

اثر سطوح مختلف ترتیکاله در جیره با و بدون مکمل آنزیمی بر ریخت شناسی ژژنوم بلدرچین ژاپنی

ابراهیمی، ا.*، سبجانی راد، س.، زرقی، ح.، و صالحی فر، ا.

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد اسلامی مشهد

۲- استادیاران دانشگاه آزاد اسلامی مشهد

۳- استادیار دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد

*آدرس پست الکترونیک نویسنده‌ی پاسخگو: (abrahimi1349@gmail.com)

چکیده

به منظور بررسی اثر سطوح مختلف ترتیکاله و افزودن مکمل آنزیمی به جیره بر ریخت شناسی ژژنوم بلدرچین آزمایشی با تعداد ۲۴۰ قطعه جوجه بلدرچین ژاپنی (مخلوط دو جنس) در قالب طرح کاملاً تصادفی به صورت فاکتوریل (۳×۲) با ۴ تکرار و ۱۰ قطعه پرنده در هر واحد آزمایشی انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل ۳ نوع جیره بر مبنای (ذرت- سویا، ذرت- ترتیکاله- سویا و ترتیکاله- سویا) با و بدون افزودن مکمل آنزیمی حاوی سلولاز- بتاگلوکاناز و آرابینوزایلاناز بود. جیره‌های آزمایشی به نحوی تنظیم شدند که از لحاظ میزان انرژی و سایر مواد مغذی با هم برابر باشند. افزایش سطح ترتیکاله در جیره باعث افزایش ارتفاع ویلی‌ها، ضخامت لایه عضلانی، نسبت ارتفاع ویلی به عمق کریپ‌ها و مساحت ظاهری ویلی به طور معنی دار شد ($P < 0/05$) همچنین افزودن مکمل آنزیمی به جیره مصرفی باعث کاهش معنی دار ضخامت لایه عضلانی شد ($P < 0/05$). نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که افزودن مکمل‌های آنزیمی به جیره موجب تعدیل اثرات ضد تغذیه‌ای غلات چسبنده مثل ترتیکاله می‌شود.

واژه‌های کلیدی: بلدرچین، ترتیکاله، ریخت شناسی ژژنوم، مکمل آنزیمی

مقدمه

در سال‌های اخیر افزودن مکمل‌های آنزیمی به جیره حیوانات تک معده‌ای مثل طیور گسترش یافته است به طوری که برآورد می‌شود حدود ۶۵ درصد جیره‌های مورد استفاده در تغذیه طیور محتوی آنزیم هستند (۱۲). مکمل‌های آنزیمی با تعدیل اثرات منفی پلی‌ساکاریدهای غیر نشاسته‌ای بر لایه مخاطی روده آتروفی ویلی‌ها و بزرگ شدن اندام‌های گوارشی را کاهش می‌دهند (۱۳) گارسیا و همکاران (۵) و ویورس و همکاران (۱۳) گزارش نمودند با افزودن مکمل‌های آنزیمی به جیره ارتفاع و سطح ویلی‌ها افزایش می‌یابد. با افزودن آنزیم‌های تجزیه کننده پلی‌ساکاریدهای غیر نشاسته‌ای به جیره‌های حاوی غلات چسبنده، اثر زیستی حاصل از آزاد سازی الیگوساکاریدها در دستگاه گوارش می‌تواند باعث تاثیر مثبت بر بافت دستگاه گوارش می‌شود. این الیگوساکاریدها در جریان تجزیه کربوهیدرات‌های دیواره سلولی و ذخیره‌ای توسط مکمل‌های آنزیمی تولید می‌شوند. چاکت و همکاران (۲۲) و دان (۳) گزارش نمودن افزودن مکمل‌های آنزیمی به جیره باعث کاهش جمعیت میکروبی بیماری زا در مجاری گوارشی می‌شود. در نتیجه اثرات منفی میکروبی‌های بیماری‌زا مثل افزایش آتروفی ویلی‌ها، بزرگ شدن اندام‌ها و افزایش وزن نسبی دستگاه گوارش را بر طرف می‌کنند (۱ و ۱۲). مطالعه حاضر به منظور بررسی اثر افزودن مکمل آنزیمی سلولاز- زایلاناز- بتاگلوکاناز به جیره بر ریخت شناسی ژژنوم بلدرچین انجام شد.

