

مطالعه اثرات سطوح مختلف جو بدون پوشینه بر فلور میکروبی روده‌های کور جوجه‌های گوشتی

سید داود شریفی^{۱*}، عباس برین^۲، اکبر یعقوبفر^۳، فرید شریعتمداری^۴

(۱) گروه علوم دام و طیور، پردیس ابوریحان، دانشگاه تهران، تهران-ایران.

(۲) گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران-ایران.

(۳) مؤسسه تحقیقات علوم دامی کشور، تهران-ایران.

(۴) گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران-ایران.

(دریافت مقاله: ۱۹ دی ماه ۱۳۸۶، پذیرش نهایی: ۱۰ خرداد ماه ۱۳۸۷)

چکیده

جو بدون پوشینه حاوی مقادیر بیشتری از پلی ساکاریدهای غیرنشاسته‌ای محلول در مقایسه با جو معمولی است. سطوح بالای پلی ساکاریدهای غیرنشاسته‌ای محلول در جیره طیور، اثرات ضد تغذیه‌ای دارد و فلور میکروبی مجرای گوارش نقش زیادی در بروز خصوصیات ضد تغذیه‌ای این ترکیبات ایفاء می‌نماید. لذا این تحقیق به منظور بررسی تغییرات جمعیت‌گونه‌های باکتریایی موجود در روده‌های کور جوجه‌های گوشتی در اثر تغذیه جیره‌های حاوی سطوح مختلف جو بدون پوشینه انجام گرفت. تعداد ۲۴۰ قطعه جوجه گوشتی نریک روزه از سوبه آریورایگز به طور تصادفی در چهار گروه ۶۰ قطعه‌ای و با سه تکرار (۲۰ قطعه جوجه در هر تکرار) داخل پن‌های آزمایشی توزیع گردیدند. تیمارهای آزمایشی شامل جیره‌هایی با سطوح صفر، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ درصد جو بدون پوشینه بود. سطوح مختلف جو بدون پوشینه در جیره در دوره آغازین بر کل جمعیت باکتریایی و همچنین جمعیت‌گونه‌های اشریشیاکلی، لاکتوباسیل‌ها و کلاستریدیوم‌ها در روده‌های کور معنی‌داری نبود ولی جمعیت لاکتوباسیل‌های موجود در روده‌های کور جوجه‌های گوشتی در سن ۴۹ روزگی، با افزایش سطح جو بدون پوشینه در جیره افزایش یافت ($p < 0.05$). نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که جمعیت باکتریایی موجود در روده‌های کور، با تغذیه جیره‌هایی با سطوح مختلف جو بدون پوشینه تغییر می‌نماید. این تغییر با افزایش سن بارزتر شده و در راستای کاهش جمعیت باکتری‌های مضر (کلاستریدیوم‌ها) و افزایش گونه‌های مفید (لاکتوباسیل‌ها) می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: فلور میکروبی، جوجه‌های گوشتی، روده‌های کور، جو بدون پوشینه.

حاوی گالاکتوز، مانوز و گلوکز از مهمترین انواع این ترکیبات بوده و در بیشتر مواد خوراکی بویژه دانه‌های غلات وجود دارند و هنگام استفاده از سطوح بالای آنها در جیره، می‌توانند منشاء اثرات ضد تغذیه‌ای گردند. در مطالعات متعددی نشان داده شده است که فلور میکروبی نقش زیادی در بروز خصوصیات ضد تغذیه‌ای پلی ساکاریدهای غیرنشاسته‌ای محلول در آب ایفاء می‌نماید (۱۵).

Thomas و Wagner در سال ۱۹۷۸ افزایش تعداد باکتری‌های بیپه‌اوی را در روده کوچک جوجه‌های تغذیه شده با چاودار یا پکتین مرکبات مشاهده کردند و بیان نمودند که ممکن است افزایش فعالیت میکروبی در ایلتوم به طور مستقیم مسئول اثرات ضد تغذیه‌ای چاودار و پکتین مرکبات باشد (۲۳). Campbell و همکاران در سال ۱۹۸۳ مشاهده نمودند عملکرد جوجه‌های گوشتی که با جیره‌ای بر پایه چاودار تغذیه می‌شوند، نسبت به جوجه‌های عاری از میکروارگانیزم (Germ Free) کاهش می‌یابد، لذا بیان داشتند که فلور میکروبی خصوصیات ضد تغذیه‌ای پلی ساکاریدهای غیرنشاسته‌ای دانه غلات را افزایش می‌دهد (۷). در همین رابطه نشان داده شده است که جیره‌های محتوی مقادیر زیاد پلی ساکاریدهای غیرنشاسته‌ای محلول، فعالیت فلور میکروبی را در دستگاه گوارش جوجه‌های گوشتی (۲۲) و تخمیر در روده کوچک آنها را (۹) افزایش می‌دهند.

Kaldhudsal و Hofshagen در سال ۱۹۹۲ افزایش تعداد کلاستریدیوم‌ها

مقدمه

جو بدون پوشینه یکی از ارقام جومی باشد که به خاطر اتصال سست پوشینه بادانه از جو معمولی متمایز می‌شود. در این رقم، به دلیل جدا شدن پوشینه از بادانه‌ها حین خرم‌نکوبی، بادانه‌ها حاوی سطوح بالاتری از مواد مغذی بوده و چگالی بالاتری دارند. با اینحال جو بدون پوشینه حاوی مقادیر بالاتری از پلی ساکاریدهای غیرنشاسته‌ای (NSPs) محلول در مقایسه با جو معمولی می‌باشد (۲۷). آزمایش‌های مختلفی در رابطه با تعیین ارزش غذایی و امکان استفاده از این غله در تغذیه طیور در داخل و خارج از کشور صورت گرفته است (۱۸، ۲۱، ۲۶). کاهش عملکرد جوجه‌های گوشتی و افزایش وزن نسبی دستگاه گوارش و روده‌های کور که بیانگر افزایش فعالیت میکروبی در این بخش می‌باشد (۳، ۸)، بروز تغییرات مورفولوژیکی در مخاط روده کوچک آنها (۲۱) و کاهش قابلیت هضم مواد مغذی جیره در اثر استفاده از سطوح بالای جو بدون پوشینه در جیره قبلا گزارش شده است.

