



Original Research Paper

The effect of antibiotic-free diets on the immune system, morphology and intestinal microbial flora of broiler chickens under intensive rearing

Yahya Mohammadi *, Ali Khatibjoo, Ali Naghi Shokri

Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ilam University, Ilam, Iran

Key Words

Intensive
Antibiotic
Broiler
Immune system

Abstract

Introduction: This experiment was conducted to investigate the effect antibiotic-free diets on the immune system, morphology and intestinal microbial flora of broiler chickens under intensive rearing.

Materials & Methods: This experiment was conducted using 250 broiler chickens of Ross 308 strain in a completely randomized design with 4 treatments and 4 replications. Experimental treatments include: treatment 1- normal density (10 chickens per square meter) and basic diet, 2- high density (15 chickens per square meter) and basic diet, 3- normal density and basic diet without oxytetracycline antibiotic (250 grams per ton of feed) and 4- high density and basic ration plus oxytetracycline antibiotic (250 grams per ton of feed).

Results: The results showed that the increase in herd density caused a decrease in the ileum lactobacillus population, length and width, malondialdehyde and alanine aminotransferase in plasma ($P < 0.01$). In contrast, the addition of antibiotics to the diet of broilers under crowded conditions led to the compensation of injuries caused by crowding stress, and improved the immune status of broilers.

Conclusion: In general, based on the results of this experiment, the removal of antibiotics from the diet of broiler chickens raised in dense conditions is not reasonable and reduces the immunological and morphological parameters of broiler chickens.

* Corresponding Author's email: y.mohammadi@ilam.ac.ir

Received: 7 March 2023; Reviewed: 7 April 2023; Revised: 6 June 2023; Accepted: 9 July 2023

(DOI):10.70102/AEJ.2025.16.2.7

مقاله پژوهشی

تأثیر جیره‌های بدون آنتی‌بیوتیک بر سیستم ایمنی، مورفولوژی و فلور میکروبی روده جوجه‌های گوشتی تحت پرورش متراکم

یحیی محمدی^{*}، علی خطیب‌جو، علی نقی شکری

گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران

کلمات کلیدی

چکیده

تراکم
آنتی‌بیوتیک
جوجه گوشتی
سیستم ایمنی

مقدمه: این آزمایش، به منظور بررسی تأثیر جیره‌های بدون آنتی‌بیوتیک بر سیستم ایمنی، مورفولوژی و فلور میکروبی روده جوجه‌های گوشتی تحت پرورش متراکم انجام شد.

مواد و روش‌ها: این آزمایش با استفاده از 250 قطعه جوجه خروس گوشتی سویه راس 308 به کمک آزمایش فاکتوریل 2×2 در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با 4 تیمار و 5 تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل: تیمار 1- تراکم عادی (10 قطعه جوجه در هر مترمربع) و جیره پایه، تیمار 2- تراکم بالا (15 قطعه جوجه در هر مترمربع) و جیره پایه، تیمار 3- تراکم عادی و جیره پایه بدون آنتی‌بیوتیک اکسی تتراسایکلین (250 گرم در تن خوراک) و تیمار 4- تراکم بالا و جیره پایه به علاوه آنتی‌بیوتیک اکسی تتراسایکلین (250 گرم در تن خوراک).

نتایج: نتایج نشان داد که افزایش تراکم گله سبب کاهش جمعیت لاکتوباسیل ایلئومی، طول و عرض، مالون‌دی‌آلدهید و آلانین آمینوترانسفراز پلاسمایی شد ($P < 0/01$). در مقابل، افزودن آنتی‌بیوتیک به جیره جوجه‌های گوشتی در شرایط متراکم منجر به جبران صدمات ناشی از استرس تراکم شد و وضعیت ایمنی جوجه‌های گوشتی را بهبود داد.

بحث و نتیجه‌گیری: به‌طور کلی، براساس نتایج این آزمایش، حذف آنتی‌بیوتیک از جیره جوجه‌های گوشتی پرورش یافته در شرایط متر معقول نیست و فراسنجه‌های ایمنی و مورفولوژیک جوجه‌های گوشتی را کاهش می‌دهد.

^{*} پست الکترونیکی نویسنده مسئول: y.mohammadi@ilam.ac.ir

تاریخ دریافت: 16 اسفند 1401؛ تاریخ داوری: 18 فروردین 1402؛ تاریخ اصلاح: 16 خرداد 1402؛ تاریخ پذیرش: 18 تیر 1402

