مقاله تحقیقی — مجله تحقیقات دامپزشکی ، ۱۳۹۸، دوره ۷۴، شماره ۲، ۲۷۱-۲۶۱ — Original Article
DOI: 10.22059/jvr.2019.245916.2736

مطالعه هیستومورفولوژیکی و هیستوشیمیائی تأثیر رژیم غذائی دارای زئولیت قم، بر ساختار بافتی روده باریک مرغ گوشتی در مقایسه با زئولیت تجاری

محسن اسلامی فارسانی[۱,۲]، محمد دخیلی[۲]، شیما آب آب زاده[۱,۳]، محمد یگانه پرست[۴]، فاطمه حیدری[۳]

[۱] مرکز تحقیقات سلولی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی قم، قم، ایران
[۲] گروه علوم آزمایشگاهی دانشکده پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد قم، قم، ایران
[۳] گروه آناتومی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی قم، قم، ایران
[۴] مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان قم، قم، ایران

(دریافت مقاله: ۲۶ آذر ماه ۱۳۹۷، پذیرش نهایی: ۶ اسفند ماه ۱۳۹۷)

چکیده

زمینه مطالعه: رشد روز افزون جمعیت و نیاز به تهیه مواد غذائی به ویژه پروتئین‌ها، علاقه به استفاده از مکمل‌های ارزان و در دسترس، جهت افزایش بازدهی تولید پروتئین را افزایش داده است.

هدف: هدف این مطالعه بررسی تأثیر مصرف زئولیت منطقه قم بعنوان مکمل بر ساختار هیستولوژیکی و هیستوشیمیائی روده باریک مرغ گوشتی و مقایسه با زئولیت تجاری است.

روش کار: در این مطالعه تجربی ۲۰۰ جوجه گوشتی از مرغداری‌های قم خریداری و به طور تصادفی به پنج گروه تقسیم شد که شامل: گروه کنترل؛ گروه آزمایشی زئولیت قم که بر اساس دوز دریافتی به سه زیر گروه مختلف (۰/۵درصدZ1=، ۱درصدZ2=، ۱/۵درصد Z3=) تقسیم شدند و گروه آزمایشی آنزیمیت (که زئولیت تجاری را دریافت کرد) بود. ۴۲ روز بعد، از هر گروه ۱۰ نمونه انتخاب شد و پس از پاساژ بافتی، لام‌ها با هماتوکسیلین- ائوزین، پریودیک اسید شیف (PAS) و تلوئیدین بلو رنگ آمیزی و مطالعات میکروسکوپی با کمک نرم افزار Image-j ۱/۴۹f انجام شد و داده‌ها با استفاده SPSS ورژن ۲۰ تجزیه و تحلیل شدند. $P<$۰/۰۵ به عنوان سطح معنی‌دار، در نظر گرفته شد.

نتایج: در گروه آنزیمیت ارتفاع سلول‌های پوششی کاهش ولی تعداد غدد مخاطی و گابلت‌سل‌ها افزایش معنی‌داری داشت. تعداد گابلت‌سل پرزها به جز گروه Z1 در سایر گروه‌های تیماری افزایش معنی‌دار داشت ($P<$۰/۰۵). گابلت‌سل پرزها در گروه‌های زئولیت (Z1 و Z2) نسبت به گروه آنزیمیت و نیز در Z3 نسبت به Z1 افزایش معنی‌داری داشتند($P<$۰/۰۵).

نتیجه گیری نهایی: نتایج ما نشان داد که زئولیت در افزایش سطح جذب ساختار روده کوچک اثر ندارد؛ ولی فعالیت غدد و گابلت سل‌ها را تحریک می کند باعث بهبود گوارش می‌شود که در این مورد زئولیت قم نیز با درصد بالاتر، تأثیری مشابه آنزیمیت دارد.

واژه‌های کلیدی: هیستولوژی، زئولیت، آنزیمت، روده کوچک، جوجه گوشتی

*) نویسنده مسئول: تلفن: ۰۲۵-۳۳۲۰۹۰۷۱ نمابر: ۰۲۵-۳۳۲۰۹۱۲۷ Email: ahoramh.82 @gmail.com

How to Cite This Article

Eslami Farsani, M., dakhili, M., Ababzadeh, S., Yeganehparast, M., Heidari, F. (2019). Histomorphological and Histochemical Effects of Diet With Qom Zeolite on the Tissue Structure of the Small Intestine of Broiler Chickens Compared With Commercial Zeolite. J Vet Res, 74(2), 261-271. doi: 10.22059/jvr.2019.245916.2736

مقدمه

رشد روز افزون جمعیت جهان و نیاز به تهیه مواد غذائی به ویژه پروتئین‌ها از یک طرف و کاهش منابع از سوی دیگر بیشتر دانشمندان را بر آن داشته تا به دنبال روش‌های جدیدی باشند که با استفاده از مکمل‌های ارزان و در دسترس و کاهش غذای دام‌ها، بازدهی آن‌ها را در تولید پروتئین افزایش دهند. به همین منظور برای اولین بار در سال ۱۹۶۵ از زئولیت‌های طبیعی در تغذیه طیور گوشتی استفاده شد. از آن زمان به بعد این ماده در جیره غذایی گله‌های صنعتی و تجارتی دام و طیور حتی آبزیان به مقدار چشمگیری افزایش یافت. زئولیت یک ماده کانی از جنس آلومینوسیلیکات‌های هیدراته است که ساختمان سه بعدی و کریستاله آن به شدت منفذدار بوده و عناصر قلیائی مانند پتاسیم، سدیم، کلسیم و منیزیم دارد. زئولیت‌ها به روش طبیعی در دریاچه‌های قلیایی (نمکی)، سیستم باز آب‌های زیرزمینی، خاک‌های محیط قلیایی و رسوبات عمیق دریاها تشکیل می‌شوند. گزارشات متعدد نشان داده‌اند که راندمان غذایی (افزایش وزن نسبت به خوراک) و سلامت طیور به واسطه استفاده از زئولیت‌ها در غذای طیور گوشتی، بطور محسوس و معنی‌داری از نظر آماری، افزایش یافته است. تحقیقات انجام شده نشان می‌دهد که استفاده از زئولیت‌ها علاوه بر افزایش راندمان غذایی ۲۰ درصد هیچ تأثیر نامطلوبی بر سلامت طیور گوشتی ندارد. مقدار رطوبت فضولات نیز ۲۵ درصد کمتر از گروه شاهد گزارش شده است (۳۶، ۳۰، ۲۱، ۱۰).

در مطالعه دیگری آمار نشان می‌دهد که جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با جیره حاوی ۵ درصد کلینوپتیلولیت، افزایش وزن کمتری داشته‌اند ولی راندمان غذایی حدود ۵ درصد بهتر بوده است و نکته قابل توجه آنکه هیچ گونه تلفاتی مشاهده نشده است. از نظر فیزیولوژیک، زئولیت‌ها با اتصال به یون NH_4، باعث کاهش اوره در دستگاه گوارش و به دنبال آن در گردش خون طیور می‌شوند. آنتی بیوتیک‌های محرک رشد نیز به همین منظور به جیره طیور اضافه می‌شوند لذا. زئولیت‌ها را می‌توان به دلیل تشابه اثر، جایگزین اینگونه مواد نمود. در ضمن زئولیت‌ها، کم خونی ناشی از کمبود آهن را با جذب کادمیوم از دستگاه گوارش ، بهبود می‌بخشند (۱۷) .

در مطالعه اخیر (Ahmad در ۲۰۱۸) گزارش شد که افزودن ۱/۵درصد زئولیت طبیعی به رژیم غذایی جوجه‌های گوشتی، وزن بدن، میزان تبدیل خوراک، وزن استخوان درشت نی و افزایش میزان کلسیم خون را بدون هیچ گونه عارضه جانبی بر روی جوجه‌ها افزایش می‌دهد (۱). Poulsen و همکاران در سال ۱۹۹۵، گزارش نموده‌اند که استفاده از زئولیت طبیعی نوع کلینوپتیلولیت مکانیسم دفع ازت از بدن را تغییر می‌دهد به طوری که دفع ازت از مدفوع افزایش پیدا کرده ولی دفع ازت از طریق ادرار کاهش می‌یابد (۲۸). اضافه کردن زئولیت در رژیم غذایی بوقلمون تأثیر مثبتی بر عملکرد رشد و افزایش وزن و همچنین تأثیر مثبت بر استرس اکسیداتیو داشته و باعث کاهش سطح MDA در کبد و در گوشت شده و می‌تواند کیفیت آن را برای دوره طولانیتری حفظ کند بعلاوه سطح اسید چرب اشباع نشده را افزایش می‌دهد (۱۱).