Choct و Annison در سال ۱۹۹۲ نشان دادند که پلی ساکاریدهای غیرنشاسته‌ای موجود در دانه جو و چاودار مسئول ارزش غذایی پایین این غلات می‌باشند (۸). پلی ساکاریدهای غیرنشاسته‌ای در برگزیده دامنه وسیعی از مولکول‌های پلی ساکاریدی هستند که فاقد پیوند آلفا گلوکان می‌باشند. بتا گلوکان‌ها، آرابانها، زایلان‌ها، پکتین، سلولوز و پلی ساکاریدهای



جدول ۱ - ترکیب جیره‌های غذایی در دوره آغازین، رشد و پایداری. * هر کیلوگرم مکمل ویتامینی حاوی ۴۴۰۰۰۰ واحد بین المللی ویتامین A، ۷۲۰۰۰ واحد بین المللی ویتامین D، ۱۴۴۰۰ میلی‌گرم ویتامین E، ۲۰۰۰ میلی‌گرم ویتامین K، ۶۴۰ میلی‌گرم کوبالامین، ۶۱۲ میلی‌گرم تیامین، ۳۰۰۰ میلی‌گرم ریوفلاوین، ۴۸۹۶ میلی‌گرم اسید پانتوتینیک، ۱۱۶۰ میلی‌گرم نیاسین، ۶۱۲ میلی‌گرم پیریدوکسین، ۲۰۰۰ میلی‌گرم بیوتین و ۲۶۰ گرم کولین کلراید می‌باشد. * هر کیلوگرم مکمل معدنی حاوی ۶۴/۵ گرم منگنز، ۳۳/۸ گرم روی، ۱۰۰ گرم آهن، ۸ گرم مس، ۶۴۰ میلی‌گرم ید، ۱۹۰ میلی‌گرم کبالت و ۸ گرم سلنیوم می‌باشد.

پایانی				رشد				آغازین				شماره جیره مواد خوراکی
۴	۳	۲	۱	۴	۳	۲	۱	۴	۳	۲	۱	(درصد)
۴۸/۳	۵۵/۷	۶۴/۴۲	۷۲/۲۱	۴۴/۹۱	۵۲/۹۶	۶۱/۰۲	۶۹/۰۳	۴۴/۳	۴۹/۶	۵۶/۳	۶۵/۱۵	ذرت
۱۸/۷	۲۱/۲۱	۲۲/۵	۲۳/۷۵	۱۶/۵۳	۱۹/۷۲	۲۲/۹	۲۶/۱۱	۱۷/۳۳	۲۱/۰۵	۲۴/۲۴	۲۵/۵۲	کنجاله سویا
۳۰	۲۰	۱۰	۰	۳۰	۲۰	۱۰	۰	۳۰	۲۰	۱۰	۰	جو بدون پوشینه
۰	۰	۰	۰	۶/۴۶	۴/۸۹	۳/۳۲	۱/۶۹	۶	۷	۷	۶/۵	پودر ماهی
۱/۰۳	۱/۱۸	۱/۲۵	۲/۰۲	۰/۴۲	۰/۷	۰/۹۸	۱/۲۸	۰/۷۰	۰/۶۰	۰/۶۶	۰/۸۲	دی‌کلسیم فسفات
۱/۱۲	۱/۰۱	۰/۹۹	۱/۲۵	۰/۸۳	۰/۸۸	۰/۹۲	۰/۹۸	۰/۹۳	۰/۸۵	۰/۸۵	۰/۸۵	صدف
۰/۱	۰/۱۵	۰/۲	۰/۲	۰/۲	۰/۲	۰/۲	۰/۲	۰/۰۸	۰/۰۹	۰/۱	۰/۲۱	نمک
۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۰۵	۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۲	۰/۲	۰/۱۸	۰/۲	۰/۲	۰/۲	متیونین
۰/۱	۰/۱	۰	۰	۰	۰	۰/۰۵	۰/۰۵	۰/۱	۰/۱	۰/۱۵	۰/۲۵	لیزین
۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	مکمل ویتامینی*
۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	مکمل معدنی**
												اجزای محاسبه شده
۲۹۵۰	۲۹۵۰	۲۹۵۰	۲۹۵۰	۲۹۵۰	۲۹۵۰	۲۹۵۰	۲۹۵۰	۲۹۵۰	۲۹۵۰	۲۹۵۰	۲۹۵۰	انرژی قابل سوخت و ساز (Kcal/Kg)
۱۶/۶	۱۶/۶	۱۶/۶	۱۶/۶	۱۸/۵	۱۸/۵	۱۸/۵	۱۸/۵	۲۱/۲	۲۱/۲	۲۱/۲	۲۱/۲	پروتئین خام (%)
۴/۶	۴/۳	۳/۸۴	۳/۲۷	۴/۲۹	۴/۰۹	۳/۸۹	۳/۷	۴/۴	۴/۲۸	۴/۰۸	۳/۶۱	NSP های محلول (%)
۸/۹۴	۹/۲۷	۹/۵۱	۹/۶۷	۸/۳۱	۸/۸۱	۹/۳۱	۹/۸	۸/۴	۸/۷۶	۹/۱۵	۹/۴	NSP های نامحلول (%)
												اجزای اندازه‌گیری شده
۱۵/۶	۱۵/۷	۱۶/۱	۱۶/۳	۲۰/۷	۲۰/۸	۲۲/۲	۲۱/۹	۱۹/۲	۱۸/۸	۱۹	۱۹/۵	پروتئین خام (%)
۴/۵۸	۴/۲۶	۳/۷۶	۳/۲۳	۴/۴۳	۴/۳۱	۴/۱	۳/۵۸	۴/۳	۴	۳/۹۲	۳/۶۶	NSP های محلول (%)
۹/۲	۱۰/۱	۱۰/۵	۱۰	۸/۱	۸/۹۵	۸/۷	۹/۶	۸/۸	۹/۹	۸/۸	۹/۶	NSP های نامحلول (%)

