16(3) 69-76, Autumn 2024

Journal of Animal Environment
(AEJ)
Journal homepage: http://www.aejournal.ir

Original Research Paper

Investigating the protective effect of vitamin C against complications caused by coccidiosis in broilers (Ross-308 strain)

Hamed Zarei [1*], Mohammad Salimi [2]

[1] Department of Biology, Faculty of Basic Science, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
[2] Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary medicine, Garmsar Branch, Islamic Azad University, Garmsar, Iran

Key Words

Eimeria tenella
Vitamin C
Coccidiosis
Morphology of intestinal villi
Broiler

Abstract

Introduction: Coccidiosis is the most important protozoan parasitic disease of the poultry industry, and the fight against coccidiosis is one of the important issues of animal husbandry and veterinary medicine. Different species of Eimeria often affect the intestines of chickens and cause enteritis. Adding vitamin C to the drinking water of broiler chickens affects the intestinal morphology and improves the dimensions of intestinal villi in broiler chickens with ascites. The purpose of this study is to investigate the protective effect of vitamin C on the morphology of the villi of the duodenum, jejunum and ileum of the small intestine in broilers infected with *Eimeria tenella*.

Materials & methods: For this purpose, 120 pieces of one-day-old broilers were purchased and divided into 3 groups of 30 pieces based on a completely random statistical design: Group 1: recipient of the basic ration during the entire experimental period, group 2: recipient Basic diet + 0.25 ml of suspension containing 30,000 *Eimeria tenella* oocysts from fourteen days old (oral inoculation), group 3: recipient of basic diet + 0.25 ml of suspension containing 30,000 *Eimeria tenella* oocysts from fourteen days old (oral inoculation)) + vitamin C in the amount of 1200 PPM to the water consumed from the beginning of the breeding period. On the 28th and 49th day, 9 chicks from each group (3 chicks from each replicate) were randomly selected. After weighing, the samples were killed by cervical method and the length of different parts of the small intestine (duodenum, jejunum and ileum) were measured.

Results: The morphological examination of the small intestine showed that the height, width, and area of the villi of the duodenum, jejunum, and ileum, as well as the depth of Lieberkohn's gland in the group receiving vitamin C increased significantly compared to the positive control group ($P<0.05$).

Conclusion: Therefore, vitamin C affected the morphology of small intestinal villi and improved and protected the dimensions of intestinal villi in broiler chickens with coccidiosis.

* Corresponding Author's email: h.zarei@iautmu.ac.ir
Received: 12 Dcember 2023; Reviewed: 13 January 2023; Revised: 16 March 2024; Accepted: 15 April 2024
(DOI): 10.70102/AEJ.2025.16.3.9

مقاله پژوهشی

بررسی اثر محافظتی ویتامین C در برابر عوارض ناشی از کوکسیدیوز در جوجه‌های گوشتی (سویه راس-۳۰۸)

حامد زارعی[1*]، محمد سلیمی[2]

[1] گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

[2] گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، واحد گرمسار، دانشگاه آزاد اسلامی، گرمسار، ایران

کلمات کلیدی

آیمریا تنلا
ویتامین C
کوکسیدیوز
مورفولوژی پرزهای روده
جوجه گوشتی

چکیده

مقدمه: کوکسیدیوز مهم‌ترین بیماری انگلی تک یاخته‌ای صنعت پرورش طیور گوشتی بوده و مبارزه با بیماری کوکسیدیوز از مسائل مهم دامپروری و دامپزشکی می‌باشد. گونه‌های مختلف آیمریا غالباً در روده ماکیان تأثیر گذاشته، ایجاد "آنتریت" می‌کنند. افزودن ویتامین C به آب آشامیدنی جوجه‌های گوشتی، مورفولوژی روده را متأثر نموده و ابعاد پرزهای روده را در جوجه‌های گوشتی مبتلا به آسیت بهبود می‌بخشد. هدف از مطالعه حاضر بررسی اثر محافظتی ویتامین C بر مورفولوژی پرزهای دئودنوم، ژژنوم و ایلئوم روده باریک در جوجه‌های گوشتی مبتلا به آیمریا تنلا می باشد.

مواد و روش‌ها: بدین منظور تعداد ۱۲۰ قطعه جوجه گوشتی سویه راس یک روزه خریداری شده و براساس یک طرح آماری کاملاً تصادفی به ۳ گروه ۳۰ قطعه‌ای تقسیم‌بندی گردیدند: گروه۱: دریافت‌کننده جیره پایه در کل دوره آزمایش، گروه۲: دریافت‌کننده‌جیره پایه+۰/۲۵ میلی‌لیتر از سوسپانسیون حاوی ۳۰۰۰۰ عدد اووسیست ایمریا تنلا از ۱۴ روزگی (تلقیح دهانی)، گروه۳: دریافت‌کننده جیره پایه + ۰/۲۵ میلی‌لیتر از سوسپانسیون حاوی ۳۰۰۰۰ عدد اووسیست ایمریا تنلا از ۱۴ روزگی (تلقیح دهانی) + ویتامین C به‌میزان ۱۲۰۰ ppm به آب مصرفی از ابتدای دوره پرورش. در روز ۲۸ و ۴۹، از هر گروه ۹ جوجه (۳ جوجه از هر تکرار) به‌طور تصادفی انتخاب گردید. نمونه‌ها پس از توزین، به روش پیچاندن سریع گردن یوتانایز شده و طول قسمت های مختلف روده کوچک (دئودنوم، ژژنوم و ایلئوم) آن ها اندازه‌گیری شد.

نتایج: بررسی مورفولوژیک روده باریک نشان داد که ارتفاع، عرض و مساحت پرزهای دئودنوم، ژژنوم و ایلئوم و هم‌چنین عمق غده لیبرکوهن در گروه دریافت‌کننده ویتامین C نسبت به گروه کنترل مثبت به‌طور معنی‌داری افزایش یافته است ($P<0/05$).

بحث و نتیجه‌گیری: بنابراین، ویتامین C بر مورفولوژی پرزهای روده کوچک اثر کرده و ابعاد پرزهای روده را در جوجه‌های گوشتی مبتلا به کوکسیدیوز بهبود بخشیده و از آن‌ها محافظت کرده است.

