14(2) 123-130, Summer 2022

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

Original Research Paper

Effect of different levels of probiotics and physical form of feed on small intestinal morphology and immune system in Japanese quail chicks

Nasir Sajjadi, Reza Vakili *

Department of Animal Science, Kashmar Branch, Islamic Azad University, Kashmar, Iran

Key Words
Protexin probiotic
Immune status
Water science morphology
Quail

Abstract

Introduction: An experiment was conducted to investigate the effect of different levels of probiotics and physical form of feed on the morphology of the small intestine and the immune system in Japanese quail.

Materials & Methods: 240 one-day-old Japanese quail chicks were examined in a factorial experiment in a completely randomized design with 6 replications, 6 replications with 10 chicks per replication for 42 days. Experimental treatments include: Flour feed (mesh) containing pure water (no probiotic proxin), Flour feed (mesh) containing two levels of probiotic soluble protexin in drinking water (1 and 2%), Crumble feed with three levels of probiotic proxin (0%, 1%) Were soluble in drinking water. Experimental diets were adjusted based on the nutritional needs of quail chicks of the National Research Association using UFFDA software. To test for blood cell count, at 42 days of age, one chick was selected from each replicate and a blood sample was taken from a wing vein. One bird was killed from each pen, and the relative weight and length of different parts of the intestine, the length and width of the villi, and the depth of the crypt were studied.

Results: Chickens fed crumble diet and lacking probiotic protexin had the highest percentage of lymphocytes and chickens fed mesh and lacking probiotic protexin had the highest percentage of monocytes ($P<0.05$). The results of intestinal morphology showed that two treatments of crumble and containing 2% probiotic soluble in drinking water had the highest values of villi length and crypt depth ($P<0.05$). The relative weights of the various components of the gastrointestinal tract and the relative lengths of the duodenum and cecum were significantly affected by the experimental diets ($P<0.05$).

Conclusion: The results of the experiment showed that the use of probiotic protexin improved the immune system of the Japanese quail and improved the length and width of the villi; The crypt depth as well as the weight and relative length of the various intestinal components were improved.

* Corresponding Author's email: vakili@iaukashmar.ac.ir
Received: 23 April 2021; Reviewed: 26 May 2021; Revised: 30 July 2021; Accepted: 1 September 2021
(DOI): 10.22034/AEJ.2021.292865.2572

مقاله پژوهشی

اثرات سطوح مختلف پروبیوتیک و شکل فیزیکی خوراک بر ریخت‌شناسی روده باریک و وضعیت ایمنی در جوجه‌های بلدرچین گوشتی

*نصیر سجادی، رضا وکیلی**

گروه علوم دامی، واحد کاشمر، دانشگاه آزاد اسلامی، کاشمر، ایران

کلمات کلیدی

پروبیوتیک پروتکسین
وضعیت ایمنی
ریخت‌شناسی روده
بلدرچین

چکیده

مقدمه: این آزمایش باهدف استفاده از اثر سطوح مختلف پروبیوتیک پروتوکسین و شکل فیزیکی خوراک بر ریخت‌شناسی روده باریک و وضعیت ایمنی در بلدرچین انجام گرفت.

مواد و روش‌ها: به این منظور تعداد ۲٤۰ قطعه جوجه بلدرچین‌های گوشتی یک‌روزه در یک آزمایش فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی در٦ تیمار، ٤ تکرار با ۱۰ جوجه درهر تکرار به‌مدت ٤۲ روز مورد بررسی قرار گرفتند. تیمارهای آزمایشی شامل: ۱- خوراک آردی (مش) حاوی آب خالص (فاقد پروبیوتیک پروتکسین)، ۲- خوراک آردی (مش) حاوی دو سطح پروبیوتیک پروتکسین محلول در آب آشامیدنی (۱ و ۲ درصد)، ۳۳- خوراک کرامبل با سه سطح پروبیوتیک پروتکسین (۰، ۱ و ۲ درصد) محلول در آب آشامیدنی بودند. جیره‌های‌آزمایشی براساس احتیاجات غذایی جوجه بلدرچین انجمن تحقیقات ملی و با استفاده از نرم‌افزار UFFDA تنظیم شدند. به‌منظور آزمایش شمارش سلول‌های‌خونی، درسن ٤۲ روزگی، یک جوجه از هر تکرار انتخاب و نمونه خون از ورید بال گرفته شد. پس از ثبت وزن تمام‌جوجه‌ها، یک پرنده از هر قطعه به‌صورت تصادفی کشتار شد و وزن و طول نسبی بخش‌های‌مختلف روده و خصوصیات ریخت‌شناسی ژژنوم (طول و عرض پرز و عمق کریپت) مورد مطالعه قرار گرفت.