هدف از این آزمایش مطالعه تغییرات فلور میکروبی روده‌های کور جوجه‌های گوشتی در اثر وارد شدن دانه جو بدون پوشینه در جیره با توجه به افزایش غلظت پلی ساکاریدهای غیرنشاسته‌ای آن بود.

مواد و روش کار

تعداد ۲۴۰ قطعه جوجه گوشتی نر یک روزه از سویه آربروایکرز در این آزمایش مورد استفاده قرار گرفتند. پرندها به طور تصادفی در چهار گروه ۶۰ قطعه‌ای و با سه تکرار (۲۰ قطعه جوجه در هر تکرار) داخل پن‌های آزمایشی توزیع گردیدند و بر روی بستر پرورش داده شدند.

جیره‌های غذایی مورد آزمایش، با توجه ترکیبات مواد مغذی موجود در اقلام خوراکی مورداستفاده و با توجه به احتیاجات غذایی جوجه‌های گوشتی در مراحل مختلف پرورش مطابق جداول NRC در سال ۱۹۹۴ تهیه و تنظیم شدند. از دانه جو بدون پوشینه به نسبت‌های صفر، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ درصد در

در روده کوچک جوجه‌های گوشتی هنگام تغذیه با جیره‌های حاوی دانه جو (دانه غنی از پلی ساکاریدهای غیرنشاسته‌ای) را گزارش نمودند و نشان دادند که این جیره‌ها می‌توانند باعث افزایش ابتلا به آنتریت نکروتیک شوند که عامل آن باکتری Clostridium perfringens می‌باشد (۱۱). این امر نشان می‌دهد که عفونت کلستریدیومی در جوجه‌های گوشتی رابطه مستقیمی با میزان گندم یا جو در جیره دارد. Yaghobfar و همکاران در سال ۲۰۰۶ اثر جیره‌های حاوی سطوح مختلف جو بدون پوشینه را بر روی جمعیت میکروبی دستگاه گوارش مرغ‌های تخمگذار بررسی نمودند و تغییرات معنی‌داری را در تعداد کلستریدیوم‌ها، بیفیدو باکترها و لاکتوباسیل‌ها مشاهده نکردند (۲۵).

بنابراین بررسی تغییر در ترکیب فلور میکروبی دستگاه گوارش جوجه‌های گوشتی در اثر وارد شدن جو بدون پوشینه در جیره و ارتباط آن با صفات مورد مطالعه در آزمایش‌های قبلی (۲۰، ۲۱) ضروری به نظر می‌رسد.



جدول ۲- اثر سطوح مختلف جو بدون پوشینه بر فلورباکتریایی (Log10)، روده‌های کور در سنین ۲۱ و ۴۹ روزگی *.* * اعداد با حروف غیرمشابه در هر ردیف با هم اختلاف معنی داری دارند (p<۰/۰۵). ** خطای استاندارد میانگین.

SEM**	منبع تغییرات (درصد جو در جیره)				نوع باکتری	سن (روز)
	۳۰	۲۰	۱۰	۰		
۰/۴۸۷	۶/۴۶	۶/۹۸	۷/۰۲	۶/۸۴	اشریشیاکلی	۲۱
۰/۴۳۶	۷/۳۰	۷/۱۹	۷/۱۹	۷/۱۷	لاکتوباسیل‌ها	
۰/۱۴۳	۸/۳۶	۸/۳۶	۸/۲۶	۸/۲۴	کلستریدیوم‌ها	
۰/۱۲۶	۱۰/۹۳	۱۱/۱۴	۱۱/۰۳	۱۰/۹۵	تعداد کل باکتری‌ها	
۰/۲۵۷	۵/۳۷	۵/۱۲	۵/۶۲	۵/۲۵	اشریشیاکلی	۴۹
۰/۲۰۹	۷/۹۶a	۷/۹۶	a۷/۵۸	ab۷/۴۶b	لاکتوباسیل‌ها	
۰/۱۰۶	۸/۰۷	۸/۰۹	۸/۱۲	۸/۱۲	کلستریدیوم‌ها	
۰/۰۷۵	۱۰/۵۷	۱۰/۴۷	۱۰/۵۲	۱۰/۳۸	تعداد کل باکتری‌ها	

شد. هر میدان میکروسکوپی یک پنج هزارم سانتیمتر مربع است بنابراین مشاهده هر باکتری نمایانگر ۵۰۰۰ باکتری در یک سانتیمتر مربع و به عبارت دیگر ۵۰۰۰/۰۰۰ باکتری در هر سانتی متر مکعب نمونه است (۴).

