مجله تحقیقات دامپزشکی، ۱۳۸۸، دوره ۶۴، شماره ۱، ۶۱-۵۵

مطالعه اثرات سطوح مختلف جو بدون پوشینه بر فلورمیکروبی رو ده‌های کور جوجه‌های گوشتی

سید داود شریفی[1]* عباس برین[2] اکبر یعقوبفر[3] فرید شریعتمداری[4]

۱) گرو علوم دام 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 پلی‌ساکاریدهای غیرنشاسته‌ای محلول در مقایسه با جو معمولی است. سطوح بالای پلی‌ساکاریدهای غیرنشاسته‌ای محلول در جیره طیور، اثرات ضد تغذیه‌ای دارد وفلور 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 جوجه‌های‌گوشتی در اثر تغذیه جیره‌های حاوی‌سطوح مختلف جوبدون پوشینه انجام‌گرفت. تعداد ۲۴۰ قطعه جوجه‌گوشتی نر یک روزه ازسویه‌آرباورایکرز به طور تصادفی درچهارگروه ۶۰ قطعه‌ای وباسه تکرار (۲۰ قطعه جوجه در هر تکرار) داخل پن‌های آزمایشی توزیع‌گردیدند. تیمارهای‌آزمایشی‌شامل جیره‌هایی باسطوح صفر، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ درصد جوبدون پوشینه بود. سطوح مختلف جوبدون پوشینه درجیره در دوره‌آغازین بر کل جمعیت باکتریایی وهمچنین جمعیت‌گونه‌های اشریشیاکلی، لاکتوباسیل‌ها و کلستریدیوم‌ها در روده‌های کور معنی‌داری نبود ولی جمعیت لاکتوباسیل‌های موجود در روده‌های کور جوجه‌های‌گوشتی درسن ۴۹ روزگی، با افزایش‌سطح جوبدون پوشینه درجیره افزایش یافت ($p<0/05$). نتایج حاصل از این‌آزمایش نشان داد که جمعیت باکتریایی موجود در روده‌های کور، با تغذیه جیره‌هایی باسطوح مختلف جو بدون پوشینه تغییر می‌نماید. این تغییر با افزایش‌سن بارزترشده ودر راستای کاهش جمعیت باکتری‌های مضر (کلستریدیوم‌ها) وافزایش‌گونه‌های مفید (لاکتوباسیل‌ها) می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: فلورمیکروبی، جوجه‌های گوشتی، روده‌های‌کور، جوبدون پوشینه.

مقدمه

جوبدون پوشینه یکی از ارقام جومی‌باشد که به خاطر اتصال سست پوشینه با دانه از جومعمولی متمایزمی‌شود. در این رقم، به دلیل جداشدن پوشینه از دانه‌ها حین خرمنکوبی، دانه‌ها حاوی سطوح بالاتری از مواد مغذی بوده و چگالی بالاتری دارند. با اینحال جو بدون پوشینه حاوی مقادیر بالاتری از پلی‌ساکاریدهای 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 مورفولوژکی در مخاط روده کوچک آنها(۲۱) و کاهش قابلیت هضم مواد مغذی جیره در اثر استفاده از سطوح بالای جوبدون پوشینه در جیره قبلاً 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). پلی‌ساکاریدهای‌غیرنشاسته‌ای در برگیرنده دامنهٔ وسیعی از مولکول‌های پلی ساکاریدی هستند که فاقد پیوند آلفا گلوکان می‌باشند. بتا گلوکان‌ها، آرابانها، زایلان‌ها، پکتین، سلولز و پلی ساکاریدهای 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 ضدتغذیه‌ای گردند. در مطالعات متعددی نشان داده شده است که فلور میکروبی نقش زیادی در بروز خصوصیات ضد تغذیه‌ای پلی ساکاریدهای غیرنشاسته‌ای محلول در آب ایفا می‌نماید(۱۵).

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

Hofshagen و Kaldhudsal در سال ۱۹۹۲ افزایش تعداد کلستریدیوم‌ها

*)نویسنده مسؤول: تلفن: ۳۰۲۵۲۷۲-۰۲۹۲، نمابر: ۳۰۲۵۲۷۲-۰۲۹۲ Email :sdsharifi@ut.ac.ir

جدول۱ - ترکیب جیره‌های غذایی در دوره آغازین، رشد و پایانی. *هرکیلوگرم مکمل ویتامینی حاوی ۴۴۰۰۰۰۰ 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 ریبوفلاوین، ۴۸۹۶ میلی‌گرم اسید پانتوتنیک، ۱۲۱۶۰ میلی‌گرم نیاسین، ۶۱۲ میلی‌گرم پیریدوکسین، ۲۰۰۰ میلی‌گرم بیوتین و ۲۶۰ گرم کولین کلراید می‌باشد. ** هرکیلوگرم 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.