نتایج: نتایج حاصل نشان داد جوجه‌های تغذیه شده با جیره خوراک کرامبل و فاقد پروبیوتیک پروتکسین دارای بالاترین درصد لنفوسیت و جوجه‌های دریافت‌کننده خوراک مش و فاقد پروبیوتیک پروتکسین دارای بالاترین درصد مونوسیت بودند (P<۰/۰۵). هم‌چنین نتایج حاصل از ریخت‌شناسی روده باریک جوجه‌های بلدرچین نشان داد که دو تیمارخوراک کرامبل و حاوی ۲ درصد پروبیوتیک پروتکسین محلول در آب آشامیدنی دارای بالاترین مقادیر طول پرز و عمق کریپت بودند (P<۰/۰۵). وزن نسبی اجزای مختلف دستگاه گوارش و طول نسبی دئودنوم و سکوم به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر جیره‌های آزمایشی قرار گرفتند (P<۰/۰۵).

بحث و نتیجه‌گیری: به‌طورکلی نتایج حاصل از آزمایش نشان داد که استفاده از افزودنی پروبیوتیک پروتکسین منجر به بهبود وضعیت ایمنی بلدرچین‌ها می‌گردد و تأثیر معنی‌داری بر بهبود وضعیت طول و عرض پرز و عمق کریپت و نیز بهبود وزن و طول نسبی اجزای مختلف روده دارد.

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: vakili@iaukashmar.ac.ir

تاریخ دریافت: ۳ اردیبهشت ۱٤۰۰؛ تاریخ داوری: ۵ خرداد ۱٤۰۰؛ تاریخ اصلاح: ۸ مرداد ۱٤۰۰؛ تاریخ پذیرش: ۱۰ شهریور ۱٤۰۰
(DOI): 10.22034/AEJ.2021.292865.2572

مقدمه

آنتی‌بیوتیک‌ها از دهه ۱۹۴۰ به‌عنوان افزودنی‌های خوراکی یا تقویت‌کننده رشد مورد استفاده قرار گرفتند (۱). از سال ۲۰۰۶، اتحادیه اروپا (EU) استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها را به‌دلیل ظهور مقاومت میکروبی در برابر آنتی‌بیوتیک‌هایی که برای درمان بیماری‌های حیوانات و طیور استفاده می‌شد و ارتباط با خطرات بهداشتی برای آن‌ها، به‌عنوان محرک رشد یا مواد افزودنی غذایی ممنوع کرد (۲). علاوه بر این، آنتی‌بیوتیک‌ها برخی مشکلات دیگر مانند از بین بردن برخی از باکتری‌های مفید در روده طیور را ایجاد می‌کنند (۳). پروبیوتیک‌ها مکمل‌های خوراکی میکروبی زنده هستند که اگر به‌میزان کافی تجویز شوند، می‌توانند اثرات مفیدی بر سلامت حیوان داشته باشند (۴). کاربردهای مفید و تأثیرات محافظتی پروبیوتیک‌ها از چندین جنبه قابل مشاهده است. پروبیوتیک‌ها می‌توانند تغییر تعادل میکروفلور روده، جلوگیری از رشد باکتری‌های بیماری‌زا، سنتز و تقویت فراهمی زیستی مواد مغذی، هضم خوب، کاهش اثر مواد آلرژی‌زا، تقویت عملکرد سیستم ایمنی بدن، کاهش کلسترول را فراهم کنند. هم‌چنین در تحریک سیستم ایمنی بدن و افزایش مقاومت در برابر عفونت نقش دارند (۵) و می‌توانند سبب بهبود در وضعیت آنتی‌اکسیدانی شوند (۶). پروبیوتیک‌ها با بهبود تعادل میکروبی روده و سد مخاطی روده در برابر عوامل مضر، بر میزبان تأثیر منفی می‌گذارند (۷، ۸). پروتوکسین یک پروبیوتیک تجاری حاوی ۲ سویه مخمر (*Lactobacillus plantarum* and *L.* delbrueckii spp) و ۷ گونه باکریایی (*Lactobacillus acidophilus, L. rhamnosus, Enterococcus faecium, Streptococcus salivarius* subsp., *Bifidobacterium bifidum, Candida pintolopesii, Aspergillus oryza*) است (۳) که باعث افزایش عملکرد مرغان تخم‌گذاری و کیفیت پوسته تخم‌مرغ (۹) و بهبود ایمنی مخاطی در بوقلمون شده است. مشخص شد که پروتوکسین باعث کاهش میزان مرگ‌ومیر در بلدرچین (۱۰) و جوجه‌های گوشتی شده است که ممکن است ناشی از نقش این پروبیوتیک در سرکوب میکرواورگانیزم‌های نامطلوب، درنتیجه مقاومت در برابر تجمع آن‌ها و بهبود عملکرد باشد (۱۱). گزارش‌ها نشان می‌دهد که حفظ سلامت و یکپارچگی دستگاه گوارش برای حصول بازده مطلوب حیوان بسیار ضروری است. زمانی که مجرای روده آسیب ندیده و تعامل جمعیت میکروبی نیز برقرار باشد، جذب مواد مغذی از طریق کاهش اتصال باکتری‌های بیماری‌زا به دیواره روده و جلوگیری از تکثیر آن‌ها با بازده بیش‌تری صورت می‌گیرد (۱۲). تغییرات در مورفولوژی روده می‌تواند به‌عنوان شاخصی بر عملکرد روده و تعیین ارزش غذایی جیره‌های طیور مورد استفاده قرار گیرد (۱۳). این مطالعه باهدف اثر پروبیوتیک پروتوکسین و فرم فیزیکی خوراک بر فاکتورهای سیستم ایمنی و خصوصیات مورفولوژیک روده جوجه‌های بلدرچین ژاپنی انجام شد.