(DOI):10.70102/AEJ.2025.16.2.7

مقدمه

پرورش حدود 50-60 درصد و در هفته‌های بعد میزان رطوبت سالن به درصد بالاتری رسید به گونه‌ای که در انتهای دوره حدود 60-65 درصد در نظر گرفته شد. مواد خوراکی تشکیل دهنده و ترکیبات شیمیایی جیره‌های آزمایشی در جدول 1 آمده است. جهت مطالعه چگونگی تأثیر تیمارهای آزمایشی در دو مرحله در روزهای 28 و 42 روزگی از هر تکرار تعداد یک قطعه جوجه به صورت تصادفی انتخاب و خونگیری از رگ زیر بال انجام شد. تیترآنتی‌بادی علیه بیماری نیوکاسل و آنفلوانزا با روش هم‌گلوتیناسیون (HI) تعیین شد (14). برای شمارش افتراقی گلبول‌های سفید خون، خونگیری از سیاهرگ زیر بال جوجه‌ها به عمل آمد. نمونه‌های خونی جهت تعیین تعداد سلول‌های خونی در لوله‌های حاوی اتیلن‌دی‌آمین تتراسدیک اسید (EDTA) جمع‌آوری شد و پس از همگن‌سازی نمونه خون، یک قطره از آن را روی لام ریخته و با زاویه 45 درجه، لبه دیگر را روی آن کشیده و گسترش آن تهیه شد. سلول‌های خونی روی گسترش توسط متانول ثابت شده و با محلول گیمسا رنگ‌آمیزی شدند و شمارش هتروفیل و لنفوسیت نمونه‌های خون از طریق مشاهده انجام و نسبت هتروفیل به لنفوسیت محاسبه شد (5). جهت تعیین وزن نسبی اندام‌های لنفاوی در زمان کشتار بخش‌های تیموس (سه لب بالایی سمت راست)، طحال و بورس فابریسیوس از لاشه پرنده جدا شد و وزن نسبی آن‌ها به ازای هر صدگرم از وزن زنده پرنده گزارش شد. جهت ارزیابی سلول‌های خونی، درصد هماتوکریت و هموگلوبین برای این منظور خون در لوله‌های حاوی ماده ضدانعقاد EDTA ریخته و درب لوله محکم بسته شد و بلافاصله به آزمایشگاه مرکزی دانشگاه ایلام منتقل شد. در این آزمایش تعداد گلبول‌های سفید، گلبول‌های قرمز، هماتوکریت و درصد هموگلوبین تعیین شد. هم‌چنین جهت ارزیابی فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون در 42 روزگی از هر تکرار یک قطعه پرنده به صورت تصادفی انتخاب و با استفاده از سرنگ 2/5 میلی‌لیتری از سیاهرگ زیر بال خونگیری انجام شد و بلافاصله نمونه خون در لوله‌های دارای ماده ضدانعقاد EDTA ریخته شد. برای جداسازی پلاسما، نمونه‌های خون به مدت 10 دقیقه و با سرعت 4000 دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند، نمونه‌های پلاسما تا زمان ارزیابی فراسنجه‌های مربوطه (دو روز) در دمای 20- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند. غلظت آنزیم‌های آلانین‌آمینوترانسفراز (ALT) و آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST) نمونه‌ها با استفاده از کیت‌های شرکت پارس آزمون و دستگاه اسپکتروفتومتر (Visible UV مدل 4802) ارزیابی شد. برای بررسی وضعیت مورفولوژی روده جهت بررسی ریخت شناسی بافت روده جوجه‌ها و تعیین ابعاد پرزهای بخش‌های مختلف روده در پایان دوره پرورش، از هر واحد

یکی از بزرگ‌ترین منابع تامین پروتئین حیوانی در جهان، پرورش مرغ گوشتی است. یکی از مهم‌ترین ویژگی‌های این صنعت افزایش تراکم پرندگان در مزارع جدید با مدیریت علمی خاص و تلاش برای بهبود ضریب تبدیل و رشد است (2). به نظر می‌رسد با افزایش تراکم جوجه‌های گوشتی (واحد سطح) راندمان تولید افزایش یافته و این روش به عنوان یکی از روش‌های مدیریتی برای کاهش هزینه‌های تولید مانند نیروی کار و سوخت ذکر شده است (1). در واقع، افزایش تراکم پرندگان در یک لانه به عنوان یک استرس بر گله‌های در حال رشد شناخته شده است (9). در طول صنعتی شدن اولیه پرورش طیور، استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها به دلیل از بین رفتن باکتری‌های مضر، تفاوت‌های قابل توجهی در رشد گله ایجاد کرد و افزودن آنتی‌بیوتیک به جیره غذایی پرندگان توصیه گردید (4). طبق گزارش‌ها، آنتی‌بیوتیک‌ها با کاهش جمعیت میکروبی در دستگاه گوارش، خوراک مصرفی را افزایش می‌دهند، بنابراین ضریب تبدیل و وزن بدن جوجه‌های گوشتی را بهبود می‌بخشند. از سوی دیگر، استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها در بسیاری از کشورها به دلیل باقی‌مانده آن‌ها در محصولات تولیدی و انتقال آن‌ها به انسان و پیدایش مقاومت دارویی ممنوع شده است (6). براساس توضیحات فوق، هدف از این مطالعه بررسی سیستم ایمنی، مورفولوژی و فلور میکروبی روده جوجه‌های گوشتی در شرایط پرورش متراکم می‌باشد.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر در سالن مرغداری واقع در شهرستان دره‌شهر در بهار 1400 به مدت 42 روز اجرا شد. جهت انجام این آزمایش از تعداد 250 قطعه جوجه‌خروس گوشتی یک‌روزه سویه راس 308 از شرکت مرغ اجداد زربال رشت با میانگین وزنی 45 گرم در قالب آزمایش فاکتوریل 2×2 در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با 4 تیمار و 5 تکرار استفاده شد. جیره پایه (شاهد) برای تمام گروه‌ها یکسان در نظر گرفته شد و تیمارهای آزمایشی شامل: تیمار 1: تراکم عادی (10 قطعه جوجه در هر مترمربع) و جیره پایه، تیمار 2: تراکم بالا (15 قطعه جوجه در هر متر مربع) و جیره پایه، تیمار 3: تراکم عادی و جیره پایه بدون آنتی‌بیوتیک اکسی‌تتراسایکلین (250 گرم در تن خوراک) و تیمار 4: تراکم بالا و جیره پایه به علاوه آنتی‌بیوتیک اکسی‌تتراسایکلین (250 گرم در تن خوراک). دمای سالن در روز اول 33 درجه و تا انتهای هفته اول در محدوده 32 درجه سانتی‌گراد حفظ شد و با افزایش سن به ازای هر هفته 3 درجه سانتی‌گراد کاهش داده شد، به گونه‌ای که در هفته آخر پرورش، دمای سالن 18 درجه سانتی‌گراد بود. میزان رطوبت سالن در ابتدای دوره

