

تأثیر جیره‌های غنی شده با پروبیوتیک، پری‌بیوتیک و کنجاله سویا تخمیری بر عملکرد، مورفولوژی روده و جمعیت سالمونلا در جوجه‌های گوشتی چالش یافته با سالمونلا تیفی-موریوم

• حسین محب‌الدینی (نویسنده مسئول)

استادیار گروه علوم دامی، دانشگاه محقق اردبیلی.

• وحید جزئی

دانش‌آموخته مقطع کارشناسی ارشد تغذیه طیور، دانشکده علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان.

• اکرم شبانی

دانش‌آموخته مقطع دکتری تغذیه طیور، دانشکده علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان.

• امین عشایری‌زاده

دانش‌آموخته مقطع دکتری تغذیه طیور، دانشکده علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان.

• رضا برکتین

دانش‌آموخته مقطع دکتری تغذیه طیور، موسسه تحقیق و توسعه، دانشگاه آدلاید استرالیا.

تاریخ دریافت: آبان ۱۳۹۷ تاریخ پذیرش: شهریور ۱۳۹۸

شماره تماس نویسنده مسئول: ۰۹۱۴۴۵۵۹۹۵۴

Email: mohebodini@yahoo.com

شناسه دیجیتال (DOI): 10.22092/asj.2019.124243.1813

چکیده

هدف از این مطالعه بررسی اثرات جیره‌های غنی شده با پروبیوتیک، پری‌بیوتیک و کنجاله سویای تخمیری بر عملکرد، مورفولوژی روده و جمعیت سالمونلا در جوجه‌های گوشتی مواجهه یافته با سالمونلا تیفی‌موریوم بود. تعداد ۴۵۰ قطعه جوجه گوشتی سویه راس ۳۰۸ در قالب طرح کاملاً تصادفی به ۵ تیمار آزمایشی با ۶ تکرار و هر تکرار با ۱۵ جوجه اختصاص داده شد. تیمارهای آزمایشی شامل (۱) جیره پایه (بر اساس ذرت و کنجاله سویا) و بدون مواجهه با سالمونلا (شاهد منفی)، (۲) جیره پایه و مواجهه یافته با سالمونلا (شاهد مثبت)، (۳) جیره پایه بعلاوه ۰/۰۲ درصد پروبیوتیک، (۴) جیره پایه بعلاوه ۰/۲ درصد پری‌بیوتیک و (۵) جیره حاوی کنجاله سویای تخمیری بودند. جوجه‌های تمامی گروه‌ها به جز شاهد منفی در پایان روز سوم پرورش، با سالمونلا تیفی‌موریوم از طریق دهان چالش داده شدند. نتایج آزمایش نشان داد که در مقایسه با گروه شاهد مثبت، تغذیه جیره‌های حاوی پروبیوتیک، پری‌بیوتیک و کنجاله سویای تخمیری سبب بهبود چشمگیر فراسنجه‌های عملکرد جوجه‌های چالش یافته شد ($P < 0/05$). در ۷ و ۱۴ روز پس از چالش، درصد آلودگی در تیمارهای پروبیوتیک، پری‌بیوتیک و کنجاله سویای تخمیری کمتر از تیمار شاهد مثبت، بود. ارتفاع پرز و نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت در دئودنوم و ژژنوم گروه شاهد مثبت کمتر از سایر گروه‌های چالش یافته بود ($P < 0/05$). به طور کلی، نتایج نشان داد که استفاده از کنجاله سویای تخمیری، پروبیوتیک و پری‌بیوتیک در جیره غذایی می‌تواند سبب بهبود عملکرد رشد، مورفولوژی روده و کاهش کلونیزاسیون سالمونلا در جوجه‌های گوشتی مواجهه با سالمونلا تیفی‌موریوم گردد. بنابراین، کنجاله سویای تخمیری به دلیل داشتن نقشی شبیه به پروبیوتیک‌ها و پری‌بیوتیک‌ها در کنترل آلودگی‌های سالمونلایی می‌تواند به عنوان یک منبع پروتئینی فرآسودمند در تغذیه جوجه‌های گوشتی مورد توجه قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: باکتری‌های اسید لاکتیکی، تخمیر میکروبی، سلامت روده، سالمونلا.

Animal Science Journal (Pajouhesh & Sazandegi) No 128 pp: 83-96

Impact of fortification of diets with probiotic, prebiotic and fermented soybean meal on performance, intestinal morphology, and Salmonella population in broiler chickens challenged with *Salmonella typhimurium*

1: *Mohebodini, H. Assistant Professor, Department of Animal Science, University of Mohaghegh Ardabili

2: Jazi, V. MSc., Department of Animal Nutrition, Faculty of Animal Science, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

3: Shabani, A. Ph.D, Department of Animal Nutrition, Faculty of Animal Science, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

4: Ashayerizadeh, A. Ph.D, Department of Animal Nutrition, Faculty of Animal Science, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

5: Barekatin, R. Assistant Professor, Department of Animal Science, Research and Development Institute, Roseworthy Campus, University of Adelaide, Roseworthy, Australia

Received: November 2018

Accepted: September 2019

The aim of this study was to investigate the effects of fortification of diets with probiotic and prebiotic with fermented soybean meal on performance, intestinal morphology and Salmonella population in broiler chickens exposed to *Salmonella typhimurium*. A total of 450 Ross 308 broiler chickens were allocated into 5 experimental treatments with 6 replicates of chicks each using a completely randomized design. Experimental treatments included: 1) basal diet (corn and soybean meal) without exposure to salmonella (negative control), 2) basal diet and exposed to Salmonella (positive control), 3) basal diet plus 0.02% probiotic, 4) basal diet plus 0.2% prebiotic and 5) diet containing fermented soybean meal. All chicks except negative control were orally challenged with *Salmonella typhimurium* at the end of 3 d of rearing. The results showed that in compared to positive control group, feeding diets containing probiotic, prebiotic and fermented soybean meal significantly improved performance parameters in challenged chicks ($P < 0.05$). At d 7 and 14 post-challenge, the percentage of contamination in probiotic, prebiotic, and fermented soybean meal treatments were less than positive control treatment. Villus height and villus height ratio to crypt depth in duodenum and jejunum of positive control group were lower compared with other challenged groups ($P < 0.05$). In general, the results indicated that the use of fermented soybean meal, probiotic and prebiotic in diet could improve the growth performance, intestinal morphology and reduce colonization of salmonella in broiler chickens exposed to *Salmonella typhimurium*. Therefore, fermented soybean meal due to having a similar role to probiotics and prebiotics in controlling salmonella contamination, could be considered as a functional protein source in broiler chickens feeding.

Key words: Lactic acid bacteria, Microbial fermentation, Intestinal health, Salmonella.

مقدمه

برخوردار است (Rajani و همکاران، ۲۰۱۶). این موضوع سبب شده است تا محققین با بکارگیری راه کارهای تغذیه ای نظیر تغییر فرمولاسیون جیره و یا استفاده از مواد افزودنی به عنوان عاملی بالقوه بتوانند استراتژی مناسبی را در جهت کاهش آلودگی سالمونلایی در دستگاه گوارش حیوانات اتخاذ کنند (Ashayerizadeh و همکاران، ۲۰۱۷). در ابتدا استفاده از آنتی بیوتیک ها به عنوان گزینه مناسب برای کنترل و درمان

یکی از شایع ترین سروتیپ های سالمونلا، سالمونلا تیفی موریوم^۱ است که به عنوان مهم ترین عامل مسمومیت با منشأ غذایی (غذازاد) در انسان مطرح می باشد و معمولاً از طریق محصولات آلوده طیور نظیر گوشت و تخم مرغ منتقل می شود. از این رو، کنترل شیوع عفونت ناشی از سالمونلا تیفی موریوم در گله های طیور، جهت حفظ امنیت غذایی محصولات، کاهش عفونت های دستگاه گوارش و متعاقباً کاهش مرگ و میر از اهمیت ویژه ای