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: h.zarei@iautmu.ac.ir

تاریخ دریافت: ۲۱ آذر ۱۴۰۲؛ تاریخ داوری: ۲۳ دی ۱۴۰۲؛ تاریخ اصلاح: ۲۶ اسفند ۱۴۰۲؛ تاریخ پذیرش: ۲۷ فروردین ۱۴۰۳
(DOI): 10.70102/AEJ.2025.16.3.9

مقدمه

میکروارگانیسم‌های مولد بیماری در طیور و حیوانات می‌توانند منشا باکتریایی، ویروسی، انگلی و حتی قارچی داشته باشند. در این میان کوکسیدیوز مهم‌ترین بیماری انگلی تک‌یاخته‌ای صنعت پرورش طیورگوشتی می‌باشد و مبارزه با بیماری کوکسیدیوز ازمسائل مهم دامپروری و دامپزشکی است. عامل بیماری کوکسیدیوز در سلسله پروتیستا، زیرسلسله پروتوزوآ، شاخه اپیکمپلکسا (*Aplicomplexa*)، رده اسپوروزوآ، راسته اوکوکسیدیا، خانواده آیمریده و جنس آیمریا قرار گرفته است. جنس آیمریا از پرندگان اهلی و وحشی، نشخوار کنندگان، تک‌سمیان، جوندگان، خرگوش سانان و ماهیان جدا شده است (۱۲). فعالیت کوکسیدیاها پس از قرارگیری اووسیست روی بستر شروع می شود. اووسیست فعال کوکسیدیا (بعد از طی مراحل اسپوروگونی) توسط جوجه‌ها یا سایر طیور از محتویات بستر و یا غذا و آب دریافت و در داخل دستگاه گوارش، دیواره اووسیست طی عمل مکانیکی در سنگدان شکسته شده، اسپوروسیت‌ها رها و وارد سلول‌های مخاط روده می‌شوند و چرخه زندگی خود را شروع می‌نمایند (۲۷). گونه‌های مختلف ایمریا (آیمریا تنلا و آیمریا نکاتریکس) غالباً در روده ماکیان تأثیر گذاشته و ایجاد آنتریت می‌کنند. انگل، قسمت‌های مختلف دستگاه گوارش را مورد حمله قرار می‌دهد. اسپوروزوایت‌ها به دو قسمت بافت روده حمله می‌کنند. اولین قسمت رأس خمل‌ها و فضای بین روده‌ای و دومین قسمت نفوذ در کریپت‌ها و فضای بین سلولی آن‌ها است و سپس به لایه لامینا پروپریا حرکت کرده و نفوذ به سلول‌ها را از این لایه شروع می‌نماید (۷، ۱۴، ۱۸). محل زندگی این انگل در سلول‌های پوششی دیواره غدد لیبرکوهن روده کور است و سه نسل شیزونت را ایجاد می‌کند و از عوامل خطرناک کوکسیدیوز ماکیان می‌باشد (۳۱). گونه تنلا یکی از بیماریزاترین آیمریاهای ماکیان است. با گسترش هرچه بیش‌تر صنعت مرغداری و از رده خارج شدن تعدادی از داروهای اولیه، نیاز به به‌کارگیری روش‌های جدیدتر پیشگیری و استفاده از داروهای مؤثرتر برای درمان و بالاخص بهبود مدیریت مرغداری و استفاده از ابزارهای جدید مدیریتی برای مهار کوکسیدیوز و کاهش ضایعات اجتناب‌ناپذیر می‌باشد. روده محل جذب مواد مغذی است و نظر به این‌که بیش از ۷۰٪ از هزینه‌های پرورش جوجه‌های گوشتی مربوط به خوراک می‌باشد، اهمیت حفظ سلامت سلول‌های اپیتلیال و مخاط روده در جهت بازده بیش‌تر و کاهش هزینه‌های تولید مشخص می‌گردد. روده کوچک شامل دئودنوم، ژژنوم و ایلئوم است. مطالعات نشان داده است که طول، وزن و مساحت روده کوچک در جوجه‌های گوشتی که به‌منظور تولید گوشت پرورش می‌یابند، در مقایسه با ماکیان تخم‌گذار بیش‌تر است (۳۵). پرزهای روده بیرون زدگی‌های بافت همبند به‌داخل لومن روده می‌باشند که سبب افزایش سطح هضم و جذب می‌شوند. لازم به ذکر است که سطح پرزها توسط یک ردیف از سلول‌های استوانه‌ای ساده پوشیده شده است (۳۵). اسیداسکوربیک یک ترکیب کریستالی سفید با وزن ملکولی ۱۷۸ گرم بر مول و نقطهٔ ذوب ۱۹۲-۱۹۰ درجه سانتی‌گراد است که در دستهٔ کربوهیدرات‌ها طبقه‌بندی می‌شود و به‌راحتی در آب، به‌مقدار کم در الکل و گلیسرول حل می‌شود و به‌طور قطعی در اتروکلروفرم حل نمی‌شود و در هوا نسبتاً پایدار است (۹). از نظر شیمیایی بیوسنتز اسید اسکوربیک از گلوکز و گالاکتوز و یا مشتقات آن‌ها انجام می‌گیرد. اسید اسکوربیک یک ترکیب احیاء کننده قوی است و با داشتن گروه دی انول تصور می‌شود که یکی از عوامل مهم اکسیداسیون و احیاء یاخته‌ای بوده و در نقل و انتقال هیدروژن شرکت می‌نماید. در دوران جنینی کبد بیش‌ترین مقدار اسیداسکوربیک را می‌سازد درحالی که عضلات ران، عضلات سینه و قلب به ترتیب مقادیر کم‌تری از اسیداسکوربیک را در دوران جنینی می‌سازند. بر حسب رشد توده‌های بدن بعد از تولد، معده و ژژنوم مقادیر کم‌تری اسیداسکوربیک تولید می‌کنند (۲۳). با توجه به این‌که با افزایش سن تا دو ماهگی سنتز اسیداسکوربیک هم افزایش می‌یابد ولی در برخی شرایط نامساعد این مقدار ناکافی می‌باشد و توصیه می‌شود که اسید اسکوربیک به‌مقدار بیش‌تری در جیره تعبیه شود (۲۲). جذب اسید اسکوربیک در طیور به‌صورت یک پروسهٔ غیرفعال است که ابتدا در ژژنوم و ایلیوم اتفاق می‌افتد (۹). در سیستم زنده، هنگام بروز اکسیداسیون، آنتی‌اکسیدان‌ها با رادیکال‌های آزاد ترکیب شده و از فعالیت آن‌ها می‌کاهند (۱۹). اسید اسکوربیک یکی از مهم‌ترین آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی محلول در آب می‌باشد. این آنتی‌اکسیدان در اثر متقابل با رادیکال‌های آزاد، با جابجایی یک اتم هیدروژن موجب ثبات رادیکال آزاد می‌شود (۳۴). هم‌چنین ویتامین C در کاهش اثر اکسیدان‌ها در تخریب اندوتلیوم عروق، به‌ویژه عروق ریوی، تاثیر به سزایی دارد (۳۴). به‌نظر می‌رسد که ویتامین C با داشتن اثرات آنتی‌اکسیدانی و محافظت کننده روده‌ای بتواند در کاهش عوارض ناشی از ایمریا تنلا سودمند باشند. لذا در تحقیق حاضر، اثر درمانی ویتامین C بر مورفولوژی پرزهای روده در جوجه‌های گوشتی مبتلا به آیمریا تنلا مورد بررسی قرار می‌گیرد.

