



## مطالعه تأثیر جایگزینی پودر ضایعات مرغ بجای پودر ماهی در جیره غذایی بر ساختار بافت‌شناسی روده تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*)

زهرا بصیر<sup>۱</sup>، رحیم پیغان<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup> گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

<sup>۲</sup> گروه علوم درمانگاهی و قطب علمی بهداشت ماهیان گرمابی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

تاریخ دریافت: ۱۲ مهر ماه ۱۴۰۰، تاریخ پذیرش: ۱۰ آذر ماه ۱۴۰۰

doi 10.22059/jvr.2021.321319.3143

 20.1001.1.20082525.1400.76.4.10.4

### چکیده

**زمینه مطالعه:** ماهی تیلاپیلا (*Oreochromis niloticus*) همه چیز خوار و از گونه‌های مهم پرورشی در دنیا است و در سال‌های اخیر در ایران نیز پرورش تیلاپیلا آغاز شده است. در ضمن در پرورش آبزیان تنظیم یک جیره غذایی متعادل از نظر مواد غذایی مورد نیاز رشد و مناسب از نظر اقتصادی اهمیت بسیار زیادی دارد. **هدف:** هدف اصلی از مطالعه حاضر تأثیر جایگزینی پودر ضایعات مرغ بجای پودر ماهی در سطوح ۰، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد در جیره غذایی بر ساختار بافتی قسمت‌های مختلف روده تیلاپیای نیل بوده است.

**روش کار:** تعداد ۷۵ قطعه ماهی (سه تکرار در هر تیمار) به مدت ۸ هفته در سطوح ۰، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد از پودر ضایعات مرغ بجای پودر ماهی در جیره غذایی خود استفاده کردند. پس از طی شدن دوره پرورش از قسمت‌های ابتدایی، میانی و انتهایی روده نمونه‌گیری و تحت مراحل معمول بافت‌شناسی و رنگ‌آمیزی‌های هماتوکسیلین-انوزین، پرئودیک اسیدشیف و تکنیک ایمونوهیستوشیمی TUNEL قرار گرفتند.

**نتایج:** در مطالعات هیستومتری بیشترین ارتفاع پرز، ضخامت طبقه عضلانی و تعداد سلول‌های جامی در بافت روده مربوط به گروه کنترل و کمترین مقدار در گروه جایگزینی ۱۰۰ درصد گزارش گردید. در مطالعات ایمونوهیستوشیمی تعداد سلول‌های آپوپتوز شده در گروه‌های جایگزینی ۷۵ و ۱۰۰ درصد بیشتر از سایر گروه‌های دیگر بوده است.

**نتیجه‌گیری نهایی:** با توجه به نتایج مطالعه حاضر می‌توان اذعان داشت که جایگزینی پودر ضایعات مرغ بجای پودر ماهی تا سطح ۵۰ درصد برای تیلاپیای نیل قابل تحمل بوده، اما در موارد بالاتر از این حد باعث کاهش جذب، کاهش مقبولیت پذیرش غذا و اثرات نامطلوب بر رشد و افزایش وزن را به دنبال خواهد داشت.

**کلمات کلیدی:** پودر ضایعات مرغ، پودر ماهی، بافت‌شناسی روده، تیلاپیلا، جیره غذایی

کپی‌رایت © تحقیقات دامپزشکی: دسترسی آزاد؛ کپی‌برداری، توزیع و نشر برای استفاده کامل با ذکر منبع آزاد است.

**نویسنده مسئول:** زهرا بصیر، گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

پست الکترونیکی: z.basir@scu.ac.ir

### مقدمه

خوار می‌باشند (۴،۹). به‌طور کلی در تکثیر و پرورش آبزیان تغذیه نقش مهم و اساسی در نگهداری سلامت و بازده بالای آبزی پروری دارد. کیفیت و کمیت جیره غذایی بین آنابولیسیم برای ذخیره و کاتابولیسیم برای تولید انرژی می‌تواند اثرگذار باشد. ترکیبات غذایی مورد استفاده در آبزیان را از نظر تولید انرژی می‌توان به دو دسته انرژی‌زا (پروتئین‌ها، چربی‌ها و

ماهی تیلاپیلا از خانواده سیکلیده ماهیان و از راسته سوف‌ماهیان است که دارای گونه‌های متفاوتی می‌باشد و در میان گونه‌های مهم تیلاپیلا در دنیا تولید و پرورش تیلاپیای نیل بیشترین میزان را دارد (۶). تیلاپیلاها قدرت رشد خوبی را در انواع مختلف سیستم‌های پرورشی مانند استخرهای خاکی، تانک‌های بتونی و قفس از خود نشان می‌دهند و همچنین این ماهیان همه‌چیز

## مواد و روش کار

### ماهیان مورد استفاده و نحوه نگهداری: تعداد ۷۵

قطعه ماهی تیلایای نیل با میانگین وزنی اولیه  $11/14 \pm 42/22$  گرم و طول استاندارد  $11/13 \pm 14/28$  به طور تصادفی به ۵ گروه با سه تکرار تقسیم بندی شدند. ماهیان هر تیمار در آکواریوم های جداگانه مجهز به سیستم هوادهی، تخلیه آب مرکزی، شیرهای تنظیم آب و هوا و همچنین سیستم گرمایشی رهاسازی شدند (۲۲). در مدت ۸ هفته دوره آزمایش، تغذیه ماهیان ۲ بار در روز در ساعات ۱۰ صبح و ۵ بعد از ظهر تا حد سیری انجام شد (۱). در مطالعه حاضر برای ماهیان ۵ جیره غذایی آزمایشی با حفظ سطح پروتئینی ۴۵ درصد (پروتئین مورد نیاز برای رشد تیلایا (۶)) تعریف شد و در آن جیره گروه های آزمایشی دارای نسبت های مختلفی از پودر ضایعات مرغ بجای پودر ماهی بودند. در مرحله ساخت جیره، ابتدا مقادیر مورد نیاز هر کدام از مواد برای هر گروه توسط ترازوی دیجیتال با دقت یک گرم توزین شد (جدول ۱، ۲). اقلامی که در جیره ذرات ریزتری داشتند از جمله آرد سفید (شرکت آرد سفید جنوب، اهواز)، مکمل مواد معدنی (شرکت خوراک دام مازندران، ساری)، مکمل ویتامینی (شرکت خوراک دام مازندران، ساری)، ضد قارچ (شرکت آرین دام البرز، ایران)، نمک، اکسید کروم با یکدیگر به خوبی مخلوط شد و مخلوط حاصل با اقلام دارای ذرات درشت جیره (پودر سویا، پودر ماهی، پودر ضایعات مرغ) ترکیب شدند. در پایان به مخلوط حاصل به صورت متوالی آب و سپس کمی روغن سویا اضافه شد تا این که یک خمیر همگن بدست آمد، خمیر حاصل به وسیله چرخ گوشت چرخ و برای خشک شدن به مدت ۲۴ ساعت در معرض جریان هوا قرار داده شد تا رطوبت موجود در آن به کمتر از ۱۰ درصد رسید و سپس این رشته ها خرد و پلت شدند.