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

در رودهٔ 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 جوبدون 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 فلورمیکروبی دستگاه گوارش جوجه‌های گوشتی در اثر وارد شدن جوبدون پوشینه در جیره و ارتباط آن با صفات مورد مطالعه در آزمایش‌های قبلی(۲۰،۲۱) ضروری به نظر می‌رسد. 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 روش‌کار

تعداد ۲۴۰ قطعه جوجه گوشتی نر یک روزه از سویه آربورایکرز در این آزمایش مورد استفاده قرار گرفتند. پرندگان 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 جوبدون پوشینه به نسبت‌های صفر، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ درصد در

جدول۲- اثر سطوح مختلف جو بدون پوشینه بر فلورباکتریایی(Log10)، روده‌های کور در سنین۲۱ و ۴۹روزگی *. * اعداد با حروف غیرمشابه در هر ردیف با هم اختلاف معنی‌داری دارند (p<۰/۰۵). ** خطای استاندارد میانگین.

سن(روز)	نوع باکتری	منبع تغییرات(درصد جودر جیره)				SEM**
		۰	۱۰	۲۰	۳۰	
۲۱	اشریشیاکلی	۶/۸۴	۷/۰۲	۶/۹۸	۶/۴۶	۰/۴۸۷
	لاکتوباسیل‌ها	۷/۱۷	۷/۱۹	۷/۱۹	۷/۳۰	۰/۴۳۶
	کلستریدیوم‌ها	۸/۲۴	۸/۲۶	۸/۳۶	۸/۳۶	۰/۱۴۳
	تعداد کل باکتری‌ها	۱۰/۹۵	۱۱/۰۳	۱۱/۱۴	۱۰/۹۳	۰/۰۱۲۶
۴۹	اشریشیاکلی	۵/۲۵	۵/۶۲	۵/۱۲	۵/۳۷	۰/۲۵۷
	لاکتوباسیل‌ها	ab۷/۴۶b	a۷/۵۸	۷/۹۶	۷/۹۶a	۰/۲۰۹
	کلستریدیوم‌ها	۸/۱۲	۸/۱۲	۸/۰۹	۸/۰۷	۰/۱۰۶
	تعداد کل باکتری‌ها	۱۰/۳۸	۱۰/۵۲	۱۰/۴۷	۱۰/۵۷	۰/۰۷۵

جیره‌های آغازین، رشد و پایانی استفاده شد(جدول۱). آب و غذا در تمام مدت به طور آزاد در دسترس پرندگان قرار داشت. در طول دوره آزمایش هیچ نوع آنتی بیوتیک در خوراک و یا به صورت محلول در آب آشامیدنی استفاده نگردید. تمامی واکسن‌های توصیه شده در منطقه(نیوکاسل، آنفلونزا و گامبورو) طبق برنامه تاقبل از ۲۰ روزگی تجویز شدند.

برای بررسی تغییرات فلور میکروبی در دستگاه گوارش جوجه‌های گوشتی در سنین۲۱ روزگی و ۴۹ روزگی از محتویات روده کور نمونه‌برداری شد. برای این کار از هر تکرار۳ 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 با هم 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 ۰/۱۵گرم در لیترو (pH=۷-۷/۲)، منتقل و به خوبی مخلوط شد. پس از اتمام نمونه‌برداری، نمونه‌ها در فلاکس حاوی یخ به سرعت به آزمایشگاه ارسال و در داخل یخچال قرار داده شدند.

تعداد کل باکتری‌ها، فراوانی گونه‌های لاکتوباسیل، کلی‌فرم‌ها 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 بین‌بردن 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 سانتیمترمربع 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 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 ۵۰۰/۰۰۰ باکتری در هر سانتی متر مکعب نمونه است(۴).