مواد و روش‌ها

جامعه آماری: تعداد ۱۲۰ قطعه جوجه گوشتی سویه راس ۳۰۸ یک‌روزه خریداری شد. در یک روزگی پس از وزن‌کشی، ۱۰ جوجه برای هر پن به گونه‌ای انتخاب شدند که میانگین وزن همه پن‌ها

یکسان باشد. جوجه‌ها از ۱ تا ۴۹ روزگی تحت شرایط استاندارد بر روی بستر پرورش یافتند. در کل دوره پرورش آب و دان به‌طور آزاد در اختیار جوجه‌ها قرار داشت. جیره پایه براساس نسبت ذرت- سویا فرموله شد که در مورد همه گروه‌ها یکسان بود. شرایط پرورش از قبیل درجه حرارت، رطوبت، تهویه، برنامه نوری و واکسیناسیون برای همه گروه‌ها یکسان بود. قبل از ورود جوجه‌ها، سالن و پن‌ها ضد عفونی و گاز داده شد. در تمام ساعات شبانه روز آب و دان به‌صورت آزادانه در دسترس جوجه‌ها بود و در طی شبانه‌روز حداقل سه بار وضعیت آب و دان حیوانات مورد بررسی قرار گرفت. در طی پرورش جوجه‌ها تا روز دوازدهم از پیش دان و تا روز بیست و هشتم از جیره رشد و پس از آن از جیره پایانی استفاده گردید. مقدار انرژی قابل متابولیسم جیره ۳۰۵۰-۲۹۰۰، مقدار پروتئین جیره ۲۲-۱۸ درصد درنظر گرفته شد. در این سیستم پرورشی، سالن در شبانه‌روز، ۲۳ ساعت دارای نور و ۱ ساعت فاقد نور بود. به منظور ارزیابی شاخص‌های تولید، تمامی جوجه‌های هر گروه و غذای مصرفی در هر گروه به‌طور هفتگی توزین گردید و میزان افزایش وزن، غذای خورده شده و ضریب تبدیل غذایی (با تقسیم نمودن کل میزان غذای مصرفی بر مجموع وزن زنده و تلفات) در هر تکرار و گروه مشخص شد، جوجه‌های تلف شده در هر گروه به‌طور روزانه توزین و پس از کالبد گشایی، علت مرگ و میر تشخیص داده شد. به‌منظور حفظ سلامت جوجه‌ها و ایمن‌سازی آن‌ها علیه برخی بیماری‌های ویروسی شایع در منطقه، برنامه واکسیناسیون نیوکاسل، برونشیت و گامبورو اجرا شد.

گروه‌های مورد مطالعه: جوجه‌ها براساس یک طرح آماری کاملاً تصادفی به ۳گروه ۳۰ قطعه‌ای تقسیم‌بندی گردیدند. گروه ۱: دریافت کننده جیره پایه در کل دوره آزمایش، گروه ۲: دریافت‌کننده جیره پایه+۰/۲۵ میلی‌لیتر از سوسپانسیون حاوی ۳۰۰۰۰ عدد اووسیست ایمریا تنلا از چهارده روزگی (تلقیح دهانی)، گروه ۳: دریافت‌کننده جیره پایه + ۰/۲۵ میلی لیتر از سوسپانسیون حاوی ۳۰۰۰۰ عدد اووسیست ایمریا تنلا از چهارده روزگی (تلقیح دهانی) + ویتامین C به میزان ۱۲۰۰ ppm به آب مصرفی از ابتدای دوره پرورش. لازم به ذکر است که هر کدام از گروه‌ها شامل ۳ پن ۱۰ قطعه‌ای بودند.

نمونه‌برداری: در روز ۲۸ و ۴۹ پرورش، از هر گروه ۹ جوجه (۳ جوجه از هر تکرار) به‌طور تصادفی انتخاب گردید. نمونه‌ها پس از توزین، به روش پیچاندن سریع گردن یوتانایز شده و در ابتدا طول قسمت‌های مختلف روده کوچک (دئودنوم، ژژنوم و ایلئوم) آن‌ها اندازه‌گیری شد. سپس کبد و طحال توزین گردید. نمونه‌هایی که نیاز به توزین داشتند، توسط ترازویی به دقت یک هزارم گرم توزین شدند. قسمت‌های مختلف روده به کمک متر معمولی با دقت میلی‌متر اندازه‌گیری شدند. سپس نمونه‌ها تحت بررسی‌های موفولوژیک قرار گرفتند و ابعاد خمل‌ها و عمق کریپت‌های لیبرکوهن اندازه‌گیری شدند.