آزمایشی، 3 قطعه جوجه به صورت تصادفی انتخاب و بعد از وزن کشی انفرادی کشتار شدند. برای این منظور، یک قطعه با اندازه حدود 3 سانتی متر از قسمت نزولی دئودنوم، قسمت میانی ژژنوم و قسمت انتهایی ایلئوم جدا شد. سپس با محلول سرم فیزیولوژیک حاوی بافر خنثی (با pH حدود 7/2) شستشو داده شد و درون محلول بافر فرمالین با همان اسیدیته و با غلظت 15 درصد تثبیت شد. قطعه جدا شده به همراه بافر فرمالین به داخل ظروف دربدار استریل انتقال داده شد. تا در زمان مناسب جهت اندازه گیری های ریخت شناسی روده مورد استفاده قرار گیرد. جهت اندازه گیری ابعاد

پرز و عمق کریپت از رویه تشریح شده استفاده شد (16). در این رویه ابتدا قطعه روده تثبیت شده در محلول فرمالین در مراحل قبلی با روش رنگ آمیزی فوشین رنگ شده، سپس توسط پارافین جامد تثبیت گردیده و توسط دستگاه میکروتوم (مدل DS9502) برش داده می شود. و بر روی لام میکروسکوپ (Sigma Scan, Jandel Scientific, San Rafael, CA, USA) با درجه بزرگ نمایی 50 و 100 مورد بررسی قرار گرفت. از تقسیم ارتفاع پرز به عمق کریپت نسبت مربوطه استخراج و در جداول مربوطه ارایه گردیدند.

جدول 1: مواد خوراکی تشکیل دهنده و ترکیب شیمیایی جیره پایه (گرم در کیلوگرم)

ماده خوراکی	آغازین (1-12 روزگی)	رشد (13-25 روزگی)	پایانی (26-42 روزگی)
ذرت	530/92	606/81	667/61
کنجاله سویا (44 درصد پروتئین)	350/08	296/30	280/05
روغن گیاهی	10	10	16
گلوتن ذرت (60 درصد پروتئین)	65	46	0
دی-ال متیونین	2/4	2	1/9
ال-لیزین هیدروکلرید	2/8	2/6	1/6
ال-ترئونین	0/5	0/42	0/04
دی کلسیم فسفات	15/2	14/47	12
صدف (کربنات کلسیم)	13/2	11/4	11
نمک	2/4	2/5	2/8
جوش شیرین	2	2	1/5
مکمل ویتامینه و معدنی ¹	5	5	5
ترکیب شیمیایی جیره پایه			
انرژی قابل متابولیسم (کیلوکالری در کیلوگرم)	2980	3050	3100
پروتئین خام (درصد)	23/7	20/8	18
لیزین قابل هضم (درصد)	1/25	1/10	0/96
متیونین قابل هضم (درصد)	0/58	0/52	0/43
سیستئین قابل هضم (درصد)	0/32	0/28	0/26
متیونین + سیستئین قابل هضم (درصد)	0/90	0/80	0/69
ترئونین قابل هضم (درصد)	0/79	0/69	0/60
والین قابل هضم (درصد)	0/98	0/87	0/76
لوسین قابل هضم (درصد)	2	1/79	1/45
کلسیم (درصد)	1/05	0/95	0/86
فسفر (درصد)	0/50	0/48	0/43
سدیم (درصد)	0/18	0/18	0/18
کلر (درصد)	0/23	0/23	0/23
کولین	139	124	113

1- هر کیلوگرم مکمل ویتامینی حاوی: 3600000 واحد بین المللی ویتامین A، 800000 واحد بین المللی ویتامین D₃، 7/2 گرم ویتامین E، 0/8 گرم ویتامین K، 0/7 گرم B₁، 2/64 گرم B₂، 11/88 گرم B₃، 3/92 گرم کلسیم دینئونات، 1/176 گرم B₆، 0/4 گرم B₉، 6 میلی گرم B₁₂ و 40 میلی گرم H₂. هر کیلوگرم مکمل مواد معدنی حاوی: 100 گرم کولین کلراید، 39/68 گرم منگنز (اکسید)، 33/88 گرم روی، 20 گرم آهن، 4 گرم مس، 0/396 گرم ید و 0/08 گرم سلنیوم و 3- اسید آمینه قابل هضم استاندارد شده ایلئومی = SID و 4- ال- ترئونین در تیمارهای 110 درصد در جیره آغازین 0/924، در جیره رشد 0/76 و در جیره پایانی 0/7 بود و در تیمارهای 120 درصد در جیره آغازین 1، در جیره رشد 0/83 و در جیره پایانی 0/77 بود.