منحصر بفرد خوراک‌های تخمیری بسیار شبیه به نقش پروبیوتیک-ها و پری‌بیوتیک‌ها در بهبود سلامت دستگاه گوارش می‌باشد (Chiang و همکاران، ۲۰۱۰). از سوی دیگر، در گزارشات مختلفی اثرات مثبت تکنیک تخمیر میکروبی بر کاهش سطح ترکیبات ضد تغذیه ای محصولات پروتئینی و بهبود ارزش تغذیه-ای آنها تأیید شده است (Gao و همکاران، ۲۰۱۳؛ Kook و همکاران، ۲۰۱۴؛ Jazi و همکاران، ۲۰۱۷). کنجاله سویا مرسوم-ترین و ایده آل ترین منبع پروتئینی در تهیه خوراک طیور است. با این وجود، کنجاله سویا دارای فاکتورهای ضدتغذیه‌ای نظیر بازدارنده تریپسین، پلی ساکاریدهای غیرنشاسته ای و اسید فایتیک است که تأثیر سوئی بر هضم و جذب مواد مغذی خوراک می-گذارد. Feng و همکاران (۲۰۰۷) گزارش نمودند که کاهش مقدار فعالیت بازدارنده تریپسین در کنجاله سویا در اثر تخمیر با قارچ *آسپرژیلوس اورایزا*^۲ سبب بهبود عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی شد. اخیراً، Jazi و همکاران (۲۰۱۸b) در پژوهشی تأثیر کنجاله سویای تخمیری بر فلور میکروبی دستگاه گوارش بلدرچین‌های ژاپنی را مورد ارزیابی قرار دادند. این محققین بیان داشتند که استفاده از محصولات تخمیری در تغذیه بلدرچین‌ها سبب افزایش جمعیت باکتری‌های اسید لاکتیکی در چینه‌دان و کاهش کلی فرم‌ها در سکوم می‌شود. با این حال، اطلاعات بسیار محدودی پیرامون تأثیر استفاده از خوراک‌های تخمیری در تغذیه جوجه های گوشتی در مواجهه با سالمونلا وجود دارد. همچنین با توجه به اینکه محصولات تخمیری می‌توانند در دستگاه گوارش دارای نقشی شبیه به مکمل های پروبیوتیکی و پری‌بیوتیکی باشند، این آزمایش با هدف مقایسه اثربخشی پروبیوتیک، پری‌بیوتیک و کنجاله سویا تخمیری بر عملکرد، مورفولوژی روده و جمعیت سالمونلا در جوجه‌های گوشتی چالش یافته با سالمونلا تیفی-موریوم انجام شد.

مواد و روش‌ها

در مطالعه حاضر، باکتری‌های لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس^۳ PTCC1643، لاکتوباسیلوس پلانتروم^۴ PTCC1058 و باسیلوس سابتیلیس^۵ PTCC1156 و همچنین قارچ *آسپرژیلوس*

عفونت های باکتریایی رایج شد؛ اما به دنبال افزایش نگرانی‌ها مبنی بر امکان ایجاد مقاومت و تجمع بقایای آنتی‌بیوتیک‌ها در محصولات، استفاده از این ترکیبات دارویی در تغذیه طیور ممنوع شد (Cheng و همکاران، ۲۰۱۴). سپس استفاده از جایگزین‌های آنتی‌بیوتیکی نظیر پروبیوتیک‌ها، پری‌بیوتیک‌ها و اسیدهای آلی به دلیل تأثیر مثبت بر تعادل فلور میکروبی دستگاه گوارش توجه زیادی را به خود معطوف کرد (دانشیار و همکاران، ۱۳۹۳؛ Jazi و همکاران، ۲۰۱۸a). اثرات مفید پروبیوتیک‌ها و پری‌بیوتیک‌ها بر شاخص‌های عملکردی و وضعیت سلامت پرندگان در مطالعات مختلفی گزارش شده است (Biloni و همکاران، ۲۰۱۳؛ Salim و همکاران، ۲۰۱۳؛ Pourabedin و همکاران، ۲۰۱۷؛ Ding و همکاران، ۲۰۱۷). با این حال، استفاده از این افزودنی‌ها به دلیل عواملی نظیر سن و نژاد طیور، ترکیب جیره، زمان مصرف، نوع این ترکیبات و همچنین میزان استفاده از آنها همیشه اثر مثبتی بر عملکرد و سلامت پرندگان نداشته است (Van der Aar و همکاران، ۲۰۱۷).

امروزه استفاده از خوراک‌های تخمیری در تغذیه به دلیل اثرات مثبت آنها بر عملکرد و سلامت عمومی حیوانات بیش از پیش مورد توجه قرار گرفته است (Niba و همکاران، ۲۰۰۹). خوراک‌های تخمیری به واسطه ویژگی‌های منحصر بفرد آنها نظیر غلظت بالای اسید لاکتیکی و حضور باکتری‌های اسید لاکتیکی می‌توانند سبب ایجاد تعادل در فلور میکروبی دستگاه گوارش حیوان شوند. ظاهراً، باکتری‌های اسید لاکتیکی و اسیدهای آلی موجود در خوراک‌های تخمیری با اسیدی کردن بخش‌های مختلف دستگاه گوارش و ترویج باکتری‌های مفید می‌توانند سبب بهبود سد دفاعی بخش‌های ابتدایی دستگاه گوارش در برابر باکتری‌های بیماری‌زا شوند که در نتیجه باعث ارتقاء سطح بهداشت دستگاه گوارش می‌شوند (Ashayerizadeh و همکاران، ۲۰۱۷). همچنین، خوراک‌های تخمیری با فراهم نمودن انرژی و مواد مغذی برای گونه‌های مفید میکروبی، می‌توانند تراکم و ترکیب جمعیت میکروبی دستگاه گوارش طیور را تغییر دهند (Niba و همکاران، ۲۰۰۹). بنابراین، این ویژگی‌های

اوریزا PTCC5163 به شکل ویال‌های لئوفیلیزه از مرکز کلکسیون قارچ و باکتری سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه و به ترتیب با استفاده از محیط‌های کشت MRS-agar^۶ و Nutrient-agar در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و PDA^۷ در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد فعال‌سازی شدند. تهیه کشت آغازگر از باکتری‌ها و قارچ، به ترتیب با استفاده از محیط‌های MRS-broth و PDA در طی انکوباسیون در دماهای ۳۷ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد انجام شد. سپس به هر کیلوگرم از کنجاله سویا، ۱ لیتر از ترکیب آب مقطر و کشت آغازگر (حاوی حداقل ۱۰^۵ واحد تشکیل کلنی در میلی‌لیتر) اضافه شد. مخلوط حاصل درون مخازن ویژه (دارای سوپاپ یکطرفه جهت خروج گازهای تولید شده و ممانعت از ورود هوا) در مدت ۷ روز در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد تخمیر شد (Wang و همکاران، ۲۰۱۴). نهایتاً، کنجاله سویا تخمیری به مدت ۳ روز در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد خشک شد. برای تعیین pH خوراک‌ها، ۲۰ گرم نمونه به داخل بشر ۲۵۰ میلی‌لیتری منتقل و به آن ۲۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر افزوده شد. سپس میزان pH به وسیله pH متر دیجیتالی (pH Meter CG 804, SCHOTT GERATE) اندازه‌گیری شد (Chiang و همکاران، ۲۰۱۰). برای تعیین جمعیت باکتری‌های اسید لاکتیک، ۱ گرم از کنجاله سویای خام و یا تخمیر شده با ۹ میلی‌لیتر محلول بافر پیتون و اتر رقیق شد و جهت ساخت سری رقیق سازی از محلول بافر پیتون و اتر استفاده شد. سپس ۰/۱ میلی‌لیتر از رقت مناسب بر روی پلیت‌های حاوی محیط کشت MRS-agar گسترش داده شد. پلیت‌ها در شرایط بی‌هوازی به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. پس از شمارش تعداد کلنی‌ها در هر پلیت، عدد حاصل در عکس رقت ضرب و نتیجه به عنوان تعداد واحد تشکیل کلنی در یک گرم نمونه گزارش شد (Ashayerizadeh و همکاران، ۲۰۱۷). همچنین، مقدار پروتئین خام در کنجاله سویای تخمیری و خام به وسیله دستگاه کج‌جلدال و مطابق با روش‌های استاندارد (۲۰۰۵) AOAC تعیین شد. برای اندازه‌گیری پروتئین خام، نمونه‌ها در فلاسک کج‌جلدال (Behr Labor-technik GmbH،

D-40599 Dusseldorf) هضم شدند و سپس با استفاده از دستگاه تقطیر اتوماتیک کج‌جلدال (wasserdampf destillierer S4, behr Labor-Technik, Dusseldorf) تقطیر با ضریب تبدیل ۶/۲۵ و توسط دستگاه تیترا تور اتوماتیک (Titro line, Schott Instruments) با اسید کلریدریک ۰/۱ نرمال تیترا شدند. فعالیت بازدارنده تریپسین بر اساس روش Smith و همکاران (۱۹۸۰) اندازه‌گیری شد و نتایج آن به صورت میلی‌گرم در هر گرم نمونه بیان شد. به طور خلاصه، در ابتدا نمونه‌ها با استفاده از اسید کلریدریک ۰/۰۵ مولار عصاره‌گیری شدند و سپس محلول حاصل به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۱۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. مقدار جذب محلول برای ارزیابی بازدارنده تریپسین به همراه ان-آلفا-بنزوئیل-دی-ال-آرژنین-نیترو آنیلید به عنوان سوبسترای ویژه توسط دستگاه اسپکتوفتومتر (HG-AAS; AA6501, Shimadzu Ltd, Japan) در طول موج ۴۱۰ نانومتر به همراه محلول بلانک قرائت شد و مقدار بازدارنده تریپسین در نمونه‌ها محاسبه گردید. نتایج مربوط به فعالیت بازدارنده تریپسین، پروتئین، pH و جمعیت باکتری‌های اسید لاکتیک در کنجاله سویا معمولی و تخمیری بر مبنای آزمون T-test و با استفاده از نرم‌افزار SAS (۲۰۰۳) آنالیز شدند.