مواد و روش‌ها

آزمایش با استفاده از ۲۴۰ قطعه بلدرچین در سن ۱ تا ۲۱ روزگی انجام شد. جوجه‌ها در روز نخست آزمایش به طور تصادفی به ۲۴ گروه ۱۰ قطعه‌ای با وزن گروهی یکسان تقسیم و به واحدهای پن بندی شده منتقل شدند. میانگین وزن

جوجه‌ها در شروع آزمایش $1/5 \pm 9/5$ گرم بود. دمای سالن پرورش در زمان شروع آزمایش در دامنه ۳۷-۳۵ درجه سانتی-گراد تنظیم، پس از ۲۴ ساعت به تدریج (روزانه $0/5-0/4$ درجه) تا رسیدن دمای سالن به دامنه ۲۲-۲۰ درجه سانتی-گراد کاهش داده شد. در طول دوره آزمایش رطوبت نسبی سالن در دامنه ۶۰-۵۰ درصد و برنامه نوری ۲۳ ساعت روشنایی و ۱ ساعت خاموشی اعمال شد. در کل دوره آزمایش، پرندگان به آب و خوراک دسترسی مداوم داشتند.

اعمال تیمارهای آزمایشی شامل ۳ نوع جیره بر مبنای (ذرت- سویا، ذرت- تریتیکاله- سویا و تریتیکاله- سویا) با و بدون افزودن مکمل آنزیمی حاوی سلولاز- بتاگلوکاناز و آرابینوزایلاناز (صفر و $0/05$ درصد "حداکثر میزان توصیه شده توسط شرکت سازنده")، در قالب طرح کاملاً تصادفی به روش فاکتوریل (2×3)، تیمار با ۴ تکرار و ۱۰ قطعه پرنده در هر واحد آزمایشی انجام شد. مکمل آنزیمی مورد استفاده دارای حداقل 3500 واحد فعالیت بتاگلوکانازی و 1600 واحد فعالیت آرابینوزایلانازی و 25 واحد فعالیت سلولازی در گرم بود. جیره‌های آزمایشی با مقادیر انرژی و پروتئین یکسان و بر اساس حداقل مقادیر مواد مغذی توصیه شده برای یلدرچین ژاپنی در جداول احتیاجات غذایی کتاب NRC, 1994 (۹) به نحوی تنظیم شدند که از لحاظ میزان انرژی و سایر مواد مغذی با هم برابر باشند و از ۱ تا ۲۱ روزگی به صورت تغذیه آزاد در دسترس پرندگان مورد آزمایش قرار گرفتند.

کشتار و نمونه برداری- در روز پایانی آزمایش (۲۱ روزگی) از هر واحد آزمایشی یک قطعه پرنده (۵ قطعه از هر تیمار) که به میانگین وزنی پن نزدیک بود، جهت کشتار انتخاب شدند. پرندگان انتخاب شده توزین با جابه‌جایی مهره گردن کشتار، بلافاصله محوطه شکمی باز و اندام‌های مختلف دستگاه گوارش آن‌ها جدا شدند. در ابتدا یک قطعه‌ی بافتی (حدود $1/5$ سانتی متر) از قسمت میانی ژژونوم روده (ناحیه وسط بین مجاری ورودی صفرا و زائده مکل) برای مطالعات بافت شناسی نمونه برداری شد. نمونه‌های تهیه شده با محلول سالین $0/9$ درصد به منظور زودود شدن محتویات آن شستشو داده شدند و سپس داخل محلول فرمالین 10 درصد به منظور ثابت شدن نمونه‌های بافتی قرار گرفتند.