این آزمایش در قالب فاکتوریل 2×2 بر پایه طرح کاملاً تصادفی با 4 تیمار و 5 تکرار انجام شد. داده ها توسط نرم افزار SAS (ورژن 9/2) با استفاده از رویه GLM (General Linear Model) آنالیز شدند و مقایسه میانگین ها با استفاده از روش چند دامنه ای دانکن

در سطح معنی داری 5 درصد انجام شد. مدل آماری طرح به این صورت است:

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + T_j + TB_{ij} + e_{ijk}$$

Y_{ijk} = مشاهدات، μ = میانگین مشاهدات، A_j = سطح آنتی بیوتیک،

B_j = اثر تراکم، TB_{ijk} = اثر متقابل سطح آنتی بیوتیک و تراکم،

e_{ijkl} = خطای آزمایشی

نتایج

هتروفیل به لنفوسیت شد ($P<0/05$). اثر اصلی افزودن آنتی‌بیوتیک اکسی‌تتراسایکلین به جیره جوجه‌های گوشتی سبب افزایش درصد لنفوسیت، کاهش درصد هتروفیل و نسبت هتروفیل به لنفوسیت شد ($P<0/05$). از طرف دیگر اثر متقابل تراکم گله و آنتی‌بیوتیک اکسی‌تتراسایکلین در جیره جوجه‌های گوشتی پرورش یافته در شرایط متراکم سبب افزایش درصد لنفوسیت، کاهش درصد هتروفیل و نسبت هتروفیل به لنفوسیت شد به طوری که با گروه شاهد عادی تفاوت معنی‌داری از لحاظ سلول‌های ایمنی خون وجود نداشت و حذف آنتی‌بیوتیک تاثیر مفیدی بر بهبود ایمنی جوجه‌های گوشتی نداشت ($P<0/05$).

تأثیر تیمارهای آزمایشی بر جمعیت سلول‌های خونی جوجه‌های گوشتی در جدول 2 آمده است. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که اثرات اصلی تراکم گله و آنتی‌بیوتیک اکسی‌تتراسایکلین و هم‌چنین اثر متقابل تراکم گله و آنتی‌بیوتیک اکسی‌تتراسایکلین بر تعداد گلبول سفید، گلبول قرمز و حجم سلول‌های خونی معنی‌دار نگردید ($P>0/05$). در مقابل، نتایج این جدول نشان داد که اثر اصلی تراکم گله (افزودن تراکم گله از 10 به 15 قطعه در هر مترمربع) به طور معنی‌داری سبب کاهش درصد لنفوسیت، افزایش درصد هتروفیل و نسبت

جدول 2: اثر تراکم گله و آنتی‌بیوتیک اکسی‌تتراسایکلین بر جمعیت سلول‌های خونی جوجه‌های گوشتی

تیمار آزمایشی ¹	Lymphocyte	Heterophil	WBC	RBC	H:L	PCV
1	67/9 ^b	31/6 ^b	7/9	2/4	0/47 ^b	30/4
2	64/1 ^c	34/1 ^a	7/8	2/2	0/53 ^a	29/4
3	73/3 ^a	25/1 ^c	9/1	2/3	0/34 ^c	28/3
4	69/2 ^b	29/8 ^b	7/5	2/2	0/43 ^b	27/8
خطای استاندارد میانگین‌ها	1/70	1/26	0/72	0/12	0/03	1/31
منابع تغییرات	P-Value					
تراکم	<0/05	<0/05	>0/05	>0/05	<0/05	>0/05
آنتی‌بیوتیک	<0/05	<0/05	>0/05	>0/05	<0/05	>0/05
تراکم × آنتی‌بیوتیک	0/03	0/006	0/22	0/56	0/001	0/44

^{a, b, c} اعداد داخل هر ستون با حروف غیر مشابه دارای تفاوت معنی‌دار هستند ($P<0/05$).

جیره‌های آزمایشی بر جمعیت میکروبی ایلئوم جوجه‌های گوشتی در جدول 3 آمده است. نتایج نشان داد که اثرات اصلی تراکم گله بر جمعیت لاکتوباسیل و اشریشیاکلی ایلئوم معنی‌دار بود به طوری که با افزودن تراکم گله از 10 به 15 قطعه در هر مترمربع جمعیت لاکتوباسیل ایلئوم کاهش و جمعیت اشریشیاکلی کاهش یافت و افزودن آنتی‌بیوتیک سبب کاهش جمعیت لاکتوباسیل ایلئوم شد ($P<0/05$) در حالی که بر جمعیت میکروبی اشریشیاکلی بی‌تاثیر بود ($P<0/05$). اثر متقابل تراکم گله و آنتی‌بیوتیک اکسی‌تتراسایکلین در جیره جوجه‌های گوشتی نشان داد که افزودن آنتی‌بیوتیک به جیره جوجه‌های گوشتی در شرایط عادی سبب کاهش معنی‌دار جمعیت لاکتوباسیل ایلئوم شد اما بر جمعیت لاکتوباسیل ایلئوم جوجه‌های گوشتی در شرایط متراکم بی‌تاثیر بود. در مقابل، آنتی‌بیوتیک در شرایط عادی و متراکم سبب کاهش معنی‌دار جمعیت اشریشیاکلی ایلئومی شد ($P<0/05$).