بررسی‌های مورفولوژیک: جهت انجام این بررسی‌ها، محلول تامپون فسفات سدیم (P.B.S)، محلول رنگ‌آمیزی پریودیک اسید شیفت (P.A.S)، محلول ثابت‌کننده کلارک (محلول ۲۵٪ اسیداستیک + ۷۵٪ الکل اتیلیک)، محلول نگه‌دارنده (محلول ۵۰٪ الکل اتیلیک)، گلیسیرین و ظرف پتری حاوی پارافین جامد مورداستفاده قرار گرفت. قبل از شروع کار با توجه به گروه مورد آزمایش و محل نمونه‌برداری، کد مخصوص برای هر نمونه، تعیین و در روی پلاک‌های پلاستیکی حک شد و نخی به این پلاک‌ها متصل و آماده اتصال به نمونه‌ها گردید. مجاری داخلی قطعاتی از روده‌ها به طول ۵ سانتی‌متر که با قیچی جهت بررسی مورفولوژیک بریده شده بودند، توسط سرنگ، با محلول P.B.S شستشو داده شدند. نخ دارای پلاک کددار که شماره کد هر نمونه روی آن نوشته شده بود، برای بستن انتهای نمونه مربوطه مورد استفاده قرارگرفت و بدین‌وسیله یک‌انتهای روده مسدود گردید. سپس محلول ثابت کننده کلارک، توسط سرنگ دارای سر سوزنی که یک کانول پلی اتیلنی به آن متصل بود، از طرف دیگر روده به داخل آن تزریق شد تا کاملاً پر شود و برای جلوگیری از خروج محلول ثابت‌کننده، بلافاصله انتهای دیگر روده در محل تزریق محلول ثابت‌کننده کلارک به‌وسیله قطعه نخ دیگری گره زده و مسدود شد. بدین وسیله نمونه‌هایی به شکل سوسیس‌های کوچک که در داخل آن‌ها پر از محلول فیکس کننده بود، تهیه گردید. نمونه‌های تهیه‌شده در ظرفی حاوی محلول ثابت‌کننده کلارک انداخته و مدت ۴۵ دقیقه در داخل آن نگه داری گردیدند. پس از طی این مدت نمونه‌ها با پنس از طرف دارای پلاک گرفته شده و سمت دیگر آن در مجاورت گره و به طرف وسط نمونه با قیچی طوری بریده شد که محتویات نمونه‌ها یعنی محلول ثابت کننده خارج شود و بعد یک برش طولی در محل اتصال مزانتر به نمونه‌ها داده شد تا محتویات آن‌ها کاملاً تخلیه شود. نمونه‌ها پس از این مرحله به‌داخل ظروف حاوی محلول نگه‌دارنده (الکل اتیلیک ۵۰٪) ریخته شدند تا بعداً جهت بررسی‌های مورفولوژیکی (برای تعیین ابعاد خمل‌ها و عمق کریپت‌های لیبرکوهن) مورد استفاده قرار گیرند (۱۶).

اندازه‌گیری ابعاد خمل‌ها و عمق کریپت‌های لیبرکوهن: در این مرحله ابتدا یک قطعه از نمونه جدا گردید و سپس لایه ماهیچه‌ای آن کنار زده شد و قسمت مخاطی پس از رنگ آمیزی، توسط میکروسکوپ موتیک آنالایزر، مورد مطالعه قرار گرفت. از هر نمونه روده یک قطعه، به مساحت حدود ۲-۱/۵ سانتی‌متر مربع، با قیچی جدا گردید و با پنس یک طرف آن محکم نگه داشته شد. سپس با

یک تیغ ظریف مخصوص جراحی چشم، لایه ماهیچه‌ای از لایه مخاطی جدا گردید. لایه مخاطی که شامل خمل‌ها و کریپت‌های لیبرکوهن بود، به داخل محلول رنگ‌آمیزی P.A.S قرار داده شد و مدت ۵-۳ دقیقه در این محلول باقی ماند. این لایه بعد از بیرون آوردن با سرم فیزیولوژی شستشو گردید و آن‌گاه روی سطح پارافین جامد درون ظرف پتری قرار داده شد و این ظرف زیر لوپ قرار گرفت و با درشت نمایی ۲۵ برابر، برای برش آماده شد. درادامه توسط تیغ مخصوص جراحی چشم، برش‌هایی در فواصل بین خمل‌ها و در جهت طولی آن‌ها داده شد، به‌نحوی‌که ردیف‌هایی از خمل‌ها، در کنار یکدیگر و متصل به‌هم جدا گردند. پس از جدا کردن چندین ردیف از خمل‌ها، تمام آن‌ها یک‌به‌یک با پنس یا سوزن برداشته و بر روی لام معمولی قرار داده شدند. روی ردیف‌های آماده شده ۳-۲ قطره گلیسیرین ریخته و پس از قرار دادن یک لامل معمولی بر روی آن، این لام برای مطالعه زیر میکروسکوپ قرارگرفت. لام تهیه شده به‌روش فوق، در زیر میکروسکوپ موتیک آنالایزر قرار داده شد و با بزرگ‌نمایی ۴ برابر، ارتفاع و عرض خمل‌ها و عمق کریپت‌های لیبرکوهن اندازه‌گیری شد. در زیر لامل، تعداد حداقل ۳ پرز از بلندترین پرزها، بدون در نظر گرفتن نوع آن‌ها و تعداد حداقل ۳ کریپت که به‌صورت تصادفی انتخاب شده بودند مورد بررسی قرار گرفتند. برای اندازه‌گیری ارتفاع خمل‌ها، فاصله بین پایه تا رأس آن‌ها و برای اندازه‌گیری عرض آن‌ها، فاصله بین طرفین پایه آن‌ها تعیین گردید. تعیین میزان عمق کریپت‌های لیبرکوهن با اندازه‌گیری فاصله بین پایه خمل‌ها تا پائین‌ترین ناحیه کریپت‌ها، میسر گردید. اندازه‌گیری‌های فوق به صورت خطی و برحسب میلی‌متر انجام شد و علامت اختصاری VL برای ارتفاع خمل‌ها، VW برای عرض خمل‌ها و CD برای عمق کریپت‌های لیبرکون تعیین گردیدند و سپس بر اساس فرمول Sakamoto و همکاران، مساحت پرزها محاسبه گردید (۲۹):

Surface area=(π)(VW)(VL)
villus width = VW, villus length= VL

آنالیز آماری: داده‌های این آزمایش براساس طرح آماری کاملاً تصادفی مورد ارزیابی قرار گرفتند. داده‌های به‌دست آمده در برنامه آماری SPSS-14 بااستفاده‌ازروش One Way Anova دربین گروه‌های درمانی و کنترل مورد ارزیابی قرار گرفتند. P<۰/۰۵ به‌عنوان اختلاف معنی‌دار از نظر آماری مدنظر قرار گرفت. کلیه نتایج به صورت میانگین ± خطای استاندارد از میانگین (mean ± SEM) ثبت شدند.