برای تعیین فراوانی لاکتوباسیل‌ها، کلستریدیوم‌ها و کلی فرم‌ها به ترتیب از محیط‌های کشت (05413, Rogosa Agar(merck), (05410, Reinforced colesiteridium Agar(Merck 7667) و Salmonella-Shigella استفاده شد. محیط‌های کشت مذکور پس از آماده شدن به پتری دیش منتقل شدند. در مورد کلستریدیوم‌ها چون شمارش کلنی‌ها از طریق کشت نمونه اولیه میسر نبود، ابتدا نمونه‌های همراه بافر به مدت یک هفته در یخچال قرار داده شدند تا وارد مرحله‌هاگ شوند. سپس نمونه از یخچال خارج و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. این عمل برای اطمینان به از بین رفتن سایر باکتری‌های غیرهاگ‌زای موجود در نمونه‌ها انجام شد. سپس برای شمارش به کشت‌هاگ آنها اقدام شد. برای تعیین تعداد باکتری‌ها از روش شمارش کلنی استفاده شد. به همین منظور از نمونه اولیه به کمک بافر فسفات، ۱۳ سری رقت با ضریب رقیق سازی ۱۰، تهیه شد. از هر کدام از رقت‌ها ۲۰ میکرولیتر به هر کدام از محیط‌های کشت اختصاصی تلقیح شد. برای ایجاد محیط بیهوازی، پس از کشت نمونه، مقداری از همان محیط کشت به صورت لایه نازکی بر روی نمونه کشت شده اضافه شد. پلت‌ها پس از تلقیح، به انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد منتقل شدند. دوره انکوباسیون تا زمان تشخیص کلنی‌های کامل ادامه یافت. این زمان در مورد باکتری‌های مختلف مورد مطالعه بین ۲۴ تا ۹۶ ساعت متغیر بود. پس از طی زمان انکوباسیون تعداد کلنی‌ها بر روی پلیت‌های مربوط به رقت‌هایی که تعداد کلنی‌هایی بین ۳۰ تا ۳۰۰ عدد داشتند، شمارش شدند. در نهایت با ضرب نمودن تعداد کلنی‌ها در ضریب رقت، تعداد باکتری‌ها محاسبه شد (۴).

داده‌های حاصل با استفاده از نرم‌افزار آماری (SAS System 1982) (Statistical Anlysis) تجزیه و میانگین‌ها به کمک آزمون چند دامنه‌ای دانکن و آزمون مقایسه شدند.

جیره‌های آغازین، رشد و پایداری استفاده شد (جدول ۱). آب و غذا در تمام مدت به طور آزاد در دسترس پرندگان قرار داشت. در طول دوره آزمایش هیچ نوع آنتی‌بیوتیک در خوراک و یا به صورت محلول در آب آشامیدنی استفاده نگردید. تمامی واکسن‌های توصیه شده در منطقه (نیوکاسل، آنفلونزا و گامبورو) طبق برنامه تا قبل از ۲۰ روزگی تجویز شدند.

برای بررسی تغییرات فلور میکروبی در دستگاه گوارش جوجه‌های گوشتی در سنین ۲۱ روزگی و ۴۹ روزگی از محتویات روده کور نمونه برداری شد. برای این کار از هر تکرار ۳ پرنده به تصادف انتخاب و کشتار شدند. بلافاصله بعد از کشتار، دستگاه گوارش خارج و پس از جدا نمودن و توزین روده‌های کور، مقدار یک میلی لیتر از محتویات آنها با استفاده از یک سمپلر که برای سهولت کار بخشی از نوک آن قطع شده بود، برداشته و به ظرف استریل منتقل شد (۱۰، ۱۹). نمونه‌های تهیه شده از پرندگان هر تکرار به نسبت مساوی باهم مخلوط گردید و در نهایت یک میلی لیتر نمونه که معرف آن تکرار بود تهیه و به لوله حاوی بافر فسفات کلرید سدیم به مقدار ۸/۵ گرم در لیتر، فسفات دی هیدروژن پتاسیم ۰/۶۸ گرم در لیتر، هیدروکسید سدیم به مقدار ۰/۱۵ گرم در لیتر و (pH=۷-۷/۲)، منتقل و به خوبی مخلوط شد. پس از اتمام نمونه برداری، نمونه‌ها در فلاکس حاوی یخ به سرعت به آزمایشگاه ارسال و در داخل یخچال قرار داده شدند.

تعداد کل باکتری‌ها، فراوانی گونه‌های لاکتوباسیل، کلی فرم‌ها و کلستریدیوم‌ها در محتویات روده‌های کور تعیین شد. برای تعیین تعداد کل باکتری‌ها در هر میلی لیتر نمونه مورد مطالعه از روشی معروف به روش برید استفاده شد (۱). برای این منظور از لوله حاوی بافر که نمونه اولیه در آن حل شده بود مقدار یک میلی لیتر به داخل لوله درب‌دار دیگری منتقل و برای از بین بردن باکتری‌ها به آن چند قطره فرمالین اضافه شد. سپس مقدار ۰/۰۱ میلی لیتر از آن به روی لام مخصوص و بر روی سطحی به وسعت یک سانتیمتر مربع پخش شد. لام در حرارت محیط خشک و نمونه‌ها با استفاده از شعله تثبیت گردیدند. سپس چند قطره رنگ کریستال ویوله بر روی آن ریخته و پس از ۱۰ ثانیه با آب شسته شد. بعد از خشک کردن لام، به کمک میکروسکوپ تعداد باکتری‌ها در ۵ خانه شمارش گردید و میانگین گرفته