برای بررسی تأثیر تیمارهای آزمایشی بر عملکرد و سلامت جوجه‌های گوشتی در مواجهه با سالمونلا، تعداد ۴۵۰ قطعه جوجه یکروزه سویه راس ۳۰۸ تهیه شد. در ابتدا به منظور اطمینان از سلامت کامل جوجه‌ها از نقطه نظر آلودگی به سالمونلا، بر روی ۱۰ عدد از جوجه آزمایش‌های میکروبی جستجوی سالمونلا انجام شد. برای بررسی آلودگی جوجه‌ها به سالمونلا از دستگاه گوارش آنها به ویژه روده‌ها نمونه‌گیری شد. سپس یک گرم نمونه به داخل لوله‌های استریل حاوی ۹ میلی‌لیتر محلول پیتون و اتر منتقل شد. پس از ۲۴ ساعت ۱۰۰ میکرولیتر از محلول به لوله‌های حاوی ۱۰ میلی‌لیتر محلول TSB^۸ منتقل و به مدت ۲۰ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شدند. سپس ۰/۱ میلی‌لیتر از محلول بر روی پلیت‌های حاوی محیط کشت XLT-4^۹ agar

مدفوع به داخل لوله های استریل حاوی ۹ میلی لیتر محلول پیتون و اتر منتقل شد. پس از ۲۴ ساعت ۱۰۰ میکرو لیتر از محلول به لوله های حاوی ۱۰ میلی لیتر محلول TSB منتقل و به مدت ۲۰ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد گرمخانه گذاری شدند. سپس ۰/۱ میلی لیتر از محلول بر روی پلیت های حاوی محیط کشت XLT-4 agar گسترش داده شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد در گرمخانه قرار گرفتند (Bell و Kyriakides, ۲۰۰۲). پس از خارج کردن پلیت ها، وجود و یا عدم وجود سالمونلا و مقایسه بین گروه ها انجام شد. در سن ۲۴ روزگی، برای بررسی شاخص های موفومتریك روده، ۶ پرندۀ از هر واحد آزمایشی یک پرندۀ به طور تصادفی انتخاب و از طریق جابجایی مهره های گردن کشتار شدند. پس از خارج کردن روده از بدن، نمونه هایی (با سطح مقطع ۱×۱ سانتی متر) از قسمت میانی دئودنوم، ژژنوم و ایلئوم جمع آوری شد و بعد از شستشو با سرم فیزیولوژیک و بافر فسفات به داخل ظروف استریل حاوی فرمالین ۱۰ درصد انتقال داده شد. قطعات روده تثبیت شده در محلول فرمالین درون پارافین جامد قرار گرفتند و به وسیله دستگاه میکروتوم برش داده شدند و پس از رنگ آمیزی با هما توکسیلین و انوزین بوسیله دستگاه استریومیکروسکوپ (مدل Sigma Scan, MVX10، آمریکا) با درجه بزرگنمایی ۴۰ خصوصیات پرزها بررسی شد. برای اندازه گیری ارتفاع پرز و عمق کریپت از روش Baurhoo و همکاران (۲۰۰۷) پیروی شد. صفات عملکرد شامل مصرف خوراک، افزایش وزن و ضریب تبدیل خوراک به صورت هفتگی اندازه گیری شدند. داده های مربوط به تعداد (نسبت) پرندگان آلوده به سالمونلا به کل پرندگان با روش کای مربع مورد تجزیه آماری قرار گرفتند. همچنین، داده های مربوط به تلفات پیش از تجزیه آماری به آرک سینوس ۷٪ تبدیل شدند (Daneshyar و همکاران، ۲۰۱۲). داده های آزمایش با استفاده از نرم افزار SAS (۲۰۰۳) در قالب طرح کاملاً تصادفی تجزیه واریانس شدند. مقایسه میانگین ها با استفاده از آزمون توکی در سطح آماری ۵ درصد انجام شد.

گسترش داده شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی-گراد در گرمخانه قرار گرفتند (Bell و Kyriakides, ۲۰۰۲). نیازهای تغذیه ای جوجه ها از جداول احتیاجات سویه (راس ۳۰۸) استخراج و جیره ها با استفاده از نرم افزار UFFDA^۱ تنظیم گردید. مشخصات ترکیب جیره ها برای دوره های آغازین (۱۰-۱ روزگی) و رشد (۲۴-۱۱ روزگی) در جدول ۱ ارائه شده است. گروه های آزمایشی شامل (۱) جیره پایه (بر اساس ذرت و کنجاله سویا) و بدون مواجهه با سالمونلا (شاهد منفی)، (۲) جیره پایه و مواجهه یافته با سالمونلا (شاهد مثبت)، (۳) جیره پایه بعلاوه ۰/۰۲ درصد پروبیوتیک لاکتوفید (شرکت تک ژن زیست، تهران، ایران)، (۴) جیره پایه بعلاوه ۰/۲ درصد پری بیوتیک زایلوالیگوساکارید (شرکت بیوتکنولوژی لانگ لایو، چین) و (۵) جیره حاوی کنجاله سویا تخمیری بودند که به هر گروه ۶ تکرار متشکل از ۱۵ قطعه جوجه اختصاص یافت. جوجه های تمامی گروه ها (به استثنای شاهد منفی) ۷۲ ساعت پس از رود به سالن پرورش، با ۱×۱۰^۵ واحد تشکیل دهنده کلنی در میلی لیتر کشت تازه سالمونلا تیفی موریوم ATCC14028 از طریق دهان چالش داده شدند. همچنین در همین زمان، پرندگان گروه شاهد منفی نیز ۰/۵ میلی لیتر از بافر فسفات (فاقد کشت سالمونلا) را به صورت دهانی دریافت کردند. لازم به ذکر است که نمونه هایی از خوراک و آب مصرفی نیز پیش از شروع آزمایش جهت آلودگی به سالمونلا مورد بررسی قرار گرفت. برای اطمینان از عدم گردش سالمونلا در گروه های آزمایشی، بستر همه گروه ها هر روز تعویض شد. همچنین در این راستا و به منظور نگهداری گروه شاهد منفی به صورت قرنطینه، محل این گروه جدا از سایر گروه ها بود و تمامی فعالیت های دست ورزی این گروه قبل از سایر گروه ها انجام می شد. در طی آزمایش، آب و خوراک به صورت آزاد در اختیار جوجه ها قرار داده شد و دمای سالن و سایر موارد مدیریتی پرورش بر اساس راهنمای سویه بود. در سنین ۱، ۷، ۱۴ و ۲۱ روز پس از چالش یافتن جوجه ها با سالمونلا تیفی موریوم، نمونه ای مدفوع از کلوآک جوجه ها به منظور بررسی حضور سالمونلا گرفته شد. یک گرم از نمونه های

