

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

تایید اعضای هیأت داوران حاضر در جلسه دفاع از پایان نامه کارشناسی ارشد

اعضای هیأت داوران نسخه نهائی پایان نامه خانم/آقای: فتح الله نقی زاده تحت عنوان: کاربرد نانوذرات نقره بعنوان ضد عفونی کننده خوراک مرغ های تخمگذار، را از نظر فرم و محتوی بررسی نموده و پذیرش آن را برای تکمیل درجه کارشناسی ارشد پیشنهاد می کنند.

اعضای هیأت داوران	نام و نام خانوادگی	رتبه ی علمی	امضاء
۱- استاد راهنما	دکتر محمد امیر کریمی ترشیزی	استادیار	
۲- استاد مشاور	دکتر شعبان رحیمی	استاد	
۳- نماینده شورای تحصیلات تکمیلی	دکتر فرید شریعتمداری	استاد	
۱- داخلی	دکتر فرید شریعتمداری	استاد	
۴- اساتید ناظر: ۲- خارجی	دکتر هوشنگ لطف الهیان	استاد یار	



بسمه تعالی

آیین نامه چاپ پایان نامه (رساله) های دانشجویان دانشگاه

تربیت مدرس

نظر به اینکه چاپ و انتشار پایان نامه (رساله) های تحصیلی دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس، مبین بخشی از فعالیتهای علمی-پژوهشی دانشگاه است بنابراین به منظور آگاهی و رعایت حقوق دانشگاه، دانش آموختگان این دانشگاه نسبت به رعایت موارد ذیل متعهد می شوند:

ماده ۱ در صورت اقدام به چاپ پایان نامه (رساله)ی خود، مراتب را قبلاً به طور کتبی به دفتر نشر آثار علمی دانشگاه اطلاع دهد.

ماده ۲ در صفحه سوم کتاب (پس از برگ شناسنامه)، عبارت ذیل را چاپ کند:

” کتاب حاضر، حاصل پایان نامه کارشناسی ارشد/ رساله دکتری نگارنده در رشته مدیریت تولید و پرورش طیور است که در سال ۱۳۸۹ در دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس به راهنمایی جناب آقای دکتر محمد امیر کریمی و مشاوره جناب آقای دکتر شعبان رحیمی از آن دفاع شده است“

ماده ۳ به منظور جبران بخشی از هزینه های انتشارات دانشگاه، تعداد یک درصد شمارگان کتاب (در هر نوبت چاپ) را به دفتر نشر آثار علمی دانشگاه اهدا کند. دانشگاه می تواند مازاد نیاز خود را به نفع مرکز نشر در معرض فروش قرار دهد.

ماده ۴ در صورت عدم رعایت ماده ۳، ۵۰٪ بهای شمارگان چاپ شده را به عنوان خسارت به دانشگاه تربیت مدرس، تأدیه کند.

ماده ۵ دانشجو تعهد و قبول می کند در صورت خودداری از پرداخت بهای خسارت، دانشگاه می تواند خسارت مذکور را از طریق مراجع قضایی مطالبه و وصول کند، به علاوه به دانشگاه حق می دهد به منظور استیفای حقوق خود، از طریق دادگاه، معادل وجه مذکور در ماده ۴ را از محل توقیف کتابهای عرضه شده نگارنده برای فروش، تأمین نماید.

ماده ۶ اینجانب فتح الله نقی زاده دانشجوی رشته مدیریت تولید و پرورش طیور در مقطع کارشناسی ارشد تعهد فوق و ضمانت اجرایی آن را قبول کرده، به آن ملتزم می شوم.

نام و نام خانوادگی:

تاریخ و امضاء:

دستورالعمل حق مالکیت مادی و معنوی در مورد نتایج پژوهش های علمی دانشگاه تربیت مدرس

مقدمه : با عنایت به سیاست های پژوهشی دانشگاه در راستای تحقق عدالت و کرامت انسان ها که لازمه شکوفایی علمی و فنی است و رعایت حقوق مادی و معنوی دانشگاه و پژوهشگران، لازم است اعضای هیات علمی، دانشجویان، دانش آموختگان و دیگر همکاران طرح در مورد نتایج پژوهش های علمی که تحت عناوین پایان نامه، رساله و طرح های تحقیقاتی با هماهنگی دانشگاه انجام شده است، موارد ذیل را رعایت نمایند:

ماده ۱- حقوق مادی و معنوی پایان نامه ها، رساله های مصوب دانشگاه متعلق به دانشگاه است و هرگونه بهره برداری از آن باید با ذکر نام دانشگاه و رعایت آیین نامه ها و دستورالعمل های مصوب دانشگاه باشد.