زئولیت طبیعی با جذب آب، موجب کاهش امکان آلودگی خوراک‌ها به آفلاتوکسین می‌گردند که بهبود عملکرد دستگاه گوارش طیور را به دنبال دارد. تحقیقات نشان داده است که زئولیت طبیعی موجب افزایش میزان پروتئین سرم خون می‌شود و به نظر می‌رسد زئولیت ۲ درصد از این نظر بهتر باشد. همچنین در مطالعات دیگری بیان شده است که زئولیت باعث‌هایپرتروفی پرزهای روده در مرغ‌ها شده و بازده وزنی را افزایش داده است (۳۹، ۱۳). در انسان نیز زئولیت بعنوان ضد اسهال، ضد التهاب و دارای فعالیت آنتی اکسیدانی است (۳۳، ۳۱، ۲۲، ۱۶) همچنین کاهش افسردگی، کاهش قند خون موش‌های دیابتی، درمان زخم‌های خارجی، مکمل غذایی ورزشکاران و برداشتن یون‌های آمونیاک از کلیه‌های دیالیزی مطرح شده است (۲۳، ۱۲، ۳). علاوه بر این زئولیت با کاهش اثرات زیان‌آور آفلاتوکسین‌ها (ذرت،گندم، لوبیا) موجب بهبود عملکرد جوجه‌های گوشتی گزارش شده است (۲۶). در واقع زئولیت اثر آنتی‌میکروبی ایفا می‌نماید و حتی می‌تواند به طور موضعی در ترمیم زخم هم مورد استفاده قرار گیرد (۲۴).

در مناطق مختلفی از کشور ایران نیز معادن طبیعی متعددی از زئولیت و بنتونیت وجود دارند از آن جمله: منطقه میانه (غرب میانه)، منطقه طبس در استان خراسان، منطقه جنوب شرقی سمنان ، طالقان و شمال غربی کرج، منطقه کرمان سرچشمه مرغوئیه، منطقه شمال زاهدان ، مناطق علی آباد قم، کهریزک، گردنه نعل شکن در جنوب تهران، ناحیه چالوس، جنوب دماوند و منطقه فیروزکوه. با وجود تحقیقات متعدد زمین شناسی و شیمیایی زئولیت‌های مناطق مختلف و گزارش‌های در خصوص وجود منابع عظیم زئولیتی در ایران که یک سرمایه مهم ملی است. هنوز کارهای مهمی در جهت استفاده صنعتی و با ارزش افزوده بالا برای این ثروت عظیم ملی انجام نشده. برخی از معادن این نواحی در حال بهره‌برداری می‌باشند همانند معدن زئولیت سمنان، خراسان و قم (۳۵، ۲۵).

استان قم دارای معادن زئولیت و بنتونیت طبیعی است که برای این مطالعه از معدن زئولیت در اطراف دریاچه حوض سلطان استفاده شد. بررسی کانی شناسی به روش XRD نشان داده‌اند که زئولیت این ناحیه حاوی کانی کالسیت به همراه یک سیلیکات آلومینیم، کلسیم، پتاسیم و سدیم (کانی کلینوپیتولیت) به عنوان کانی اصلی و در فاز دیگر کانی کوارتز به عنوان کانی فرعی می‌باشد. و فرمول شیمیائی زئولیت آن که یک کلینوپیتولیت است $O_{72}/24H_2O(Si_{29}Al_7)KNa_2Ca_2$ مورد اثبات قرار گرفته است (۴۰).

از آنجائی که مصرف این مواد در ایران نیز در صنعت طیور و دامپروری رو به افزایش است و همان گونه که تحقیقات فوق نشان داد استفاد از این کانی‌ها در رژیم غذایی طیور و دام‌های دیگر بعضا باعث راندمان بهتر شده

و حتی کاربرد آن در پاره‌ای از مسـائل پزشکی مطرح شده است، ضرورت انجام تحقیقات بیشـتر و بررسی تغییرات ریز سـاختاری و شیمی بافتی و احتمـالاً اثرات مطلوب و یا نامطلوب این مـواد که کمتر در تحقیقات مد نظر قرار گرفته بسـیار حائز اهمیت است. و از طرفی دیگر با مطالعه بیشتر تأثیرات بیولوژیک این کانی‌ها بر دسـتگاه‌های مهم بدن دام‌ها کم کم به بررسـی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیای زئولیت مربوط به معادن بومی هر منطقه بیشتر پرداخته شده و کاربردهای متفاوت آن‌ها مشخص می‌شود. که این امر هم به جلوگیری از خروج بی‌رویه این مواد کانی پر اسـتفاده تحت عنوان خاک کمک کرده هم مشوقی برای اکتشاف و حفظ بیشتر این معادن پر ارزش خواهد شد. و تمامی این موارد کمک می‌کنند تا توجه بیشتری در استفاده از چنین موادی در صنایع دامپروری کشور به شکلی علمی صورت گیرد. و تولید پروتئین با راندمان بهتر و هزینه کمتر انجام شـود. که ارزش اقتصادی بسـیار زیادی خواهد داشت. چون در استان قم نیز معادن زیادی از این دست وجود دارد، مقایسه اثرات مختلف این مواد بومی با نمونه‌های تجارتی بسیار حائز اهمیت خواهد بود. بنابراین جهت پرداختن به جنبه‌های منفی و مثبت استفاده از زئولیت به صورت خوراکی و تعیین دوز مناسب در صنعت طیور بر آن شـدیم تا یک مطالعه ریزسـاختاری سلولی و بافتی در دستگاه گوارش طیور به دنبال مصرف این مواد را طرح ریزی نماییم. لذا این مطالعه به بررسی تأثیر مصرف دوزهای مختلف زئولیت منطقه قم بعنوان مکمل رژیم غذایی بر ساختار هیستولوژیکی و هیستوشیمیائی روده باریک مرغ گوشتی و مقایسه با زئولیت تجاری می‌پردازد.

مواد و روش کار

تهیـه جوجه‌هـا و گروه بندی‌هـا: در این مطالعه تجربـی ۲۰۰ جوجه گوشتی از مرغداری‌های قم خریداری و به طور تصادفی به پنج گروه تقسیم شـدند که شـامل: گروه کنترل که جیره پایه را بدون اضافه کردن زئولیت دریافت کرد؛ گروه آزمایشـی زئولیت قم که علاوه بـر جیره پایه دوزهای مختلف زئولیت به جیره غذایی آن‌ها اضافه شد و بر اساس دوز دریافتی به سه زیر گروه مختلف (۵/.درصدZ1=، ۱درصدZ2=، ۱/۵درصد Z3=) تقسیم شـدند و گروه آزمایشـی آنزیمیت که علاوه بر جیره پایه، زئولیت تجاری ۱درصد را دریافت کردند. این مطالعه در سیسـتم پرورش بستر، در قفس-های نگهداری به مسـاحت ۲ متر مربع و با شـرایط دسترسـی آزاد به آب و دان انجام شـد. جوجه‌ها از جنس نـر بودند که در اولین هفته نگهداری، در یک گروه واحد پرورش یافتند. سـپس در روز هفتم، جوجه‌ها بر اسـاس وزن گروه بندی شـدند به طوری که وزن اولیـه در تمام قفس‌ها برابر بود. واکسیناسیون مطابق برنامه سازمان دامپزشکی استان قم انجام شد. از هفته دوم نگهداری، جیره‌های غذائی شـروع شـد و تا حدود ۴۰ روز ادامه یافت. ترکیب رژیم غذائی مطابق رژیم پیشـنهادی پرورش سویه جوجه گوشتی تنظیم شد.