اثر جیره‌های آزمایشی بر آنزیم‌های کبدی و مالون‌دی‌آلدهید پلاسمای جوجه‌های گوشتی در جدول 3 آمده است. نتایج نشان داد که اثرات اصلی تراکم گله یا آنتی‌بیوتیک اکسی‌تتراسایکلین و اثر متقابل تراکم گله و آنتی‌بیوتیک اکسی‌تتراسایکلین بر فعالیت آنزیم کبدی آسپارات آمینوترانسفراز جوجه‌های گوشتی تاثیر معنی‌داری نداشت ($P>0/05$). اثرات اصلی تراکم گله با آنتی‌بیوتیک اکسی‌تتراسایکلین بر غلظت مالون‌دی‌آلدهید پلاسما و اثر اصلی تراکم گله بر فعالیت آنزیم آلانین آمینوترانسفراز پلاسما در مقابل افزودن آنتی‌بیوتیک سبب کاهش این فراساده‌های پلاسمایی شد ($P<0/05$). اثر متقابل تراکم گله و آنتی‌بیوتیک اکسی‌تتراسایکلین در جیره جوجه‌های گوشتی نشان داد که فقط در گروه با تعداد جوجه عادی، افزودن آنتی‌بیوتیک سبب کاهش سبب کاهش مالون‌دی‌آلدهید پلاسما شد ($P<0/05$). اثر

جدول 3: اثر تراکم گله و آنتی بیوتیک اکسی تتراسایکلین بر جمعیت میکروبی ایلئوم (log cfu/g) و فعالیت آنزیم های کبدی و مالون دی آلدئید پلاسمای جوجه های گوشتی

تیمار آزمایشی ¹	ALT (U/L)	AST (U/L)	MDA (nmol/mL)	لاکتوباسیل	اشریشیاکلی
1	12/0 ^{ab}	264/3	0/41 ^b	1/84 ^a	1/23 ^c
2	14/0 ^a	289/8	0/53 ^a	1/53 ^b	1/79 ^a
3	10/5 ^b	252/1	0/38 ^c	1/48 ^c	1/05 ^d
4	11/5 ^{ab}	258/6	0/42 ^b	1/46 ^c	1/34 ^b
خطای استاندارد میانگین ها	1/15	8/12	0/03	0/02	1/15
منابع تغییرات	P-Value				
تراکم	<0/05	>0/05	<0/05	<0/05	<0/05
آنتی بیوتیک	<0/05	>0/05	<0/05	<0/05	>0/05
تراکم × آنتی بیوتیک	0/03	0/70	0/08	0/001	0/01

^{a,b,c} اعداد داخل هر ستون با حروف غیر مشابه دارای تفاوت معنی دار هستند (P<0/05).

اثر تیمارهای آزمایشی بر ایمنی همورال (تیترا آنتی بادی علیه ویروس نیوکاسل و آنفلوآنزا) و وزن نسبی اندام های ایمنی در جدول 4 نشان داده شده است. نتایج این جدول نشان می دهد که اثرات اصلی تراکم گله یا آنتی بیوتیک اکسی تتراسایکلین و اثر متقابل تراکم گله و آنتی بیوتیک اکسی تتراسایکلین بر تیترا آنتی بادی علیه ویروس نیوکاسل، آنفلوآنزا، وزن نسبی طحال و بورس فابرسیوس تاثیر معنی داری نداشت (P>0/05). اثرات اصلی تراکم گله بر وزن نسبی تیموس معنی دار بود به طوری که با افزودن تراکم گله از 10 به 15

قطعه در هر مترمربع گله وزن نسبی تیموس کاهش یافت (P<0/05) ولی اثر اصلی آنتی بیوتیک اکسی تتراسایکلین بر وزن نسبی تیموس معنی دار نبود (P>0/05). اثر متقابل تراکم گله و آنتی بیوتیک اکسی تتراسایکلین در جیره جوجه های گوشتی نشان داد که در گروه عادی افزودن آنتی بیوتیک سبب کاهش وزن نسبی تیموس شد اما در گروه متراکم، افزودن آنتی بیوتیک سبب کاهش بیش تر وزن نسبی تیموس نسبت به گروه متراکم شد (P<0/05).

جدول 4: اثر تراکم گله و آنتی بیوتیک اکسی تتراسایکلین بر ایمنی همورال و وزن نسبی اندام های ایمنی جوجه های گوشتی

تیمار آزمایشی ¹	نیوکاسل	آنفلوآنزا	طحال	بورس	تیموس
1	3/12	2/1	0/13	0/20	0/61 ^a
2	2/47	2/3	0/16	0/22	0/42 ^b
3	3/65	2/6	0/12	0/19	0/25 ^c
4	2/78	2/4	0/15	0/17	0/39 ^b
خطای استاندارد میانگین ها	0/31	0/17	0/004	0/02	0/04
منابع تغییرات	P-Value				
تراکم	>0/05	>0/05	>0/05	>0/05	>0/05
آنتی بیوتیک	>0/05	>0/05	>0/05	>0/05	<0/05
تراکم × آنتی بیوتیک	0/79	0/83	0/87	0/70	0/01

^{a,b,c} اعداد داخل هر ستون با حروف غیر مشابه دارای تفاوت معنی دار هستند (P<0/05).