فاکتورهای فیزیکی شیمیایی آب در دو نوبت صبح و ظهر اندازه گیری شد به طوری که در طی دوره پرورش میزان آمونیاک  $0/1$  (قسمت در میلیون)، نیتريت  $0/02$  (قسمت در میلیون)، نیترات  $5$  (قسمت در میلیون)، سختی کل  $180$  (میلی گرم در لیتر)،  $8-8/4$  pH، شوری کل  $1/2$  (قسمت در ترلیون)، دما  $24 \pm 2$  (درجه سانتی گراد) ثبت شد. در مطالعه حاضر از آب لوله کشی شهری کلرزدايي شده استفاده گردید و در طول مدت نگهداری آب آکواریوم ها به میزان ۲۰ درصد حجم آب هر ۲ روز

کربوهیدرات ها) و غیر انرژی زا (پیش مخلوط ویتامین ها و مواد معدنی) تقسیم بندی کرد (۲، ۱۱). از آنجا که پروتئین ها در شرایط معمول در غذای آبزیان گران ترین قسمت جیره غذایی می باشند، در عین حفظ تنظیم کیفیت جیره به حداقل رساندن استفاده از آن ها نکته قابل اهمیتی می باشد (۱۷، ۲۰). اقلام غذایی مختلفی جهت جایگزینی مناسب در جیره غذایی آبزیان مورد مطالعه قرار گرفته است که از جمله منابع پروتئین حیوانی می توان به محصولات جانبی ماهی، حیوانات اهلی و خانگی مانند پودر پر، پودر خون، پودر استخوان، پودر ضایعات مرغ و از منابع پروتئین گیاهی می توان به پودر سویا، کنجد، کلزا و غیره اشاره کرد (۹، ۱۳، ۱۴، ۲۰). پودر ضایعات مرغ به عنوان یک منبع پروتئینی دارای مقدار مناسبی از لیپید (۱۵-۱۲ درصد) و پروتئین خام (۵۸-۶۵ درصد) می باشد و بجای پودر ماهی که یکی از اقلام گران قیمت جیره است می تواند تا حدودی جایگزین شود (۱۲، ۱۷).

پودر ضایعات مرغ یکی از مهم ترین منابع پروتئینی حیوانی است که به دلیل محتوای بالای آن در اسیدهای آمینه ضروری، اسیدهای چرب، ویتامین ها و مواد معدنی، به طور کلی مواد خوراکی با کیفیت، تقاضای زیادی به عنوان خوراک آبزیان پیدا کرده است (۱۲). بر اساس مطالعات انجام شده مشخص گردید که از نظر ماکروسکوپی و میکروسکوپی تفاوت های قابل ملاحظه ای در شکل و عملکرد بافت روده در میان گونه های مختلف ماهیان اعم از همه چیزخوار، زئوپلانکتون خوار و فیتوپلانکتون خوار دیده می شود (۱۰، ۱۸). به طور کلی ساختار بافت شناسی روده در گونه های مختلف ماهیان بر اساس نوع غذا، رفتارهای تغذیه ای و شکل بدن متفاوت بوده به طوری که حتی در یک گونه نیز برحسب محل زندگی، فصل، سن و زمان تولیدمثل تغییراتی در آن مشاهده می شود (۵، ۱۵، ۱۹). با توجه به این که تاکنون مطالعه ای در ارتباط با مطالعه تأثیر جایگزینی پودر ضایعات مرغ بجای پودر ماهی با درصد های ذکر شده در جیره غذایی بر ساختار بافتی روده تیلایای نیل صورت نگرفته است، مطالعه حاضر جهت نیل به این هدف انجام شده تا از نتایج آن بتوان در مراکز تحقیقاتی و تکثیر و پرورش تیلایا، برای استفاده از سایر منابع پروتئینی در جیره روزانه به منظور کاهش دادن هزینه و در عین حال رسیدن به بهترین بازده مورد استفاده قرار گیرد.

هیستومورفولوژی و هیستومتری به کمک میکروسکوپ نوری (Olympus، ژاپن) مجهز به دوربین داینولیت (Dino-Eye، تایوان) و سیستم کامپیوتری مجهز به نرم افزار داینوکیچر مورد مطالعه قرار گرفت. به منظور شمارش سلول‌های آپوپتوتیک ۱۰ میدان دید میکروسکوپی با بزرگنمایی (۴۰۰×) به صورت کاملاً تصادفی انتخاب و در حدود ۱۰۰ سلول شمارش شد. در نهایت شاخص آپوپتوز طبق فرمول ذیل برای هر گروه تعیین گردید.  
 $100 \times \text{تعداد کل سلول‌ها} / \text{تعداد سلول‌های آپوپتوز شده} = \text{شاخص آپوپتوز}$

در مطالعات مورفومتری در طول ۱۰۰ میکرومتر از نواحی مختلف روده ارتفاع پرز (میکرومتر)، ضخامت طبقه عضلانی (میکرومتر) و تعداد سلول‌های جامی (تعداد) در هریک از گروه‌ها ثبت و میانگین آن‌ها محاسبه شد.