مواد و روش‌ها

پرورش و نگه‌داری پرنده‌ها: جهت آماده‌سازی سالن پرورش مراحل نه‌گانه آماده‌سازی سالن به‌منظور رعایت مسائل بیوسکوریتی و زیست‌محیطی و تأمین شرایط مطلوب برای پرورش جوجه‌ها انجام شد. سالن مذکور به‌وسیله پن‌های آماده (از پروفیل آهن و توری فلزی) به ابعاد طول و عرض یک متر و ۰/۹۳ متر ارتفاع به ۲۴ پن مجزا در ۳ قسمت تقسیم شد. کف قطعه‌ها با پوشال مناسب و کاغذ مخصوص مرغداری پوشانده شد. هر واحد آزمایشی با شماره‌ای که نشان‌دهنده تیمار و تکرار بود مشخص گردید. به‌منظور انجام این آزمایش تعداد ۱۵۰۰ قطعه جوجه یک‌روزه بلدرچین از موسسه جوجه‌کشی تجاری خریداری شد. جهت عادت‌پذیری جوجه‌ها با شرایط آزمایش از سن ۱۹ روزگی تعداد ۲۴۰ قطعه جوجه با میانگین وزنی گله در یک طرح فاکتوریل با دو فاکتور در ۶ تیمار و ۴ تکرار و ۱۰ جوجه در هر تکرار در داخل قفس‌ها قرار گرفت. در سن ۲۱ روزگی، جوجه‌ها توزین شده و به تیمارهای آزمایشی اختصاص یافتند. در طول دوره آزمایش آب و خوراک به‌صورت آزاد در دسترس جوجه‌ها قرار گرفت.

طراحی و جیره‌های آزمایشی: پروبیوتیک پروتکسین به‌صورت پودری از شرکت جوانه خراسان تهیه شد. طبق گزارش شرکت تولید کننده این محصول (petAg) آنالیز تقریبی محصول در جدول ۱ بیان شده است. جیره‌های آزمایشی براساس احتیاجات غذایی جوجه بلدرچین انجمن تحقیقات ملی (National Research Council (NRC)) و با استفاده از نرم افزار UFFDA تنظیم شدند. در تمام تیمارها، جیره‌ها براساس انرژی، پروتئین و مواد مغذی یکسانی برای کل دوره پرورش تنظیم شدند. درصد اجزای تشکیل‌دهنده و ترکیبات شیمیایی جیره‌های مورد آزمایش در جدول ۲ ارائه شده است. تیمارهای آزمایشی به این شرح می‌باشند: ۱- خوراک آردی (مش) حاوی آب خالص (فاقد پروبیوتیک پروتکسین). ۲- خوراک آردی (مش) حاوی ۱ درصد پروبیوتیک پروتکسین محلول در آب آشامیدنی. ۳- خوراک آردی (مش) حاوی ۲ درصد پروبیوتیک پروتکسین محلول در آب آشامیدنی. ۴- خوراک کرامبل حاوی آب خالص (فاقد پروبیوتیک پروتکسین). تیمار ۵- خوراک کرامبل حاوی ۱ درصد پروبیوتیک پروتکسین محلول در آب آشامیدنی. ۶- خوراک کرامبل حاوی ۲ درصد پروبیوتیک پروتکسین محلول در آب آشامیدنی.

جدول ۱: آنالیز تقریبی پروبیوتیک پروتکسین

پروتئین خام	چربی خام	حداکثر فیبر میسیلیوم	حداکثر خاکستر
۱۲ درصد	۱۲ درصد	۴۵ درصد	۱/۱ درصد

جدول ۲: اجزای تشکیل‌دهنده و آنالیز شیمیایی جیره جوجه‌های بلدرچین

اجزای تشکیل‌دهنده جیره		ترکیب شیمیایی	
اقلام خوراکی	مقدار (درصد)	مواد مغذی	مقدار
ذرت	۵۸/۳	انرژی قابل سوخت‌وساز (کیلوکالری در کیلوگرم)	۲۹۰۰
کنجاله سویا	۳۱/۳	پروتئین خام (درصد)	۲۴
پودر ماهی	۵	فیبر خام (درصد)	۳/۵۸
کنجاله گلوتن ذرت	۳/۲	لیزین	۱/۳
دی کلسیم فسفات	۰/۲۶	متیونین	۰/۵
کربنات کلسیم	۱/۱۳	متیونین + سیستئین	۰/۷۵
مکمل معدنی[۱]	۰/۲۵	تعادل الکترولیت	۲۴۰
مکمل ویتامینی[۱]	۰/۲۵	کلسیم (درصد)	۰/۸
D_3ویتامین	۰/۰۵	فسفر (درصد)	۰/۳
E-Seویتامین	۰/۰۵	سدیم (درصد)	۰/۱۵
نمک	۰/۱۲	پتاسیم (درصد)	۰/۴
بیکربنات سدیم	۰/۰۹	کلر (درصد)	۰/۱۴