اثر تیمارهای آزمایشی بر مورفولوژی روده جوجه های گوشتی در جدول 5 آمده است. نتایج این جدول نشان داد که اثرات اصلی تراکم گله یا آنتی بیوتیک اکسی تتراسایکلین و اثر متقابل تراکم گله و آنتی بیوتیک اکسی تتراسایکلین بر سطح مقطع ویلی و نسبت طول ویلی به عرض کریپت تاثیر معنی داری نداشت (P>0/05). اثر اصلی

تراکم گله بر ارتفاع ویلی، عرض ویلی، عمق کریپت و ضخامت لایه عضلانی معنی دار بود به طوری که با افزودن تراکم گله از 10 به 14 قطعه در هر مترمربع گله ارتفاع ویلی و عمق کریپت کاهش یافت ولی ضخامت لایه عضلانی افزایش یافت (P<0/05) ولی بر عرض ویلی تاثیر معنی داری نداشت (P>0/05). اثر اصلی آنتی بیوتیک

افزودن آنتی بیوتیک سبب افزایش ارتفاع ویلی و عمق کریپت و کاهش ضخامت لایه عضلانی شد ($P < 0/05$) اما در مورد عرض ویلی رفتار افزودن آنتی بیوتیک در دو گروه عادی و متراکم متناقض یکدیگر بود ($P > 0/05$) فقط در این صفت اثر متقابل بین دو فاکتور معنی دار بود.

اکسی تتراسایکلین بر ارتفاع ویلی، عمق کریپت و ضخامت لایه عضلانی نیز معنی دار بود به طوری که افزودن اکسی تتراسایکلین سبب افزایش ارتفاع ویلی، عمق کریپت و ضخامت لایه عضلانی شد ($P > 0/05$) ولی بر عرض ویلی تاثیر معنی داری نداشت ($P > 0/05$). اثر متقابل تراکم گله و آنتی بیوتیک اکسی تتراسایکلین در جیره جوجه های گوشتی نشان داد که در هر دو گروه عادی و متراکم

جدول 5: اثر تراکم گله و آنتی بیوتیک اکسی تتراسایکلین بر مورفولوژی روده جوجه های گوشتی

تیمار آزمایشی ¹	VH (μm)	VW (μm)	CD (μm)	LPT (μm)	VSA (μm^2)	VH:CD
1	1112 ^b	178 ^a	135 ^{ab}	29 ^b	62/2	8/2
2	1008 ^c	164 ^b	121 ^c	32 ^a	51/9	8/3
3	1219 ^a	165 ^b	143 ^a	24 ^c	63/2	8/5
4	1117 ^b	175 ^a	134 ^{ab}	26 ^c	61/4	8/3
خطای استاندارد	31/9	3/7	4/2	0/09	3/26	0/08
P-Value						
تراکم	<0/05	>0/05	<0/05	<0/05	>0/05	>0/05
آنتی بیوتیک	<0/05	>0/05	<0/05	<0/05	>0/05	>0/05
تراکم $\times$ آنتی بیوتیک	0/002	0/001	0/03	0/002	0/99	0/44

^{a, b, c} اعداد داخل هر ستون با حروف غیر مشابه دارای تفاوت معنی دار هستند ($P < 0/05$). VH = ارتفاع ویلی، VW = عرض ویلی، CD = عمق کریپت،

LPT = ضخامت لایه عضلانی، VSA = سطح مقطع ویلی و VH:CD = نسبت طول ویلی به عمق کریپت.

بحث

گله و جیره بدون آنتی بیوتیک سبب تغییر فلور میکروبی و افزایش باکتری های نامطلوب و افزایش ورود باکتری های مضر به جریان خون و سلول های روده ای شده و به دلیل ورود آنتی ژن باکتری های بیماری زا به بدن، تضعیف سیستم ایمنی و تغییر در جمعیت سلول های خونی جوجه های گوشتی ایجاد می شود و افزودن آنتی بیوتیک یا جایگزین های آنتی بیوتیکی در شرایط تنشی می تواند به بهبود عملکرد طيور منجر شود. داده های جدول به افزایش باکتری های مضر در دستگاه گوارش به دلیل تراکم بالا اشاره دارد. حذف آنتی بیوتیک با افزایش باکتری مضر در دستگاه گوارش در شرایط متراکم همراه است و تراکم بالاتر به دلیل شل کردن اتصالات محکم در دستگاه گوارش زمینه ورود باکتری های مضر به جریان خون را فراهم می کند. به دنبال این امر، با بروز عفونت و افزایش تنش به بدن، میزان فعالیت آنزیم های کبدی افزایش و به دلیل آسیب به دیواره سلول های بدن، میزان مالون دآلدهید افزایش می یابد. با افزودن آنتی بیوتیک به جیره این اثرات نامطلوب حذف نمی شود بلکه کاهش می یابد زیرا بین گروه شاهد و گروه متراکم دریافت کننده آنتی بیوتیک بعضاً تفاوت معنی داری مشاهده می شود. تغذیه از طریق چندین مکانیسم شامل فراهم کردن سوبسترای مورد نیاز برای سلول های سیستم ایمنی،