ماده ۲- انتشار مقاله یا مقالات مستخرج از پایان نامه / رساله به صورت چاپ در نشریات علمی و یا ارائه در مجامع علمی می باید به نام دانشگاه بوده و استاد راهنما نویسنده مسئول مقاله باشند.

تبصره : در مقالاتی که پس از دانش آموختگی به صورت ترکیبی از اطلاعات جدید و نتایج حاصل از پایان نامه و رساله منتشر می شود نیز باید نام دانشگاه درج شود.

ماده ۳- انتشار کتاب حاصل از نتایج پایان نامه، رساله و تمامی طرح های تحقیقاتی دانشگاه باید با مجوز کتبی صادره از طریق حوزه پژوهشی دانشگاه و براساس آیین نامه های مصوب انجام شود.

ماده ۴- ثبت اختراع و تدوین دانش فنی و یا ارائه در جشنواره های ملی، منطقه ای و بین المللی که حاصل نتایج مستخرج از پایان نامه، رساله و تمامی طرح های تحقیقاتی دانشگاه باید با هماهنگی استاد راهنما یا مجری طرح از طریق حوزه پژوهشی دانشگاه انجام گیرد.

ماده ۵- این دستورالعمل در ۵ ماده و یک تبصره در تاریخ ۱۳۸۴/۴/۲۵ در شورای پژوهشی دانشگاه به تصویب رسیده و از تاریخ تصویب لازم الاجرا است و هرگونه تخلف از مفاد این دستورالعمل از طریق مراجع قانونی قابل پیگیری خواهد بود.



دانشگاه تربیت مدرس

دانشکده کشاورزی

گروه پرورش و تولید طیور

پایان نامه دوره کارشناسی ارشد

کاربرد نانو ذرات نقره به عنوان ضد عفونی کننده خوراک مرغ های تخمگذار

فتح الله نقی زاده

استاد راهنما

دکتر محمد امیر کریمی ترشیزی

استاد مشاور

دکتر شعبان رحیمی

شهریور ۱۳۸۹

این کم را اگر ارزشی باشد

تقدیم می نمایم به:

پدر بزرگ عزیزم

پدر و مادر فداکارم

و برادران گرامیم

که بهترین سرمایه های زندگی من هستند

سرو وجودشان همیشه سرسبز و استوار باد.

تقدیم و تشکر

خداوندا تو را سپاسگزارم، که ذره کوچکی از زیبایی‌هایت را به من نمایاندی و با عظمت و بزرگی، قطره ناچیزی از دریای بیکران علمت را به من آموختی.

اکنون که با عنایت ایزد یکتا، کار تحقیق و نگارش این پایان‌نامه به اتمام رسیده است، بر خود لازم میدانم که از کلیه عزیزانی که در طی مراحل تحصیل مرا یاری نموده‌اند، تشکر و قدردانی نمایم.

از اساتید ارجمند، آقایان دکتر محمد امیر کریمی ترشیزی که مسئولیت راهنمایی این پایان‌نامه را بر عهده داشته‌اند و با توصیه‌ها و راهنمایی‌های ارزشمند خود مرا در این امر یاری نموده‌اند، کمال تشکر و قدردانی را دارم. همچنین از جناب آقای دکتر شعبان رحیمی که مشاوره این پایان‌نامه را بر عهده داشته‌اند، صمیمانه سپاسگزارم.

در طی مراحل اجرایی این پایان‌نامه از مساعدت آقای دکتر فرید شریعتمداری استاد گروه تولید و پرورش طیور، مهندس هادی کاظمی مسئول آزمایشگاه علوم دامی، مهندس آرش کاظمیان کارشناس مزرعه گروه پرورش و تولید طیور تربیت مدرس و مهندس مجید بهرامی همکار محترم بدینوسیله از آنان کمال تشکر و قدردانی را می‌نمایم.

در پایان شایسته است مراتب تشکر و قدردانی خود را از کلیه دوستان و همکلاسی‌های عزیزم آقایان سید سیاوش عسکری، علی نیکنام، سعید یخکشی، مصطفی لطفی، جواد عظیمی، محمد رضایی، حسن حسینیان، کاظم سیفی، عثمان رادبوی و سرکار خانم‌ها مهندس مرادی نژاد، حسین زاده، اسدی، ناصری و رحمانی اعلام نمایم.