[۱] این مقادیر به‌ازای هر کیلوگرم جیره حاوی: ویتامین A، ۱۱۰۰۰ واحد بین‌المللی؛ کوله کلسیفرول، ۲۳۰۰ واحد بین‌المللی؛ ویتامین E، ۱۲۱ واحد بین‌المللی؛ ویتامین K_3، ۲ میلی‌گرم؛ ویتامین B_{12}، ۰/۰۲ میلی‌گرم؛ تیامین، ۴ میلی‌گرم؛ ریبوفلاوین؛ ۴ میلی‌گرم؛ اسیدفولیک، ۱ میلی‌گرم؛ بیوتین، ۰/۰۳ میلی‌گرم؛ پیریدوکسین، ۴ میلی‌گرم؛ کولین کلراید، ۸۴۰ میلی‌گرم؛ اتوکسی کوئین، ۰/۱۲۵میلی‌گرم؛ سولفات منگنز، ۱۰۰ میلی‌گرم؛ سلنیوم (سلفات سدیم)،۰/۲ میلی‌گرم؛ ید، ۱ میلی‌گرم؛ سولفات مس، ۱۰۰ میلی‌گرم؛ آهن، ۵۰ میلی‌گرم بود.

کشتار و نمونه‌گیری: در پایان ۴۲ روزگی از هر واحد آزمایشی به‌صورت تصادفی یک قطعه جوجه از قطعه مشخص انتخاب شد و نمونه‌گیری صورت گرفت. پس از آن بلافاصله لاشه کالبدگشایی شده، بورس فابرسیوس، طحال و کبد با کیسه صفرا جدا و با ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۰۲± گرم وزن‌کشی شدند. وزن و طول اجزای مختلف روده (دئودنوم، ژژنوم، ایلئوم و سکوم) با ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۰۲± گرم و خط‌کش تحریر اندازه‌گیری شد. برای به‌دست آوردن مقادیر نسبی وزن و طول، بورس فابرسیوس، طحال و کبد با کیسه صفرا، دئودنوم، ژژنوم، ایلئوم و سکوم، وزن‌ها و طول‌های اندازه‌گیری شده بر وزن بدن تقسیم شده و در عدد ۱۰۰ ضرب شدند.

ریخت‌شناسی روده: پس از تفکیک قسمت‌های مختلف روده باریک و ثبت طول و وزن آن‌ها، ۱ سانتی‌متر از قسمت میانی ژژنوم برای مطالعه ریخت‌شناسی از روده برش داده شد. قسمت برش داده شده با محلول سالین ۰/۹ درصد برای حذف بقایای مواد غذایی شسته و در فرمالین ۱۰ درصد برای مطالعه بافت تثبیت شد. برای آماده‌سازی نمونه بافت‌ها برای رنگ‌آمیزی و با دهیدراسیون، از یک سری محلول‌های الکلی عبور داده و با زایلان پاک‌سازی شدند و در نهایت در پارافین قرار گرفتند. نمونه‌های بافت روده با ضخامت ۵ مایکرومتر با استفاده از میکروتوم خودکار (RM Lica 2145) بر روی اسلاید شیشه‌ای قرار گرفتند و با هماتوکسیلین-ائوزین رنگ‌آمیزی شدند. برای بررسی و محاسبه متغیرهای مورفولوژیک نمونه‌های روی لام‌های از میکروسکوپ نوری المپیوس BX41 استفاده گردید. اندازه‌گیری‌های ریخت‌شناسی مخاط روده باریک در هر پرز انتخاب شده از هر نمونه اندازه‌گیری شد. شاخص‌های ریخت‌شناسی شامل طول پرز(از رأس پرز تا قاعده آن)، عرض پرز (در محل قاعده پرز) و عمق کریپت (از قاعده پرز تا انتهای غدد) اندازه‌گیری شد (۱۴)

تجزیه‌و تحلیل آماری داده‌ها: داده‌های حاصل از این پژوهش با آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی آنالیز شد. تمام پارامترهای مورد اندازه‌گیری با استفاده از General linear (GLM) model و نرم‌افزار آماری SAS نسخه ۹/۱ مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. لازم به ذکر است داده‌های مربوط به سیستم ایمنی به‌دلیل این‌که به‌صورت درصدی از کل گلبول‌های سفید خون بودند، ابتدا با استفاده از دستور Arc sin نرمال شده و سپس مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند.