جدول ۱- اجزا و ترکیب شیمیایی جیره غذایی جوجه‌های گوشتی در دوره آغازین و رشد

دوره رشد (۱۱ تا ۲۴ روزگی)		دوره آغازین (۰ تا ۱۰ روزگی)		مقدار اجزای خوراک (گرم در کیلوگرم)
کنجاله سویای تخمیری	کنجاله سویای خام	کنجاله سویای تخمیری	کنجاله سویای خام	
۵۴۲/۴	۵۱۰/۷	۵۳۶/۶	۵۰۵/۸	ذرت
۰	۳۹۲/۰	۰	۳۸۱/۱	کنجاله سویا
۳۶۶/۴	۰	۳۵۶/۲	۰	کنجاله سویای تخمیری
۰	۰	۳۰	۳۰	گلو تن ذرت
۵۱/۱	۵۷/۴	۳۱/۳	۳۷/۴	روغن
۷	۶/۸	۸/۳	۸/۱	کربنات کلسیم
۱۹/۲	۱۹/۲	۲۱/۳	۲۱/۲	دی کلسیم فسفات
۳	۳	۳	۳	نمک
۰/۹	۰/۹	۰/۷	۰/۷	جوش شیرین
۲/۵۰	۲/۵۰	۲/۵۰	۲/۵۰	مکمل ویتامینی ^۱
۲/۵۰	۲/۵۰	۲/۵۰	۲/۵۰	مکمل معدنی ^۲
۳/۱	۳/۱	۳/۲	۳/۲	متیونین
۰/۹	۱/۲	۲/۹	۳/۲	لیزین
۱	۰/۷	۱/۵	۱/۳	ترئونین
۱۰۰۰	۱۰۰۰	۱۰۰۰	۱۰۰۰	جمع
۳۱۰۰	۳۱۰۰	۳۰۰۰	۳۰۰۰	انرژی قابل متابولیسم ظاهری (Kcal/Kg)
۲۱/۵۳	۲۱/۵۳	۲۳/۰۸	۲۳/۰۸	پروتئین خام (%)
۰/۸۷	۰/۸۷	۰/۹۶	۰/۹۶	کلسیم (%)
۰/۴۳	۰/۴۳	۰/۴۸	۰/۴۸	فسفر قابل دسترس (%)
۰/۱۶	۰/۱۶	۰/۱۶	۰/۱۶	سدیم (%)
۰/۲۳	۰/۲۳	۰/۲۳	۰/۲۳	کلر (%)
۱/۱۵	۱/۱۵	۱/۳	۱/۳	لیزین (%)
۰/۵۹	۰/۵۹	۰/۶۴	۰/۶۴	متیونین (%)
۰/۸۷	۰/۸۷	۰/۹۴	۰/۹۴	اسیدهای آمینه گوگرددار (%)
۰/۷۷	۰/۷۷	۰/۸۶	۰/۸۶	ترئونین (%)
۰/۲۲	۰/۲۳	۰/۲۳	۰/۲۳	تریپتوفان (%)
۱/۲۶	۱/۲۸	۱/۲۸	۱/۳۰	آرژنین (%)
۰/۸۳	۰/۸۵	۰/۸۷	۰/۹۰	ایزولوسین (%)
۱/۵۷	۱/۵۸	۱/۸۲	۱/۸۳	لوسین (%)
۰/۷۸	۰/۸۳	۰/۸۷	۰/۸۸	والین (%)
۲۱۸	۲۲۱	۲۰۴	۲۰۶	تعادل کاتیون-آنیون (میلی اکی والان بر کیلوگرم)

^۱ هر ۲/۵ کیلوگرم مکمل ویتامینی تأمین کننده موارد زیر است: ۱۱۰۰۰۰۰ واحد بین المللی ویتامین A، ۱۸۰۰۰۰ واحد بین المللی ویتامین D، ۳۶۰۰۰ واحد میلی گرم ویتامین E، ۵۰۰۰ میلی-گرم ویتامین k، ۱۶۰۰ میلی گرم کوپالامین، ۱۵۳۰ میلی گرم تیامین، ۷۵۰۰ میلی گرم ریوفلاوین، ۱۲۲۴۰ میلی گرم پانتوتینیک اسید، ۳۰۴۰۰ میلی گرم نیاسین، ۱۵۳۰ میلی گرم پیریدوکسین، ۵۰۰۰ میلی گرم بیوتین و ۶۵۰ میلی گرم کولین کلراید.

^۲ هر ۲/۵ کیلوگرم از مکمل معدنی تأمین کننده مواد زیر است: ۱۶۱/۲۵ گرم منگنز، ۸۴/۵ گرم روی، ۲۵۰ گرم آهن، ۲۰ گرم مس، ۱۶۰۰ گرم ید، ۴۷۵ گرم کبالت و ۲۰ گرم سلنیوم.

نتایج و بحث

تخمیر میکروبی کنجاله سویا

افزایش تولید اسید به ویژه اسید لاکتیک، pH بستر به طور چشمگیری کاهش یافت. در آزمایش حاضر، میزان فعالیت بازدارنده تریپسین و پروتئین خام، تحت تأثیر فعالیت متابولیکی میکروارگانیزم های تخمیر قرار گرفت. همسو با این نتایج، Gao و همکاران (۲۰۱۳) گزارش نمودند که در مقایسه با کنجاله سویای معمولی، تخمیر میکروبی سبب کاهش میزان بازدارنده تریپسین و افزایش محتوای پروتئین خام کنجاله شد. کاهش میزان فعالیت بازدارنده تریپسین می تواند به دلیل تجزیه و تغییر ساختار آن و یا تغییر جایگاه فعال تریپسین باشد (Jazi و همکاران، ۲۰۱۸b). افزایش سطح پروتئین خام کنجاله سویای تخمیری در این مطالعه ممکن است به دلیل افزایش جمعیت میکروارگانیزم ها (چون بخش اعظم بیومس میکروبی از پروتئین تشکیل شده است)، فعالیت های پروتئولیتیکی میکروارگانیزم ها، ترشح آنزیم ها و یا تولید پروتئین میکروبی باشد (Ashayerizadeh و همکاران، ۲۰۱۷).

بکارگیری تکنیک تخمیر میکروبی به طور مؤثری سبب کاهش pH و بازدارنده تریپسین و افزایش جمعیت باکتری های اسید لاکتیکی و پروتئین خام در کنجاله سویای تخمیری نسبت به کنجاله سویای معمولی شد (جدول ۲، $P < 0.05$).

Wang و همکاران (۲۰۱۴) گزارش کردند که تخمیر کنجاله سویا با آسپرژیلوس اوریزا و لاکتوباسیلوس کازئی^{۱۱} سبب کاهش pH و افزایش غلظت اسید لاکتیک شد. در مطالعه حاضر، از باکتری های لاکتوباسیلوس پلاتاروم، لاکتوباسیلوس اسیدفیلوس، باسیلوس سابتیلیس و قارچ آسپرژیلوس اوریزا برای تخمیر کنجاله سویا استفاده شد. آسپرژیلوس اوریزا با مصرف اکسیژن موجود در مخزن تخمیر سبب فراهم شدن محیط بی هوازی برای رشد و تکثیر باکتری های بی هوازی شد. سپس فعالیت های زیستی باکتری ها از طریق کاهش pH سبب اختصاصی شدن شرایط محیطی برای رشد باکتری های تولید کننده اسید لاکتیک می شود. در طول دوره تخمیر با افزایش جمعیت باکتری های اسید لاکتیکی و متعاقباً

جدول ۲- میزان بازدارنده تریپسین، پروتئین خام، pH و جمعیت باکتری های اسید لاکتیکی در کنجاله سویای خام و تخمیری

معیار خطا	تیمارها		ترکیبات
	کنجاله سویای تخمیری	کنجاله سویای خام	
۰/۱۶	۰/۷۳ ^b	۲/۶۸ ^a	بازدارنده تریپسین (میلی گرم در کیلوگرم)
۰/۲۶	۴۶/۷۵ ^a	۴۴/۲۹ ^b	پروتئین خام (درصد)
۰/۰۹	۴/۰۱ ^b	۶/۱۴ ^a	pH
۰/۲۵	۱۰/۰۸ ^a	۳/۴۹ ^b	باکتری های اسید لاکتیکی (\log_{10} CFU/g)

^{a-b} در هر ردیف میانگین های با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی دار هستند ($P < 0.05$)

عملکرد

قرار گرفت. به گونه ای که کمترین مقدار مصرف خوراک روزانه و افزایش وزن روزانه و بیشترین ضریب تبدیل خوراک متعلق به پرندگان گروه کنترل مثبت (چالش یافته با سالمونلا) بود ($P < 0.05$). با این حال، استفاده از کنجاله سویا تخمیری و یا افزودنی های خوراکی پروبیوتیک و پریبیوتیک در جیره سبب

نتایج تأثیر تیمارهای آزمایشی بر شاخص های عملکرد رشد (افزایش وزن روزانه، مصرف خوراک روزانه و ضریب تبدیل خوراک) و درصد تلفات پرندگان چالش یافته با سالمونلا نیفی-موریوم در جدول ۳ ارائه شده است. شاخص های عملکرد جوجه-های گوشتی در کل دوره پرورش، تحت تأثیر چالش سالمونلایی

بهبود افزایش وزن روزانه، مصرف خوراک روزانه و ضریب تبدیل خوراک نسبت به گروه کنترل مثبت شد ($P < 0/05$). از لحاظ آماری اختلاف معنی داری میان فراسنجه‌های عملکرد در گروه دریافت کننده جیره حاوی کنجاله سویا تخمیری با گروه‌های دریافت کننده جیره‌های حاوی پروبیوتیک و پری بیوتیک مشاهده نشد ($P > 0/05$). ضریب تبدیل خوراک پرندگان تغذیه شده با جیره حاوی کنجاله سویا تخمیری تفاوت معنی داری با پرندگان گروه کنترل منفی (بدون چالش با سالمونلا) نداشت ($P > 0/05$). همچنین، نتایج این آزمایش نشان داد که چالش سالمونلایی اثر معنی داری بر میزان مرگ و میر پرندگان در تیمارهای آزمایشی نداشته است ($P > 0/05$).