هیسـتولوژی: در طول طرح، انجام تمامی کارهای آزمایشی و شرایط نگهداری از حیوانات و نوع بیهوشی و کشتن آن‌ها بر اساس قوانین حمایت از حیوانات آزمایشـگاهی برگرفته از راهنمای اخلاقی پژوهش بر حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشـکی قم و دانشگاه آزاد اسلامی قم انجام گرفت (۱۵).

وزن جوجه‌ها هر هفته اندازه‌گیری شـد و پس از پایان دوره تیمار (۴۲ روز) از هر گروه به صورت کاملاً تصادفی، ۱۰ نمونه انتخاب شد. حیوانات با کمک کلروفرم تحت بیهوشی عمیق قرار گرفتند و به روش مرگ آسان کشـته شـدند. نمونه روده باریک خارج شـد و در محلـول فرمالین نمکی ۱۰درصد قرار داده شد و مراحل آماده‌سازی بافتی و برش‌گیری انجام شد و بعد از ۴۸ سـاعت که بافت‌ها فیکس شدند. برای انجام مراحل آب‌گیری با الکل‌های صعودی و شفاف سازی با گزیلن و آغشتگی با پارافین، نمونه‌ها در دستگاه تیشو پروسسور به ترتیب فوق قرار گرفتند و با پارافین قالب‌گیری شـده و برش‌گیری با استفاده از دسـتگاه میکروتوم روتاری(LEICA RM ۲۲۳۵) با ضخامت ۴ µ و گذاشتن برش‌ها روی لام‌های ژلاتینه انجام شد. سپس بافت‌ها به سه روش هماتوکسیلین- ائوزین (H&E)، پریودیک اسید شیف(PAS) و تولوئیدن بلو به شرح زیر رنگ آمیزی شدند (۳۴، ۵).

روش رنگ آمیزی هماتوکسیلین ائوزین(H&E): پس از برش گیری، جهت خشک شـدن نمونه‌ها در دمای °۶۰–°۵۰ سانتی گراد به مدت ۶۰ دقیقه بـر روی Hot plate قرار داده و از محلول‌های زیر عبور می‌دهیم. جهت دپارافینه کردن، لام‌ها را در سـبد مخصوص چیده و در سـه ظرف گزیلـول هر یک به مدت ۵- ۲ دقیقه، الکل مطلق در دو ظرف هر یک به مدت ۵-۲ دقیقه سپس الکل ۱۰۰، ۹۰، ۷۰ و ۵۰ درصد هر یک به مدت ۲ دقیقه، شستشو در آب مقطر ۲ دقیقه و به دنبال آن رنگ آمیزی در محلول هماتوکسیلین به مدت ۱۰- ۵ دقیقه و بعد شستشوی ملایم با آب جاری به مدت ۵ دقیقه تا نمونه‌ها آبی شـوند. در ظرف محتوی اسید الکل دو بار به مـدت ۲-۱ ثانیه و شستشـو در آب جاری، در ظرف محتوی کربنات لیتیم برای تثبیت رنگ هسته به مدت ۲-۱دقیقه و شستشو با آب جاری. غوطه ور کردن در الکل ۵۰ درصد ۲ دقیقه و سپس در ظرف محتوی محلول ائوزین به مدت ۵ دقیقه و شستشو با آب جاری، آبگیری در الکل ۸۰ و ۹۰ درصد و الکل مطلق هر یک به مدت ۲ دقیقه، در سه ظرف گزیلول و در هر یک ۵ دقیقه و در آخر لامل‌ها توسط چسب کانادا بالزام روی نمونه‌ها چسبانده شده و نمونه‌ها آماده بررسی با میکروسکوپ نوری شدند (۳۴).

رنگ آمیزی پریودیک اسـید- شیف(PAS): مراحل آبگیری را مشابه رنگ آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین انجام داده و لام‌ها را تا مرحله آب مقطر می‌رسانیم. سپس لام‌ها را به مدت ۵ دقیقه در محلول پریودیک اسید قرار داده و بعد آن را با آب جاری شستشـو می‌دهیم. به مدت ۱۵ دقیقه در محیط تاریک لام‌ها را در معرف شیف قرار می‌دهیم و بعد به مدت ۱۵ دقیقه با آب جاری ملایم شستشو می‌دهیم تا نمونه‌ها کاملاً قرمز شوند. لام‌ها را حدود ۱

دقیقه برای رنگ آمیزی افتراقی در محلول هماتوکسیلین‌هاریس قرار داده و با آب جاری شستشو می‌دهیم. سپس مراحل آبگیری را طی کرده لامل را با چسب کانادا بالزام روی لام‌ها قرار می‌دهیم تا نمونه‌ها برای بررسی میکروسکوپ نوری آماده شوند (۳۴).

رنگ آمیزی تولوئیدن بلو: تولوئیدن بلو رنگ بازی متاکروماتیک تیازینی با میل ترکیبی زیاد به اجزاء اسیدی بافت‌ها است که مواد اسیدی را آبی و پلی ساکاریدها را ارغوانی می‌کند و برای تصاویر بافتی یک وضوح خاصی را ایجاد می‌کند. مراحل آبگیری را مشابه رنگ آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین انجام داده و لام‌ها را تا مرحله آب مقطر می‌رسانیم. سپس قرار دادن در محلول پرمنگنات پتاسیم ۱ در صد ۵-۱ دقیقه، شستشو با آب جاری، شستشو با آب مقطر، محلول اگزالیک اسید ۵ در صد تا بافت بی رنگ شود، شستشو با آب مقطر، محلول تولوئیدن بلو۱ در صد به مدت۳۰ ثانیه، شستشو با آب جاری، شستشو با آب مقطر، نیترات یورانیل ۰/۲ در صد به مدت۱۰ ثانیه، شستشو با آب مقطر، خشک کردن لام‌ها تا آب اضافی پاک شود، سپس مراحل آبگیری را طی کرده لامل را با چسب کانادا بالزام روی لام‌ها قرار داده تا نمونه‌ها برای بررسی میکروسکوپ نوری آماده شوند (۳۴).

تحلیل آماری: پس از رنگ آمیزی‌های فوق لام‌ها با کمک میکروسکوپ نوری (Leica) و نرم‌افزار Image J (۱/۴۹f) از نظر آیتم‌های هیستولوژیکی و هیستوشیمیائی مورد بررسی قرار گرفت. داده‌ها با کمک نرم افزار SPSSورژن ۲۰ و با استفاده از آزمون‌های آنالیز واریانس یک طرفه و تست‌های مقایسه‌ای چندگانه توکی تجزیه و تحلیل شدند و نتایج به صورت میانگین± خطای معیار به دست آمد. در تمامی محاسبات ۰/۰۵ $P<$ به عنوان اختلاف معنی‌دار در نظر گرفته شد.

نتایج

طول سلول‌های پوششی پرزها: با توجه به جدول ۱ در خصوص اندازه‌گیری طول سلول‌های پوششی پرزها در گروه‌های مختلف مقایسه میانگین ارتفاع این سلول‌ها در گروه‌های تیماری به ویژه گروه آنزیمیت نسبت به گروه کنترل کاهش نشان می‌دهند. از نظر آماری علی رغم کاهش اندک (به میزان ۲۰-۱۰درصد) در ارتفاع اپی‌تلیوم روده در گروه‌های زئولیت قم در مقایسه با گروه کنترل معنی‌دار نبود اما در مورد گروه آنزیمیت این کاهش حدود ۳۰درصد بود که با $P<۰/۰۵$ معنی‌دار می‌باشد (تصویر۱).

تعداد گابلت‌سل‌ها در پرزها: جهت شمارش گابلت‌سل‌ها لام‌ها با روش PAS رنگ‌آمیزی شدند و پرزها در چند محدوده مشخص‌µ ۵۰۰ در تصاویر میکروسکوپی روده با کمک نرم افزار image-j بررسی و شمارش سلولی صورت گرفت. با توجه به جدول ۱ مقایسه میانگین تعداد سلول‌ها افزایش در گروه‌های زئولیت و به ویژه آنزیمیت را نشان داد. تحلیل آماری داده‌ها نشان داد که به جز گروه Z1، بقیه گروه‌های تیماری Z۲ ، Z۳ و آنزیمیت افزایش معنی‌داری در سلول‌های گابلت پرزها داشتند که به ترتیب P=۰/۰۲، P=۰/۰۰۲ و P=۰/۰۰۱ می‌باشد (تصویر۲).