نتایج

تاثیر ویتامین C بر پارامترهای مورفولوژیک دئودنوم: با توجه به نتایج جدول ۱، ارتفاع پرز، عرض پرز، عمق غده لیبرکوهن و مساحت پرز دئودنوم در گروه کنترل منفی و گروه درمانی ویتامین C نسبت به گروه کنترل مثبت افزایش و بهبود پیدا کرده است (P<۰/۰۵).

تاثیر ویتامین C بر پارامترهای مورفولوژیک ژژنوم: با توجه به نتایج جدول ۲، ارتفاع پرز، عرض پرز، عمق غده لیبرکوهن و مساحت پرز ژژنوم در گروه کنترل منفی و گروه درمانی ویتامین C نسبت به گروه کنترل مثبت افزایش و بهبود پیدا کرده است (P<۰/۰۵).

تاثیر ویتامین C بر پارامترهای مورفولوژیک ایلئوم: با توجه به نتایج جدول ۳، ارتفاع پرز، عرض پرز، عمق غده لیبرکوهن و مساحت پرز ایلئوم در گروه کنترل منفی و گروه درمانی ویتامین C نسبت به گروه کنترل مثبت افزایش و بهبود پیدا کرده است (P<۰/۰۵).

جدول۱: مقایسه میانگین ± خطای معیار از میانگین پارامترهای مورفولوژیک دئودنوم بین گروه‌های مختلف کنترل و درمانی در سنین مختلف

سن	گروه آزمایشی	ارتفاع پرز (میلی‌متر)	عرض پرز (میلی‌متر)	عمق غده لیبرکوهن (میلی‌متر)	مساحت پرز (میلی‌متر مربع)
۲۸ روزگی	کنترل مثبت	۱/۴۳ ± ۰/۰۳	۰/۷۵ ± ۰/۰۲^{a}	۰/۳۴ ± ۰/۰۱^{a}	۳/۳۶ ± ۰/۲۶^{a}
	کنترل منفی	۱/۵۵ ± ۰/۰۴	۱/۱۸ ± ۰/۰۲^{b}	۰/۷۵ ± ۰/۰۴^{b}	۵/۷۴ ± ۰/۱۷^{b}
	درمان ویتامین C	۱/۳۸ ± ۰/۰۴	۱/۰۱ ± ۰/۰۳^{b}	۰/۴۸ ± ۰/۰۱^{c}	۴/۳۷ ± ۰/۲۰^{c}
۴۹ روزگی	کنترل مثبت	۱/۰۸ ± ۰/۰۴^{a}	۰/۸۱ ± ۰/۰۴	۰/۳۱ ± ۰/۰۱	۲/۷۴ ± ۰/۱۵^{a}
	کنترل منفی	۱/۹۸ ± ۰/۰۲^{b}	۱/۴۵ ± ۰/۰۳	۰/۳۶ ± ۰/۰۱	۹/۰۱ ± ۰/۱۴^{b}
	درمان ویتامین C	۱/۷۰ ± ۰/۰۳^{b}	۰/۹۸ ± ۰/۰۴	۰/۳۸ ± ۰/۰۲	۵/۲۳ ± ۰/۲۸^{c}

حروف غیرمشابه (a, b & c) نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین دو گروه در یک سن خاص است (P<۰/۰۵)

جدول ۲: مقایسه میانگین ± خطای معیار از میانگین پارامترهای مورفولوژیک ژژنوم بین گروه‌های مختلف کنترل و درمانی در سنین مختلف

سن	گروه آزمایشی	ارتفاع پرز (میلی‌متر)	عرض پرز (میلی‌متر)	عمق غده لیبرکوهن (میلی‌متر)	مساحت پرز (میلی‌متر مربع)
۲۸ روزگی	کنترل مثبت	۰/۶۳ ± ۰/۰۲^{a}	۰/۵۸ ± ۰/۰۱	۰/۲۷ ± ۰/۰۱^{a}	۱/۱۴ ±۰/۰۴^{a}
	کنترل منفی	۱/۰۷ ± ۰/۰۳^{b}	۰/۷۱ ± ۰/۰۵	۰/۵۸ ± ۰/۰۲^{b}	۲/۳۸ ±۰/۱۲^{b}
	درمان ویتامین C	۰/۹۵ ± ۰/۰۲^{b}	۰/۵۱ ± ۰/۰۳	۰/۳۵ ± ۰/۰۱^{a}	۱/۵۲ ± ۰/۰۹^{a}
۴۹ روزگی	کنترل مثبت	۰/۷۸ ± ۰/۰۴^{a}	۰/۳۴ ± ۰/۰۳^{a}	۰/۲۸ ± ۰/۰۱	۰/۸۳ ± ۰/۲۲^{a}
	کنترل منفی	۱/۱۲ ± ۰/۰۲^{b}	۰/۶۸ ± ۰/۰۲^{b}	۰/۳۲ ± ۰/۰۲	۲/۳۹ ± ۰/۱۲^{b}
	درمان ویتامین C	۱/۲۸ ± ۰/۰۲^{b}	۰/۵۷ ± ۰/۰۳^{b}	۰/۲۷ ± ۰/۰۱	۲/۲۹ ± ۰/۱۸^{b}

حروف غیرمشابه (a, b & c) نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین دو گروه در یک سن خاص است (P<۰/۰۵)

جدول ۳: مقایسه میانگین ± خطای معیار از میانگین پارامترهای مورفولوژیک ایلئوم بین گروه‌های مختلف کنترل و درمانی در سنین مختلف