اثرات منفی آلودگی‌های سالمونلایی بر عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی در گزارشات مختلفی ارائه شده است (Rajani و همکاران، ۲۰۱۶ و Ashayerizadeh و همکاران، ۲۰۱۷؛ Jazi و همکاران، ۲۰۱۸a) که در توافق با نتایج آزمایش حاضر می‌باشد. کاهش عملکرد رشد مشاهده شده در پرندگان چالش یافته با سالمونلا می‌تواند تا حدودی به دلیل کاهش اشتها و مصرف خوراک این پرندگان باشد. همچنین آلودگی سالمونلایی در پرندگان می‌تواند سبب تحریک سیستم ایمنی، به ویژه پاسخ‌های ایمنی مرتبط با مخاط روده ای شود. فعال شدن پاسخ‌های ایمنی و به دنبال آن آزاد سازی سیتوکین‌های پیش التهابی نیازمند انرژی و پروتئین بیشتری می‌باشد که می‌تواند با افزایش احتیاجات نگهداری پرندگان، رشد آنها را به طور منفی تحت تأثیر خود قرار دهد (Shao و همکاران، ۲۰۱۳). در مقابل، برخی از محققین گزارش کرده اند که چالش پرندگان با سالمونلا تیفی موریوم هیچ تأثیری بر عملکرد رشد آنها ندارد (Amerah و همکاران، ۲۰۱۲)؛ که این تفاوت ممکن است به دلیل تفاوت در سن، گونه و یا سویه حیوان، میزان دز تلقیح سالمونلا و یا ترکیبات خوراک باشد (Malago و همکاران، ۲۰۰۳). در آزمایش حاضر، استفاده از تیمارهای حاوی کنجاله سویای تخمیری، پروبیوتیک و پری-بیوتیک در مقایسه با تیمار کنترل مثبت سبب بهبود افزایش وزن و ضریب تبدیل خوراک جوجه ها شد. در رابطه با تأثیر تغذیه منابع

پروتئینی تخمیری بر عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی چالش یافته با سالمونلا گزارشات بسیار محدودی منتشر شده است. همچنین، در اکثر مطالعات هدف اصلی محققان از فرآوری میکروبی منابع پروتئینی، دستیابی به محصولات پروتئینی با کیفیت بالاتر (از طریق کاهش ترکیبات ضد تغذیه‌ای) بوده، لذا با توجه به اینکه این خوراک‌ها سرشار از باکتری‌های سودمند و سازگار با دستگاه گوارش هستند، بررسی خواص ضدباکتریایی این خوراک‌ها و مقایسه آنها با مکمل‌های پروبیوتیکی و پری بیوتیکی تا به حال مورد ارزیابی قرار نگرفته است. اخیراً، در یک مطالعه محققین دریافتند که جایگزینی ۵۰ درصدی کنجاله کلزا تخمیری با کنجاله سویا در جیره غذایی پرندگان چالش یافته با سالمونلا می‌تواند باعث بهبود عملکرد جوجه‌ها شود (Ashayerizadeh و همکاران، ۲۰۱۷). اثرات مثبت و مفید خوراک‌های تخمیری بر صفات عملکردی جوجه‌های گوشتی در شرایط بدون چالش باکتریایی در مطالعات متعددی گزارش شده است. برای مثال، Jazi و همکاران (۲۰۱۷) گزارش کردند که استفاده از سطوح ۱۰ و ۲۰ درصد کنجاله پنبه دانه تخمیری در مقایسه با کنجاله پنبه‌دانه معمولی سبب بهبود پارامترهای رشد پرندگان شد. همچنین Shabani و همکاران (۲۰۱۸) نشان دادند که جایگزینی ضایعات ماهی تخمیری با کنجاله سویا در جیره سبب بهبود افزایش وزن و ضریب تبدیل خوراک جوجه‌های گوشتی شد. در توضیح بهبود عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با کنجاله سویای تخمیری می‌توان به کاهش مقدار بازدارنده تریپسین و بهبود سطح کیفی کنجاله سویا از طریق افزایش قابلیت هضم پذیری پروتئین و اسیدهای آمینه اشاره نمود (Feng و همکاران، ۲۰۰۷؛ Sun و همکاران، ۲۰۱۴). همچنین، این نوع خوراک‌ها به دلیل دارا بودن pH پایین و میکروارگانیزم‌های مفید (نظیر باکتری‌های اسیدلاکتیکی) می‌توانند خواص پروبیوتیکی از خود نشان دهند. بنابراین تغذیه خوراک‌های تخمیری با اسیدی کردن بخش‌های مختلف دستگاه گوارش می‌تواند سبب فراهم نمودن شرایط لازم برای رشد باکتری‌های تولید کننده اسید لاکتیک شود که در نهایت باعث بهبود سلامت دستگاه گوارش می‌شود

باز یابی عملکرد رشد از دست رفته در اثر آلودگی سالمونلا شد. مشابه با این نتایج، گزارش شده است که استفاده از پری بیوتیک-های بر پایه مانان و زایلو در سطح ۰/۲ درصد در جیره غذایی سبب بهبود عملکرد جوجه های گوشتی چالش یافته با سالمونلا گردید (Rajani و همکاران، ۲۰۱۶؛ Pourabedin و همکاران، ۲۰۱۷؛ Jazi و همکاران، ۲۰۱۸a). اثرات مثبت و مفید پری-بیوتیک ها بر عملکرد رشد را می توان به تعدیل بیان سیتوکین ها، خصوصیات تخمیری این ترکیبات و همچنین ویژگی های باندشوندگی الیگوساکاریدها با باکتری های بیماری زا مرتبط دانست (Rajani و همکاران، ۲۰۱۶).

Ashayerizadeh و همکاران، ۲۰۱۷؛ Jazi و همکاران، ۲۰۱۷).

اثرات مثبت پروبیوتیک های بر پایه باکتری های اسید لاکتیک بر عملکرد رشد جوجه های گوشتی در مطالعه حاضر موافق با یافته های Biloni و همکاران (۲۰۱۳) می باشد. مهم ترین مکانیسم پروبیوتیک ها برای افزایش عملکرد رشد شامل بهبود جمعیت میکروبی دستگاه گوارش از طریق افزایش اسیدیته، تولید اسیدهای چرب کوتاه زنجیر و مهار کلونیزاسیون باکتری های بیماری زا و تعدیل پاسخ های ایمنی می باشد (نایب پور و همکاران، ۱۳۹۰؛ دانشیار و همکاران، ۱۳۹۳؛ Jazi و همکاران، ۲۰۱۸a). تغذیه پرندگان با جیره های حاوی پری بیوتیک زیلولیگوساکارید باعث

جدول ۳- تأثیر تیمارهای آزمایشی بر عملکرد (گرم) و درصد تلفات جوجه های گوشتی چالش یافته با سالمونلا تیفیموریوم در ۲۴ روزگی

معیار خطا	تیمارها				کنترل منفی	کنترل مثبت	سویای تخمیری	پروبیوتیک	پری بیوتیک
	پری بیوتیک	پروبیوتیک	سویای تخمیری	کنترل مثبت					
۰/۴۵	۳۷/۸۰ ^b	۳۸/۳۰ ^b	۳۹/۰۹ ^b	۳۴/۸۱ ^c	۴۰/۵۰ ^a	افزایش وزن روزانه			
۰/۵۵	۵۵/۶۰ ^b	۵۵/۷۳ ^b	۵۶/۵۰ ^{ab}	۵۳/۳۲ ^c	۵۷/۶۷ ^a	مصرف خوراک روزانه			
۰/۰۱	۱/۴۷ ^b	۱/۴۵ ^b	۱/۴۴ ^{bc}	۱/۵۳ ^a	۱/۴۲ ^c	ضریب تبدیل خوراک			
۰/۹۷	۲/۲۲	۳/۳۳	۲/۲۲	۳/۳۳	۱/۱۰	تلفات (/.)			