تعداد گابلت‌سل‌های موجود درکریپت: سلول‌های گابلت واقع در کریپت‌ها و غدد مخاطی در چند محدوده مشخص ۵۰۰ میکرومتری در تصاویر میکروسکوپی روده با کمک نرم افزار image-j شمارش شدند. مقایسه میانگین تعداد سلول‌ها افزایش در گروه‌های زئولیت قم و به ویژه آنزیمیت را نشان داد(جدول ۱). اما از نظر آماری نتایج نشان داد که به جز گروه Z1، که افزایش اندکی داشت با وجود افزایش ۲۵درصد در دو گروه دیگر زئولیت قم، هیچ اختلاف معنی‌داری نسبت به گروه کنترل مشاهده نشد. در این مورد گروه آنزیمیت افزایش معنی‌داری با P=۰/۰۳ را با گروه کنترل را نشان داد (تصویر ۳).

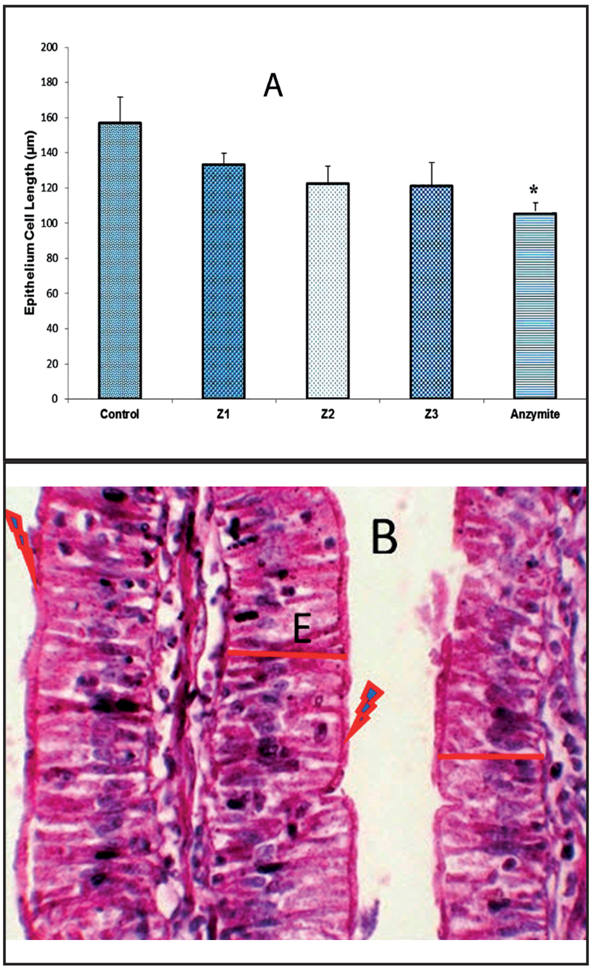
تعداد غدد مخاطی: تعداد غدد در بزرگنمائی ۴ و در طول ۵۰۰ میکرومتر از مخاط، در چندین ناحیه از روده کوچک مورد شمارش قرار گرفت. و مقایسه میانگین عددی گروه‌های مختلف افزایش در میزان غدد مخاطی را در گروه‌های تیماری با زئولیت و آنزیمیت نشان داد (جدول۱). تحلیل آماری نتایج نشان داد که بجز گروه Z۲ هر چند در بقیه گروه‌ها ۲۵-۱۰درصد افزایش وجود داشت اما هیچ کدام معنی‌دار نبود. در گروه آنزیمیت نیز نسبت به گروه کنترل، افزایشی با اختلاف معنی‌داری P=۰/۰۲ دیده شد (تصویر ۳،۴).

بحث

نتایج این تحقیق نشان داد که استفاده از زئولیت قم در جیره غذایی مرغ گوشتی بر سطح جذب ساختار روده کوچک (طول و عرض پرزها، طول سلول‌های پوششی و طول میکروویلی‌ها) اثر معنی‌داری ندارد، در حالی که

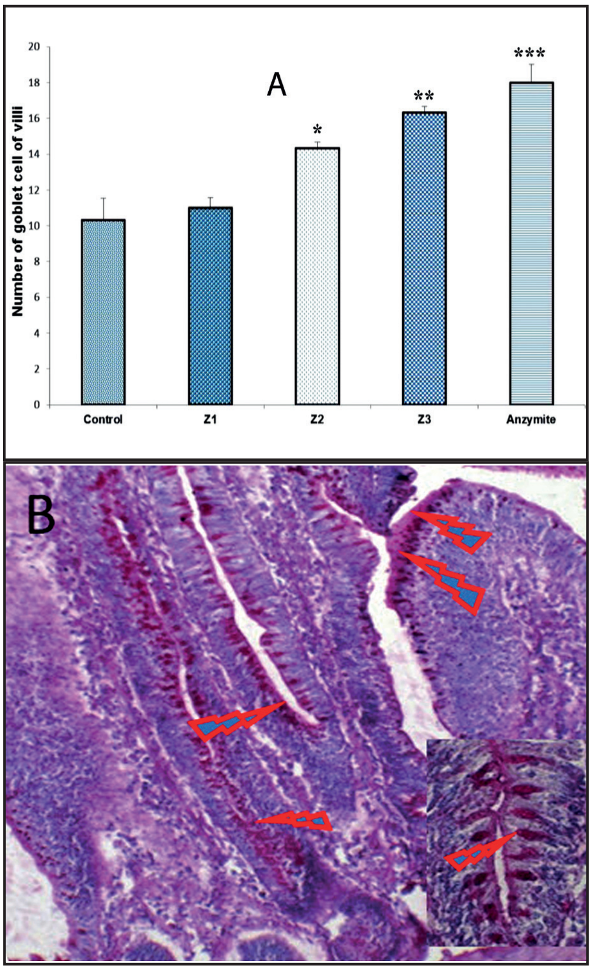
جدول ۱. نتایج بررسی‌های هیستولوژیک در گروه‌های مختلف.

ردیف	گروه‌ها	طول سلول‌های پوششی پرزها (µ) Mean±SEM	تعداد گابلت‌سل‌ها در پرزها Mean±SEM	تعداد گابلت‌سل‌ها در کریپت‌ها Mean±SEM	تعداد غدد مخاطی Mean±SEM
۱	کنترل	۱۵۷/۶±۱۴/۹۳	۱۰/۳۳±۱/۲	۱۱/۶۶±۱/۸۵	۱۳/۳۳±۰/۶۶
۲	زئولیت ۰/۵ درصد	۱۳۳/۰۹±۶/۹	۱۱±۰/۵۷	۱۱/۳۳±۰/۳۳	۱۵/۳۳±۱/۲
۳	زئولیت۱ درصد	۱۲۲/۴۳±۹/۹	۱۴/۳۳±۰/۳۳	۱۵/۳۳±۰/۶۶	۱۴/۶۶±۰/۸۸
۴	زئولیت ۱/۵ در صد	۱۲۱/۱۹±۱۳/۴۶	۱۵/۳۳±۰/۳۳	۱۵/۳۳±۰/۳۳	۱۶/۳۳±۰/۳۳
۵	آنزیمیت	۱۰۵/۴۲±۶/۳۶	۱۸±۱	۱۶/۳۳±۰/۳۳	۱۸±۱



تصویر ۱. A: بررســی طول سلول‌های پوششی در پرزهای روده کوچک. ×= اختلاف معنی‌دار (P<۰/۰۵). زئولیــت ۰/۵درصدZ۱=، زئولیت ۱درصــدZ۲=، زئولیت ۱/۵درصدZ۳=. B: تصویر میکروسکوپی از ارتفاع سلول‌های پوششی(E، خطوط قرمز) در پرزها و میکروویلی‌ها (فلش)، گروه کنترل (۴۰X H&E).