لنفوسیت ها بیش تر گلبول های سفید خون را تشکیل داده و سلول هایی هستند که در نهایت وظیفه تولید آنتی بادی را بر عهده دارند. با توجه به این که در پرندگان لنفوسیت ها بالاترین میزان گلبول های سفید خون را تشکیل می دهند و برای ایجاد پاسخ ایمنی، تأثیر متقابل لنفوسیت های B، T و ماکروفاژها و در نهایت، تحریک سیستم ایمنی بدن حیوانات ضروری است. در این رابطه، افزایش تراکم در گله میزان لنفوسیت خون جوجه های گوشتی را کاهش، و میزان هتروفیل را افزایش داد (12). مشابه با این نتایج، گزارش کردند که با افزایش تراکم میزان هتروفیل، لنفوسیت و گلبول قرمز خون پرندگان را تحت تأثیر قرار نگرفت (13). گزارش شده است که در جوجه های چالش یافته با لیپو پلی ساکراید و بدون آنتی بیوتیک سطح بیان ژن پروتئین های اتصالات محکم روده ای، پروتئین تشکیل دهنده موسین و سیتوکین های التهابی از قبیل IL-1B، IL-2، IL-6، IL-8 و IL-17A در 24 ساعت پس از چالش افزایش یافت و در مقایسه با گروه بدون آنتی بیوتیک، افزودن آنتی بیوتیک به جیره گروه چالش یافته با لیپو پلی ساکراید سبب کاهش بیان ژن سایتوکین های التهابی روده شد (10، 15). نتایج این تحقیق نشان می دهد که تراکم

دارای آنتی‌بیوتیک تتراسایکلین در شرایط متراکم مرتبط دانست. بر اساس نتایج پژوهش حاضر می‌توان گفت که حذف آنتی‌بیوتیک‌ها از جیره جوجه‌های گوشتی پرورش یافته در شرایط متراکم معقول نبوده و باعث کاهش فراسنجه‌های عملکردی، ایمنی و مورفولوژیک جوجه‌های گوشتی می‌گردد. افزودن جایگزین‌های آنتی‌بیوتیک به جیره در شرایط پرورش متراکم به‌عنوان یک راهکار پیشنهاد می‌گردد.

منابع

1. **Abdullah, A.Y., Mahmoud, K.Z., Nusairat, B.M. and Qudsieh, R.I., 2010.** Small intestinal histology, production parameters, and meat quality as influenced by dietary supplementation of garlic (*Allium sativum*) in broiler chicks. *Italian journal of animal science*. 9(4): e80.
2. **Ahmadpour, D., Karimi Torshizi, M.A. and Shariatmadari, F., 2013.** Effect of L-threonine supplementation of wheat based diet on immune response, small intestinal morphology, and blood parameters of Japanese quails. *Animal Sciences Journal* (Pajouhesh & Szandegi). 104: 207-218. (In Persian)
3. **Azzam, M. and El-Gogary, M., 2015.** Effects of dietary threonine levels and stocking density on the performance, metabolic status and immunity of broiler chickens. *Asian journal of animal & veterinary advances*. 10(5): 215-225.
4. **Coates, M.E., Fuller, R., Harrison, G., Lev, M. and Suffolk, S. A., 1963.** comparison of the growth of chicks in the Gustafsson germ-free apparatus and in a conventional environment, with and without dietary supplements of penicillin. *British journal of nutrition*. 17(1): 141-150.
5. **Dein, J., 1984.** Laboratory Manual of avian hematology Association of Avian hematology, Association of avian veterinarians. Gasi North Port USA.
6. **Garcia, V., Catala-Gregori, P., Hernandez, F., Megias, M. and Madrid, J., 2007.** Effect of formic acid and plant extracts on growth, nutrient digestibility, intestine mucosa morphology, and meat yield of broilers. *Journal of applied poultry research*. 16(4): 555-562.
7. **Iji, P.A., Saki, A.A. and Tivey, D.R., 2001.** Intestinal structure and function of broiler chickens on diets supplemented with a mannan oligosaccharide. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. (12)81: 1186-1196.
8. **Lopez, G. and Leeson, S., 1995.** Response of broiler breeders to low-protein diets 1. Adult breeder performance. *Poultry Science*. 74(4): 685-695.
9. **Møller, A., Sanotra, G. and Vestergaard, K., 1995.** Developmental stability in relation to population density and breed of chickens *Gallus gallus*. *Poultry Science*. 74(11): 1761-1771.