**تجزیه و تحلیل آماری:** کلیه محاسبات آماری، پس از اندازه‌گیری فاکتورهای مورد مطالعه با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۱ و با آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) و سپس آزمون توکی انجام گرفت. در نهایت نتایج در سطح معنی‌داری ( $P \leq 0/05$ ) ارائه شد (۵).

یک بار از ناحیه کف آکواریوم سیفون و تعویض شد تا مواد دفعی آن‌ها خارج شود.

**مطالعات بافت‌شناسی:** پس از پایان دوره پرورش از هر تیمار ۵ قطعه ماهی بعد از بیهوشی به وسیله پودر گل‌میخک نمونه‌برداری و بیومتری آن‌ها انجام گرفت. محوطه شکمی ماهیان باز شد و نمونه‌هایی به ضخامت حداکثر ۵ میلی‌متر از نواحی قدامی، میانی و خلفی روده هر یک از آن‌ها برداشت و پس از ثبوت در محلول فرمالین بافر ۱۰ درصد (مرک، آلمان) و انجام روش معمول تهیه مقاطع بافتی، رنگ‌آمیزی‌های هماتوکسیلین-اُوزین (H&E)، پرئودیک اسید شیف (PAS) جهت تشخیص بهتر کربوهیدرات‌ها، سلول‌های جامی و تکنیک ایمونوهیستوشیمی (TUNEL) (Terminal Deoxynucleotidyl Transferase dUTP Nick End Labeling) جهت تعیین سلول‌های دچار مرگ برنامه‌ریزی شده روی آن‌ها انجام شد. در مطالعه حاضر برای تکنیک ایمونوهیستوشیمی و روش انجام تست TUNEL از کیت مخصوص تانل (Roche، آلمان) و طبق دستور کارخانه سازنده استفاده شد (۱۶، ۱۹). سپس ساختار بافتی روده به روش

جدول ۱. درصد اجزای غذایی مورد استفاده در جیره‌های مختلف.

جیره‌های آزمایشی	کنترل	۲۵ درصد پودر ضایعات مرغ	۵۰ درصد پودر ضایعات مرغ	۷۵ درصد پودر ضایعات مرغ	۱۰۰ درصد پودر ضایعات مرغ
پودر ماهی	۴۵	۳۳/۷۵	۲۲/۵	۱۱/۲۵	۰
پودر ضایعات مرغ	۰	۱۱/۲۵	۲۲/۵	۳۳/۷۵	۴۵
آرد سویا	۱۱	۱۱	۱۱	۱۱	۱۱
آرد گندم	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲
گلوتن	۹/۵	۹/۵	۹/۵	۹/۵	۹/۵
روغن ماهی	۸	۸	۸	۸	۸
روغن سویا	۸	۸	۸	۸	۸
آنتی‌اکسیدان	۰/۰۴۶	۰/۰۴۶	۰/۰۴۶	۰/۰۴۶	۰/۰۴۶
پیش مخلوط ویتامینی	۱/۵۷	۱/۵۷	۱/۵۷	۱/۵۷	۱/۵۷
پیش مخلوط معدنی	۱/۵۷	۱/۵۷	۱/۵۷	۱/۵۷	۱/۵۷
ال-کارنتین	۰/۰۵	۰/۰۵	۰/۰۵	۰/۰۵	۰/۰۵
متیونین	۱/۵	۱/۵	۱/۵	۱/۵	۱/۵
لایزین	۱/۵	۱/۵	۱/۵	۱/۵	۱/۵
ضد قارچ	۰/۱۸۶	۰/۱۸۶	۰/۱۸۶	۰/۱۸۶	۰/۱۸۶
مجموع	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰

جدول ۲. آنالیز پودر ضایعات مرغ و پودر ماهی مورد استفاده در جیره‌های مختلف.

جیره‌های آزمایشی	پروتئین (درصد)	چربی (درصد)	کربوهیدرات (درصد)	رطوبت (درصد)	خاکستر (درصد)	فیبر (درصد)	TVN (۱۰۰ گرم/گرم)
پودر ماهی	۶۵/۳۵	۱۰/۲۵	۱/۴۴	۱/۲۲	۹/۳۵	۱/۶۵	۹۳/۲۸
پودر ضایعات مرغ	۶۱/۳۳	۱/۰۵	۲/۴۵	۶/۲۱	۷/۲۲	۲/۱۱	۷۵/۴۴

جدول ۳. اندازه‌گیری فاکتورهای مورد مطالعه در قسمت‌های متفاوت روده در جیره‌های مختلف.