نتایج

فاکتورهای ایمنی خون: تأثیر جیره‌های آزمایشی بر فاکتورهای ایمنی خون جوجه‌های بلدرچین در جدول ۳ گزارش شده است. تیمارهای آزمایشی دارای تأثیر معنی‌داری بر درصد لنفوسیت‌های خون بودند (P<۰/۰۵). مشاهده می‌شود که پرنده‌های تغذیه شده با خوراک کرامبل درصد لنفوسیت‌های بالاتری نسبت به گروه تغذیه شده با خوراک مش داشتند. بالاترین و کم‌ترین درصد لنفوسیت‌ها به ترتیب مربوط به جوجه‌های دریافت کننده جیره ۴ و جیره ۱ بود. تعداد هتروفیل‌ها و بازوفیل‌ها به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر نوع خوراک و سطوح متفاوت پروبیوتیک پروتکسین قرار نگرفت (P>۰/۰۵). نوع خوراک (آردی و کرامبل) تأثیر معنی‌داری بر تعداد (درصد) مونوسیت‌ها داشت (P<۰/۰۵). تعداد مونوسیت‌ها در جیره آردی در مقایسه با کرامبل بیش‌تر بود.

جدول ۳: تأثیر جیره‌های آزمایشی بر فاکتورهای سیستم ایمنی خون بلدرچین‌ها

	جیره‌های آزمایشی†						SEM	سطح معنی‌داری‡		
	خوراک مش			خوراک کرامبل						
	٪۰ پروبیوتیک	٪۱ پروبیوتیک	٪۲ پروبیوتیک	٪۰ پروبیوتیک	٪۱ پروبیوتیک	٪۲ پروبیوتیک		F	P	F×P
لنفوسیت	۵۷/۱۱^{b}	۶۳/۹۶^{ab}	۶۴/۵۱^{ab}	۶۵/۳۷^{a}	۶۴/۶۱^{ab}	۶۴/۰۸^{ab}	۲/۴۴۸	۰/۰۷۴	۰/۰۳۹	۰/۱۸۲
هتروفیل	۴۰/۳۹	۳۵/۰۳	۳۴/۲۳	۳۴/۳۷	۳۴/۶۴	۳۵/۴۱	۲/۲۳۱	۰/۳۵۱	۰/۴۳۴	۰/۲۶۳
مونوسیت	۱/۵۰^{a}	۱/۰۰^{ab}	۰/۷۵^{ab}	۰/۰۰^{b}	۰/۰۰^{b}	۰/۰۰^{b}	۰/۳۶۷	۰/۰۰۲	۰/۵۹۲	۰/۵۹۲
بازوفیل	۱/۰۰	۰/۰۰	۰/۵۰	۰/۲۵	۰/۷۵	۰/۵۰	۰/۳۹۹	۰/۹۹۹	۰/۸۲۴	۰/۲۰۱

† جیره‌های آزمایشی شامل: ۱(خوراک آردی (مش) حاوی آب خالص (فاقد پروبیوتیک پروتکسین)، ۲) خوراک آردی (مش) حاوی ۱ درصد پروبیوتیک پروتکسین محلول در آب آشامیدنی، ۳) خوراک آردی (مش) حاوی ۲ درصد پروبیوتیک پروتکسین محلول در آب آشامیدنی، ۴) خوراک کرامبل حاوی آب خالص (فاقد پروبیوتیک پروتکسین)، ۵) خوراک کرامبل حاوی ۱ درصد پروبیوتیک پروتکسین محلول در آب آشامیدنی، ۶) خوراک کرامبل حاوی ۲ درصد پروبیوتیک پروتکسین محلول در آب آشامیدنی. ‡ F: اثر نوع خوراک، P: اثر پروبیوتیک و F×P: اثر متقابل نوع خوراک و پروبیوتیک. * حروف غیرمشابه در هر ردیف بیانگر اختلاف معنی‌داری در سطح P<۰/۰۵ می‌باشند.

ویژگی‌های دستگاه گوارش: جدول ۴ وزن نسبی اجزای مختلف دستگاه گوارش جوجه‌های بلدرچین تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی را نشان می‌دهد. نتایج نشان داد که وزن نسبی کبد، طحال، بورس، دئودنوم، ژژنوم و ایلئوم به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر نوع خوراک و سطوح متفاوت افزودنی پروبیوتیک پروتکسین قرار گرفت (P<۰/۰۵). به‌طور میانگین، خوراک کرامبل نسبت به خوراک مش و هم‌چنین افزودن پروبیوتیک منجر به وزن نسبی کبد بالاتری شد. بالاترین وزن نسبی طحال مربوط به جیره ۳ بود، سایر تیمارها وزن نسبی طحال یکسانی داشتند. وزن نسبی دئودنوم در تیمار ۵ نسبت به سایر تیمارها دارای بالاترین مقدار بود (۱/۲۷ گرم)، در حالی‌که کم‌ترین مقدار وزن نسبی دئودنوم مربوط به تیمار ۲ بود. بالاترین و کم‌ترین وزن نسبی ژژنوم به‌ترتیب در تیمارهای ۶ و ۳ مشاهده شد (به‌ترتیب ۰/۸۲ گرم در مقابل ۰/۶۸ گرم). اما به لحاظ عددی جوجه‌های تغذیه شده با خوراک کرامبل میانگین وزن نسبی ایلئوم بالاتری نسبت به گروه مقابل داشتند. نتایج حاصل از طول نسبی اجزای مختلف روده جوجه‌های بلدرچین در جدول ۶ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که تیمارهای آزمایشی تأثیر معنی‌داری بر طول نسبی دئودنوم و سکوم در جوجه‌های بلدرچین دارد (P<۰/۰۵) اما تأثیر معنی‌داری بر طول ژژنوم و ایلئوم نداشت (P>۰/۰۵). بالاترین طول نسبی دئودنوم و سکوم در تیمار ۵ مشاهده شد (۵/۱۸ سانتی‌متر).