فتح الله نقی‌زاده

شهریور ۱۳۸۹

چکیده

استفاده از ضد عفونی کننده‌های خوراک با هدف افزایش سلامت فرآورده های طیور، بویژه تخم مرغ مورد توجه روزافزون قرار گرفته است. به منظور بررسی اثر ضد عفونی کنندگی نانوسیلور و ضد عفونی کننده‌های مختلف خوراک بر عملکرد، سیستم ایمنی، فلور میکروبی دستگاه گوارش و مرفولوژی روده با استفاده از ۹۰ قطعه مرغ تخمگذار سویه لوهمن (LSL) در ۵ گروه شامل: شاهد، فورمایسین (۲۰۰ ppm)، فرمالین (۲۰۰ ppm)، نانوسیلور آشامیدنی (۷/۵ ppm) و نانوسیلور خوراکی (۱۵ ppm) این پژوهش انجام شد. بیشترین ظرفیت بافری مربوط به گروه فورمایسین بود. افزودن فرمالین، فورمایسین و نانوسیلور به خوراک آلوده بیشترین کاهش باکتریایی را ایجاد نمود ($P < 0/01$). در کل دوره بیشترین مصرف خوراک در گروه شاهد و فورمایسین و کمترین برای گروه‌های نانوسیلور بود. ضریب تبدیل در کل دوره در گروه های فرمالین و شاهد بیشترین و کمترین مقدار نیز در گروه نانوسیلور در خوراک بود، هرچند این تفاوت معنی دار نبود ($P > 0/05$). تفاوت معنی داری بین گروه‌های آزمایشی از نظر درصد تولید و وزن توده تخم مرغ مشاهده نشد ($P > 0/05$). فورمایسین بالاترین وزن تخم مرغ را ایجاد نمود ($P < 0/05$). بین دو روش استفاده از نانوسیلور تفاوت معنی داری از نظر درصد تولید، وزن تخم مرغ و وزن توده تخم مرغ مشاهده نشد، اما در گروه نانوسیلور در خوراک وزن تخم مرغ و وزن توده تخم مرغ در مقایسه با آب آشامیدنی بیشتر بود ($P > 0/05$). تفاوت از نظر کیفیت داخلی و خارجی تخم مرغ بین تیمارهای مختلف مشاهده نشد ($P > 0/05$), اما استفاده از فورمایسین و نانوسیلور موجب افزایش کلسترول زرده در مقایسه با شاهد و فرمالین شد ($P < 0/05$). اثر گروه‌های آزمایشی بر پاسخ ایمنی هومورال معنی دار نبود ($P > 0/05$). نانوسیلور در آب بیشترین پاسخ به تزریق فیتوهمگلوتنین را نشان داد ($P < 0/05$) که با گروه‌های فرمالین و فورمایسین تفاوت نداشت. بالاترین پاسخ در چالش با DNCB مربوط به گروه نانوسیلور در آب بود ($P < 0/01$). در دو نوع شیوه استفاده نانوسیلور بیشترین پاسخ ایمنی در گروه نانوسیلور در آب مشاهده شد، که با گروه نانوسیلور در خوراک تفاوت معنی داری داشت ($P < 0/01$). همه افزودنی ها سبب کاهش تعداد کل باکتری های دستگاه گوارش شدند. باکتری‌های اسیدلاکتیک در سکوم تحت تاثیر نانوسیلور و فرمالین در مقایسه با گروه‌های شاهد و فورمایسین افزایش یافت ($P < 0/01$). همه افزودنی‌های مورد آزمایش در مقایسه با شاهد باکتری‌های گرم منفی ایلنوم را کاهش دادند ($P < 0/01$). استفاده از نانوسیلور در خوراک سبب کاهش ارتفاع پرز در دوازدهه شد ($P < 0/01$), همه افزودنی ها عمق کریپت و تعداد سلول های گابلت را نسبت به شاهد کاهش دادند ($P < 0/01$). به طور کلی افزودن فورمایسین و نانوسیلور به خوراک مرغ های تخمگذار بهترین کارایی را در کاهش بار میکروبی دستگاه گوارش و بهبود تولید داشت.

کلمات کلیدی: نانوسیلور، ضد عفونی خوراک، عملکرد، سیستم ایمنی، فلوردستگاه گوارش و مورفولوژی.