کاهش قابلیت هضم آن از عوامل مهم افزایش سرعت رشد فلور میکروبی در دستگاه گوارش است. از نظر شرایط نسبتاً با ثبات برای رشد میکروبی، روده‌های کور نسبت به سایر قسمت‌های دستگاه گوارش مناسب‌تر به نظر می‌رسند. بیشتر محققان بر این نکته توافق دارند که روده‌های کور محل اصلی تخمیر در دستگاه گوارش پرنده‌ها می‌باشند و کربوهیدرات‌های هضم نشده در آنها به اسیدهای چرب فرار و گازها تبدیل می‌شوند (۱۲، ۱۳). Choct و همکاران در سال ۱۹۹۶ نشان دادند که تغذیه جوچه‌های گوستی با جیره‌های غنی از پلی ساکاریدهای غیرنشاسته‌ای، باعث گسترش فعالیت میکروبی و تخمیر از روده‌های کور به ایلئوم آنها می‌شود (۹). لذا در این شرایط تغییرات فلور میکروبی روده‌های کور با این تغییرات در ایلئوم قابل مقایسه و تعمیم است. در این آزمایش، عدم تغییر در جمعیت باکتریایی در دوره آغازین (۲۱ روزگی) با افزایش سطح جو بدون پوشینه در جیره (افزایش غلظت پلی ساکاریدهای غیرنشاسته‌ای محلول) احتمالاً به دلیل عدم تثبیت و شکل‌گیری فلور میکروبی در اوائل زندگی و مقدار کم مصرف غذا در این سنین است. در طی رشد جوچه‌ها جمعیت میکروبی موجود در روده‌های کور در مقایسه با جمعیت‌های موجود در سایر بخش‌های دستگاه گوارش، به زمان بیشتری برای رشد و تکثیر نیاز دارند (۱۴). معمولاً دستگاه گوارش جوچه‌های یکروزه، استریل بوده و فاقد هر گونه میکروارگانیسمی است، ولی در طی چند ساعت اول بعد از تفریح، تعداد زیادی از باکتری‌ها در بافت اپیتلیال روده جایگزین می‌شوند و توسعه جمعیت میکروبی که در روده غالب می‌شوند به ترکیب جیره بستگی دارد (۹). Mead در سال ۱۹۹۷ اظهار داشت جمعیت میکروبی در روده کوچک، در طی دو هفته اول زندگی شکل گرفته و تثبیت می‌شوند، در عوض تثبیت فلور میکروبی در روده‌های کور به زمان بیشتری نیاز دارد (۱۶). گفته می‌شود که تثبیت جمعیت میکروبی در روده‌های کور بیش از ۳۰ روز زمان نیاز دارد و ممکن است این تغییرات تا سن ۶ هفتگی هم ادامه یابد (۳، ۵).

داده‌های حاصل از این آزمایش نشان می‌دهند که علیرغم عدم تثبیت کامل فلور میکروبی در سن ۲۱ روزگی، جمعیت‌های کلوستریدیوم‌ها و لاکتوباسیل‌ها با تغییر سطح جو بدون پوشینه در جیره، تغییر کرده‌است در حالی که جمعیت اشریشیاکلی تغییرات محسوسی نداشته‌است. این امر نشان می‌دهد که واکنش کلوستریدیوها و لاکتوباسیل‌ها نسبت به افزایش غلظت پلی ساکاریدهای غیرنشاسته‌ای در جیره‌های حاوی جو، بیشتر از سایر باکتری‌های مورد بررسی در این تحقیق است. همچنین این باکتری‌ها، قادرند در زمان کوتاه‌تری و با سرعت بیشتری در دستگاه گوارش جایگزین شوند و تشکیل کلنی دهند. این نتایج با یافته‌های Barrow در سال ۱۹۹۲ مطابقت دارد. رشد و تکثیر سریع‌تر لاکتوباسیل‌ها و کلوستریدیوم‌ها در هفته‌های اول زندگی به احتمال زیاد مانع رشد اشریشیاکلی شده‌اند به همین خاطر جمعیت آن با افزایش غلظت پلی ساکاریدهای غیرنشاسته‌ای در جیره‌های حاوی جو بدون پوشینه تغییری نداشته‌است. در سن ۴۹ روزگی، بیشترین تغییرات جمعیت میکروبی با افزایش اثر

جدول ۳- تغییرات تعداد کل باکتری‌ها، اشریشیاکلی، لاکتوباسیل‌ها و کلوستریدیوم‌ها (Log10) با افزایش سن.* * اعداد با حروف غیرمشابه در هر ستون با هم اختلاف معنی‌داری دارند ($p < 0.05$).

سن (روز)	نوع باکتری			تعداد کل باکتری‌ها
	اشریشیاکلی	لاکتوباسیل‌ها	کلوستریدیوم‌ها	
۲۱	۶/۸۳ ^a ± ۰/۴۷	۷/۲۳ ^b ± ۰/۴۸	۸/۳۰ ^a ± ۰/۱۳	۱۱/۰۱ ^a ± ۰/۱۷
۴۹	۵/۳۴ ^b ± ۰/۲۹	۷/۷۴ ^a ± ۰/۲۵	۸/۱۰ ^b ± ۰/۰۹	۱۰/۴۹ ^b ± ۰/۱۰

نتایج

سطوح مختلف جو بدون پوشینه در جیره در دوره آغازین تأثیر معنی‌داری بر کل جمعیت باکتریایی و همچنین گونه‌های اشریشیاکلی، لاکتوباسیل‌ها و کلوستریدیوم‌ها در روده‌های کور نداشت. با این وجود، داده‌های معنی‌دار نشده نشان می‌دهند که جمعیت لاکتوباسیل‌ها و کلوستریدیوم‌ها با افزایش مقدار جو بدون پوشینه در جیره افزایش یافته‌اند (جدول ۲).