سن	گروه آزمایشی	ارتفاع پرز (میلی‌متر)	عرض پرز (میلی‌متر)	عمق غده لیبرکوهن (میلی‌متر)	مساحت پرز (میلی‌متر مربع)
۲۸ روزگی	کنترل مثبت	۰/۶۴ ± ۰/۰۲	۰/۴۷ ± ۰/۰۲	۰/۳۲ ± ۰/۰۱^{a}	۰/۹۴ ± ۰/۰۹
	کنترل منفی	۰/۷۸ ± ۰/۰۲	۰/۵۰ ± ۰/۰۲	۰/۵۲ ± ۰/۰۱^{b}	۱/۲۲ ± ۰/۰۶
	درمان ویتامین C	۰/۷۳ ± ۰/۰۴	۰/۵۱ ± ۰/۰۱	۰/۵۵ ± ۰/۰۳^{b}	۱/۱۶ ± ۰/۰۷
۴۹ روزگی	کنترل مثبت	۰/۵۵ ± ۰/۰۲^{a}	۰/۴۲ ± ۰/۰۲	۰/۳۵ ± ۰/۰۲^{a}	۰/۷۲ ± ۰/۰۵^{a}
	کنترل منفی	۰/۸۸ ± ۰/۰۲^{b}	۰/۵۱ ± ۰/۰۳	۰/۶۱ ± ۰/۰۱^{b}	۱/۴۰ ± ۰/۱۸^{b}
	درمان ویتامین C	۰/۸۱ ± ۰/۰۳^{b}	۰/۴۴ ± ۰/۰۲	۰/۴۹ ± ۰/۰۱^{b}	۱/۱۱ ± ۰/۰۸^{b}

حروف غیرمشابه (a, b & c) نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین دو گروه در یک سن خاص است (P<۰/۰۵)

بحث

به‌دنبال پرورش متراکم و صنعتی طیور، شاهد وقوع خسارت‌های عظیم ناشی از کوکسیدیوز درگله‌های طیور هستیم. اووسیست‌های کوکسیدیایی در همه جا گسترش یافته و به سادگی در بستر مرغداری اسپورولـه می‌شوند. Castanonو همکاران، روشی ابداع نمودند که با آنالیز کامپیوتری عکس‌های دیجیتال تهیه شده از گسترش‌های میکروسکوپی، شناسایی اووسیست‌های ایمریا را ممکن نموده است (۶). از آن‌جا که اووسیست‌ها را می‌توان در هر نقطه‌ای که محل پرورش طیور است یافت، لذا ریشه‌کنی بیماری و یا عاری کردن مرغداری از وجود اووسیست امری غیرممکن می‌باشد. گونه‌های مختلف ایمریا غالباً در روده ماکیان تأثیر گذاشته، ایجاد (آنتریت) می‌کنند. شیزونت‌ها در عمق لامینا پروپریا رشد می‌کنند و هنگامی که بالغ می‌شوند و مروزوایت‌ها را آزاد می‌کنند، مخاط متلاشی می‌شود و روده کور ممکن است به‌شدت بزرگ و دارای لخته‌های خونی و تکه‌های مخاط برآمده شده باشد، تغییرات موفولوژیک در ژژنوم بسیار سریع‌تر و حادتر و در ایلئوم دیرتر و خفیف‌تر از سایر قسمت‌های روده اتفاق می‌افتد (۱۸، ۳۱). هم‌چنین این تک یاخته موجب تاخیر در رشد، کاهش وزن، قانقاریایی شدن و پارگی سکوم، تخریب بافتی و به دنبال آن تکثیر بعضی از باکتری‌های بیماری‌زا نظیر کلستریدیوم پرفرینجنس و سالمونلا تیفی موریوم می‌گردد (۵). در تحقیق حاضر جوجه‌هایی که مبتلا به کوکسیدیوز گردیده‌اند (گروه کنترل مثبت) این جراحات روده‌ای را نشان داده‌اند. به‌طوری‌که در بررسی مورفولوژیک روده باریک، ارتفاع، عرض و مساحت پرزهای دئودنوم، ژژنوم و ایلئوم و هم‌چنین عمق غده لیبرکوهن نسبت به جوجه‌های سالم (گروه کنترل منفی) به‌طور معنی‌داری کاهش یافته است که حاکی از آثار مخرب این بیماری بر دستگاه گوارش ازجمله روده باریک می‌باشد. علت این امر را می‌توان به تکثیر گونه آیمریا و ایجاد اثرات زیان آور ناشی ازآلودگی با انگل در سطح سلول‌های روده دانست که در نهایت سبب کاهش میزان هضم و جذب مواد مغذی و کاهش بازده غذایی می‌شود. در کنار اقدامات مدیریتی، استفاده‌از دارو و واکسن به‌عنوان‌روش بسیارمهم‌در کنترل کوکسیدیوز کاربرد دارد (۱). در کشور ما علیرغم استفاده مداوم از داروهای ضدکوکسیدیایی در جیره، کوکسیدیوز مشکل عمده‌ای برای صنعت طیور محسوب می‌گردد (۲۱). پژوهشگران معتقدند که مقاومت دارویی علیه تمام آنتی کوکسیدیال‌ها بعد از مدتی مصرف، توسط ایمریا به وجود می آید. مقاومت دارویی به طور افزاینده‌ای در بین داروها