جدول ۴: تأثیر جیره‌های آزمایشی بر وزن نسبی اجزای مختلف دستگاه گوارش بلدرچین‌ها

واحد (گرم)	جیره‌های آزمایشی†						SEM	سطح معنی‌داری‡		
	خوراک مش			خوراک کرامبل						
	٪۰ پروبیوتیک	٪۱ پروبیوتیک	٪۲ پروبیوتیک	٪۰ پروبیوتیک	٪۱ پروبیوتیک	٪۲ پروبیوتیک		F	P	F×P
کبد	۲/۴۹^{c}	۲/۳۵^{c}	۳/۰۲^{b}	۲/۴۹^{c}	۳/۴۵^{a}	۲/۶۹^{bc}	۰/۱۲۲	۰/۰۱۹	۰/۰۰۶	۰/۰۰۳
طحال	۰/۰۵^{b}	۰/۰۴^{b}	۰/۱۲^{a}	۰/۰۶^{b}	۰/۰۶^{b}	۰/۰۳^{b}	۰/۰۲۱	۰/۲۰۷	۰/۳۶۱	۰/۰۲۴
بورس	۰/۱۰^{a}	۰/۰۷^{bc}	۰/۱۱^{a}	۰/۰۶^{c}	۰/۰۹^{ab}	۰/۱۰^{a}	۰/۰۰۶	۰/۰۷۹	۰/۰۱۴	۰/۰۰۱
دئودنوم	۱/۱۰^{ab}	۰/۹۲^{b}	۱/۰۹^{ab}	۱/۰۷^{ab}	۱/۲۷^{a}	۱/۰۶^{ab}	۰/۰۶۱	۰/۰۷۷	۰/۹۰۳	۰/۰۰۹
ژژنوم	۰/۸۰^{ab}	۰/۷۳^{ab}	۰/۶۸^{b}	۰/۷۱^{ab}	۰/۷۹^{ab}	۰/۸۲^{a}	۰/۰۳۶	۰/۲۳۳	۰/۹۷۴	۰/۰۳۵
ایلئوم	۰/۸۰^{b}	۰/۷۴^{bc}	۰/۷۷^{b}	۰/۶۵^{c}	۰/۹۲^{a}	۰/۷۳^{bc}	۰/۰۳۴	۰/۷۵۱	۰/۰۱۶	۰/۰۰۵
سکوم	۰/۶۳^{ab}	۰/۶۹^{a}	۰/۵۲^{dc}	۰/۴۶^{d}	۰/۵۳^{dc}	۰/۵۶^{bc}	۰/۰۳۹	۰/۰۰۵	۰/۰۵۷	۰/۰۰۳

جیره‌های آزمایشی شامل: ۱) خوراک آردی (مش) حاوی آب خالص (فاقد پروبیوتیک پروتکسین)، ۲) خوراک آردی (مش) حاوی ۱ درصد پروبیوتیک پروتکسین محلول در آب آشامیدنی، ۳) خوراک آردی (مش) حاوی ۲ درصد پروبیوتیک پروتکسین محلول در آب آشامیدنی، ۴) خوراک کرامبل حاوی آب خالص (فاقد پروبیوتیک پروتکسین)، ۵) خوراک کرامبل حاوی ۱ درصد پروبیوتیک پروتکسین محلول در آب آشامیدنی، ۶) خوراک کرامبل حاوی ۲ درصد پروبیوتیک پروتکسین محلول در آب آشامیدنی. ‡ F: اثر نوع خوراک، P: اثر پروبیوتیک و F×P: اثر متقابل نوع خوراک و پروبیوتیک. * حروف غیرمشابه در هر ردیف بیانگر اختلاف معنی‌داری در سطح P<۰/۰۵ می‌باشند.* حروف غیرمشابه در هر ردیف بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح P<۰/۰۵ می‌باشند.