جمعیت لاکتوباسیل‌های موجود در روده‌های کور جوچه‌های گوستی با افزایش سن (۴۹ روزگی)، به طور معنی‌داری تحت تأثیر سطوح مختلف جو بدون پوشینه در جیره قرار گرفت ($p < 0.05$). به طوری که در این سن با افزایش سطح جو در جیره، لاکتوباسیل‌ها به مقدار زیادی افزایش یافتند. کل جمعیت میکروبی موجود در روده‌های کور نیز افزایش نسبی را با افزایش سطوح جو بدون پوشینه در جیره نشان داد. کاهش قابل ملاحظه‌ای هم در جمعیت کلوستریدیوم‌ها توأم با افزایش سطح جو در جیره مشاهده شد ولی این تغییرات معنی‌دار نبود. جمعیت اشریشیاکلی نیز در بالاترین سطح جو بدون پوشینه در جیره کمترین مقدار بود (جدول ۲).

فراوانی کلی فرم‌ها، لاکتوباسیل‌ها، کلوستریدیوم‌ها و همچنین کل جمعیت باکتری‌ها در روده‌های کور در دو سن ۲۱ و ۴۹ روزگی در جدول ۳ مقایسه شده‌است. اثر سن بر تعداد کل باکتری‌ها و جمعیت گونه‌های مذکور بسیار معنی‌دار بود ($p < 0.05$) به طوری که با افزایش سن جمعیت لاکتوباسیل‌ها افزایش ولی جمعیت سایر گونه‌ها کاهش نشان دادند.

بحث

در این آزمایش، افزایش سطوح جو در جیره غلظت پلی ساکاریدهای غیرنشاسته‌ای محلول را افزایش داد (جدول ۱). نشان داده شده است که افزایش ویسکوزیته و در نتیجه کاهش سرعت عبور غذا از دستگاه گوارش و همچنین کاهش قابلیت هضم مواد مغذی در دستگاه گوارش از مکانیسم‌های عمده‌ای است که پلی ساکاریدهای غیرنشاسته‌ای محلول موجود در دانه بعضی غلات خصوصیات ضد تغذیه‌ای خود را بروز می‌دهند (۸). باکتری‌ها برای ادامه حیات در دستگاه گوارش باید بتوانند در شرایط بیپه‌وای دستگاه گوارش رشد نمایند و قادر به اتصال به سلول‌های لایه اپیتلیال در روده باشند و رشد آنها دارای سرعتی معادل و یا بیشتر از سرعت حذف آنها از دستگاه گوارش باشد (۱۵). بنابراین کاهش سرعت عبور غذا و



فروکتوالیگوساکارید (۲) و مانانوالیگوساکاریدها (۱۰) بر فلور میکروبی دستگاه گوارش طیور و افزایش گونه‌های مفید باکتری‌ها و کاهش جمعیت باکتری‌های بیماری‌زا، قبلاً نشان داده شده است. احتمالاً بتاگلوکان‌ها نیز تاثیراتی مشابه دو کربوهیدرات مذکور بر فلور میکروبی دارند. افزایش لاکتوباسیل‌ها می‌تواند یکی از علل اصلی کاهش کلاستریدیوم‌ها و اشریشیاکلی در این آزمایش باشد. لاکتوباسیل‌ها به همراه بیفیدوباکترها با تولید اسید استیک و اسید لاکتیک و همچنین کاهش pH می‌توانند مانع رشد باکتری‌های بیماری‌زا شوند (۲۴). هر چند که در این تحقیق بیفیدوباکتری‌ها بررسی نشدند، ولی با توجه به تاثیر مثبت پلی ساکاریدهای غیرنشاسته‌ای محلول بر جمعیت لاکتوباسیل‌ها به احتمال زیاد جمعیت این گونه نیز افزایش یافته است.

نتایج حاصل از این آزمایش بیانگر تغییر فلور میکروبی با افزایش سن است. به طوری که با افزایش سن، جمعیت لاکتوباسیل‌ها غالب شده و اثر بازدارندگی خود را بر روی کلاستریدیوم‌ها و اشریشیاکلی اعمال نموده است و باعث کاهش جمعیت آنها شده است. این نتایج با گزارش‌های Rubio و همکاران در سال ۱۹۹۸ همخوانی دارد.

با توجه به نتایج حاصل از این آزمایش می‌توان بیان نمود که جمعیت باکتریایی موجود در روده‌های کور جوچه‌های گوشتی در اثر افزایش سطح جودون پوشینه در جیره تغییر می‌نماید. این تغییرات در سنین بالاتر تظاهر بیشتری دارد و در راستای کاهش جمعیت گونه‌های کلاستریدیوم‌ها و افزایش لاکتوباسیل‌ها می‌باشد.

تشکر و قدردانی

از معاونت پژوهشی مؤسسه تحقیقات علوم دامی و مسئولین و پرسنل بخش طیور آن مؤسسه و همچنین مسئولین و پرسنل آزمایشگاه باکتریولوژی بیمارستان دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران که امکانات انجام این تحقیق را فراهم نمودند، تشکر و قدردانی می‌شود.

References

1. Ale-mohammad, M.M. (1986) Practical Microbiology. First Edition. University Publication Center. Tehran, Iran.
2. Bailey, J.S., Blankenship, L.C., Coy, N.A. (1991) Effect of fructo- oligosaccharide on Salmonella colonisation of the chicken intestine. Poul. Sci. 70: 2433 - 2438.
3. Barnes, E.M., Mead, G.C., Impey, C.S., Adams. B.W. (1978) Analysis of the Avian Intestinal Flora. In: Techniques for the Study of Mixed Population, Lovelock, D.W., Davies, R., ed., Society for Appl. Bacteriol. Tech. Series. London - Academic Press.