^{a-c} در هر ردیف میانگین های با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی دار هستند ($P < 0.05$)

بازیابی سالمونلا از کلواک

سویای تخمیری، پروبیوتیک و پری بیوتیک باعث کاهش میزان آلودگی سالمونلا در روزهای ۷ و ۱۴ پس از چالش شد ($P < 0.05$). در ۲۱ روز پس از چالش، تست آلودگی سالمونلا در تمامی گروه های آزمایش منفی بود ($P > 0.05$).

مشابه با نتایج آزمایش حاضر، استفاده از کنجاله کلزا تخمیری در جیره جوجه های گوشتی سبب کاهش کلونیزاسیون رودای سالمونلا در سن ۱۰ روزگی شد (Ashayerizadeh و همکاران، ۲۰۱۷). همچنین در مطالعه ی Yuan و همکاران (۲۰۱۷) جایگزینی کنجاله سویا تخمیری با کنجاله سویا در جیره سبب افزایش جمعیت باکتری های اسید لاکتیک و کاهش تعداد

نتایج تأثیر تیمارهای آزمایشی بر بازیابی سالمونلا تیفیموریوم از کلواک جوجه های گوشتی در روزهای مختلف (۱، ۷، ۱۴ و ۲۱) پس از چالش در جدول ۴ گزارش شده است. نتایج نشان داد که گروه شاهد منفی (بدون چالش با سالمونلا) از نظر وجود سالمونلا در تمامی زمان های نمونه گیری صد درصد منفی بود که بیانگر رعایت دقیق موارد بهداشتی و اصول قرنطینه بین گروه های آزمایشی است. در مقابل، یک روز پس از چالش (روز ۴ آزمایشی)، حضور سالمونلا در تمامی پرندگان چالش یافته با سالمونلا مثبت تشخیص داده شد ($P < 0.05$). با این حال، در مقایسه با گروه کنترل مثبت، استفاده از جیره های حاوی کنجاله

منافذی در غشاء سلولی باکتری‌های گرم منفی نظیر سالمونلا، سبب کاهش pH محیط داخلی سلول باکتری می‌شوند که در نتیجه موجب متوقف کردن نیروی محرک پروتون و فرآیندهای آنزیمی شده و نهایتاً سلول باکتری از بین می‌رود (Van Winsen و همکاران، ۲۰۰۱).

در مطالعه‌ی Pourabedin و همکاران (۲۰۱۷)، افزودن پری-بیوتیک زایلوالیگوساکارید به جیره جوجه‌های گوشتی چالش یافته با سالمونلا تیفی‌موریوم سبب کاهش میزان کلونیزاسیون روده‌ای سالمونلا گردید. همچنین Ding و همکاران (۲۰۱۷) گزارش کردند که استفاده از زایلوالیگوساکارید در جیره مرغهای تخمگذار سبب کاهش باکتری‌های اشریشیا کلای¹² و افزایش جمعیت بیفیدوباکتريا و افزایش غلظت بوتیریک اسید و استیک اسید در محتویات سکوم شد. این کاهش میزان کلونیزاسیون سالمونلا می‌تواند به علت کاهش pH ایجاد شده توسط اسیدهای چرب کوتاه زنجیر تولید شده و یا فراهم شدن جایگاه اتصال بر روی پری‌بیوتیک‌ها برای سالمونلا و دفع آنها از دستگاه گوارش رخ داده باشد (Ding و همکاران، ۲۰۱۷).

اشریشیا کلای در نمونه‌های مدفوع خوکچه‌ها شد. Naji و همکاران (۲۰۱۵) گزارش کردند که جمعیت لاکتوباسیلوس‌ها و کلی‌فرم‌ها در سکوم جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با خوراک‌های تخمیری به ترتیب به طور معنی داری بیشتر و کمتر از گروه شاهد بود. همچنین کاهش میزان کلونیزاسیون روده‌ای سالمونلا از طریق افزودن پروبیوتیک‌های اسیدلاکتیکی به خوراک جوجه‌های گوشتی را محققین زیادی تصدیق کرده‌اند (Biloni و همکاران، ۲۰۱۳؛ Prado-Rebolledo و همکاران، ۲۰۱۷). در رابطه با مکانیسم اثر پروبیوتیک‌ها و خوراک‌های تخمیری بر روند بهبود فلور میکروبی می‌توان عنوان نمود که خوراک‌های تخمیری به دلیل تولید اسید لاکتیک، اسیدهای چرب فرار و کاهش pH، نقش مهمی در کنترل جمعیت باکتری‌های دستگاه گوارش و همچنین ازدیاد باکتری‌های اسیدلاکتیکی دارند (Van Winsen و همکاران، ۲۰۰۱؛ دانشیار و همکاران، ۱۳۹۳). در همین راستا، Niba و همکاران (۲۰۰۹) خوراک‌های تخمیری را به دلیل داشتن خصوصیات پروبیوتیکی، "فرمیوتیک" اطلاق نمودند. بنابراین، با افزایش اسیدیته دستگاه گوارش، اسیدهای چرب از طریق تشکیل

جدول ۴- تأثیر تیمارهای آزمایشی بر بازیابی سالمونلا از کلوآک جوجه‌های گوشتی در روزهای مختلف پس از چالش

معیار خطا	تیمارها					تعداد روز پس از چالش
	پری بیوتیک	پروبیوتیک	سویای تخمیری	کنترل مثبت	کنترل منفی	
۸/۸۶	(۹۰/۹۰) ٪۱۰۰ ^a	(۹۰/۹۰) ٪۱۰۰ ^a	(۹۰/۹۰) ٪۱۰۰ ^a	(۹۰/۹۰) ^o ٪۱۰۰ ^a	(۰/۹۰) ٪۰ ^b	۱
۹/۱۲	(۴۰/۹۰) ٪۴۴ ^{ab}	(۳۳/۹۰) ٪۳۶ ^b	(۲۵/۹۰) ٪۲۷ ^b	(۶۸/۹۰) ٪۷۵ ^a	(۰/۹۰) ٪۰ ^c	۷
۵/۲۰	(۴/۹۰) ٪۱۶ ^{ab}	(۹/۹۰) ٪۱۰ ^b	(۹/۹۰) ٪۱۰ ^b	(۲۱/۹۰) ٪۲۳ ^a	(۰/۹۰) ٪۰ ^b	۱۴
-	(۰/۹۰) ٪۰	(۰/۹۰) ٪۰	(۰/۹۰) ٪۰	(۰/۹۰) ٪۰	(۰/۹۰) ٪۰	۲۱

^o در تعداد کل پرند‌های چالش داده شده / تعداد کل پرند‌های آلوده (درصد)

^{a-c} در هر ردیف میانگین‌های با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی دار هستند (P<۰/۰۵)

مورفولوژی روده

تأثیر تیمارهای آزمایشی بر پارامترهای مورفولوژی روده جوجه‌های چالش یافته با *سالمونلا تیفی موریوم* در جدول ۵ ارائه شده است. در روز ۲۴ آزمایش، مخاط روده‌ای پرندگان به موجب القاء *سالمونلا تیفی موریوم* دستخوش تغییرات قابل توجهی شد. به طوری که ارتفاع پرز و نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت در دئودنوم و ژژنوم پرندگان چالش یافته با *سالمونلا* کمتر از گروه شاهد منفی بود ($P < 0.05$). استفاده از کنجاله سویا تخمیری و یا افزودنی‌های پروبیوتیک و پری‌بیوتیک در جیره پرندگان چالش یافته با *سالمونلا* در مقایسه با پرندگان گروه شاهد مثبت سبب بهبود ارتفاع پرز و نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت شد. عمق کریپت در سایر بخش‌های روده کوچک و ارتفاع پرز و نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت در ایلئوم در تحت تأثیر چالش و تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت ($P > 0.05$).