فهرست مطالب

فصل اول	۱
مقدمه	۱
۱-۱ مقدمه	۲
فصل دوم	۵
بررسی منابع	۵
۱-۲ منشا باکتری‌های یافت شده در خوراک	۶
۱-۱-۲ منشاء و زنده مانی باکتری‌ها در خوراک	۷
۲-۱-۲ فراسنجه‌های تاثیر گذار بر گوناگونی باکتری‌های خوراک	۸
۳-۱-۲ فاکتورهای مؤثر در زنده مانی باکتری‌ها در خوراک	۱۰
۴-۱-۲ مهمترین باکتری‌های بیماری‌زای پیدا شده در خوراک	۱۰
۱-۲-۲ میزان بروز و اهمیت قارچ‌ها در خوراک‌ها	۱۶
۱-۳-۲ روش های کنترل آلودگی میکروبی خوراک	۱۸
۱-۴-۲ نانوسیلور	۲۲
۱-۵-۲ فورمایسین گلد پی اکس	۲۸
۱-۶-۲ روش‌های ارزیابی سیستم ایمنی همورال	۲۹
۱-۷-۲ وضع تشریحی روده باریک	۳۲
۲-۷-۲ اثر میکروارگانیزم‌های دستگاه گوارش بر مرفولوژی و فیزیولوژی دستگاه گوارش	۳۸
۳-۷-۲ اثر فلور میکروبی بر سلامت پرنده	۳۸
فصل سوم	۴۰
مواد و روش ها	۴۰
۱-۳ مکان و زمان اجرای آزمایش	۴۱
۲-۳ آماده سازی سالن	۴۱
۳-۳ مدیریت پرورش	۴۱
۴-۳ پرندگان آزمایشی	۴۲
۵-۳ گروه‌های آزمایشی	۴۲
۶-۳ ترکیب جیره	۴۳
۷-۳ صفات مورد مطالعه	۴۴

۴۴ تعیین ظرفیت بافری جیره‌های مورد استفاده
۴۴ آزمایش‌های میکروبی خوراک
۴۵ متغیرهای اندازه‌گیری شده در رابطه با عملکرد
۴۵ میانگین خوراک مصرفی روزانه
۴۵ ضریب تبدیل خوراک
۴۵ مقدار آب مصرفی
۴۶ درصد تخم گذاری
۴۶ متوسط وزن تخم مرغ
۴۶ وزن توده تخم مرغ
۴۶ بررسی کیفیت تخم مرغ
۴۹ متغیرهای اندازه‌گیری شده در رابطه با عملکرد سیستم ایمنی
۴۹ ارزیابی سیستم ایمنی سلولی
۵۰ ارزیابی سیستم ایمنی همورال
۵۱ نسبت هتروفیل به لنفوسیت
۵۱ اندازه‌گیری بار میکروبی محتویات دستگاه گوارش
۵۲ اندازه‌گیری صفات مربوط به استخوان درشت نی و میزان خاکستر استخوان
۵۲ بررسی مرفولوژی روده
۵۳ آماده‌سازی نمونه‌ها
۵۳ رنگ آمیزی
۵۳ اندازه‌گیری ابعاد پرز و عمق کریپت
۵۴ شمارش سلول‌های گابلت
۵۵ فصل چهارم
۵۵ نتایج و بحث
۵۶ ۱-۴ آزمایش‌های خوراک طیور
۵۶ ۱-۱-۴ ظرفیت بافری خوراک
۵۷ ۲-۱-۴ بررسی آلودگی باکتریایی خوراک
۵۸ ۲-۴ بررسی عملکرد
۵۸ ۱-۲-۴ خوراک مصرفی
۶۰ ۲-۲-۴ آب مصرفی
۶۰ ۳-۲-۴ نسبت آب مصرفی به خوراک مصرفی

۶۰ ۴-۲-۴ ضریب تبدیل خوراک مصرفی
۶۲ ۵-۲-۴ درصد تولید
۶۲ ۶-۲-۴ وزن تخم مرغ
۶۲ ۷-۲-۴ وزن توده تخم مرغ
۶۴ ۸-۲-۴ کیفیت داخلی تخم مرغ
۶۷ ۹-۲-۴ کیفیت خارجی تخم مرغ
۶۷ ۳-۴ عملکرد سیستم ایمنی
۶۷ ۱-۳-۴ نسبت هتروفیل به لئوسیت
۶۸ ۲-۳-۴ عملکرد سیستم ایمنی همورال
۶۹ ۳-۳-۴ عملکرد سیستم ایمنی سلولی
۷۰ ۴-۴ بار میکروبی محتویات دستگاه گوارش
۷۳ ۵-۴ وزن اندام های داخلی
۷۳ ۱-۵-۴ وزن نسبی کبد
۷۴ ۲-۵-۴ وزن نسبی طحال
۷۴ ۳-۵-۴ ویژگی های استخوان درشت نی
۷۵ ۶-۴ پارامترهای مربوط به روده باریک
۷۵ ۱-۶-۴ طول نسبی دوازدهه
۷۵ ۲-۶-۴ طول نسبی ژرونوم
۷۶ ۳-۶-۴ طول نسبی ایلتوم
۷۶ ۴-۶-۴ طول نسبی روده
۷۷ ۵-۶-۴ مرفولوژی روده باریک
۸۵ نتیجه گیری کلی
۸۶ پیشنهادات
۸۷ جداول
۸۷ فصل پنجم
۸۷ منابع