جیره‌های آزمایشی	کنترل	۲۵ درصد	۵۰ درصد	۷۵ درصد	۱۰۰ درصد
ارتفاع پرز ابتدایی روده	۳۲۵/۲۲±۴۳/۲۴ <sup>a</sup>	۳۲۲/۲۶±۴۱/۲۴ <sup>a</sup>	۳۲۰/۱۸±۳۹/۳۱ <sup>a</sup>	۳۰۱/۱۴±۳۴/۱۱ <sup>b</sup>	۲۷۸/۲۴±۳۳/۴۱ <sup>c</sup>
ارتفاع پرز میانی روده	۳۰۵/۱۲±۴۱/۲۵ <sup>a</sup>	۳۰۱/۱۸±۳۳/۱۵ <sup>a</sup>	۲۹۹/۱۵±۳۳/۶۵ <sup>a</sup>	۲۸۰/۱۵±۳۱/۶۷ <sup>b</sup>	۲۷۱/۱۳±۳۳/۱۷ <sup>c</sup>
ارتفاع پرز انتهایی روده	۲۸۲/۵±۳۴/۲۸ <sup>a</sup>	۲۷۱/۱۸±۳۲/۳۸ <sup>a</sup>	۲۶۸/۲±۳۳/۲۳ <sup>a</sup>	۲۵۱/۲±۳۰/۱۳ <sup>b</sup>	۲۱۰/۲۱±۳۳/۱۱ <sup>c</sup>
ضخامت طبقه عضلانی ابتدایی روده	۱۶۸/۳۲±۱۸/۲۸ <sup>a</sup>	۱۶۲/۲۴±۱۹/۳۸ <sup>a</sup>	۱۶۰/۲۲±۱۸/۳۳ <sup>a</sup>	۱۵۱/۲۷±۱۸/۲۷ <sup>b</sup>	۱۴۱/۱۷±۱۶/۲۲ <sup>c</sup>
ضخامت طبقه عضلانی میانی روده	۱۷۸/۱۲±۱۵/۱۸ <sup>a</sup>	۱۷۲/۲۲±۱۴/۲۸ <sup>a</sup>	۱۷۰/۲۳±۱۷/۳۸ <sup>a</sup>	۱۵۶/۲۲±۱۵/۳۳ <sup>b</sup>	۱۴۴/۲۱±۱۸/۳۱ <sup>c</sup>
ضخامت طبقه عضلانی انتهایی روده	۱۶۵/۱۱±۱۵/۲۲ <sup>a</sup>	۱۶۰/۲۱±۱۲/۳۸ <sup>a</sup>	۱۵۶/۲۱±۲۲/۴۸ <sup>a</sup>	۱۴۳/۲۷±۲۴/۳۹ <sup>b</sup>	۱۳۳/۲۲±۲۹/۳۱ <sup>c</sup>
تعداد سلول‌های جامی ابتدایی روده	۲۸/۳۷±۶/۵۱ <sup>a</sup>	۲۷/۳۱±۶/۶۴ <sup>a</sup>	۲۷/۱۱±۵/۱۴ <sup>a</sup>	۱۹/۲۱±۴/۳۴ <sup>b</sup>	۱۵/۲۷±۴/۲۴ <sup>c</sup>
تعداد سلول‌های جامی میانی روده	۳۳/۴۷±۶/۵۶ <sup>a</sup>	۳۰/۱۷±۶/۶۶ <sup>a</sup>	۲۹/۱۴±۶/۲۲ <sup>a</sup>	۲۱/۲۴±۵/۳۲ <sup>b</sup>	۱۴/۲۲±۵/۵۷ <sup>c</sup>
تعداد سلول‌های جامی انتهایی روده	۴۷/۲۷±۴/۵۲ <sup>a</sup>	۴۵/۱۷±۳/۱۲ <sup>a</sup>	۴۳/۱۲±۳/۳۳ <sup>a</sup>	۳۹/۱۱±۳/۱۳ <sup>b</sup>	۲۹/۱۷±۳/۴۳ <sup>c</sup>

(حروف متفاوت در هر ردیف بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار در سطح  $P \leq 0.05$  می‌باشد).

استوانه‌ای ساده کاسته شده ولی در مقایسه با قسمت‌های ابتدایی و میانی بر تعداد سلول‌های جامی بین سلول‌های پوششی افزوده شده بود. همچنین در این ناحیه لایه پارین نسبت به قسمت‌های ابتدایی و میانی روده نازک‌تر شده و عضله مخاطی نیز قابل تمایز نبود. در قسمت انتهایی روده لایه عضلانی نیز از ضخامت کمتری نسبت به دو ناحیه دیگر برخوردار بود. در مقایسه بین نتایج حاصل از مطالعات هیستومورفومتری تمام تیمارها در نواحی مختلف روده بیشترین ارتفاع پرز، ضخامت طبقه عضلانی و تعداد سلول‌های جامی مربوط به گروه کنترل بوده اما با گروه‌های ۲۵ و ۵۰ درصد پودر ضایعات مرغ درصد اختلاف معنی‌داری نداشت ( $P \geq 0.05$ ). گروه ۱۰۰ درصد پودر ضایعات مرغ دارای کمترین مقدار در کلیه فاکتورهای اندازه‌گیری شده و دارای اختلاف معنی‌داری نسبت به گروه‌های قبلی بود ( $P \leq 0.05$ ) (تصویر ۱، جدول ۳).

در ارزیابی نتایج حاصل از مطالعات ایمونوهیستوشیمی مقاطع بافتی تهیه شده به کمک تکنیک TUNEL سلول‌هایی که دچار آپوپتوز شده بودند، رنگ زرد تا قهوه‌ای بخود گرفتند. پس از شمارش و ثبت این سلول‌ها در تمام گروه‌ها و مقایسه آن‌ها مشخص شد که در دو گروه ۷۵ و ۱۰۰ درصد پودر ضایعات مرغ، تعداد سلول‌های آپوپتوز شده نسبت به سایر گروه‌ها بیشتر شده بود ( $P \leq 0.05$ ) (جدول ۴، تصویر ۲).