شاخص‌های ارتفاع پرز و نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت نشانگر هضم مواد مغذی، ظرفیت جذب و همچنین سلامت روده می‌باشند. در مطالعه‌ی Rajani و همکاران (۲۰۱۶) کاهش ارتفاع پرز و نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت در هر سه ناحیه روده باریک پرندگان چالش یافته با *سالمونلا تیفی موریوم* گزارش شده است. همچنین Shao و همکاران (۲۰۱۳) نشان دادند که آلودگی جوجه‌های گوشتی با *سالمونلا تیفی موریوم* موجب کاهش ارتفاع پرز و مساحت پرزهای روده شد. در مطالعه حاضر، تغییرات بافت‌شناسی ایجاد شده در اثر چالش سالمونلایی با کاهش ارتفاع پرزها و میزان کلونیزاسیون سالمونلا تعیین شد که می‌تواند به طور مستقیم با کاهش عملکرد رشد ارتباط داشته باشد. در توضیح بهبود مورفولوژی روده جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با پری-بیوتیک زایلوالیگوساکارید، Jazi و همکاران (۲۰۱۸a) بیان کردند که الیگوساکاریدها می‌توانند سبب افزایش جمعیت باکتری‌های مفید و به دنبال آن تولید اسیدهای چرب کوتاه زنجیر

شوند که مسبب کاهش کلونیزاسیون باکتری‌های بیماری‌زا در دستگاه گوارش می‌باشند. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که استفاده از پروبیوتیک و کنجاله سویا تخمیری پس از چالش سالمونلایی باعث بهبود پارامترهای مورفولوژی روده پرندگان شد. این یافته‌ها نشان می‌دهد که استفاده از پروبیوتیک‌ها و یا خوراک‌های تخمیری در جیره جوجه‌های گوشتی می‌تواند تا حدودی آسیب‌های مخاط روده‌ای را کاهش دهد. همسو با نتایج حاضر، اثرات مثبت خوراک‌های تخمیری و پروبیوتیک‌ها در توسعه و بهبود پارامترهای مورفولوژی روده جوجه‌های گوشتی در مطالعات پیشین تأکید شده است (Feng و همکاران، ۲۰۰۷؛ Jazi و همکاران، ۲۰۱۸b؛ Salim و همکاران، ۲۰۱۳؛ Zhang و همکاران، ۲۰۱۶). با توجه به اثرات مستقیم متابولیت‌های حاصل از فلور میکروبی دستگاه گوارش بر ساختار و عملکرد روده، از مهم‌ترین دلایل بهبود مورفولوژی روده در پرندگان تغذیه شده با پروبیوتیک‌ها و کنجاله سویا تخمیری می‌توان به افزایش باکتری‌های مفید نظیر باکتری‌های اسید لاکتیکی در دستگاه گوارش اشاره کرد؛ زیرا این باکتری‌ها از طریق مکانیسم‌های نظیر تحریک تکثیر سلول‌های اپیتلیومی روده، رقابت با پاتوژن‌ها، تولید باکتریوسین‌ها، افزایش اسیدیته دستگاه گوارش از طریق تولید اسیدهای چرب کوتاه زنجیره و متعاقباً کاهش فعالیت آنزیم‌های باکتریایی و تولید آمونیاک، مانع از آسیب به مخاط روده می‌شوند (Salim و همکاران، ۲۰۱۳؛ Baurhoo و همکاران، ۲۰۰۷). بعلاوه، یکی دیگر از دلایل بهبود مورفولوژی روده در پرندگان تغذیه شده با کنجاله سویای تخمیری احتمالاً کاهش میزان ترکیبات ضدتغذیه‌ای موجود در کنجاله سویا نظیر آنتی‌ژنیک و آلرژنیک‌ها باشد. این ترکیبات با ایجاد التهاب در روده می‌توانند در عملکرد روده اختلال ایجاد کنند (Jazi و همکاران، ۲۰۱۸b).

جدول ۵- تأثیر تیمارهای آزمایشی بر موفولوژی روده جوجه‌های گوشتی چالش یافته با سالمونلا تیفیموریوم در ۲۴ روزگی

معیار خطا	تیمارها					
	پری بیوتیک	پروبیوتیک	سویای تخمیری	کنترل مثبت	کنترل منفی	
						دئودنوم
۹/۴۶	۸۳۶ ^b	۸۴۰ ^b	۸۴۶ ^b	۷۸۴ ^c	۸۹۵ ^a	ارتفاع پرز (میکرومتر)
۴/۰۶	۱۸۳	۱۸۱	۱۸۵	۱۹۱	۱۸۲	عمق کریپت (میکرومتر)
۰/۰۷	۴/۵۸ ^b	۴/۶۳ ^b	۴/۵۷ ^b	۴/۱۰ ^c	۴/۹۱ ^a	ارتفاع پرز: عمق کریپت
						ژوژنوم
۱۱/۲۳	۵۴۱ ^b	۵۴۹ ^b	۵۵۳ ^b	۴۶۴ ^c	۵۹۸ ^a	ارتفاع پرز (میکرومتر)
۲/۵۸	۱۴۰	۱۴۳	۱۳۹	۱۳۶	۱۴۱	عمق کریپت (میکرومتر)
۰/۰۵	۳/۸۵ ^b	۳/۸۴ ^b	۳/۹۶ ^b	۳/۴۰ ^c	۴/۲۴ ^a	ارتفاع پرز: عمق کریپت
						ایلنوم
۱۱/۱۲	۳۸۷	۴۰۴	۳۹۳	۳۸۱	۴۱۵	ارتفاع پرز (میکرومتر)
۴/۱۰	۱۲۳	۱۲۰	۱۱۸	۱۱۷	۲۱۰	عمق کریپت (میکرومتر)
۰/۱۰	۳/۱۴	۳/۳۸	۳/۳۲	۳/۲۴	۳/۴۸	ارتفاع پرز: عمق کریپت

^{a-d} در هر ردیف میانگین‌های با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی‌دار هستند ($P < 0.05$)

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این آزمایش نشان داد که استفاده از کنجاله سویا تخمیری، پروبیوتیک و پری بیوتیک باعث بهبود عملکرد رشد، کاهش میزان کلونیزاسیون سالمونلا و سلامت روده جوجه‌های گوشتی پس از چالش با سالمونلا تیفیموریوم شد. به طور کلی، استفاده از کنجاله سویا تخمیری در جیره علاوه بر نقشی شبیه به افزودنی‌های خوراکی در کنترل آلودگی‌های سالمونلایی می‌تواند به عنوان یک منبع پروتئینی فرآسودمند در برنامه‌های تغذیه‌ای فاقد آنتی-بیوتیک برای جوجه‌های گوشتی مورد توجه قرار گیرد.

پاورقی‌ها

- 1- *Salmonella typhimurium*
- 2- *Aspergillus oryzae*
- 3- *Lactobacillus acidophilus*
- 4- *Lactobacillus plantarum*
- 5- *Bacillus subtilis*
- 6- Potato Dextrose Agar (PDA)
- 7- Modified Rogosa broth (MRS-broth)
- 8- Trypticase Soy broth (TSB)
- 9- Xylose Lysine Tergitol-4 Agar
- 10- User-Friendly Feed Formulation Done Again (UFFDA)
- 11- *Lactobacillus casei*
- 12- *Escherichia coli*