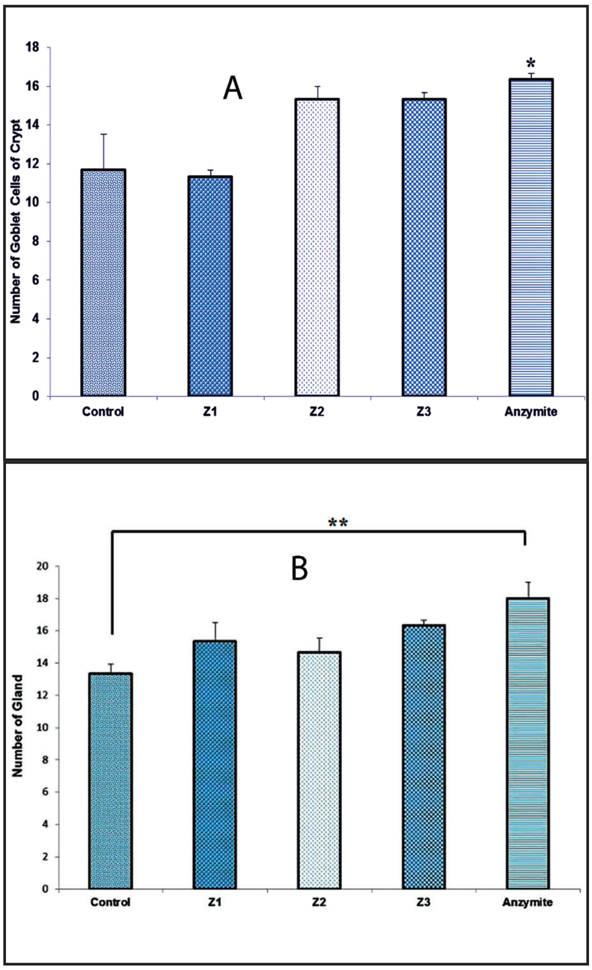
در گروه آنزیمیت به شکل معنی‌داری باعث کاهش طول سلول‌های پوششی شده است. در مطالعه دیگری که اثر زئولیت همراه عصاره گیاه (ZEM) بر تغییرات بافتی پرز–های روده مرغ انجام شده بودهایپرتروفی پرزهای روده دیده شــده بود و بازده وزنی نیز افزایش یافته بود (۱۳). یافته‌های ما نیز هر چند در بررسی میانگین عرض پرزها در گروه Z۳ و آنزیمیت افزایش ۲۵–۲۰ درصدی را نشان داد، اما چون معنی‌دار نیست از نظر آماری‌هایپرتروفی پرزها را تائید نمی‌کند. بنابراین به نظر می‌رسد که استفاده از زئولیت در جیره غذایی مرغ گوشــتی نه تنها در افزایش ســطح جذب ساختار روده کوچک اثری ندارد بلکه در گروه آنزیمیت طول ســلول‌های پوششی را نیز کاهش می‌دهد. در مورد تعداد گابلت ســل‌ها در اپی‌تلیوم پرزها، نتایج ما نشان داد که بجز گروه Z۱، در بقیه گروه‌های تیماری) Z۲ ، Z۳ و آنزیمیت(افزایش معنی‌داری وجود داشته است که به ترتیب P=۰/۰۲ ،P=۰/۰۰۲ و P=۰/۰۰۱ می‌باشــد. در مورد تعداد گابلت‌ســل‌های کریپت‌ها و تعداد غــدد، در گروه آنزیمیت افزایش معنی‌داری وجود داشت که به ترتیب P=۰/۰۲ وP=۰/۰۳ است. این یافته‌ها نشان داد که زئولیت و به ویژه آنزیمیت با مکانیسم‌های



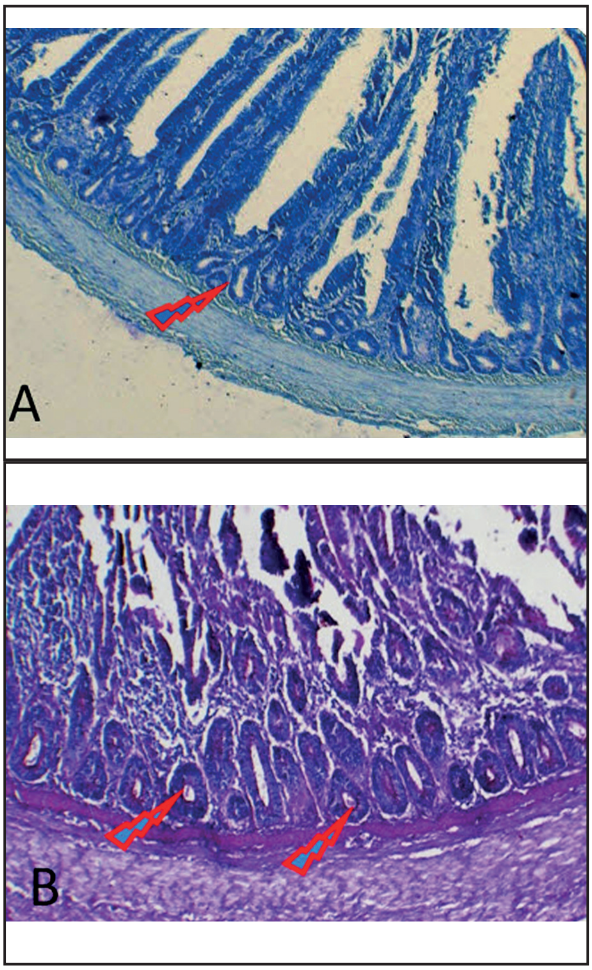
تصویر ۲. A: مقایســه میانگین شــمارش تعداد گابلت ســل‌ها در پرزها. اختلاف معنی‌داری در گروه‌های Z۲، Z۳ و آنزیمیت با گروه کنترل مشــاهده می‌شــود (×P ۰/۰۵)، (××P<۰/۰۱)، (×××P<۰/۰۰۱). B: رنگ آمیزی PAS جهت مقایسه تعداد گابلت سل‌ها (فلش‌ها) در پرزهای گروه کنترل، بالا (PAS, ۴X) و تصویر کوچک پایئن در کریپت‌ها، (PAS, ۱۰X).

خاصی بر تعداد گابلت‌سل و تعداد غدد اثر دارد و بنابراین محتوای آنزیمی مترشــحه از غدد و نیز موسین مترشــحه از گابلت سل‌ها را در روده باریک افزایش می‌دهد، که مورد اول موجب محافظت بیشتر مخاط در مقابل اسید معده و آنزیم–های گوارشی و یون‌ها و ملکول‌های آزاد شده ناشی از هضم برخی از مواد غذایی و مکمل‌های آن‌ها شده و مورد دوم باعث هضم بهتر و بیشتر مواد غذایی می‌شود در نتیجه احتمالاً با جذب آب و ایجاد موسین آبکی در نگهداری محتوای گوارشــی در روده کوچک برای زمان بیشــتر، هضم آنزیمی و جذب را افزایش دهد که این امر راندمان غذایی را افزایش خواهد داد. در این مورد مطالعات دیگری نیز صورت گرفته که از جنبه‌های دیگری به اثرات زئولیت پرداخته شده و با یافته‌های ما مطابقت دارد. از آن جمله در مطالعه‌ای پیشــنهاد شده است که زئولیت سبب عبور کندتر مواد هضمی از دستگاه گوارش می‌شود که منجر به بهبود استفاده از مواد غذائی به ویژه در مورد نیتروژن می‌شــود. این امر ســبب کاهش دفع آن از طریق مدفوع می‌گردد (۲۰).

مطالعه دیگری نشان داده است که ممکن است زئولیت جریان خون به



تصویر۳. A: مقایســه میانگین تعداد گابلت‌سل‌ها در کریپت‌ها و غدد در گروه‌های مختلف ($\times P<۰/۰۵$). B: مقایسه میانگین تعداد غدد مخاطی در گروه‌های مختلف ($\times\times P<۰/۰۱$).



تصویر۴. A: تصویر میکروسکوپی از آستر مخاط روده کوچک، در گروه کنترل (Toluidine blue, ۴X). B: آستر مخاط روده کوچک در گروه آنزیمیت، فلش‌ها غدد مخاطی را نشان می‌دهند (PAS, ۴X).