فصل اول

مقدمه

۱-۱ مقدمه

از دیدگاه اکولوژی، دانه‌های برداشت شده تنها حاوی مواد مغذی برای خوراک حیوانات نیست، بلکه می‌تواند به عنوان سوبسترا و ناقل موجودات تک سلولی، پروکاریوتها و یوکاریوتها فعالیت کند. خوراک ممکن است شامل میکروب‌های مختلفی باشد که از منابع محیطی متنوعی مانند گرد و غبار، خاک، آب و حشرات بدست آمده باشد. مواد خوراک ممکن است در هر زمانی از رشد، برداشت، فرایند سازی، ذخیره، انتقال و پخش خوراک آلوده شود. میکروب‌های یافت شده در مواد تشکیل دهنده خوراک از نواحی اکولوژیکی مختلف مانند خاک یا دستگاه گوارش منشاء می‌گیرند و به شرایط موجود در خوراک حیوانات و ترکیبات خوراک سازگار شده، می‌توانند زنده مانده و یا رشد کنند. تنوع یافت شده در خوراک به فعالیت آبی، غلظت اکسیژن، pH و ترکیبات مغذی شبکه غذایی وابسته است. رشد میکروب‌ها به محتوای رطوبت مواد خوراکی وابسته می‌باشد. برخی میکرواورگانیزم‌ها و قارچ‌ها به شرایط بدون آب سازگار شده‌اند و می‌توانند در دانه‌های ذخیره شده، رشد کنند. به هر حال اکثر میکرواورگانیزم‌ها باید استراتژی‌های مختلفی را برای زنده ماندن در مکان‌هایی با میزان رطوبت کافی جهت انجام فعالیت‌های خود بکار ببرند. میکروب‌ها می‌توانند ارزش غذایی دانه‌ها را از طریق تغییرات در مواد مغذی، آسیب‌های فیزیکی یا تولید مواد سمی تهدید کننده سلامتی حیوانات، کاهش دهند.

اجزای تشکیل دهنده خوراک و خوراک کامل دارای گونه‌های مختلفی از باکتری‌ها هستند. که تعدادی برای انسان و حیوانات بیمارزا هستند. بطور مثال گونه‌های بیمارزای پیدا شده در خوراک *Pseudomonas*، *Pasteurella*، *Streptococcus*، *Staphylococcus*، *E. coli*، *Salmonella* و *Clostridia* هستند. دیگر باکتری‌های حاضر مانند *Proteus*، *Klebsiella* و *Citrobacter* به‌عنوان

پاتوژن قرار نمی‌گیرند، اما زمانیکه در سطوح زیاد در خوراک حیوانات حضور یابند، می‌توانند باعث اثرات تحت بالینی شوند. آلوده شدن خوراک حیوانات با باکتری‌های بیماری‌زای انسان می‌تواند در بیماری‌های ایجاد شده از طریق زنجیره خوراک حیوان و انسان شرکت کنند. انسان‌ها ممکن است در برابر اینچنین بیماری‌زاهایی از طریق مصرف تخم مرغ، گوشت یا شیری که به‌طور ناصحیح از حیوانات بیمار یا از خوراک‌های آلوده شده با مدفوع حیوانات بیمار آماده شده‌اند بدون حفاظ باشند. Mead و همکاران در سال ۱۹۹۹ تخمین زدند که سالیانه ۷۶ میلیون نفر از مردم در آمریکا از بیماری‌های ایجاد شده با میکرواورگانسیم‌های بیماری‌زای غذا رنج می‌برند، هزینه اقتصادی در این کشور بخاطر این بیماری‌ها و هزینه‌های دارویی بالا، افزایش یافته که به‌روری را کاملاً کاهش داد. از سوی دیگر کارایی هضم در طیور بستگی به میکرواورگانسیم‌هایی دارد که به‌طور طبیعی در دستگاه گوارش یافت می‌شوند.