فرآوری نمونه‌های بافتی- محلول ثابت کننده ظرف محتوی نمونه‌های بافتی بعد از 24 ساعت تعویض و سپس تا زمان انجام آزمایشات بافت شناسی نگهداری شدند. نمونه‌های بافتی در آزمایشگاه بافت شناسی از محلول فرمالین خارج شدند و با قرار دادن داخل دستگاه فرآوری خودکار فرآیند شستشو از محلول ثابت کننده اضافی، آبگیری، شفاف سازی و آغشتگی روی آن‌ها طی سه مرحله؛ ۱- آبگیری با قرار دادن نمونه‌ها در محلول‌های الکل اتیلیک با درجات صعودی ۲- شفاف سازی با قرار دادن نمونه‌ها در محلول زایلان (زایلان جایگزین الکل می‌شود) و ۳- پارافینه کردن با قرار دادن نمونه‌ها در داخل پارافین مایع به منظور اشباع سازی نمونه با پارافین انجام شد. تهیه بلوک‌های بافتی با استفاده از قالب‌های لوکهارت و پارافین انجام شد. از بلوک‌های پارافینی با استفاده از دستگاه میکروتوم^۱ نیمه اتومات به فاصله 60 میکرومتر دو برش با ضخامت $7-6$ میکرومتر تهیه شد. رنگ آمیزی بافت‌های پایدار شده روی لام پس از پارافین گیری با زایلان و آب دهی با درجات نزولی الکل اتیلیک به کمک روش رنگ آمیزی هماتوکسیلین و اتوزین^۲ انجام شد.

اندازه‌گیری فراسنجه‌های بافت شناسی- بررسی وضعیت ظاهری ویلی‌های روده و مورفومتری روده با استفاده از میکروسکوپ نوری مجهز به دوربین^۳ روی حداقل 9 عدد ویلی سالم برای هر نمونه بافتی انجام شد. شاخص‌های مورد سنجش در مورفومتری روده شامل ارتفاع ویلی از نوک ویلی تا دهانه کریپت‌ها، عرض ویلی‌ها شامل میانگین عرض در یک سوم و دو سوم ارتفاع ویلی‌ها، عمق کریپت غدد لیبرکوهن از قاعده ویلی‌ها تا ماهیچه مخاطی، ضخامت لایه ماهیچه‌ای از لایه زیر مخاطی تا لایه سروزی روده بودند (۴). همچنین مساحت ظاهری ویلی با ضرب عدد $3/14$ در میانگین عرض هر ویلی در ارتفاع آن تعیین شد (۷).

داده‌ها برای اثرات اصلی، سطوح تریتیکاله و افزودن مکمل آنزیمی و برای اثرات متقابل، سطوح تریتیکاله × افزودن مکمل آنزیمی آنالیز شدند. نتایج بدست آمده از آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با روش فاکتوریل، با استفاده از نرم افزار آماری SAS^۴ و رویه مدل عمومی خطی GLM مورد تجزیه آماری قرار گرفتند (۱۰).

1 - Model Leica RM 2145

2 - Hematoxylin and Eosin

3 - Model U- TV0.5 XC-2, Olympus corporation, BX41

4 - SAS Institute, 2003

نتایج و بحث

میانگین ارتفاع، عرض و مساحت ظاهری ویلی، عمق کریپت، نسبت ارتفاع ویلی به عمق کریپت و ضخامت لایه عضلانی بافت ناحیه ژژونوم روده کوچک در سن ۲۱ روزگی که با جیره‌های حاوی سطوح مختلف تریتیکاله با و بدون مکمل آنزیمی در دوره رشد (۱ تا ۲۱ روزگی) تغذیه شده بودند در جدول ۱ نشان داده شده است.

با افزایش سطح تریتیکاله در جیره ارتفاع ویلی‌ها، ضخامت لایه عضلانی، نسبت ارتفاع ویلی به عمق کریپت‌ها و مساحت ظاهری ویلی به طور معنی‌دار افزایش یافت. به طوری که در پرندگان تغذیه شده با جیره بر پایه تریتیکاله- سویا شاخص-های فوق به طور معنی‌دار از پرندگان تغذیه شده با جیره بر مبنای ذرت و سویا و جیره ذرت- تریتیکاله- سویا بیشتر بود. با افزودن مکمل آنزیمی به جیره مصرفی ضخامت لایه عضلانی کاهش ولی شاخص‌های ارتفاع ویلی، سطح ویلی و عرض ویلی افزایش یافت به طوری که افزایش عرض ویلی معنی‌دار بود.