پرزها را تسهیل نموده و فعالیت سلول‌های جداره پرزها را افزایش دهد که به نوبه خود می‌تواند هضم و جذب مواد مغذی را افزایش دهد (۲۷).

در مورد مکانیســم اثر زئولیت مطالعات بیانگر آن اســت که زئولیت، یون‌هــای آمونیوم حاصــل از تجزیه آنزیمــی ترکیبات نیتــروژن دار غیر پروتئینی (NPN) در نشخوارکنندگان را به سرعت با کاتیون‌های ساختمانی خود مبادله نموده و برای چند ساعت در خود نگه می‌دارد تا این که در طول دوره تخمیر پس از تغذیه، توسـط سـدیم بزاق وارد شـده به شکمبه، آزاد شـود بنابراین زئولیت به عنوان مخزن نیتروژن در شکمبه عمل کرده، در اثـر آزاد شـدن آرام و تدریجی، همزمان با تولید پروتئین میکروبی موجب استفاده پربازده تری از یون‌های آمونیوم گردد که باعث بهبود بازده استفاده از خوراک شـود که افزایش وزن را به دنبال دارد و از مسمومیت آمونیاکی نیـز جلوگیری می کند (۳۷).خواص تبادل یونی و جذبی زئولیت‌ها می‌تواند بازدهی استفاده از مواد مغذی را در حیوانات بهبود بخشد (۲).

زئولیـت و بنتونیت صفات تخم و نسـبت تبدیل خـوراک را افزایش داده و همچنیــن بــه طور بالقوه به عنوان سـم زدایی کننده یا مهار رشـد پاتوژن‌هـای میکروبی عمل می کنند، در واقع با کنـد کردن روند هضم و تغییرات آناتومیک روده و باکتری‌های مقیم آن، میزان راندمان خوراک را بهبود می‌بخشند (۲۹، ۱۴). یکی از مهمترین مکانیسم‌های عمل زئولیت‌ها بی حرکت نمودن آنزیم‌های روده اسـت که ایـن عمل فعالیت و پایداری آنزیم‌هـای روده را افزایش داده و موجب جذب بهتر مواد مغذی می‌شـود (۳۸). زئولیت باعث تحریک مکانیکی سلول‌های پوششی معده و روده شده و به این ترتیب خون رسانی به این اندام‌ها را افزایش می‌دهد (۴).

زئولیت به دلیل افزایش pH روده، دفع غلات توسط مدفوع را کاهش می‌دهد و شرایط بهتری برای هضم نشاسته توسط آنزیم آلفا آمیلاز فراهم می‌نماید (۶). تغییر اسـیدوز متابولیکی نیز از طریق اثر بر فشـار اسـمزی روده‌ها، از اختلالات گوارشی جلوگیری می کند (۸). آلومینیوسیلیکات‌های هیدراته سدیم و کلسیم با آفلاتوکسین ترکیب شده، کمپلکس پایداری به وجود می‌آورد و بدین وسیله قابلیت دسترسی آفلاتوکسین را برای جذب از دستگاه گوارش کاهش می‌دهد (۲۱، ۷).

ظاهراً زئولیت به پایین آوردن سـرعت تنفس که نشانه تنش گرمایی اسـت کمک می کنـد و به حیوان اجـازه می‌دهد تا در دمـای بالا، اندکی

راحت‌تر باشد (۳۲). در تحقیق انجام شده روی زئولیت، با افزایش سطح زئولیت، میزان گلوکز سرم خون کاهش و پروتئین کل افزایش یافت. آفلاتوکسین‌ها در سنتز پروتئین اختلال ایجاد می‌کنند که علائم آن کاهش آلبومین، گلوبولین و پروتئین سرم خون می‌باشد و زئولیت‌ها با جذب آفلاتوکسین‌ها باعث جلوگیری از اختلال در سنتز پروتئین می‌شوند (۱۹). تجمع آلومینیوم در استخوان درشت نی جوجه‌هایی که سطوح متداول زئولیت مصرف کرده‌اند، مشاهده شده است، لیکن هیچ نشانی از این تجمع در بافت‌های متابولیکی مانند کبد و مغز دیده نشده است (۱۸). بنابراین بواسطه مکانیسم‌ها و خواص متعدد گفته شده، زئولیت و به ویژه آنزیمیت می‌توانند عملکرد گوارشی جوجه‌های گوشتی را بهبود بخشند.

نتایج مقایسه گروه‌های زئولیت قم و تجاری (آنزیمت) نشان داد که در ارتفاع و پهنای پرزها و میکروویلی‌ها و تعداد غدد و بستر عروقی تفاوت معنی‌داری وجود ندارد ولی در مورد گابلت‌سل‌های پرزها افزایش معنی‌داری در گروه آنزیمیت نسبت به گروه Z۱ (با P=۰/۰۰۱ و Z۲ با P=۰/۰۴) و نیز Z۳ با Z۱ (با P=۰/۰۰۵) دیده شده است. همچنین در مورد غدد مخاطی که ترشح کننده‌های اصلی آنزیم‌های متعدد و مواد موکوسی هستند نیز افزایش وجود داشت لذا به نظر می‌رسد که زئولیت قم در درصدهای پایین اثرات کمی دارد ولی درصدهای بالاتر (گروه ۱/۵ درصد Z۳) عملکردی نسبتاً بهتری دارد. بسیاری از گزارشات بالا در تایید این نتایج ما بود. در رد برخی از نتایج ما نیز گزارشاتی وجود دارد به ویژه در گزارشی حاصل از یک تحقیق که اثرات استفاده از زئولیت طبیعی و زئولیت سنتز شده را در جیره غذائی طیور مورد بررسی قرار داده است، بیان می‌کند که استفاده از زئولیت‌های طبیعی در جیره‌های غذائی در سطح تجاری قابل توصیه نیست، زیرا دلایل بسیار کمی وجود دارد که نشان بدهد زئولیت‌ها چیزی بیشتر از دیگر مواد رقیق کننده و یا مواد خنثی مانند آلومینوسلیکات‌های طبیعی کائولن و سدیم بنتونیت باشند (۹). در صورتی که یافته‌های این تحقیق نشان داد که از نظر ریزساختاری زئولیت در بهبود بخش ترشحی روده‌ها نقش مهمی دارد که این هم شامل بخش حفاظتی و هم شامل بخش آنزیمی می‌باشد و هر دوی این موارد در عملکرد بهتر گوارشی و سلامت این دستگاه نقش دارند لذا در صورت استفاده از زئولیت طبیعی، بایستی از درصدهای بالاتر ایمن استفاده گردد.

نتیجه‌گیری نهایی: نتایج ما نشان داد که زئولیت در افزایش سطح جذب ساختار روده کوچک اثر ندارد و حتی در مورد طول سلول‌های پوششی، کاهش معنی‌داری دارد ولی توسط مکانیسم‌هایی، فعالیت غدد و گابلت‌سل‌ها را تحریک می‌کند و احتمالاً با کاهش حرکت غذا در روده و افزایش اثر گذاری بیشتر این ترشحات غددی و هم چنین حفظ مخاط روده با ترشح بیشتر موسین‌ها، اثر مثبتی بر هضم و جذب مواد در روده باریک دارد؛ در این مورد آنزیمیت اثر بهتری داشته است و زئولیت قم نیز هر چه درصدش بیشتر باشد اثر مناسب تری داشته و با درصدی بالاتر از ۱/۵ قابل مقایسه با آنزیمیت می‌باشد. بنابراین پیشنهاد می‌شود از این ماده کانی با دوز ۱/۵ تا ۲ درصد به همراه جیره پایه دام‌ها جهت بهبود راندمان غذایی و گوشتی استفاده شود.

تشکر و قدردانی

نویسندگان بر خود لازم می‌دانند که از دانشگاه آزاد واحد قم و مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی استان قم که بودجه و امکانات لازم برای این تحقیق را مهیا کردند تقدر و تشکر نمایند.

تعارض در منافع

بین نویسندگان هیچ گونه تعارض در منافع گزارش نشده است.