سطوح مختلف جودون پوشینه در جیره، مربوط به جمعیت لاکتوباسیل‌ها است. بطوری که جمعیت لاکتوباسیل‌ها همبستگی مثبتی با افزایش سطح جو بدون پوشینه در جیره دارد. در حالی که این روند برای گونه‌های کلاستریدیوم و اشریشیاکلی برعکس است و جمعیت آنها کاهش می‌یابد. همانطور که قبلاً ذکر شد، افزایش ویسکوزیته و کاهش سرعت عبور غذا از دستگاه گوارش، شرایط مناسب برای افزایش فعالیت باکتری‌ها و ایجاد تغییرات در فلور میکروبی را فراهم نموده است (۹). تغییرات در فلور میکروبی در این آزمایش به صورت تغییر در فراوانی جمعیت‌های گونه‌های لاکتوباسیل، کلاستریدیوم و اشریشیاکلی قابل مشاهده است. در این تحقیق با افزایش سطح جو بدون پوشینه در جیره، در هر دو سن جمعیت لاکتوباسیل‌ها افزایش یافت در حالی که جمعیت کلاستریدیوم‌ها در ۲۱ روزگی افزایش و در ۴۹ روزگی با کاهش مواجه شده است. این نتایج با گزارش‌های Hofshagen و Kaldhusdal در سال ۱۹۹۲ مبنی بر افزایش جمعیت کلاستریدیوم‌ها با وارد شدن جو در جیره‌های بر پایه گندم و یا چاودار تناقض دارد. نتایج این آزمایش تنها در سنین اولیه با نتایج دو محقق مذکور همخوانی دارد. البته اختلاف جیره پایه را نیز در این آزمایش‌ها نباید نادیده گرفت. به علاوه ترکیب پلی ساکاریدهای غیرنشاسته‌ای موجود در دانه گندم با آنچه در دانه جو وجود دارد بسیار متفاوت است به طوری که پلی ساکاریدهای غیرنشاسته‌ای موجود در دانه جویبشتر بتاگلوکان‌ها هستند ولی در دانه گندم بیشتر آرابان‌ها و زایلان‌ها می‌باشد.

نتایج بدست آمده در این آزمایش در سن ۴۹ روزگی، گزارش‌های Skierve و Kaldhusdal در سال ۱۹۹۶ را که به وجود همبستگی مثبت بین سطوح وارد شدن گندم و جودر جیره با عفونت کلاستریدیایی در جوچه‌های گوشتی اشاره دارد را رد می‌نماید. در همین رابطه، آزمایش‌های انجام شده در شرایط *In Vitro* نشان داده‌اند که عصاره محلول در آب گرفته شده از گندم مانع رشد کلاستریدیوم پر فرینجس می‌شود (۶).

در این آزمایش، جمعیت لاکتوباسیل‌ها با افزایش غلظت پلی ساکاریدهای غیرنشاسته‌ای در جیره افزایش قابل ملاحظه‌ای یافت. در همین رابطه، افزایش جمعیت لاکتوباسیل‌ها در دستگاه گوارش جوچه‌های گوشتی تغذیه شده با جیره‌های حاوی باقلای کامل یا پوست کنده گزارش شده است (۱۹). باقلادارای مقادیر زیادی پلی ساکاریدهای غیرنشاسته‌ای به شکل مواد پکتینی است که به مقدار زیادی قابل تخمیر هستند. بنابراین ماده غذایی بسیار مناسبی را برای باکتری‌ها فراهم می‌کنند. بتاگلوکان‌ها از پلی ساکاریدهای غیرنشاسته‌ای عمده موجود در دانه جو بدون پوشینه هستند که در انتهای دستگاه گوارش به مقدار زیادی تخمیر می‌شوند. بنابراین سوبسترای فراوانی را برای لاکتوباسیل‌ها و احتمالاً بیفیدوباکترها فراهم می‌کند و این عامل باعث افزایش جمعیت آنها شده است. لاکتوباسیل‌ها و بیفیدوباکترها از باکتری‌های مفید موجود در دستگاه گوارش هستند زیرا آنها شرایط را برای رشد عوامل پاتوژن مثل سالمونلاها و کلاستریدیوم‌ها نامساعد می‌سازند (۱۰). تاثیر کربوهیدرات‌های پیچیده‌ای مثل