## نتایج

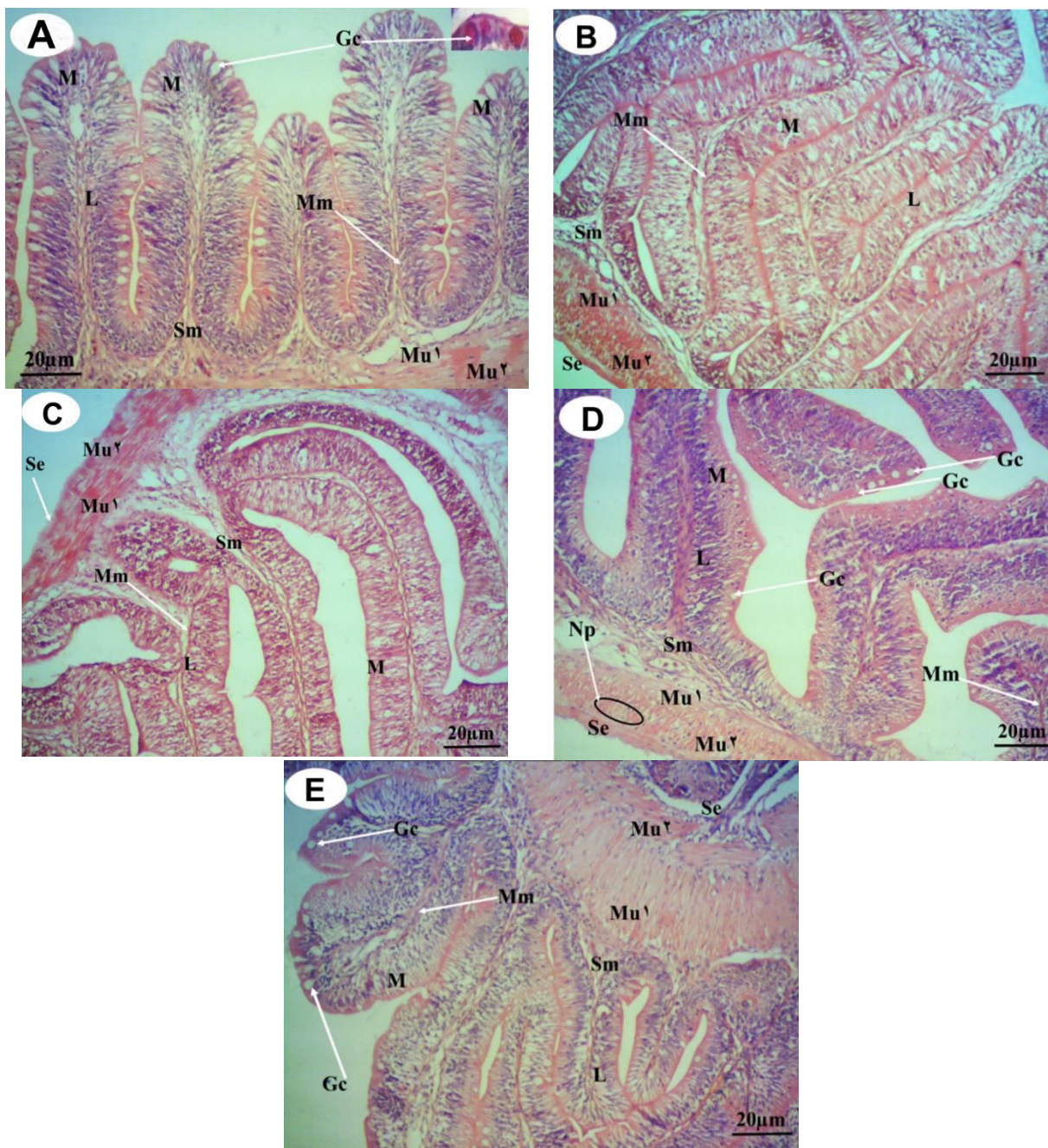
پس از پایان دوره پرورش مشخص شد که بالاترین وزن  $11/23 \pm 126/62$  گرم و طول نهایی برابر  $1/22 \pm 16/18$  سانتی‌متر مربوط به گروه کنترل و کمترین وزن و طول نهایی به ترتیب برابر  $11/41 \pm 86/42$  گرم و  $1/14 \pm 15/18$  سانتی‌متر مربوط به گروه ۱۰۰ درصد پودر ضایعات مرغ گزارش گردید. پس از مطالعات میکروسکوپی، روده ماهی تیلاپیا مشخص شد که دیواره روده از داخل به خارج دارای بافت پوششی، بافت همبند پارین حاوی عروق و عضله مخاطی، زیرمخاط حاوی عروق خونی و اعصاب و طبقه عضلانی قرار داشت. طبقه عضلانی خود از دو لایه حلقوی ضخیم درونی و لایه طولی نازک بیرونی تشکیل شده بود. خارجی‌ترین لایه در هر سه قسمت روده به وسیله بافت همبند ظریف سرورز با پوشش سنگفرشی ساده به همراه بافت همبند پوشیده شده بود. در قسمت ابتدایی روده لایه مخاطی دارای چین‌های بلندی بود که با سلول‌های پوششی استوانه‌ای ساده و سلول‌های جامی شکل پراکنده مفروش شده بود. همچنین در مطالعات میکروسکوپی بخش میانی روده نیز این چین‌های مخاطی به نسبت کوتاه‌تر با بافت پوششی استوانه‌ای ساده و سلول‌های جامی شکل و لایه پارین ضخیم‌تر مشاهده گردید. اما در قسمت انتهایی روده چین‌های مخاطی کوتاه و کمتر شده و حتی از ارتفاع سلول‌های پوششی



جدول ۴. بررسی شاخص آپوتوز در گروه‌های مختلف مورد مطالعه در قسمت‌های متفاوت روده.

جیره‌های آزمایشی	کنترل	۲۵ درصد پودر ضایعات مرغ	۵۰ درصد پودر ضایعات مرغ	۷۵ درصد پودر ضایعات مرغ	۱۰۰ درصد پودر ضایعات مرغ
ابتدای روده	۹/۷ <sup>a</sup>	۱۰/۳ <sup>a</sup>	۱۳/۵ <sup>b</sup>	۲۱/۳ <sup>c</sup>	۲۵/۷ <sup>d</sup>
میانی روده	۱۲/۱ <sup>a</sup>	۱۳/۲۲ <sup>a</sup>	۱۷/۶ <sup>b</sup>	۲۵/۴ <sup>c</sup>	۳۲/۳ <sup>d</sup>
انتهایی روده	۱۶/۶ <sup>a</sup>	۱۷/۳۶ <sup>a</sup>	۲۲/۴ <sup>b</sup>	۳۱/۸ <sup>c</sup>	۳۵/۱ <sup>d</sup>

(حروف متفاوت در هر ردیف بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار در سطح  $P \leq 0.05$  می‌باشد).