جدول ۵: تأثیر جیره‌های آزمایشی بر طول نسبی اجزای مختلف روده بلدرچین‌ها

مورد (سانتی‌متر)	جیره‌های آزمایشی†						SEM	سطح معنی‌داری‡		
	خوراک مش			خوراک کرامبل						
	٪۰ پروبیوتیک	٪۱ پروبیوتیک	٪۲ پروبیوتیک	٪۰ پروبیوتیک	٪۱ پروبیوتیک	٪۲ پروبیوتیک		F	P	F×P
دئودنوم	۴/۵۳^{ab}	۴/۳۱^{ab}	۴/۶۱^{ab}	۴/۰۹^{b}	۵/۱۸^{a}	۴/۳۳^{ab}	۰/۲۳۷	۰/۶۷۵	۰/۲۸۵	۰/۰۳۳
ژژنوم	۸/۳۸	۸/۱۰	۹/۴۱	۸/۷۷	۹/۲۱	۹/۲۸	۰/۵۷۴	۰/۳۴۴	۰/۳۶۱	۰/۵۶۸
ایلئوم	۷/۸۱	۹/۶۱	۸/۷۶	۸/۲۶	۹/۰۷	۸/۹۱	۰/۶۱۵	۰/۹۷۶	۰/۱۳۱	۰/۷۱۶
سکوم	۳/۰۲^{a}	۲/۴۹^{ab}	۲/۴۹^{ab}	۲/۱۶^{b}	۳/۱۱^{a}	۲/۸۶^{a}	۰/۲۱۷	۰/۷۹۹	۰/۶۲۸	۰/۰۰۷

جیره‌های آزمایشی شامل: ۱) خوراک آردی (مش) حاوی آب خالص (فاقد پروبیوتیک پروتکسین)، ۲) خوراک آردی (مش) حاوی ۱ درصد پروبیوتیک پروتکسین محلول در آب آشامیدنی، ۳) خوراک آردی (مش) حاوی ۲ درصد پروبیوتیک پروتکسین محلول در آب آشامیدنی، ۴) خوراک کرامبل حاوی آب خالص (فاقد پروبیوتیک پروتکسین)، ۵) خوراک کرامبل حاوی ۱ درصد پروبیوتیک پروتکسین محلول در آب آشامیدنی، ۶) خوراک کرامبل حاوی ۲ درصد پروبیوتیک پروتکسین محلول در آب آشامیدنی. ‡ F: اثر نوع خوراک، P: اثر پروبیوتیک و F×P: اثر متقابل نوع خوراک و پروبیوتیک. * حروف غیرمشابه در هر ردیف بیانگر اختلاف معنی‌داری در سطح P<۰/۰۵ می¬باشند.* حروف غیرمشابه در هر ردیف بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح P<۰/۰۵ می‌باشند.

ریخت‌شناسی روده باریک: نتایج حاصل از ریخت‌شناسی روده جوجه‌های بلدرچین درجدول ۶ گزارش شده است. نتایج نشان داد که طول، عرض و عمق پرزهای روده پرنده‌های مورد آزمایش به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر نوع خوراک و سطوح متفاوت پروبیوتیک پروتکسین قرار گرفت (P<۰/۰۵). بالاترین مقادیر طول پرز روده‌ی باریک در تیمار ۶ حاصل شد. از طرف دیگر کم‌ترین مقدار طول پرز نیز مربوط به تیمار ۵ بود. عرض پرز تحت تأثیر اثر متقابل نوع خوراک و پروبیوتیک پروتکسین قرار گرفته است (P<۰/۰۵). به‌طوری‌که عرض پرز در جیره کرامبل همراه با پروبیوتیک (۱ و ۲ درصد) به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از جیره آردی همراه با پروبیوتیک (۱ و ۲ درصد) و نیز جیره کرامبل بدون پروبیوتیک بود. با افزودن ۲٪ پروبیوتیک پروتکسین به آب آشامیدنی بالاترین مقدار عمق کریپت در هر دو گروه خوراک مش و کرامبل مشاهده شد، در حالی‌که بین سایر جیره‌ها (جیره‌های فاقد پروبیوتیک و دارای ۱٪ پروبیوتیک پروتکسین) اختلاف معنی‌داری در مورد عمق کریپت مشاهده نشد.

جدول ۶: تأثیر جیره‌های آزمایشی بر ریخت‌شناسی روده کوچک (ژژنوم) بلدرچین‌ها

مورد (مایکرومتر)	جیره‌های آزمایشی†						SEM	سطح معنی‌داری‡		
	خوراک مش			خوراک کرامبل						
	٪۰ پروبیوتیک	٪۱ پروبیوتیک	٪۲ پروبیوتیک	٪۰ پروبیوتیک	٪۱ پروبیوتیک	٪۲ پروبیوتیک		F	P	F×P
طول پرز	۴۳۷/۷۵^{ab}	۴۰۷/۲۵^{b}	۵۸۱/۷۵^{a}	۴۶۳/۵۰^{ab}	۴۸۵/۰۰^{ab}	۵۵۴/۰۰^{a}	۴۵/۰۹۵	۰/۷۱۹	۰/۰۱۷	۰/۴۵۶
عرض پرز	۷۰/۲۵^{bc}	۶۷/۲۵^{c}	۶۲/۷۵^{c}	۱۰۶/۷۵^{a}	۸۴/۵۰^{b}	۷۱/۲۵^{bc}	۵/۵۲۱	<۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۶	۰/۰۳۶
عمق کریپت	۵۲/۲۵^{b}	۵۳/۰۰^{b}	۶۳/۵۰^{a}	۵۳/۷۵^{b}	۵۲/۷۵^{b}	۵۹/۰۰^{a}	۱/۸۴۱	۰/۴۷۱	<۰/۰۰۰۱	۰/۲۴۷