برای تعیین فراوانی لاکتوباسیل‌ها، کلستریدیوم‌ها و کلی‌فرم‌ها به ترتیب از محیط‌های کشت (05413, Rogosa Agar(merck، (05410, Reinforced colesteridium Agar(Merck و (7667, Agar(Merck 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 ۲۰۰ 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 Anilysis) تجزیه و میانگین‌ها به کمک آزمون چند دامنه‌ای دانکن و آزمون t مقایسه شدند.

جدول۳- تغییرات تعداد کل باکتری‌ها، اشریشیاکلی، لاکتوباسیل‌ها و کلستریدیوم‌ها (Log10) با افزایش سن*. * اعداد با حروف غیرمشابه در هر ستون با هم اختلاف معنی‌داری دارند ($p<۰/۰۵$).

	نوع باکتری			
سن(روز)	اشریشیاکلی	لاکتوباسیل‌ها	کلستریدیوم‌ها	تعداد کل باکتری‌ها
۲۱	$۶/۸۳^{a}\pm۰/۴۷$	$۷/۲۳^{b}\pm۰/۴۸$	$۸/۳۰^{a}\pm۰/۱۳$	$۱۱/۰۱^{a}\pm۰/۱۷$
۴۹	$۵/۳۴^{b}\pm۰/۲۹$	$۷/۷۴^{a}\pm۰/۲۵$	$۸/۱۰^{b}\pm۰/۰۹$	$۱۰/۴۹^{b}\pm./۱۰$

نتایج

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

جمعیت لاکتوباسیل‌های موجود در روده‌های کور جوجه‌های گوشتی با افزایش سن(۴۹ روزگی)، به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر سطوح مختلف جو بدون پوشینه در جیره قرار گرفت ($p< ۰/۰۵$). 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 کلستریدیوم‌ها 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، کلستریدیوم‌ها و همچنین کل جمعیت باکتری‌ها در روده‌های کور در دو سن ۲۱ و ۴۹ روزگی در جدول ۳ مقایسه شده است. اثر سن بر تعداد کل باکتری‌ها و جمعیت گونه‌های مذکور بسیار معنی‌دار بود($p<۰/۰۵$) 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(جدول۱). 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 ضدتغذیه‌ای خود را بروز می‌دهند(۸). باکتری‌ها برای ادامه حیات در دستگاه گوارش باید بتوانند در شرایط بیهوازی 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 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 براین نکته توافق دارند که روده‌های کور محل اصلی تخمیر در دستگاه گوارش پرندگان 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 جوجه‌های گوشتی 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 جوجه‌ها 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 جوجه‌های یکروزه، استریل بوده و فاقد هر گونه میکروارگانیسمی است، ولی در طی چند ساعت اول بعد از تفریخ، 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 کلستریدیوم‌ها و لاکتوباسیل‌ها با تغییر سطح جو بدون پوشینه در جیره، تغییر کرده‌است در حالی که جمعیت اشریشیاکلی تغییرات محسوسی نداشته است. این امر نشان می‌دهد که واکنش کلستریدیاها 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 کلستریدیوم‌ها 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 نداشته است.

در سن ۴۹ روزگی، بیشترین تغییرات جمعیت میکروبی با افزایش اثر

سطوح مختلف جوبدون پوشینه در جیره، مربوط به جمعیت لاکتوباسیل ها است. بطوری که جمعیت لاکتوباسیل ها همبستگی مثبتی با افزایش سطح جو بدون پوشینه در جیره دارد. در حالی که این روند برای گونه‌های کلستریدیوم و اشریشیاکلی برعکس است و جمعیت آنها کاهش می یابد. 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، کلستریدیوم و اشریشیاکلی قابل مشاهده است. در این تحقیق با افزایش سطح جو بدون پوشینه در جیره، در هر دو سن جمعیت لاکتوباسیل ها افزایش یافت در حالی که جمعیت کلستریدیوم ها در ۲۱ روزگی افزایش و در ۴۹ روزگی با کاهش مواجه شده است. این نتایج با گزارش های Hofshagen و Kaldhusdal در سال ۱۹۹۲ مبنی بر افزایش جمعیت کلستریدیوم ها با وارد شدن جو در جیره های 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 آزمایش ها 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 جو بیشتر بتاگلوکان ها هستند ولی در دانه گندم بیشتر آرابان ها و زایلان ها می باشد.