دیده می‌شود به‌طوری‌که گویی مسابقه‌ای بین کشف یک داروی جدید و ایجاد مقاومت در برابر داروهای قدیمی وجود دارد (۳، ۱۷). با در نظر گرفتن تمامی اثرات مفیدی که در اثر به‌کارگیری آنتی‌بیوتیک‌ها ذکر می شود، استفاده از آنتی بیوتیک‌ها باعث دو مشکل اصلی در سلامت می‌شود که شامل وجود باقی مانده های آنتی بیوتیکی در بافت‌های بدن و فراورده‌های دامی و مقاومت پاتوژن‌ها به آنتی‌بیوتیک‌ها است (۱۵، ۱۶). امروزه به‌منظور بهبود رشد و عملکرد تولید به‌جای استفاده از آنتی بیوتیک‌ها، جایگزین‌هایی چون پروبیوتیک ها، پری بیوتیک‌ها، اسیدهای آلی، باکتریوفاژها، آنزیم‌ها و ترکیبات گیاهی و آنتی‌اکسیدانی پیشنهاد شده‌اند (۱۶، ۲۶، ۲۸). ویتامین C اصلی‌ترین آنتی‌اکسیدان محلول در آب می باشد که قابلیت حذف بسیاری از مولکول‌های اکسیداتیو و رادیکال‌های آزاد مشتق شده از اکسیژن را دارد (۴، ۲۲). ویتامین C به‌صورت نرمال در جیره غذایی طیور وجود ندارد چراکه بدن طیور قادر به ساخت آن می‌باشد اما تحت شرایط خاص مانند شرایط متراکم پرورش و عوامل استرس زا از قبیل رشد سریع، گرما، سرما، عفونت‌ها و جیره غذایی نامناسب ممکن است قادر به سنتز مقادیر کافی از آن نباشند (۳۴). Miller و همکاران، تایید کردند که آنتی‌اکسیدان‌های موجود در جیره غذایی از جمله ویتامین C از سلول‌های اپیتلیال روده در برابر استرس اکسیداتیو محافظت نموده و سبب افزایش رشد سلول‌های اپیتلیال می‌گردد (۲۴). با توجه به مطالعات انجام شده توسط Uni و همکاران (۲) و Applegate و همکاران (۳۳)، تکامل مخاط روده شامل افزایش ارتفاع و تراکم پرزهاست که این افزایش بستگی به افزایش تعداد سلول‌های اپیتلیال دارد. آنتی‌اکسیدان‌هایی مثل ویتامین C و E، از آسیب سلولی که به وسیله رادیکال‌های آزاد ایجاد می‌شود جلوگیری می‌کنند (۲۹). Enkvetchakul و همکاران، کاهش غلظت چندین آنتی‌اکسیدان مهم (گلوتاتیون، ویتامین C و E) را در پرندگانی که به‌واسطه تهویه پایین درگیر آسیت بودند، گزارش نمودند (۱۳). آن‌ها این فرضیه را مطرح نمودند که این کاهش ممکن است به‌واسطه کاهش دریافت غذا یا آزاد شدن ترکیبات اکسیدکننده به‌دنبال نفوذ سلول‌های التهابی به بافت‌ها باشد (۱۱، ۲۰). Solis و همکاران، تأیید نمودند که روده نیاز به مقادیر بالایی اکسیژن دارد و هیپوکسی روند تکامل روده در جوجه های گوشتی را مهار می‌کند (۳۰). از سوی دیگر، Zamani Moghaddam و همکاران، نشان دادند که افزودن ۴۰۰ میلی‌گرم در لیتر ویتامین C به آب آشامیدنی جوجه‌های گوشتی، مورفولوژی روده را متأثر نموده و ابعاد پرزهای روده را در جوجه‌های گوشتی مبتلا به آسیت بهبود می‌بخشد (۳۶). Miller و همکاران، نشان دادند که آنتی‌اکسیدان‌هایی مانند ویتامین C، سلول‌های اپیتلیال روده را در مقابل استرس اکسیدان پروآپوپتوز محافظت نموده و سبب افزایش رشد سلول‌های اپیتلیال می‌شوند (۲۴) که با یافته‌های حاصل از مطالعه حاضر نیز مطابقت دارد. هم‌چنین در مطالعات مختلف اثراتی مانند افزایش میتوز در سلول‌های اپیدرمی (۲۵)، تقویت رشد و تکثیر سلول‌های اندوتلیال از طریق سیگنال خارج سلولی تنظیم‌کننده مسیر کیناز در انسان‌ها (۳۲) و تکثیر میکروواسکولار در بافت‌های کلیوی (۱۰) در استفاده از مکمل‌های ویتامینی آنتی‌اکسیدانی گزارش شده است که این مطالعات اثرات تکثیرکنندگی، ضدآپوپتوز و آنتی‌اکسیدانی ویتامین C را تایید می‌نمایند که می‌تواند مسئول افزایش ابعاد پرزها در روده باریک مشاهده شده در مطالعه حاضر باشد. به این ترتیب که استفاده از ویتامین C در جیره غذایی گروه مطالعه به‌طور معنی داری سبب افزایش ارتفاع، عرض و مساحت پرزهای دئودنوم، ژژنوم و ایلئوم و هم‌چنین عمق غده لیبرکوهن نسبت به گروه کنترل مثبت گردید. بنابراین با توجه به این که صنعت پرورش طیور به طور چشمگیری در حال توسعه و پیشرفت می‌باشد و این رشد در اکثر مناطق دنیا به‌چشم می‌خورد، با استناد به نتایج به‌دست آمده مبنی بر اثرات بسیار سودمند ویتامین C در جلوگیری از ایجاد و درمان کوکسیدیوز، تجویز آن در مزارع پرورش طیور توصیه می‌گردد.

منابع

1. **Allen, P.C. and Fetterer, R., 2002.** Recent advances in biology and immunobiology of Eimeria species and in diagnosis and control of infection with these coccidian parasites of poultry. Clinical microbiology reviews. 15(1): 58-65.
2. **Applegate, T., Dibner, J., Kitchell, M., Uni, Z. and Lilburn, M., 1999.** Effect of turkey (*Meleagridis gallopavo*) breeder hen age and egg size on poult development. 2. Intestinal villus growth, enterocyte migration and proliferation of the turkey poult. Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology. 124(4): 381-389.
3. **Beran, G.W., 1994.** CRC handbook series in zoonoses. Boca Raton: CRC Press.
4. **Bottje, W.G. and Wideman, R., 1995.** Potential role of free radicals in the pathogenesis of pulmonary hypertension syndrome. Poultry and Avian Biology Reviews. 6: 211-231.
5. **Calnek, B., Barnes, H., Beard, C., Reid, W. and Yoder, H., 1991.** Diseases of Poultry. 9th ed. Iowa: Iowa State University Press.
6. **Castañón, C.A., Fraga, J.S., Fernandez, S., Gruber, A. and Costa, L., 2007.** Biological shape characterization for automatic image recognition and diagnosis of protozoan parasites of the genus Eimeria. Pattern Recognition. 40(7): 1899-1910.

20. **Keykhosro kiani, A., Chamani, M., Froudi, F., Sadeghi, A.A. and Amin Afshar, M., 2022.** The effect of Protexin and vitamin C on blood immune cells, lymphoid organ's weight and blood antioxidant concentrations of broilers under heat stress. Journal of Animal Environment. 14(2): 83-92. (In Persian)

21. **Kiani, R., Rasadi, M. and Mohammadian, M.N., 2007.** Sources and routes of introduction of Eimeria oocysts into broiler chick's houses. International Journal of Poultry Science. 6(12): 925-927.