تصویر ۱. ساختار بافت‌شناسی بخش ابتدایی، میانی و انتهایی روده ماهی تیلاپیا تغذیه شده توسط جیره‌های مختلف قسمت ابتدایی روده گروه کنترل (A)، قسمت میانی روده گروه ۲۵ درصد پودر ضایعات مرغ (B)، قسمت انتهایی روده گروه ۵۰ درصد پودر ضایعات مرغ (C)، قسمت میانی روده گروه ۷۵ درصد پودر ضایعات مرغ (D)، قسمت انتهایی روده گروه ۱۰۰ درصد پودر ضایعات مرغ (E). لایه مخاطی (M)، پارین (L)، عضله مخاطی (Mm)، لایه زیرمخاط (Sm)، طبقه عضلانی شامل بخش داخلی به صورت حلقوی (Mu1)، بخش خارجی به صورت طولی (Mu2)، شبکه عصبی (Np)، سلول‌های جامی (Gc) و لایه سروزی (Se) قابل مشاهده می‌باشند (H&E، 200×).

شکل‌گیری ساختار بافت‌های زنده ضروری می‌باشد. به طور کلی پروتئین در جیره غذایی آبزیان یک ماده غذایی ضروری است که برای تضمین رشد کافی و سلامتی آن‌ها باید در سطوح مناسب تأمین شود (۱،۸). محققین بیان کرده‌اند که آنچه حائز اهمیت می‌باشد ایجاد و حفظ نسبت مناسب پروتئین به انرژی در جیره غذایی است زیرا انرژی مورد نیاز باید در اختیار ماهی باشد تا پروتئین جیره برای رشد مورد استفاده قرار گیرد. به عبارت دیگر استفاده از منابع انرژی غیر پروتئینی مانند لپید و کربوهیدرات جهت تأمین نیاز ماهی به انرژی، موجب کاهش متابولیسم و اکسیداسیون اسیدهای آمینه و در پی آن افزایش مصرف پروتئین جیره جهت رشد می‌شود (۱). از نظر مطالعات هیستوفیزیولوژی مشخص شد که آمینواسیدها، اسیدهای چرب و گلوکز به طور عمده به وسیله قسمت قدامی روده و ماکرومولکول‌ها، آب و مواد معدنی در بخش خلفی روده جذب خواهند شد (۷). محققین با مطالعه بر روی گونه‌های مختلف آبزیان با جیره‌های متفاوت بیان کردند که با تغییر در نوع پروتئین جیره ارتفاع پرز، ضخامت بافت عضلانی و تعداد سلول‌های موکوسی در روده تغییر می‌یابد (۱۱،۱۴،۱۸). پیش از این نیز در یک مطالعه مشابه، مشاهده شده بود که در جایگزینی دانه‌های کتان بجای پودر ماهی در غلظت‌های مختلف، بیشترین تغییرات در غلظت بالاتر بدست آمده بود (۱۴). مطالعات ایمونوهیستوشیمی مقاطع بافتی قسمت‌های سه‌گانه روده در جیره‌های مختلف در این مطالعه نشان داد که تعداد سلول‌های پوششی که دچار آپوپتوز شده بودند در گروه‌های ۷۵ و ۱۰۰ پودر ضایعات مرغ که میزان بالاتری از پودر ضایعات مرغ دریافت کرده بودند، به مراتب بیشتر از سه گروه دیگر بوده است. آپوپتوز یک نوع مرگ سلولی است که در شرایط طبیعی سبب حذف سلول‌های پیر، اضافی، مضر و آسیب‌دیده می‌شود (۱۶). از طرفی آپوپتوز باعث تکامل و هم‌مستسازی بافت‌های بدن نیز می‌شود (۷). محققین بیان کردند که وجود یک تغذیه نامتعادل برای جانور می‌تواند به صورت فیزیولوژیک و یا پاتولوژیک باعث تولید رادیکال‌های آزاد و پس از آن موجب شکستگی ماده وراثتی سلول‌ها و جلوگیری از تکامل طبیعی آن‌ها و عامل شروع کننده فرآیند آپوپتوز باشد (۲۱). براساس نتایج این مطالعات می‌توان چنین بیان کرد که جایگزینی پودر ضایعات مرغ تا حد ۵۰ درصد بجای پودر ماهی در جیره غذایی تیلاپای نیل دارای اثرات نامطلوبی از لحاظ قابلیت جذب مواد غذایی و عملکرد رشد در این ماهی نبوده



تصویر ۲. نمای میکروسکوپی از ساختار ایمونوهیستوشیمی روده ماهی تیلاپای نیل گروه ۱۰۰ درصد پودر ضایعات مرغ، پیکان نشان دهنده سلول‌های آپوپتوز شده حاوی DNA قطعه قطعه شده با لکه‌های زرد قهوه‌ای (100×).

## بحث

بررسی پاسخ‌های بافت‌شناسی روده معیار مناسبی جهت ارزیابی ارزش‌های تغذیه‌ای یک جیره غذایی در آبزیان به شمار می‌آید (۱۱،۱۴). با توجه به این که در حال حاضر نیازهای تغذیه‌ای بیشتر گونه‌های ماهیان پرورشی هنوز شناخته شده نیست، بنابراین مطالعه تأثیر تغذیه‌های مختلف در ماهیان به‌ویژه ماهیان پرورشی بسیار ضروری به نظر می‌رسد (۱۸). مطالعات نشان داده که تغییر در ارقام ریز تغذیه‌ای در جیره‌های غذایی می‌تواند توانایی ماهی را در برابر بیماری‌های عفونی تغییر دهد (۱۹). تغذیه مناسب شامل حضور ماکرونوترینت‌ها، میکرونوترینت‌ها، آمینواسیدها، اسیدهای چرب، ویتامین‌ها و عناصر کمیاب برای بهبود سلامتی و پیشگیری از بیماری‌ها در محیط‌های پرورش آبزیان ضروری است (۸). براساس نتایج به‌دست آمده از مطالعه حاضر مشخص گردید که ساختار کلی روده در ماهی تیلاپای نیل تا حد زیادی با ساختار این بافت در سایر ماهیان استخوانی شباهت داشته و تنها تفاوت‌هایی در شکل قسمت‌های مختلف و اندازه آن‌ها وجود داشت. براساس مطالعه اخیر در تمام گروه‌ها ارتفاع پرز و ضخامت طبقه عضلانی از ابتدا به سمت انتهای روده کاهش یافته و همچنین بر تعداد سلول‌های جامی به طرف قسمت انتهایی روده افزوده گردید. با توجه به تغییر نوع پروتئین جیره از پودر ماهی به پودر ضایعات مرغ در تیلاپیا و نتایج بدست آمده در ساختار میکروسکوپی روده می‌توان بیان کرد که انرژی و پروتئین جیره غذایی برای



شماره پژوهانه SCU.VB1400.103 انجام پذیرفته است که بدین وسیله نویسندگان از همکاری آن‌ها و تمام عزیزانی که در این مطالعه ما را یاری نمودند، تشکر و قدردانی می‌نمایند.