جدول ۱. اثر سطح تریتیکاله و مکمل آنزیمی زایلاناز-بتاگلوکاناز در جیره بر ریخت‌شناسی مخاط روده کوچک جوجه‌های بلدرچین در سن ۲۱ روزگی.

مقایسه میانگین‌ها	سطح ویلی	نسبت ارتفاع ویلی به عمق کریپت	ارتفاع ویلی	عرض ویلی	عمق کریپت	ضخامت لایه عضلانی
سطح تریتیکاله	μm^2				μm	
صفر	۱۸۳۸ ^b	۴/۹۸ ^c	۵۳/۴۵ ^b	۱۰/۸۸	۱۰/۸۳ ^a	۷/۸۶ ^a
۲۶/۸۵	۱۷۸۰ ^b	۶/۰۶ ^b	۵۶/۴۴ ^b	۱۰/۱۶	۹/۳۱ ^b	۵/۴۶ ^b
۵۸/۷۸	۲۷۶۹ ^a	۷/۶۲ ^a	۷۸/۱۵ ^a	۱۱/۰۰	۱۰/۱۶ ^{ab}	۷/۸۸ ^a
خطای استاندارد	۱۳۲	۰/۳۲	۴/۲۰	۰/۴۵	۰/۳۳	۰/۳۷
سطح معنی‌داری	**	**	**	ns	**	**
مکمل آنزیمی						
بدون آنزیم	۲۰۴۳	۶/۰۱	۶۲/۱۶	۱۰/۱۹ ^b	۱۰/۲۸	۷/۳۳
با آنزیم	۲۲۱۵	۶/۴۲	۶۳/۱۹	۱۱/۴۲ ^a	۹/۹۲	۶/۸۰
خطای استاندارد	۱۰۸	۰/۲۶	۳/۴۳	۰/۳۷	۰/۲۷	۰/۳۰
سطح معنی‌داری	ns	ns	ns	*	ns	ns

a...c- میانگین‌های هر ستون برای اثر اصلی که حرف مشترک ندارند دارای اختلاف معنی‌دار هستند ($P < 0.05$)

ns- اختلاف معنی‌دار نیست، *- ($P < 0.05$)، **- ($P < 0.01$)

نتایج بدست آمده در این تحقیق با گزارش سایر محققین مطابقت دارد به طوری که ویورس و همکاران گزارش کردند مکمل‌های آنزیمی با تعدیل اثرات منفی پلی‌ساکاریدهای غیر نشاسته‌ای بر لایه مخاطی روده مثل آتروفی ویلی‌ها و بزرگ شدن اندام‌های گوارشی را کاهش می‌دهند (۱۳). گارسیا و همکاران (۶) و ویورس و همکاران (۱۳) گزارش نمودند با افزودن مکمل‌های آنزیمی به جیره ارتفاع و سطح ویلی‌ها افزایش می‌یابد. سیلوا و اسمیزارد (۱۱) گزارش کردند تغذیه جوجه‌های گوشتی با جیره‌های حاوی چاودار منجر به افزایش تخریب و بازسازی انتروسیت‌ها می‌شود. نشان داده شده است که حضور محتویات روده با چسبندگی بالا در موش موجب افزایش تقسیم انتروسیت‌ها می‌شود (۸).

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که افزودن مکمل‌های آنزیمی به جیره موجب تعدیل اثرات ضد تغذیه‌ای غلات چسبنده مثل تریتیکاله می‌شود.