22. **Korantzopoulos, P. and Galaris, D., 2003.** The protective role of vitamin C on endothelial dysfunction. Journal of Clinical and Basic Cardiology. 6(1/4): 3-6.

23. **Lechowski, J., Nagórna-Stasiak, B. and Kowalczyk, M., 1998.** Synthesis of vitamin C in skeletal muscles and the digestive tube wall in chickens. 1: 117-123.

24. **Miller, M.J., Angeles, F.M., Reuter, B.K., Bobrowski, P. and Sandoval, M., 2001.** Dietary antioxidants protect gut epithelial cells from oxidant-induced apoptosis. BMC complementary and alternative medicine. 1(1): 1-10.

25. **Parish, W., Read, J. and Paterson, S., 2005.** Changes in basal cell mitosis and transepidermal water loss in skin cultures treated with vitamins C and E. Experimental dermatology. 14(9): 684-691.

26. **Patterson, J. and Burkholder, K., 2003.** Application of prebiotics and probiotics in poultry production. Poultry science. 82(4): 627-631.

27. **Rizvi, F. and Din Anjum, A., 1999.** Effect of salinomycin on broiler health. Veterinarski arhiv. 69(1): 39-47.

28. **Roshanfekr, H. and Mamooee, M., 2009**. Effect of dietary antibiotic, probiotic and prebiotic as growth promoters, on growth performance, carcass characteristics and hematological indices of broiler chickens. Pak J Biol Sci. 12: 52-57.

29. **Sakamoto, K., Hirose, H., Onizuka, A., Hayashi, M., Futamura, N., Kawamura, Y. and Ezaki, T., 2000.** Quantitative study of changes in intestinal morphology and mucus gel on total parenteral nutrition in rats. Journal of Surgical Research. 94(2): 99-106.

30. **Solis de los Santos, F., Farnell, M.B., Téllez, G., Balog, J.M., Anthony, N.B., Torres-Rodriguez, A., Higgins, S., Hargis, B.M. and Donoghue, A.M., 2005.** Effect of prebiotic on gut development and ascites incidence of broilers reared in a hypoxic environment. Poultry science. 84(7): 1092-1100.

31. **Stephan, B., Rommel, M., Daugschies, A. and Haberkorn, A., 1997.** Studies of resistance to anticoccidials in Eimeria field isolates and pure Eimeria strains. Veterinary Parasitology. 69(1-2): 19-29.

32. **Ulrich-Merzenich, G., Zeitler, H., Panek, D., Bokemeyer, D. and Vetter, H., 2007.** Vitamin C promotes human endothelial cell growth via the

7. **Chapman, H., Matsler, P. and Chapman, M., 2004.** Control of coccidiosis in turkeys with diclazuril and monensin: effects upon performance and development of immunity to Eimeria species. Avian diseases. 48(3): 431-463.

8. **Chatterjee, I.B., Majumder, A.K., Nandi, B.K. and Subramanian, N., 1975.** Synthesis and some major functions of vitamin C in animals. Annals of the New York Academy of Sciences. 258(1): 24-47.

9. **Council, N.R., 1987.** Vitamin tolerance of animals. Washington, DC: The National Academies Press.

10. **Daghini, E., Zhu, X.Y., Versari, D., Bentley, M.D., Napoli, C., Lerman, A. and Lerman, L.O., 2007.** Antioxidant vitamins induce angiogenesis in the normal pig kidney. American Journal of Physiology-Renal Physiology. 293(1): 371-381.

11. **Ebrahimnezhad, Y. and Pourreza, J., 2005.** Effects of ionophorous anticoccidial drugs, salinomycin and lasalocid, on the performance of broiler chicks and the relationship of these drugs to supplementary methionine. International Journal of Poultry Science. 4(11): 911-916.

12. **Edgar, S., 1955.** Sporulation of oocysts at specific temperatures and notes on the prepatent period of several species of avian coccidia. The Journal of Parasitology. 41(2): 214-246.

13. **Enkvetchakul, B., Bottje, W., Anthony, N., Moore, R. and Huff, W., 1999.** Compromised antioxidant status associated with ascites in broilers. Poultry Science. 72(12): 2272-2280.

14. **Farjpour, F. and Nobakht, A., 2023.** The effects of corn and water sugar using length in starter period on performance, carcass traits and blood parameters of broilers. Journal of Animal Environment. 15(1): 135-142. (In Persian)

15. **Graham, J.P., Boland, J.J. and Silbergeld, E., 2007.** Growth promoting antibiotics in food animal production: an economic analysis. Public health reports. 122(1): 79-87.

16. **Houshmand, M., Azhar, K., Zulkifli, I., Bejo, M.H. and Kamyab, A., 2012.** Effects of non-antibiotic feed additives on performance, immunity and intestinal morphology of broilers fed different levels of protein. South African Journal of Animal Science. 42(1): 23-32.

17. **Jeffers, T.K., 1978.** Eimeria tenella: sensitivity of recent field isolants to monensin. Avian diseases. 22(1): 157-161.

18. **Jones, P.J., Niemi, J., Christensen, J.P., Tranter, R.B. and Bennett, R.M., 2918.** A review of the financial impact of production diseases in poultry production systems. Animal production science. 59(9): 1585-1597.

19. **Julian, R., 1990.** Pulmonary hypertension: a cause of right heart failure, ascites in meat-type chickens. Feedstuffs. 62(5): 69-78.

ERK-signaling pathway. European journal of nutrition. 46: 87-94.

33. **Uni, Z., Platin, R. and Sklan, D., 1998.** Cell proliferation in chicken intestinal epithelium occurs both in the crypt and along the villus. Journal of Comparative Physiology B. 168: 241-247.

34. **Xiang, R., Sun, W., Wang, J. and Wang, X., 2002.** Effect of vitamin C on pulmonary hypertension and muscularisation of pulmonary arterioles in broilers. British Poultry Science. 43(5): 705-712.

35. **Yamauchi, K., 2002.** Review on chicken intestinal villus histological alterations related with intestinal function. The Journal of Poultry Science. 39(4): 229-242.

36. **Zamani Moghaddam, A., Hassanpour, H. and Mokhtari, A., 2009.** Oral supplementation with vitamin C improves intestinal mucosa morphology in the pulmonary hypertensive broiler chicken. British poultry science. 50(2): 175-180.