M. Mohammadigheisar and I. H. Kim. 2018. Evaluation of the blend of organic acids and medium-chain fatty acids in matrix coating as antibiotic growth promoter alternative on growth performance, nutrient digestibility, blood profiles, excreta microflora, and carcass quality in broilers. Poultry Science, 97(12): 4351-4358.
 37. Nourmohammadi, R., S.M. Hosseini and H. Farhangfar. 2010. Effect of dietary acidification on some blood parameters and weekly performance of broiler chickens. Journal of Animal and Veterinary Advances, 9(24): 3092-3097.

38. Pirgozliv, V., T.C. Murphy, B. Owens, J. George and M.E.E. McCann. 2008. Fumaric and sorbic acid as additives in broiler feed. *Research in Veterinary Science*, 84(3): 387-394.
39. Qodrati Kateshmshiry, J., Z. Saadatfar and H. Zarghi. 2016. Effect of organic acid and probiotic on small intestinal histomorphometry in broiler chickens. *Animal Science and Veterinary Medicine*, 1-14. (In Persian).
40. Ramarao, S.V., M.R. Reddy, M.V.L.N. Raju and A.K. Panda. 2004. Growth, nutrient utilization and immunocompetence in broiler chicken fed probiotic, gut acidifier and antibacterial compounds. *Indian Journal of Poultry Science*, 39: 125-130.
41. Rodjan, P., K. Soisuwan, K. Thongprajukaew, Y. Theapparatt, S. Khongthong, J. Jeenkeawpieam and T. Salaeharae. 2017. Effect of organic acids or probiotics alone or in combination on growth performance, nutrient digestibility, enzyme activities, intestinal morphology and gut microflora in broiler chickens. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 102(2): 931-940.
42. Roth, N., Gh. Hofacre, U. Zitz, G.F. Mathis, K. Moder, B. Doupovec, R. Berghouse and K.J. Domig. 2019. Prevalence of antibiotic-resistant *E. coli* in broilers challenged with a multi-resistant *E. coli* strain and received ampicillin, an organic acid-based feed additive or a synbiotic preparation. *Poultry Science*, 98(6): 2598-2607.
43. Roostaei-Ali Mehr, M., H. Moayedi Ahmadsaraei and M. Haghghighian-Roudsari. 2014. Effect of increasing energy of diet and adding acetic acid on the performance and intestinal microflora of broilers. *Iranian Veterinary Journal*, 9(4): 44-54 (In Persian).
44. Samanta, S., S. Haldar and T. Kumar Ghosh. 2010. Comparative efficacy of an organic acid blend and bacitracin methylene disalicylate as growth promoters in broiler chickens: Effects on performance, gut histology, and small intestinal milieu. *Veterinary Medicine International*, 2010: 1-8.
45. Senkoylu, N., H.E. Samli, H. Akyurek and A. Aagma. 2007. Impact of organic acids and nutrient density of basal diet on broiler growth and gut histomorphology. 15TH European Symposium on Poultry Nutrition. Hungary, 55: 414-417.
46. SAS. 2013. *Base SAS 9.4 procedures guide: statistical procedures*. Cary, NC, USA: SAS Institute Inc.
47. Shariatmadari, F. and M. Mohiti-Asli. 2008. *Additives in Animal Feeds*. Tarbiat Modares University Press, 413p (In Persian).
48. Shalaei, M., S.M. Hosseini and N. Afzali. 2016. Evaluation of production performance and gut morphology of broiler chickens fed with antibiotic, organic acid, probiotic and prebiotic in tropical conditions. *Research on Animal Production*, 7 (14):75-67 (In Persian).
49. Urbaityte, R. 2009. The use of acidifiers to alleviate ascites in poultry. *Animal Science Abroad (Pigs and Poultry)*, 4: 7.

Effects of Graded Levels of an Acidifier in Drinking Water on Performance, Intestinal Microflora and Morphology of Broiler Chickens

Maziar Mohiti-Asli¹ and Motahar Rahnama-Ghaleroudkhani²

1- Associate Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture Science, University of Guilan, Rasht, Iran, (Corresponding author: mmohiti@guilan.ac.ir)

2- Graduate M.Sc. Student, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture Science, University of Guilan, Rasht, Iran

Received: 6 November, 2020 Accepted: 12 Jun, 2021

Extended Abstract

Introduction and Objective: Organic acids are one of the alternatives to antibiotics growth promotor which have beneficial effects on animal performance and gastrointestinal microbial population. In general, addition of organic acids into the feed lowers pH of the feed and gastrointestinal tract, stimulates growth, helps beneficial bacteria to overcome pathogenic bacteria, and reduces toxic metabolites produced by harmful bacteria.

Material and Methods: A total of 240 day-old Ross 308 male broiler chicks were divided into 4 treatments, 4 replicates, and 15 broiler chickens per replicate in a completely randomized design. Experimental treatments were included 0, 200, 300 and 500 mL of acidifier in 1000 L drinking water.

Results: Feed conversion ratio in broilers that received two levels of 200 and 500 mL of acidifier per 1000 liters in drinking water decreased compared to the control treatment ($p < 0.01$). European efficiency index was higher in the whole acidifier levels than the control and a linear increasing trend was observed ($p < 0.05$). Broilers received 500 mL of acidifier in water had the lowest FCR (1.64 vs. 1.80; $p < 0.01$) and the highest EEF (394 vs. 332; $p < 0.01$) compared with the control. The weight of bursa of Fabricius, spleen and pancreas in broilers received graded levels of acidifier was higher than the control ($p < 0.05$). The pH of the proventriculus, duodenum and jejunum of broilers that received 500 mL of acidifier decreased compared to the control ($p < 0.05$). Administration of graded levels of acidifier in drinking water had no effect on *Lactobacillus*, coliforms and *Escherichia coli* count in ileum ($p > 0.05$). The thickness of the lamina propria layer increased in broilers received 300 mL of acidifier ($p < 0.05$). Administration of acidifier in drinking water had no effect on antibody titer against SRBC and Newcastle.

Conclusions: The results indicate that adding 500 mL of acidifier in 1000 L drinking water improves growth performance by increasing the weight of digestive organs such as pancreas and acidifying the initial areas of the digestive tract.

Keywords: Acidifier, Broiler, Growth performance, Immune response, Intestinal morphology, Intestinal microbiota