فهرست منابع

1. Campbell, G. L., and M. R. Bedford. 1992. Enzyme applications for mono-gastric feeds: A review. *Canadian Journal Animal Science*, 72:449–466.
2. Choct, M., R. J. Huges, R. P. Trimble, K. Angkanaporn and G. Annison. 1995. Non-starch polysaccharide-degrading enzymes increase the performance of broiler chickens fed wheat and low apparent metabolisable energy. *Journal Nutrition*, 125: 485–492.
3. Dunn, N. 1996. Combating the pentosans in cereals. *World Poultry* 12(1):24–25.(19)
4. Geyra, A., Z. Uni, and D. Sklan. 2001. Enterocyte dynamics and mucosal development in the posthatch chick. *Poultry Science*, 80: 776–782.
5. Gracia, M. I., M. A. Latorre, M. Garcia, R. Lazaro, and G. G. Mateos. 2003. Heat processing of barley and enzyme supplementation of diets for broilers. *Poultry Science*, 82: 1281-129.
6. Gracia, M. I., M. A. Latorre, M. Garcia, R. Lazaro, and G. G. Mateos. 2003. Heat processing of barley and enzyme supplementation of diets for broilers. *Poultry Science*, 82: 1281-129.
7. Iji, P. A., A. Saki, and D. R. Tivey. 2001. Body and intestinal growth of broiler chicks on a commercial starter diet. 1. Intestinal weight and mucosal development. *British Poultry Science* 42:505–513.
8. Johnson, I. T., J. M. Gee and R. R. Mahoney. 1984. Effect of dietary supplements of guar gum and cellulose on intestinal cell proliferation, enzyme levels, and sugar transport in the rat. *British Journal Nutrition*, 52: 477-487.
9. National Research Council. 1994. *Nutrient Requirements of Poultry*. 9th Rev. Ed. National Academy Press, Washington DC.
10. SAS: User's guide: Statistics, .2003. Version 9.1. Vol. 2, S.A.S Institute Cary, NC.
11. Silva, S. S. P., and R. R. Smithard. 2002. Effect of enzyme supplementation of a rye-based diet on xylanase activity in the small intestine of broilers, on intestinal crypt proliferation and nutrient digestibility and growth performance of the birds. *British Poultry Science*, 43, 274–282.
12. Van Beilen, J. B., and Z. Li. 2002. Enzyme technology: An overview. *Current Opinion in Biotechnology*, 13: 338-344.
13. Viveros, A, A. Brenes, M. Pizarro and M. Caslano. 1994. Effect of enzyme supplementation of a diet based on barley and autoclave treatment, on apparent digestibility, growth performance, and gut morphology of broilers. *Animal Feed Science Technology*, 48:237-251.

The Effect of different Levels of Triticale in Diet with and without Enzyme Cocktail on Jejunum Morphology of Japanese quail

Ebrahimi¹, E., Sobhanirad², S., Zarghi³, H., and Salehifar, A²

1. Student at Azad Islamic University of Mashhad

2- Assistant Professors at Azad Islamic University of Mashhad

3. Assistant Professor at Faculty of Agriculture Ferdowsi University of Mashhad

Abstract

The present study was carried out to investigate the effect of different levels of triticale with/without enzyme cocktail (cellulase, xylanase and β -glucanase) in diet on Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*) jejunum histology. Two hundred and forty 1 d old quail chicks assigned to a factorial arrangement (3 \times 2) with a completely randomized design with 4 replicates of 10 chicks each. The factors included 3 levels of triticale (0, 26.85 and 58.78%) and 2 levels of enzyme cocktail (0 and 0.05%) in diet. The experimental diets were isocaloric and isonitrogenous and fed ad-libitum from 1 to 21 d of age. The average villus height, muscular thickness, villus height to crypt depth, and apparent villus surface area of jejunum segment of birds significantly ($P < 0.05$) increased with increase the level of triticale in diet and muscular thickness significantly ($P < 0.05$) decreased with diet enzyme supplementations. In conclusion, the exogenous enzyme supplementation (cellulase, xylanase and β -glucanase), reduced anti-nutrient effects of viscous cereal as triticale.

Key words: enzyme supplementation, jejunum histology, quail, triticale