- pp.89-105.
4. Baron, E.J., Finegold, S.M. (1990) Diagnostic Microbiology. 8th ed. The C.V. Mosby Company. Toronto, Canada.
 5. Barrow, P.A. (1992) Probiotics for chicken, In: Probiotics, Edit: Fuller, R. The Scientific Basis, Chapman and Hall. London, UK. pp. 225- 252.
 6. Branton, S.L., Latt, B.D., May, J.D., Hedin, P.A., Austin, F.W., Latour, M.A. and Days, E.J. (1996) The effects on non-autoclaved and autoclaved water-soluble wheat extracts on the growth of *Clostridium Perfringens*. Poul. Sci. 75: 2281-2293.
 7. Campbell, G.L., Campbell, L.D., Classen, H.L. (1983) Utilisation of rye by chickens: effect of microbial status, diet gamma irradiation and sodium taurocholat supplementtation. Bri. Poul. Sci. 24: 191-203.
 8. Choct, M., Annison, G. (1992) Antinutritive effect of wheat pentosans in broiler chickens. Role of viscosity and gut microflora. Bri. Poul. Sci. 33: 801 - 834.
 9. Choct M., Hughes, R.J., Wang, J., Bedford, M.R., Morgan, A.J., Annison, G. (1996) Increased small intestinal fermentation is partly responsible for the antinutritive activity of non-starch polysaccharides in chickens. Bri. Poul. Sci. 37: 609-621.
 10. Fernandez, F.M. Hinton, Vargils, B. (2002) Dietary Mannan- Oligosaccharides and their effect on chicken caecal microflora in relation to Salmonella enteridis colonization. Avian Pathol. 31: 49-58.
 11. Hofshagen, M., Kaldhusdal, M. (1992) Barley inclusion and avoparcin Supplementation in broiler diet. I. Effect on small intestinal bacterial flora and Performance. Poul. Sci. 71: 959- 969
 12. Jamroz, D., Jakobsen, K., Bach Knudsen, K.E., Wilczkiewicz, A., Orda, J. (2002) Digestibility and energy value of the non-starch polysaccharides in young chickens, ducks and geese, fed diets containing high amounts of barley. Comp. Biochem. Physiol. 131: 657-668.
 13. Jozefiak, D., Rutkowski, A., Martin, S.A. (2004) Carbohydrate fermentation in the avian ceca: a review. Anim. Feed Sci. Technol. 113: 1-15.
 14. Kaldhusdal, M., Skjerve, E. (1996) Association between cereal contents in the diet and incidence of necrotic enteritis in broiler chickens in Norway. Preventive Vet. Med. 28: 1-16.
 15. Langhout, D.J., Schutte, J.B., Van Leeuwen, P., Wiebenga, J., Tamminga, S. (1999) Effect of dietary high- and low- methylated citrus pectin on the activity of the ileal microflora and morphology of the small intestinal wall of broiler chicks. Bri. Poul. Sci. 40: 340- 347.
 16. Mead, G.C. (1997) Bacteria in the gastrointestinal tract of birds. In: Gastrointestinal Microbiology vol. 2. Eds Mackie R.I. and B.A.White. Chapman and Hall, New York, USA.
 17. National Research Council. (1994) Nutrient Requirement of Poultry. 9th ed., National Academy Press. Washington. D.C., USA.
 18. Rosmary, K.N. (1988) Nutritive value of new hull-less barley cultivar in broiler chick diets. Poul. Sci. 67: 1573-1579.
 19. Rubio, L.A., Brenes, A., Setien, I., Dela Asuncion, G., Duran, N., Cutuli, M.T. (1998) Lactobacilli counts in crop, ileum, and caecum of growing broiler chickens fed on practical diets containing whole or dehulled sweet lupin (*Lupinus angustifolius*) seed meal. Bri. Poul. Sci. 39: 354-359.
 20. Sharifi, S.D., Shariatmadari, F., Yaghobfar, A., Teshfam, M. (2007) Effects of different concentrations of soluble non-starch polysaccharides in diet on morphological characteristics of the small intestine and performance of broiler chickens. J. Vet. Res. 62: 115-120.
 21. Sharifi, S. D., Shariatmadari, F., Yaghobfar, A., Mirhadi, S. A., Nayeb Aghayee, S. M. (2005) Determination of the effects of the enzyme and hull-less barley on broiler performance. J. Agri. Sci. Natural Res. 12: 83-92.
 22. Smits, C.H.M., Annison, G. (1996) Non-starch plant polysaccharides in broiler nutrition: towards a physiologically valid approach to their determination. World Poul. Sci. J. 52: 203- 221.
 23. Wagner, D.D., Thomas, O.P. (1978) Influence of diets containing rye or pectin on the intestinal flora of chicks. Poul. Sci. 57: 971 - 975.
 24. Wang, X., Gibson, G.R. (1993) Effect of the invitro



- fermentation of oligofructose and inulin by bacteria growing in the human large intestine. *J. Appl. Bacteriol.* 75: 373-388.
25. Yaghobfar, A., Rezaian, M., Ashrafi-Helan, M., Barin, J., Fazaeli, H., Sharifi, S.D. (2006) The effect of hull-less barley dietary on the activity of gut microflora and morphology of small intestine of layer hens. *Pakistan J. Biol. Sci.* 9: 659-666.
26. Yaghobfar, A., Fazaeli, H. (1999) Determination of metabolisable energy of hull-less barley in Poultry nutrition. *Pajouhesh-va-Sazandegi J.* 45: 122-123.
27. Yin, Y.L., Baidoo, S.K., Jin, T.Z., Liu, Y.G., Schulze, H., Simmins, P.H. (2001) Supplementation on apparent (ileal and overall) digestibility of nutrients of five hullless barley varieties in young pigs. *Livestock Production Sci.* 71: 109-120.



STUDY THE EFFECTS OF DIFFERENT LEVELS OF HULL-LESS BARLEY ON CAECAL MICRO FLORA OF BROILER CHICKS

Sharifi, S.D.^{1*}, Barin, A.², Yaghobfar, A.³, Shariatmadari, F.⁴

¹Department of Animal and Pultry Science, College of Aburayhan, University of Tehran, Tehran-Iran.

²Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran -Iran.

³ Animal Science Research Institute, Karaj, Karaj-Iran.

⁴Department of Animal Science Faculty of Agriculture, Tarbiat Modarres University, Tehran-Iran.

(Received 9 January 2008 , Accepted 30 May 2008)

Abstract:

This study was conducted to investigate the effects of diets containing different levels of hull-less barley on caecal microflora of broiler chicks. Two hundred and forty one-day old male broiler chicks (Arbor Acres strain) were used in a completely randomized design with 4 treatments, and 3 replicates were allocated to each treatment. Different levels of hull-less barley in diets had not significant effects on total bacterial count, *E.coli*, *Clostridia* and *Lactobacillus* population in caeca at starter period (21 days old), but at 49 days of age, caecal *Lactobacillus* population increased significantly by increasing the levels of hull-less barley in diets ($p < 0.05$). Based on the results of the present study, it can be stated that inclusion of hull-less barley in diets, change the caecal microflora of broiler chicks. These components reduced pathogenic bacteria (*Clostridia*) and increased the useful bacteria (*Lactobacillus*).

Key words: Micro flora; Broiler chicks; Caeca; Hull-less barley.

*Corresponding author's email: sdsharifi@ut.ac.ir, Tel: 0292-3025272, Fax: 0292-3025272