افزودنی‌های خوراکی با تولید انواعی از فرآورده‌ها، شرایط مطلوبی را در روده برای هضم خوراک ایجاد می‌کنند. در سراسر دنیا افزودنی‌های مختلفی جهت ضد عفونی خوراک به کار برده شده‌اند. با توجه به اینکه برخی از آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده در تولید طیور با مصرف درمانی انسانی مشترک هستند و امکان انتقال سویه‌های باکتری مقاوم به آنتی‌بیوتیک از طریق محصولات طیور به انسان می‌باشد که باعث می‌شود آنتی‌بیوتیک‌های درمانی در مورد انسان موثر واقع نشود و باقیماندن آنتی‌بیوتیک در محصولات طیور، استفاده از این مکمل را در جیره طیور مورد تردید قرار داده است. بنابراین مصرف محرک‌های رشد خیلی محدود شده است و استفاده از آنها به عنوان افزودنی خوراکی چندان قابل اعتماد نیست. تحقیقات بسیاری برای یافتن جایگزین‌های مناسب برای آنتی‌بیوتیک‌ها بدون اثر ماندگار مضر در حال انجام است. صنعت پرورش دام باید از آن دسته مواد افزودنی که باب میل مصرف کنندگان بوده و جایگزین مناسبی برای آنتی‌بیوتیک‌ها می‌باشند استفاده کند. با ممنوعیت گسترده استفاده از آنتی‌بیوتیک‌های محرک رشد در برخی جوامع، امروزه مواد زیادی به عنوان جایگزین آنتی‌بیوتیک‌ها در دسترس می‌باشند. نقره وقتی به نانو ذرات تبدیل می‌شوند دارای خصوصیات بیولوژیکی منحصر به فردی می‌شود که به دلیل افزایش سطح تماس این ذرات با محیط اطراف می‌باشد، توانایی نقره در شرکت در واکنش‌های شیمیایی بسیار کم است ولی با کاهش اندازه ذرات این ویژگی نقره افزایش می‌یابد و می‌تواند در واکنش‌های بیوشیمیایی به عنوان یک کاتالیزگر

عمل کند (Williams, 2002). بر طبق تعریف نانو ذرات به ذراتی با اندازه ۱۰۰-۱ نانومتر گفته می‌شود (Hoet *et al.*, 2004). بنابراین با استفاده از نانو ذرات نقره در مواد حساس به فساد، می‌توان مشکل فساد را به حداقل رساند و یا حذف نمود و ریسک مقاومت و انتقال آن به میکروارگانیسم‌های انسانی را بسیار کاهش داد. که با کاهش آلودگی خوراک و تجمع پاتوژن‌ها در دیواره روده باعث کاهش تولید ترکیبات سمی توسط باکتری‌ها و قارچ‌ها و تغییر در مرفولوژی دیواره روده می‌گردد و بنابراین در پیشگیری از آسیب به سلول‌های اپی‌تلیال مؤثر می‌باشد.

فصل دوم

بررسی منابع

۲-۱ منشاء باکتری‌های یافت شده در خوراک

غلات و دانه‌های روغنی دارای فلور میکروبی مختلفی با جمعیت در حدود $10^3 \times 5$ تا CFU/g $10^6 \times 1/6$ هستند که به میزان زیادی نسبت به شرایط با رطوبت پایین، مقاوم هستند (Richard-Molard, 1988; Multon, 1988). گیاهان بطور ابتدایی با گرد و غبار تولید شده در طی فعالیت مکانیکی زمان برداشت محصول، وزش بادهای تند یا باران آلوده می‌شوند. محیط خاک مجموعه‌ای از میکروب‌های مخلوط با ذرات خاک، مواد آلی و مواد آبداری با pH بسیار پایین، پتانسیل اکسایش-کاهش و قدرت یونی بالا، مواد مغذی، مواد معدنی کم مصرف و ترکیبات گاز دار می‌باشد (Stotzky, 1997). این تنوع پذیری در خاک سبب زنده ماندن جمعیت‌های میکروبی مختلف هوازی و بی‌هوازی شده است. براساس گزارش Bakken (1997) باکتری‌های غالب در خاک گرم مثبت‌ها هستند. در مقابل van Elsland و van Overbeek (1993) گزارش کردند که باکتری گرم مثبت *corynebacteria* از نظر تعداد بیشتر از باکتری‌های گرم منفی هستند.

باکتری‌های اصلی خاک توسط Alexander در سال 1997 بررسی و نمونه باکتری‌های جمع‌آوری شده بر اساس نسبت زنده ماندن توسط Bakken (1997) بیان شد که شامل: *Alcaligenes* (0/02-0/12), *Agrobacterium* (<0/20), *Arthrobacter* (0/055-0/60), *Bacillus* (0/07-0/67), *Flavobacterium* (0/10-0/02) و *Pseudomonas* (0/03-0/15) بود. باکتری‌های گرم منفی دسته *Actinomycetes*, *Azotobacter*, *Moraxella*, *Achromobacter*, *Acinetobacter* گرم مثبت: *Mycobacterium*, *Streptomyces*, *Streptococcus*, *Micrococcus* و همچنین گونه‌های دیگر راسته *Cytophagaceae* از خاک جدا شده‌اند (Christensen, 1977; Trevors and van Elsland, 1997). سوخت و ساز محدود مواد مغذی و میزان رطوبت کم، از محدودیت‌های اصلی

خاک می‌باشد که باکتری‌ها برای تشکیل کلنی به این شرایط سازگار نشده‌اند. به‌رحال باکتری‌هایی مانند *Enterobacter cloacae* و *Rhizobium spp.* ممکن است بتوانند به این شرایط غلبه کنند (Hinton and Bacon, 1995; van Veen et al., 1997). حشرات، بویژه بندپایان و کنه‌ها نیز می‌توانند میکرواورگانیسم‌ها را در میان سطح دانه‌ها قبل از برداشت و انبار کردن منتشر کنند (Fleurat-Lessard, 1988; Multon, 1988).