منابع

- intestinal morphology of broiler chickens. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*. 23: 263-271.
- Daneshyar, M., Kermanshahi, H. and Golian, A. (2012). The effects of turmeric supplementation on antioxidant status, blood gas indices and mortality in broiler chickens with T3-induced ascites. *British Poultry Science*. 53: 379-385.
- Ding, X.M., Li, D.D., Bai, S.P., Wang, J.P., Zeng, Q.F., Su, Z.W. and Zhang, K. Y. (2017). Effect of dietary xylooligosaccharides on intestinal characteristics, gut microbiota, cecal short-chain fatty acids, and plasma immune parameters of laying hens. *Poultry Science*. 97: 874-881.
- Gao, Y.L., Wang, C.S., Zhu, Q.H. and Qian, G.Y. (2013). Optimization of solid-state fermentation with *Lactobacillus brevis* and *Aspergillus oryzae* for trypsin inhibitor degradation in soybean meal. *Journal of Integrative Agriculture*. 12: 869-876.
- Feng, J., Liu, X., Xu, Z.R., Wang, Y.Z. and Liu, J.X. (2007). Effects of fermented soybean meal on digestive enzyme activities and intestinal morphology in broilers. *Poultry Science*. 86: 1149-1154.
- Jazi, V., Boldaji, F., Dastar, B., Hashemi, S.R. and Ashayerizadeh, A. (2017). Effects of fermented cottonseed meal on the growth performance, gastrointestinal microflora population and small intestinal morphology in broiler chickens. *British Poultry Science*. 58: 402-408.
- Jazi, V., Foroozandeh, A. D., Toghyani, M., Dastar, B., Rezaie Koochaksaraie, R. and Toghyani, M. (2018a). Effects of *Pediococcus acidilactici*, mannan-oligosaccharide, butyric acid and their combination on growth performance and intestinal health in young broiler chickens challenged with *Salmonella Typhimurium*. *Poultry science*. 97: 2034-2043.
- Jazi, V., Ashayerizadeh, A., Toghyani, M., Shabani, A., Tellez, G. and Toghyani, M. (2018b). Fermented soybean meal exhibits probiotic properties when included in Japanese quail diet in replacement of soybean meal. *Poultry Science*. 97: 2113-2122.
- Kook, M.C., Cho, S. C., Hong, Y.H. and Park, H. (2014). *Bacillus subtilis* fermentation for enhancement of feed nutritive value of soybean meal. *Journal of Applied Biological Chemistry*. 57: 183-188.
- Malago, J.J., Koninkx, J.F.J.G., Ovelgonne, H.H., van Asten, F.J.A.M., Swennenhuis, J.F. and van Dijk, J.E. (2003). Expression levels of heat shock proteins in enterocyte-like Caco-2 cells after exposure to *Salmonella enteritidis*. *Cell Stress Chaperones*. 8: 194-203.
- دانشیار، م.، احمد آلی، ا.، عنایتی، د. (۱۳۹۳). افزودنی‌های خوراکی و محرک های رشد در تغذیه طیور، انتشارات آموزش و ترویج کشاورزی. صفحه ۴۴-۱۰۵.
- بیات پور، م.، فرهمند، پ.، دانشیار، م. (۱۳۹۰). بررسی عملکرد و سیستم ایمنی هومورال (تیر پادتن در مقابل واکسن گامبورو، غلظت سرولوپلاسمین و نسبت هتروفیل به لنفوسیت) جوجه های گوشتی تغذیه شده با سطوح مختلف پروبیوتیک و روغن سویا. نشریه دامپزشکی. صفحه ۶۷-۷۵.
- AOAC. (2005). Association of official analytical chemists. 2005. 21th ed. Gaithersburg, M. D.: AOAC International.
- Amerah, A.M., Mathis, G. and Hofacre, C.L. (2012). Effect of xylanase and a blend of essential oils on performance and *Salmonella* colonization of broiler chickens challenged with *Salmonella enterica*. *Poultry Science*. 91: 943-947.
- Ashayerizadeh, A., Dastar B., Shams Shargh M., Sadeghi Mahoonak, A. and Zerehdaran, S. (2017). Fermented rapeseed meal is effective in controlling *Salmonella enterica serovar Typhimurium* infection and improving growth performance in broiler chicks. *Veterinary Microbiology*. 201: 93-102.
- Baurhoo, B., Phillip, L. and Ruiz-Feria. C.A. (2007). Effects of purified lignin and mannan oligosaccharides on intestinal integrity and microbial populations in the caeca and litter of broiler chickens. *Poultry Science*. 86: 1070-1078.
- Bell, C. and Kyriakides, A. (2002). *Salmonella*: a practical approach to the organism and its control in foods, Blackwell Publishing Ltd., Oxford, GB.
- Biloni, A., Quintana, C.F., Menconi, A., Kallapura, G., Latorre, J., Pixley, C. and Hargis, B.M. (2013). Evaluation of effects of EarlyBird associated with FloraMax-B11 on *Salmonella Enteritidis*, intestinal morphology, and performance of broiler chickens. *Poultry science*. 92: 2337-2346.
- Cheng, G., Hao, H., Xie, S., Wang, X., Dai, M., Huang, L. and Yuan. Z. (2014). Antibiotic alternatives: the substitution of antibiotics in animal husbandry? *Frontiers in Microbiology*. 4: 137-156.
- Chen, L., Madl, R.L. and Vadlani, P.V. (2013). Nutritional enhancement of soy meal via *Aspergillus oryzae* solid-state fermentation. *Cereal Chemistry*. 90: 529-534.
- Chiang, G., Lu, W.Q., Piao, X.S., Hu, J.K. Gong, L.M. and Thacker, P.A. (2010) Effects of feeding solid-state fermented rapeseed meal on performance, nutrient digestibility, intestinal ecology and

- Naji, S., Al-Zamili, I. and Al-Gharawi, J. (2015). The effect of feed wetting and fermentation on the intestinal flora, humoral and cellular immunity of broiler chicks. *International Journal of Advanced Research*. 3: 87-94.
- Niba, A.T., Beal, J.D., Kudi, A.C. and Brooks, P.H. (2009). Bacterial fermentation in the gastrointestinal tract of non-ruminants: influence of fermented feeds and fermentable carbohydrates. *Tropical Animal Health and Production*, 41: 1393-1407.
- Pourabedin, M., Chen, Q., Yang, M. and Zhao, X. (2017). Mannan-and xylooligosaccharides modulate caecal microbiota and expression of inflammatory-related cytokines and reduce caecal *Salmonella Enteritidis* colonisation in young chickens. *FEMS Microbiology Ecology*. 93: 226-234.
- Prado-Rebolledo, O.F., Delgado-Machuca, J.D.J., Macedo-Barragan, R.J., Garcia-Marquez, L.J., Barrera, M.J.E., Latorre, J.D., Hernandez-Velasco, X. and Tellez, G. (2017). Evaluation of a selected lactic acid bacteria-based probiotic on *Salmonella enterica serovar Enteritidis* colonization and intestinal permeability in broiler chickens. *Avian Pathology*. 46: 90-94.
- Rajani, J., Dastar, B., Samadi, F., Karimi Torshizi, M.A., Abdulkhani, A. and Esfandyarpour, S. (2016). Effect of extracted galactoglucomannan oligosaccharides from pine wood (*Pinus brutia*) on *Salmonella Typhimurium* colonisation, growth performance and intestinal morphology in broiler chicks. *British Poultry Science*. 57: 682-692.
- Salim, H.M., Kang, H.K., Akter, N., Kim, D.W., Kim, J.H., Kim, M.J., Na, J.C., Jong, H.B., Choi, H.C., Suh, O.S. Kim, W.K. (2013). Supplementation of direct-fed microbials as an alternative to antibiotic on growth performance, immune response, cecal microbial population, and ileal morphology of broiler chickens. *Poultry Science*. 92: 2084-2090.
- SAS Institute, SAS User's Guide. (2003) Version 9.1 edition. SAS Institute Inc, Cary, NC.
- Shabani, A., Boldaji, F., Dastar, B., Ghoorchi, T., and Zerehdaran, S. (2018). Preparation of fish waste silage and its effect on the growth performance and meat quality of broiler chickens. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 98: 4097-4103.
- Shao, Y., Guo, Y. and Wang, Z. (2013). β -1, 3/1, 6-Glucan alleviated intestinal mucosal barrier impairment of broiler chickens challenged with *Salmonella enterica serovar Typhimurium*. *Poultry Science*. 92: 1764-1773.
- Smith, C., Van Megen, W. Twaalfhoven, L. and Hitchcock, C. (1980). The determination of trypsin inhibitor levels in foodstuffs. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 31: 341-350.
- Sun, H., Yao, X., Wang, X., Wu, Y., Liu, Y., Tang, J. and Feng, J. (2014) Chemical composition and in vitro antioxidant property of peptides produced from cottonseed meal by solid-state fermentation. *Cyta-Journal of Food*. 13: 264-272.
- Van der Aar, P.J., Molist, F. and Klis, J.D. (2017). The central role of intestinal health on the effect of feed additives on feed intake in swine and poultry. *Animal Feed Science and Technology*. 233: 64-75.
- Van winsen, R.L., Urlings, B.A., Lipman, L.J., Snijders, J.M., Keuzenkamp, D., Verheijden, J.H. and van Knapen, F. (2001). Effect of fermented feed on the microbial population of the gastrointestinal tracts of pigs. *Applied and Environmental Microbiology*. 67: 3071-3076.
- Wang, Y., Liu, X.T., Wang, H.L., Li, D.F., Piao, X.S. and Lu, W.Q. (2014). Optimization of processing conditions for solid-state fermented soybean meal and its effects on growth performance and nutrient digestibility of weanling pigs. *Livestock Science*. 170: 91-99.
- Yuan, L., Chang, J., Yin, Q., Lu, M., Di, Y., Wang, P., Wang, Z., Wang, E. and Lu, F. (2017). Fermented soybean meal improves the growth performance, nutrient digestibility, and microbial flora in piglets. *Animal Nutrition*. 3: 19-24.
- Zhang, L., Zhang, L., Zeng, X., Zhou, L., Cao, G. and Yang, C. (2016). Effects of dietary supplementation of probiotic, *Clostridium butyricum*, on growth performance, immune response, intestinal barrier function, and digestive enzyme activity in broiler chickens challenged with *Escherichia coli* K88. *Journal of Animal Science and Biotechnology*. 7: 3-12.