نتایج بدست آمده در این آزمایش در سن ۴۹ روزگی، گزارش های Kaldhusdal و Skierve در سال ۱۹۹۶ را که به وجود همبستگی مثبت بین سطوح واردشدن گندم و جو در جیره با عفونت کلستریدیایی در جوجه های گوشتی اشاره دارد را رد می نماید. در همین رابطه، آزمایش های انجام شده در شرایط In Vitro نشان داده اند که عصاره محلول در آب گرفته شده از گندم مانع رشد کلستریدیوم پرفرینجس می شود(۶).

در این آزمایش، جمعیت لاکتوباسیل ها با افزایش غلظت پلی ساکاریدهای غیرنشاسته‌ای در جیره افزایش قابل ملاحظه‌ای یافت. در همین رابطه، افزایش جمعیت لاکتوباسیل ها در دستگاه گوارش جوجه های گوشتی تغذیه شده با جیره های حاوی باقلای کامل یا پوست کنده گزارش شده است(۱۹). باقلا دارای مقادیر زیادی پلی ساکاریدهای غیرنشاسته‌ای به شکل مواد پکتینی است که به مقدار زیادی قابل تخمیر هستند. بنابراین ماده غذایی بسیار مناسبی را برای باکتری ها فراهم می کنند. بتاگلوکان ها از پلی ساکاریدهای غیرنشاسته‌ای عمدهٔ موجود در دانه جوبدون پوشینه هستند که در انتهای دستگاه گوارش به مقدار زیادی تخمیر می شوند. بنابراین سوبسترای فراوانی را برای لاکتوباسیل ها و احتمالاً بیفیدوباکترها فراهم می کند و این عامل باعث افزایش جمعیت آنها شده است. لاکتوباسیل ها و بیفیدوباکترها از باکتری های مفید موجود در دستگاه گوارش هستند زیرا آنها شرایط را برای رشد عوامل پاتوژن مثل سالمونلاها و کلستریدیوم ها نامساعد می سازند(۱۰). تاثیر کربوهیدرات‌های پیچیده‌ای مثل فروکتوالیگوساکارید(۲) و مانانوالیگوساکاریدها(۱۰) بر فلور میکروبی دستگاه گوارش طیور و افزایش گونه های مفید باکتری ها و کاهش جمعیت باکتری های بیماری زا، قبلاً نشان داده شده است. احتمالاً بتاگلوکان ها نیز تاثیراتی مشابه دو کربوهیدرات مذکور بر فلور میکروبی دارند. افزایش لاکتوباسیل ها می تواند یکی از علل اصلی کاهش کلستریدیوم ها و اشریشیاکلی در این آزمایش باشد. لاکتوباسیل ها به همراه بیفیدوباکترها با تولید اسید استیک و اسید لاکتیک و همچنین کاهش pH می توانند مانع رشد باکتری های بیماری زا شوند(۲۴). هر چند که در این تحقیق بیفیدوباکتری ها بررسی نشدند، ولی با توجه به تاثیر مثبت پلی ساکاریدهای غیرنشاسته‌ای محلول بر جمعیت لاکتوباسیل ها 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 لاکتوباسیل ها غالب شده و اثر بازدارندگی خود را بر روی کلستریدیوم ها و اشریشیاکلی اعمال نموده است و باعث کاهش جمعیت آنها شده است. این نتایج با گزارش های Rubio و همکاران در سال ۱۹۹۸ همخوانی دارد.

با توجه به نتایج حاصل از این آزمایش می توان بیان نمود که جمعیت باکتریایی موجود در روده های کور جوجه های گوشتی در اثر افزایش سطح جوبدون پوشینه در جیره تغییر می نماید. این تغییرات در سنین بالاتر تظاهر بیشتری دارد و در راستای کاهش جمعیت گونه های کلستریدیوم ها و افزایش لاکتوباسیل ها می باشد.

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 می شود.

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.

pp.89-105.

4. Baron, E.J., Finegold, S.M. (1990) Diagnostic Microbiology. 8th ed. The C.V. Mosby Company. Torento, 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 autocalaved water-soluble wheat extracts on the growth of *Clostridum 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 irradaition 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 entertidis 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. Perventive 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 Requirment 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 morpholigical 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 hulless barley varieties in young pigs. Livestock Production Sci. 71: 109-120.

J.Vet.Res. 64,1: 55-61, 2009

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]

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

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

[3] *Animal Science Research Institute, Karaj, Karaj-Iran.*

[4]*Department of Animal ScienceFaculty 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 tratments, 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(21days old), but at 49 days of age, caecal *Lactobacilus* 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 usefull 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**