### تعارض منافع

بین نویسندگان تعارض در منافع گزارش نشده است.

است و می‌توان با تغییراتی در بالانس ترکیبات جیره غذایی از ایجاد ضایعات احتمالی آن جلوگیری کرد.

### سپاسگزاری

مطالعه حاضر برگرفته از طرح تحقیقاتی و حمایت مالی معاونت محترم پژوهشی و فناوری دانشگاه شهید چمران اهواز با

### References

- Abdul-Halim, H.H., Aliyu-Paiko, M., Hashem, R. (2014). Partial replacement of fish meal with poultry by product in diet for snake head, *Chanastriat* (Bloch, 1993) fingerlings. *J World Aquac Soc*, 45(2), 233-241. <https://doi.org/10.1111/jwas.12112>
- Amiripour, L., Abdi, R., Movahedinia, A., Sahraian, MR. (2015). Study of Liver and Intestine Tissue Structure in Orange Spotted Grouper (*Epinephelus coioides*) During Larval Development. *J Oceanogr*, 6(23), 87-92. <http://joc.inio.ac.ir/article-1-854-en.html>
- Bocina, Z., Santic, I., Restovi, C., Topi, S. (2017). Histology of the digestive system of the garfish *Belone belone* (Teleostei: Belontiidae). *Euro Zoo J*, 84, 89-95. <https://doi.org/10.1080/11250003.2016.1276977>
- Day, R.D., Tibbetts, I.R., Secor, S.M. (2014). Physiological responses to short-term fasting among herbivorous, omnivorous, and carnivorous fishes. *J Comp Physiol B*, 184, 497-512. <https://doi.org/10.1007/s00360-014-0813-4> PMID: 24604291
- Dostani Dezfoli, M., Rajabzadeh Ghatrami, E., Abdi, R. (2020). Effects of sodium diformate and citric acid on body composition, serum enzymes activity and alimentary canal tissue of the juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *J Aquat Anim N*, 5(2), 27-38. <https://doi.org/10.22124/janb.2020.15896.1082>
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). (2018b). Nile tilapia - Nutritional requirements. *Aquaculture Feed and Fertilizer Resources Information System*. Rome, Italia.
- Germano, R.M., Stabille, S.R., Mari, R.B. (2014). Morphological characteristics of the *Pterodoras granulosus* digestive tube (Valenciennes, 1821). *Acta Zoo*, 95, 166-175. <https://doi.org/10.1111/azo.12016>
- Gomez, D., Sunyer, I. (2013). The mucosal immune system of fish: the evolution of tolerating commensals while fighting pathogens. *Fish Shellfish Immun*, 35(6), 1729-1739. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2013.09.032> PMID: 24099804
- Hassaan, M.S., Goda, M.A.S., Kumar, V. (2017). Evaluation of nutritive value of fermented deoiled Physic nut, *Jatropha curcas* seed meal for Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* fingerlings. *Aquac Nutr*, 23(3), 571-584. <https://doi.org/10.1111/anu.12424>
- Hasanzadeh, S., Abdi, R., Salari- Ali Abadi, M.A., Movahedinia, A., Basir, Z. (2018). Comparative histomorphology of esophagus and intestine in two carnivorous and phytoplankton feeder fish of Persian Gulf. *J Ani Env*, 10(4), 381-388. (In Persian)
- He, M., Li, X., Poolsawat, L., Guo, Z., Yao, W., Zhang, C., Leng, X. (2020). Effects of fish meal replaced by fermented soybean meal on growth performance, intestinal histology and microbiota of largemouth bass (*Micropterus salmoides*). *Aquac Nutr*, 26(4), 1058-1071. <https://doi.org/10.1111/anu.13064>
- Hill, J.C., Alam, M.S., Watanabe, W.O., Carroll, P.M., Seaton, P.J., Bourdelais, A.J. (2019). Replacement of menhaden fish meal by poultry by-product meal in the diet of juvenile red porgy. *N Am J Aquac*, 81(1), 81-93. <https://doi.org/10.1002/naaq.10074>
- Jalali, S., Kiani, M., Jalali, S., Pourreza, J. (2019). The effect of replacement of fish oil by soybean or canola oils with l-carnitine supplement on growth performance of rainbow trout, *oncorhynchus mykiss*. *J Vet Res*, 74(1), 117-126. <https://doi.org/10.22059/jvr.2019.216668.2522>
- Liu, H., Dong, X., Tan, B., Du, T., Zhang, S., Yang, Y., Chi, S., Yang, O., Liu, H. (2020). Effects of fish meal replacement by low-gossypol cottonseed meal on growth performance, digestive enzyme activity, intestine histology and inflammatory gene expression of silver sillago (*Sillagosihama forsskal*) (1775). *Aquac Nutr*, 26(5), 1724-1735. <https://doi.org/10.1111/anu.13123>
- Moradkhani, A., Abdi, R., Salari-Ali Abadi, M.A., Nabavi, S., Basir, Z. (2020). Quantification and description of gut-associated lymphoid tissue in, shabbout, *Arabibarbus grypus* (actinopterygii: cypriniformes: cyprinidae), in warm and cold season. *Acta Ichthyol Piscat*, 50(4), 423-432. <https://doi.org/10.3750/AIEP/02910>
- Morovvati, H., Nikpour, Y., Zolgharneine, H., Ronagh, M., Abdi, R., Roshan, A. (2012). Histological changes in the liver of reared spotted scat (*Scatophagus argus* L.) after exposure to mercury. *Com Clin Path*, 21(5), 745-753. <https://doi.org/10.1007/s00580-010-1168-1>
- Pares-Sierra, G., Durazo, E., Ponce, M.A., Badillo, D., Correa-Reyes, G.C., Viana, M.T. (2012). Partial to total replacement of fishmeal by poultry by-product meal in diets for juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and their effect on fatty acids from muscle tissue and the time required to retrieve the effect. *Aquac Res*, 12, 24-36. <https://doi.org/10.1111/are.12092>
- Roshanfekar, K.h., Abdi R., Salari-Ali Abadi M.A., Basir Z. (2018). The impact of spent mushroom compost and fertilizer on changes of intestinal tissue of cultured warm water species. *J Anim Physiol Dev*, 4(32), 11-25. (In Persian)
- Solovyev, M.M., Campoverde, C., Öztürk, S., Moreira, C., Diaz, M., Moyano, F.J., Estévez, A., Gisbert, E. (2016). Morphological and functional description of the development of the digestive system in meagre (*Argyrosomus regius*): An Integr Approach *Aquac*, 464, 381-391. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.07.008>