References

1. Amad, A. A. (2018). Addition of natural zeolite to broiler chickens diet and its effect on performance, carcass traits and protein and calcium in blood. Global Journal of Animal Scientific Research. 6(2).
2. Bernhart, M., Fasina, O., Fulton, J. og Wood, C. (2010). Compaction of poultry litter. Bioresource technology, 101(1), 234-238. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.08.030 PMID: 19733062
3. Cervini-Silva, J., Nieto-Camacho, A., Kaufhold, S., Ufer, K., Palacios, E., Montoya, A. og Dathe, W. (2016). Antiphlogistic effect by zeolite as determined by a murine inflammation model. Microporous and mesoporous materials, 228, 207-214. https://doi.org/10.1016/j.micromeso.2016.03.043
4. Coufal, C., Chavez, C., Niemeyer, P. og Carey, J. (2006). Measurement of broiler litter production rates and nutrient content using recycled litter. Poultry science, 85(3), 398-403. https://doi.org/10.1093/ps/85.3.398
5. Dadkhah, A., Fatemi, F., Farsani, M. E., Roshanaei, K., Alipour, M. og Aligolzadeh, H. (2014). Hepatoprotective effects of Iranian Hypericum scabrum essential oils against oxidative stress induced by acetaminophen in rats. Brazilian Archives of Biology and Technology, 57(3), 340-348. https://doi.org/10.1590/S1516-89132014005000012

6. Damiri, H., Chaji, M., Bojarpour, M., Eslami, M. og Mamoei, M. (2010). The effect of sodium betonites on economic value of broiler chickens diet. J Anim Vet Adv, 9, 2668-26670.
7. DeLaune, P., Moore, P., Daniel, T. og Lemunyon, J. (2004). Effect of chemical and microbial amendments on ammonia volatilization from composting poultry litter. Journal of Environmental Quality, 33(2), 728-734. https://doi.org/10.2134/jeq2004.7280
8. Do, J., Choi, I. og Nahm, K. (2005). Effects of chemically amended litter on broiler performances, atmospheric ammonia concentration, and phosphorus solubility in litter. Poultry science, 84(5), 679-686. https://doi.org/10.1093/ps/84.5.679 PMID: 15913178
9. Evans, M., Farrell, D. og Farrell, D. (1993). Are there economic benefits to adding zeolites to poultry diets. Recent Advances in Animal Nutrition in Australia, 303-316.
10. Ghasemi, Z., Sourinejad, I., Kazemian, H. og Rohani, S. (2018). Application of zeolites in aquaculture industry: a review. Reviews in Aquaculture, 10(1), 75-95. https://doi.org/10.1111/raq.12148
11. 11. Hcini, E., Ben Slima, A., Kallel, I., Zormati, S., Traore, A. I. og Gdoura, R. (2018). Does supplemental zeolite (clinoptilolite) affect growth performance, meat texture, oxidative stress and production of polyunsaturated fatty acid of Turkey poults? Lipids Health Dis, 17(1), 177. https://doi.org/10.1186/s12944-018-0820-7 PMID: 30055621
12. Hossein, B. N., Khorram, S., Rezazadeh, H., Safaiyan, A. og Tarighat-Esfanjani, A. (2018). The Effects of Natural Clinoptilolite and Nano-Sized Clinoptilolite Supplementation on Glucose Levels and Oxidative Stress in Rats With Type 1 Diabetes. Can J Diabetes, 42(1), 31-35. https://doi.org/10.1016/j.jcjd.2017.01.010 PMID: 28506813
13. Incharoen, T., Khambualai, O. og Yamauchi, K. (2009). Performance and histological changes of the intestinal villi in chickens fed dietary natural zeolite including plant extract. Asian J. Poult. Sci, 3, 42-50. https://doi.org/10.3923/ajpsaj.2009.42.50
14. Kazemi, M., Torbaghan, A. E., Tahmasbi, A. M., Valizadeh, R. og Naserian, A. A. (2017). Effects of phosalone consumption via feeding with or without sodium bentonite on performance, blood metabolites and its transition to milk of Iranian Baluchi sheep. Journal of animal science and technology, 59, 10-10. https://doi.org/10.1186/s40781-017-0135-7.e PMID: 28515956
15. Khodaparast AH og Abdolahzadeh A, M. R. (2008). A Critical Study of the “Six Ethical Codes for Research” in Iran. Medical Journal of Reproduction & Infertility, 8(4), 365-379.
16. Lamprecht, M., Bogner, S., Steinbauer, K., Schuetz, B., Greilberger, J. F., Leber, B., Wagner, B., Zinser, E., Petek, T., Wallner-Liebmann, S. (2015). Effects of zeolite supplementation on parameters of intestinal barrier integrity, inflammation, redoxbiology and performance in aerobically trained subjects. Journal of the International Society of Sports Nutrition, 12(1), 40. https://doi.org/10.1186/s12970-015-0101-z PMID: 26500463
17. Li, L., Li, P., Chen, Y., Wen, C., Zhuang, S. og Zhou, Y. (2015). Zinc-bearing zeolite clinoptilolite improves tissue zinc accumulation in laying hens by enhancing zinc transporter gene mRNA abundance. Animal Science Journal, 86(8), 782-789. https://doi.org/10.1111/asj.12358
18. Magnoli, A., Monge, M., Miazzo, R., Cavaglieri, L., Magnoli, C., Merkis, C., Cristofolini, A., Dalcero, A., Chiacchiera, S. (2011). Effect of low levels of aflatoxin B1 on performance, biochemical parameters, and aflatoxin B1 in broiler liver tissues in the presence of monensin and sodium bentonite. Poultry science, 90(1), 48-58. https://doi.org/10.3382/ps.2010-00971
19. Magnoli, A. P., Tallone, L., Rosa, C. A., Dalcero, A. M., Chiacchiera, S. M. og Torres Sanchez, R. M. (2008). Commercial bentonites as detoxifier of broiler feed contaminated with aflatoxin. Applied Clay Science, 40(1), 63-71. https://doi.org/10.1016/j.clay.2007.07.007
20. Melenova, L., Ciahotny, K., Jirglova, H., Kusa,

H. og Ruzek, P. (2003). Removal of ammonia from waste gases by adsorption on zeolites and their utilization in agriculture. Chemické listy, 97(7).