۲-۱-۱ منشاء و زنده مانی باکتری‌ها در خوراک

زمانیکه باکتری‌های بیماری‌زای میزبان حیوان یا انسان، خوراک را آلوده می‌کند امکان انتقال بیماری به هر دو جمعیت وجود دارد و در نتیجه نگرانی‌های زیادی را در مورد تولید کنندگان و مصرف کنندگان ایجاد می‌کند (Crump et al., 2002). خاک اولین انتقال دهنده باکتری‌های طبیعی آلوده کننده خوراک می‌باشد.

خاک مخلوط شده با مدفوع حیوانات می‌تواند گیاهان سبز را با رسوب مستقیم یا زمان کوددهی آلوده کند (Maciorowski et al., 2004). باکتری‌های پیدا شده در مواد مدفوع بطور آشکاری نسبت به باکتری‌های پیدا شده در خاک به محیط‌های مختلف سازگار شده‌اند. بطور نمونه باکتری‌های روده حیوانات با پتانسیل اکسیداسیون-احیاء کم، بویژه با رطوبت و غلظت مواد مغذی بیشتر نسبت به خاک مشخص شده است. به هر حال رقابت در محیط روده بسیار بالا و مدت زمان اقامت باکتری‌ها در آن محدود می‌باشد. باکتری‌های متصل نشده و باکتری‌هایی که همراه ترشحات سلولی روده، محیط دستگاه گوارش را ترک می‌کنند با باکتری‌های خاک مخلوط می‌شوند. بخشی از این جمعیت پس از مدتی زنده ماندن و فقر مواد مغذی محیط، خشک می‌شود تا در میزبان دیگری تشکیل کلنی دهد. مکانیسم‌های زنده مانی و حداکثر زمان زنده مانی باکتری‌ها در داخل روده و بیرون از بدن میزبان کاملاً ناشناخته است. در این مطالعه از مواد مدفوع خشک شده در هوا پس از ۸۵ روز از تهیه کمپوست می‌توان باکتری *E. coli* را جدا کرد در حالیکه باکتری *Salmonella* را بعد از ۲۵ روز نمی‌توان جدا کرد (Dorn and Schleiff, 1997). در مقابل Temple و همکاران (۱۹۸۰) توانستند به‌طور مداوم تعداد حداقل 10^3 *E. coli* و *Salmonella typhimurium* را در مدفوع برای ۸ هفته بعد از دفن در خاک کم عمق شناسایی کنند. برخی از باکترهای بی‌هوازی تولیدکننده اسپور مانند

Clostridium که از سلول‌های گیاهی جدا شده‌اند قادر هستند در خاک و دستگاه گوارش زنده بمانند (Haagsma, 1991). مدفوع حیوانات اهلی یا وحشی می‌تواند منبع آلوده کننده باکتریایی محصولات باشد. در مطالعات مختلف، باکتری سالمونلا از موش، موش صحرائی، راسو، راکون، خوک و گاو جدا شده‌است (Maciorowski et al., 2004; Crump et al., 2002; Tauxe, 2002). درندگانی مانند روباه و سگ‌های اهلی نیز می‌توانند از شکارهای آلوده مانند موش‌ها و حشرات مصرف کنند که می‌توانند ناقل آلودگی شوند. همچنین حشرات خانگی و سوسک‌های تغذیه کننده از مدفوع نیز می‌توانند هم ناقل و هم مخزنی برای پاتوژن‌ها در محیط باشند (Maciorowski et al., 2004).