20. Thompson, K.R., Metts, L.S., Muzinic, L.A., Dasgupta, S., Webster, C.D., Brady, Y.J. (2007). Use of turkey meal as a replacement for menhaden fish meal in practical diets for sunshine bass grown in cages. *N Am J Aquac*, 69(4), 351-359. <https://doi.org/10.1577/A07-007.1>
21. Wang, Y., Zhao, H., Liu, Y., Li, J., Nie, X., Huang, P., Xing, M. (2021). Environmentally relevant concentration of

sulfamethoxazole-induced oxidative stress-cascaded damages in the intestine of grass carp and the therapeutic application of exogenous lycopene. *Env Pollu*, 274, 116597. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.116597> PMID: [33540255](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33540255/)





## The Effect of Replacement of Poultry by-Product with Fish Meal in the Diet of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) on their Intestine Histology

Zahra Basir<sup>1</sup>, Rahim Peyghan<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

<sup>2</sup> Department of Clinical Sciences and Excellence center of Warm Water Fish Health and Diseases, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

doi [10.22059/jvr.2021.321319.3143](https://doi.org/10.22059/jvr.2021.321319.3143)

Received: 4 October 2021, Accepted: 1 December 2021

### Abstract

**BACKGROUND:** Tilapia, *Oreochromis niloticus*, is an omnivorous and important breeding species in the world. Over the recent years, tilapia breeding has begun in Iran. In aquaculture, it is very important to regulate a balanced diet in terms of nutrients needed for growth, which would be also economically appropriate.

**OBJECTIVES:** The main objective of this study was to investigate the effect of substituting chicken waste powder in the diet of fish at levels of 0, 25, 50, 75, and 100 % on the tissue structure of different parts of the intestine of Nile tilapia.

**METHODS:** 75 fish (three frequency per treatment) were fed with chicken waste powder instead of fish meal in their diet for eight weeks at 0, 25, 50, 75, and 100 % levels. At the end of the treatment, separate samples were taken from the initial, middle, and end parts of the intestine. After passing the usual histological steps, the slides were assessed by hematoxylin-eosin staining and TUNEL immunohistochemistry technique.

**RESULTS:** In histometric studies, the highest villi height, thickness, muscle layer, and number of goblet cells were reported in the control group and the lowest in the 100 % group. In immunohistochemical studies, the number of apoptotic cells in groups 75 and 100 % was higher than that in the other groups.

**CONCLUSIONS:** According to the results of the present study, it could be suggested that the replacement of chicken waste powder instead of a fish meal up to 50 % for indigo tilapia is tolerable. However, higher levels of chicken waste powder will reduce absorption, and acceptance of food and have adverse effects on growth.

**Keywords:** Poultry by-product, Fish meal, Intestine histology, Tilapia, Diet

Copyright © 2020. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-4.0 International License which permits Share, copy and redistribution of the material in any medium or format or adapt, remix, transform, and build upon the material for any purpose, even commercially.

Corresponding author's email: z.basir@scu.ac.ir Tel/Fax: 0613-3331160/0613-33360807

### How to cite this article:

Basir, Z., Peyghan, R. (2022). The Effect of Replacement of Poultry by-Product with Fish Meal in the Diet of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) on their Intestine Histology. J Vet Res, 76(4), 467-475.  
<https://doi.org/10.22059/jvr.2021.321319.3143>

### Figure Legends and Table Captions

**Table 1.** Percentage of nutrients used in different diets.

**Table 2.** Analysis of poultry by-product powder and fish meal used in different diets.

**Table 3.** Measurement of the studied factors in different parts of the intestine ( $P \geq 0.05$ ).

**Table 4.** Apoptosis index in different groups ( $P \geq 0.05$ ).

**Figure 1.** The histological structure of the initial, middle, and end of the intestine (H&E, 200×). The initial part of the intestine of the control group (A), the middle part of the intestine of the group PBM 25 % (B), the end part of the intestine of the group PBM 50 % (C), the middle part of the intestine of the group PBM 75 % (D), the end part of the intestine of the group PBM 100 % (E). Mucosal layer (M), lamina propria (L), Mucosal muscle (Mm), Submucosal layer (Sm), Muscular layer including inner annular (Mu1), outer longitudinal (Mu2), Neural plexus (Np), Goblet cells (Gc), and Serous layer (Se) are visible.

**Figure 2.** The immunohistochemical structure of the intestine of Nile tilapia PBM 100 %. Apoptotic cells were demonstrated with containing DNA fragmented with yellow-brown spots (Arrow) (100×).