21. Monge Mdel, P., Magnoli, A. P., Bergesio, M. V., Tancredi, N., Magnoli, C. E. og Chiacchiera, S. M. (2016). Activated carbons as potentially useful non-nutritive additives to prevent the effect of fumonisin B1 on sodium bentonite activity against chronic aflatoxicosis. Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess, 33(6), 1043-1052. https://doi.org/10.1080/19440049.2016.1185923
22. Montinaro, M., Uberti, D., Maccarinelli, G., Bonini, S. A., Ferrari-Toninelli, G. og Memo, M. (2013). Dietary zeolite supplementation reduces oxidative damage and plaque generation in the brain of an Alzheimer's disease mouse model. Life sciences, 92(17-19), 903-910. https://doi.org/10.1016/j.lfs.2013.03.008
23. Mumpton, F. A. (1999). La roca magica: uses of natural zeolites in agriculture and industry. Proceedings of the National Academy of Sciences, 96(7), 3463-3470. https://doi.org/10.1073/pnas.96.7.3463
24. Neidrauer, M., Ercan, U. K., Bhattacharyya, A., Samuels, J., Sedlak, J., Trikha, R., Barbee, K.A., Weingarten, M.S., Joshi, S. G. (2014). Antimicrobial efficacy and wound-healing property of a topical ointment containing nitric-oxide-loaded zeolites. J Med Microbiol, 63(Pt 2), 203-209. https://doi.org/10.1099/jmm.0.067322-0
25. Niri, M., Mahvi, A., Alimohammadi, M., Shirmardi, M., H, G., Mohammadi, M., Naeimabadi, A., Khishdost, M. (2015). Removal of natural organic matter (NOM)from an aqueous solution by NaCl and surfactantmodified clinoptilolite. J Water Health, 13(2), 394- 405. https://doi.org/10.2166/wh.2014.088
26. Oguz, H., Kececi, T., Birdane, Y. O., Onder, F. og Kurtoglu, V. (2000). Effect of clinoptilolite on serum biochemical and haematological characters of broiler chickens during aflatoxicosis. Res Vet Sci, 69(1), 89-93. https://doi.org/10.1053/rvsc.2000.0395
27. Olver, M. (1989). Effect of feeding clinoptilolite (zeolite) to three strains of laying hens. British poultry science, 30(1), 115-121. https://doi.org/10.1080/00071668908417130
28. Poulsen, H. D. og Oksbjerg, N. (1995). Effects of dietary inclusion of a zeolite (clinoptilolite) on performance and protein metabolism of young growing pigs. Animal Feed Science and Technology, 53(3), 297-303. https://doi.org/10.1016/0377-8401(94)00744-T
29. Prasai, T., Walsh, K., Midmore, D. og Bhattarai, S. (2018). Effect of biochar, zeolite and bentonite feed supplements on egg yield and excreta attributes. Animal Production Science, 58(9), 1632-1641. https://doi.org/10.1071/AN16290
30. Prasai, T. P., Walsh, K. B., Bhattarai, S. P., Midmore, D. J., Van, T. T., Moore, R. J. og Stanley, D. (2017). Zeolite food supplementation reduces abundance of enterobacteria. Microbiol Res, 195, 24-30. https://doi.org/10.1016/j.micres.2016.11.006
31. Rodriguez-Fuentes, G., Barrios, M., Iraizoz, A., Perdomo, I. og Cedre, B. (1997). Enterex: Antidiarrheic drug based on purified natural clinoptilolite. Zeolites, 19(5), 441-448. https://doi.org/10.1016/S0144-2449(97)00087-0
32. Roussel, J., Thibodeaux, J., Adkinson, R., Toups, G. og Goodeaux, L. (1991). Effect of feeding various levels of sodium zeolite A on milk yield, milk composition and blood profiles in thermally stressed Holstein cows. International journal for vitamin and nutrition research. Internationale Zeitschrift fur Vitamin-und Ernahrungsforschung. Journal international de vitaminologie et de nutrition, 62(1), 91-98. PMID: 1316886
33. Saribeyoglu, K., Aytac, E., Pekmezci, S., Saygili, S., Uzun, H., Ozbay, G., Aydin, S., Seymen, H. O. (2011). Effects of clinoptilolite treatment on oxidative stress after partial hepatectomy in rats. Asian journal of surgery, 34(4), 153-157. https://doi.org/10.1016/j.asjsur.2011.11.007
34. Suvarna, K. S., Layton, C., og Bancroft, J. D. (2018). Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques E-Book: Elsevier Health Sciences, 7,125-177

35. Takdastan, A., Nazarzadeh, A. og Ramezani, Z. (2015). Performance evaluation of dried powder activated sludge on adsorption of nickel and determining the adsorption isotherm. J Ilam Univ Med Sci, 23(1), 11-17.
36. Tatar, A., Boldaji, F., Dastar, B., Hassani, S. and Yalçin, S. (2012) Effects of dietary supplementation with perlite and zeolite on performance, litter quality and carcass characteristics of broilers from 7-42 days of age. Int Res J App Basic Sci, 3, 1148-1154.
37. Thilsing-Hansen, T., Jørgensen, R., Enemark, J., Zelvyte, R. og Sederevicius, A. (2002). The effect of zeolite A supplementation in the dry period on blood mineral status around calving. Acta veterinaria Scandinavica Supplementum, 97, 87-95. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(02)74259-8
38. Wang, S. og Peng, Y. (2010). Natural zeolites as effective adsorbents in water and wastewater treatment. Chemical Engineering Journal, 156(1), 11-24. https://doi.org/10.1016/j.cej.2009.10.029
39. Wawrzyniak, A., Kapica, M., Stępień-Pyśniak, D., Łuszczewska-Sierakowska, I., Szewerniak, R. og Jarosz, Ł. (2017). The effect of dietary supplementation of transcarpathian zeolite on intestinal morphology in female broiler chickens. Journal of Applied Poultry Research, 26(3), 421-430. https://doi.org/10.3382/japr/pfx011
40. Yeganeparast, M., Mirabdolbaghi, J., Khojastekei, M. og Lotfipour, M. S. (2015). Comparion of the effects of feeding diets containing natural zeolite and bentonite from Qom province and their commercial kinds on performance and carcass traits of broilers. Applied Animal Science Research Journal, 4(14), 17-28. https://doi.org/10.22092/aasrj.2015.103037

Histomorphological and Histochemical Effects of Diet With Qom Zeolite on the Tissue Structure of the Small Intestine of Broiler Chickens Compared With Commercial Zeolite

Mohsen Eslami Farsani[1,2], Mohamad Dakhili[2], Shima Ababzadeh[1,3], Mohamade Yeganehparast[4], Fatemeh Heidari[1]

[1]*Department of Anatomical Sciences, Faculty of Medicine, Qom university of medical sciences, Qom, Iran*

[2]*Department of laboratory Sciences, Faculty of Medicine, Qom Branch; Islamic Azad University of medical sciences, Qom, Iran*

[3]*Cellular and Molecular Research Center, Qom University of Medical, Qom, Iran*

[4]*Qom Agricultural and Natural Resources Research Center, Qom, Iran*

(Received 17 December 2018, Accepted 25 February 2019)

Abstract:

BACKGROUND: Population growth and the need for food, especially proteins, have increased the interest in using inexpensive and available supplements to increase protein production.

OBJECTIVES: The aim of this study was to evaluate the effect of Qom region zeolite as a supplement to the histological and histochemical structure of broiler chicken intestine and to compare it with commercial zeolite.

METHODS: In this experimental study a total of 200 broiler chicks were purchased from Qom poultry and randomly divided into five groups including the control group; the experimental group of Qom zeolite which was subsequently subdivided into three different doses including (Z1 = 0.5 %, Z2 = 1%, Z3 =1,5%); and finally the anzymite group which received the commercial zeolite. 42 days later, 10 samples were selected from each group and after tissue preparation, the slides were stained with hematoxylin-eosin, PAS period, and toluidine blue; then microscopic assays were applied using the Image-j 1.49f software. Data analysis was done with SPSS 20 and One-way ANOVA and Tukey's post hoc test. $P<0.05$ was considered acceptable.

RESULTS: The height of the epithelial cells decreased in the anzymite group but the number of mucosal glands and goblet cells increased significantly ($P<0.05$). Except for Z1 group in other Qom zeolite treatment groups (Z2 and Z3), the number of goblet cells increased significantly ($P<0.05$). Therefore, the effect of zeolite higher than 1.5% may be comparable with anzymite.

CONCLUSIONS: Our results showed that zeolite does not have any effect on increasing the absorption rate of the small intestine, but could stimulate the function of goblet cells and intestinal glands, so Qom zeolite with higher percentage could have the same effect as anzymite.

Keyword:

Histology, Zeolite, Anzymite, Small intestine, Broiler chickens

Figure Legends and Table Captions

Table 1. Results of histological studies in different groups.

Figure 1. A: Examination of the length of the cells in the small intestine villi. * = Significant difference. ($P<0.05$). Zeolite Z1= 0.5%, Zeolite Z2 =1%, Zeolite Z3 =1.5%. B: Photomicrograph from the height of the epithelial cells (E, red lines) in the villi and the microvilli(arrows) of the control group (H & E 40X).

Figure 2. A: Comparison of the average number of Goblet cells in villi. There was a significant difference in Z2, Z3, and enzyme groups with the control group (*P** 0.05) (*P*** 0.01) (*P*< ***0.001). B: PAS staining to compare the number of goblet cells (arrows) in the villi of the control group above (PAS, 4X) and in the crypt, small image down (PAS, 10X).

Figure 3. A: Comparison of the average number of goblet cells in the crypt and glands in different groups (*P <0.05). B: Comparison of the mean number of mucosal glands in different groups (** *P*< 0/01).

Figure 4. A: Photomicrograph of the small intestine lamina propria in the control group (Toluidine blue, 4X). B: Small intestine lamina propria in the Enzymatic group, arrows show mucous glands (PAS, 4X).

*Corresponding author's email: ahoramh.82@gmail.com, Tel: 025-33209071, Fax: 025-33209127