محرومیت عوامل بیماری‌زا از مواد مغذی، اثرات تنظیمی مستقیم بر سیستم ایمنی و تغییر در بالانس هورمون‌ها که موجب تنظیم ایمنی می‌شوند، می‌تواند بر سیستم ایمنی اثر داشته باشد. سوپستراها (چربی‌ها، آمینواسیدها و سایر مواد مغذی) برای فعالیت آنابولیکی سلول‌های سیستم ایمنی مانند تکثیر و تولید آنتی‌بادی، ترشح مولکول‌های فعال ایمونولوژیک و پروتئین‌های مرحله حاد ضروری هستند (11). با توجه به این موضوع که وزن اندام‌های لنفوئیدی (طحال، تیموس، بورس) روشی برای بررسی توان سیستم ایمنی می‌باشد (2)، اکثر محققین کاهش وزن اعضای لنفوئیدی را چنانچه ناشی از درگیری با بیماری‌ها نباشد به‌عنوان کاهش عملکرد سیستم ایمنی حیوان برآورد می‌کنند (3). عملکرد تیموس و بورس در اثر کمبودهای مواد مغذی و استرس‌های شدید دچار تغییر می‌شود و ارتباط بین آتروفی این اعضا به سوء تغذیه به اثبات رسیده است (8). با توجه به این موضوع که وزن اندام‌های لنفوئیدی (طحال، تیموس، بورس) روشی برای بررسی توان سیستم ایمنی می‌باشد (2)، اکثر محققین کاهش وزن اعضای لنفوئیدی را چنانچه ناشی از درگیری با بیماری‌ها نباشد به عنوان کاهش عملکرد سیستم ایمنی حیوان برآورد می‌کنند (3). عملکرد تیموس و بورس در اثر کمبودهای مواد مغذی و استرس‌های شدید دچار تغییر می‌شود و ارتباط بین آتروفی این اعضا به سوء تغذیه به اثبات رسیده است (8). در آزمایش حاضر، آنتی‌بیوتیک اضافه شده به جیره در شرایط پرورش متراکم بر ایمنی همورال و وزن اندام‌های لنفوئیدی تأثیر نداشت. ایمنی ایجاد شده علیه ویروس‌های نیوکاسل و انفلوانزا بود که احتمالاً به این دلیل که آنتی‌بیوتیک‌ها روی ویروس‌ها موثر نیستند، تفاوت معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نشد. مواد مغذی و افزودنی‌های خوراکی قادرند ساختار روده باریک را تغییر دهند. طول پرزها و عمق کریپت‌ها معیارهای تشخیص سلامتی سیستم گوارشی طیور می‌باشد. به‌طور کلی پذیرفته شده که افزایش ارتفاع پرز، در ترکیب با عمق کم‌تر کریپت (ارتفاع پرز به عمق کریپت) که به شاخص پرز معروف است موجب مهاجرت آهسته‌تر آنتروسیست‌ها در طول پرز شده و از دست رفتن آنتروسیست از پرزها کاهش می‌یابد (7). میزان عمق کریپت، تخمینی از تعداد سلول‌های ویلی روده را ارائه می‌دهد. عمق کریپت بالاتر نشان‌دهنده، میزان ترن‌آور بالاتر در سلول‌های روده است که نیازمند پروتئین و انرژی بالاتر است (2). برخلاف نتایج آزمایش حاضر محققین گزارش کردند که افزایش تراکم گله از 10 به 16 قطعه در هر مترمربع فراسنجه‌های مورفولوژی ژئوزنوم جوجه‌های گوشتی را تحت تأثیر قرار نداد. دلیل احتمالی تأثیر تیمارهای آزمایشی بر مورفولوژی روده را می‌توان به تغییر جمعیت باکتری‌های دستگاه گوارش و تغییر در عملکرد جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با جیره

10. **Oh, S., Lillehoj, H.S., Lee, Y., Bravo, D. and Lillehoj, E.P., 2019.** Dietary antibiotic growth promoters down-regulate intestinal inflammatory cytokine expression in chickens challenged with LPS or co-infected with *Eimeria maxima* and *Clostridium perfringens*. *Frontiers in Veterinary Science*. 6: 420.
11. **Paul, S. and Dey, A., 2015.** Nutrition in health and immune function of ruminants. *Indian Journal of Animal Sciences*. 85(2): 103-112.
12. **Qaid, M., Albatshan, H., Shafey, T., Hussein, E. and Abudabos, A., 2016.** Effect of stocking density on the performance and immunity of 1-to 14-d-old broiler chicks. *Brazilian Journal of Poultry Science*. 18: 683-692.
13. **Sekeroglu, A., Sarica, M., Gulay, M.S. and Duman, M., 2011.** Effect of stocking density on chick performance, internal organ weights and blood parameters in broilers. *Journal of Animal and Veterinary Advances*. 10(2): 246-250.
14. **Tatum, J., DeWalt, M., LeValley, S., Savell, J. and Williams, F., 1998.** Relationship of feeder lamb frame size to feedlot gain and carcass yield and quality grades. *Journal of animal science*. 76(2): 435-440.
15. **Tork, A., Khatibjoo, A., Akbari Gharaei, M., Taherpour, K., and Soltani M., 2022.** Effect of different levels *Tanacetum balsamita* hydroalcoholic essential oil on broiler chickens performance and humoral and cell mediated immunity. *Journal of Animal Environment*. 14(3): 155-162. (In Persian)
16. **Yu, D., Hang, Q.L., Ding, Y., Zhang, H., Bai, Z. and Wang, J., 1998.** Amorphous silica nanowires: intensive blue light emitters. *Applied Physics Letters*. 73(21): 3076-3078.