۲-۱-۲ فراسنجه‌های تاثیر گذار بر گوناگونی باکتری‌های خوراک

جمعیت‌های میکروبی موجود در دانه‌ها یا غذاهای تولیدی، همانند باکتری‌های خاک، گوناگون و وابسته به میزان رطوبت خوراک هستند. Herron و همکاران (۱۹۹۳) مشخص کردند که *Erwinia herbicola* و *Rahnella aquitilis* با تعداد کمتری از *Serratia fonticola*, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli* و *alvei*, *Hafnia* هستند. Lin و همکاران (۱۹۹۲) گزارش کردند که در یونجه تازه با رطوبت ۴۵۰ گرم در کیلوگرم جمعیت *enterobacteriaceae* از نظر تعداد بیشتر از مخمرها و قارچ‌ها بودند. Pelhate (۱۹۸۸) جمعیت میکروبی‌های گندم با ۱۸۰ گرم رطوبت در کیلوگرم را شمارش و گزارش کرد که در طی سه ماه اول ذخیره سازی، باکتری‌هایی از جنس *Erwinia*, *Enterobacter* و *Pseudomonas* غالب بودند. به هر حال در ذخیره پیوسته همراه با کاهش رطوبت، تعداد میکروبی‌ها کاهش یافت تا اینکه از نمونه‌ها نسبت کمتر از ۲۰٪ باکتری جدا شد. Furuta و همکاران (۱۹۸۰) کشف کردند که کل جمعیت‌های پیدا شده در خوراک یونجه پلت شده بیش از ۱۰۵ نوع موجود زنده بود، در صورتیکه در مواد معدنی تهیه شده مانند کلسیم یا کربنات کلسیم که بطور واقعی فاقد آب بود. هیچ نوع باکتری هوازی کشف نشد. جمعیت باکتری‌ها در مواد غذایی مختلف نوسان داد. جمعیت باکتری‌ها در دانه‌ها و بذرها می‌توانند به سه راسته مختلف تقسیم شوند که عبارتند از: *Pseudomonas* spp. و *Acetobacter* از راسته *Pseudomonadales* و *Streptomyces* از راسته *Actinomycetales* که از خوراک‌ها جدا شده‌اند

(Richard-Molard, 1988). راسته Eubacteriales را متمایزترین راسته در خوراک دانست و همچنین این راسته بیشترین غالبیت در مطالعه Lin و همکاران (۱۹۹۲) را داشت. حداقل ۵ خانواده از باکتری‌های مختلف Eubacteriales در مطالعه‌ای توسط Richard-Molard (۱۹۸۸) گزارش شده‌است که شامل: Achromobacteriaceae (Achromobacter, Alcaligenes, and)، Enterobacteriaceae (Escherichia, Enterobacter, Paracolobactrum,)، Micrococcaceae (Micrococcus and Sarcina)، Proteus, and Serratia از Brevibacterium، Bacillaceae (Bacillus, Bacterium, and Clostridium) می‌باشد.

اینتروباکتريا نماينده بخش مهمی از میکروب‌های چسبیده به علوفه‌های چیده نشده هستند. Hanis و همکاران (۱۹۸۸) مشخص کردند که پسودوموناس‌ها^۱ در یولاف اما نه در بلغور گندم و *Micrococcus spp* فقط در بلغور گندم وجود دارد. جنس‌های *Bacillus*, *Serratia*, *Clostridium* و قارچ‌ها در هر دو مشترک هستند. جمعیت‌های غالب میکروبی در سیلاژ لاکتوباسیل‌ها با بخش کمی از *Streptococcus*, *Leuconostoc*, و *Pediococcus sp* هستند (Lin et al., 1992). pH پایین تولید شده از طریق تخمیر لاکتوباسیل‌ها مانع از رشد بیش از اندازه دیگر باکتری‌ها می‌شود. Herron و همکاران (۱۹۹۳) مشخص کردند که اینتروباکترها عموماً بیشتر از باکتری‌های اسید لاکتیک در علوفه‌های چیده نشده وجود دارند. اما زمانیکه علوفه برداشت شد و به شرایط بی‌هوازی منتقل شد، تعداد لاکتوباسیل‌ها افزایش، pH کاهش و تعداد اینتروباکترها بسرعت کاهش یافت.

در شرایط نامطلوب سیلو کردن اینتروباکترها می‌توانند رشد کنند، از پروتئین قابل دسترس استفاده کنند و غلظت آمونیاک، pH و تولید توکسین‌ها را افزایش دهند. شرایطی که سیلو تحت آن انجام می‌شود عموماً بر کیفیت خوراک مؤثر است. پلاسیده شدن علوفه قبل از سیلو کردن باعث تخمیر باکتری‌های اسید لاکتیک و در نتیجه با کاهش شدید pH و مقدار قندهای باقیمانده در انتهای تولید مشخص می‌شود. گزارش شده است که ریز ریز کردن ذرت یا دیگر علوفه‌ها نسبت به روش سیلوی ناهمگن، سبب تعداد بیشتر باکتری‌های اسید لاکتیک، pH کمتر و تعداد کمتر *Listeria monocytogenes* می‌شود. دیگر مطالعات نشان دادند که سیلوهای تهیه شده از علوفه‌های به دقت ریز شده که تولید علوفه‌های همشکل‌تر می‌کند تعداد میکروب‌های مضر کمتری دارد و مقدار کمتر

^۱ Pseudomonas