جیره‌های آزمایشی شامل: ۱) خوراک آردی (مش) حاوی آب خالص (فاقد پروبیوتیک پروتکسین)، ۲) خوراک آردی (مش) حاوی ۱ درصد پروبیوتیک پروتکسین محلول در آب آشامیدنی، ۳) خوراک آردی (مش) حاوی ۲ درصد پروبیوتیک پروتکسین محلول در آب آشامیدنی، ۴) خوراک کرامبل حاوی آب خالص (فاقد پروبیوتیک پروتکسین)، ۵) خوراک کرامبل حاوی ۱ درصد پروبیوتیک پروتکسین محلول در آب آشامیدنی، ۶) خوراک کرامبل حاوی ۲ درصد پروبیوتیک پروتکسین محلول در آب آشامیدنی. ‡ F: اثر نوع خوراک، P: اثر پروبیوتیک و F×P: اثر متقابل نوع خوراک و پروبیوتیک. * حروف غیرمشابه در هر ردیف بیانگر اختلاف معنی‌داری در سطح P<۰/۰۵ می¬باشند.*حروف غیرمشابه در هر ردیف بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح P<۰/۰۵ می‌باشند.

بحث

تحریک ایمنی به‌عنوان یکی از کنش‌های مهم پروبیوتیک‌ها مطرح شده است. پروبیوتیک‌ها می‌توانند سیستم ایمنی میزبان را از دو طریق تحریک کنند اول این‌که فلور میکروبی از طریق اتصال به دیواره دستگاه گوارش و تکثیر خود باعث محدود شدن فضا برای پاتوژن‌ها می‌شوند و دوم این‌که آنتی‌ژن‌های آزاد شده توسط میکروارگانیسم‌های مرده جذب شده و باعث تحریک سیستم ایمنی می‌شود (۱۵). تأثیر و میزان سودمندی پروبیوتیک‌ها در تحریک سیستم ایمنی بدن، و تقویت پاسخ آنتی‌بادی به نوع پادتن و نحوه ایجاد ایمنی، تعداد باکتری‌های موجود در پروبیوتیک‌ها و دوز مؤثر پروبیوتیک مورد استفاده و زمینه ژنتیکی میزبان بستگی دارد (۱۶). برای رسیدن به یک‌عملکرد مطلوب علاوه براستفاده از تعداد مناسب و پیشنهاد شده سویه‌های روده‌ای، لازم است این میکروارگانیسم‌های زنده توانایی بقا و تکثیر در محیط روده را نیز داشته باشند، تنها در این صورت است که تحریک سیستم ایمنی بدن ناشی از به‌کارگیری این سویه‌ها، مستمر و طولانی خواهدبود(۱۷). محققین گزارش کردند که مکانیسم مهار پاتوژن‌ها توسط میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک

شامل رقابت برای مواد مغذی، ایجاد شرایط و ترکیبات ضد میکروبی (اسیدهای چرب فرار، pH پایین و باکتریوسین)، رقابت برای محل‌های باند شدن روی اپی‌تلیوم روده و تحریک سیستم ایمنی است (۱۷، ۱۸). مشخص شد فعالیت فاگوسیتی لوکوسیت‌ها با استفاده از پروبیوتیک *Lactobacillus fermentum AD1* در بلدرچین‌های ژاپنی مورد آزمایش در مقایسه با کنترل به‌طور معنی‌داری افزایش داشت (۱۹). در جوجه‌های تغذیه شده با جیره کرامبل نسبت هتروفیل‌ها به لنفوسیت‌ها در مقایسه با جوجه‌های تغذیه شده با جیره‌های آردی، پلت و اکسترود معنی‌دار نبود (۲۰) که با نتایج مطالعه ما در رابطه با هتروفیل‌ها، لنفوسیت‌ها و بازوفیل‌ها که تحت تأثیر نوع خوراک اختلاف معنی‌داری را نشان ندادند مشابه است، اما با نتایج به‌دست آمده در مونوسیت‌ها مغایرت دارد. افزایش ارتفاع ویلی‌ها، به معنای افزایش سطح رویه‌ای می‌باشد که توان جذب مواد مغذی در دسترس را دارد. خوراندن افزودنی‌های پروبیوتیکی برای رشد، سطح رویه ویلی‌ها را افزایش می‌دهد که نتیجه آن جذب بیش‌تر مواد مغذی می‌باشد. هنگامی‌که اندازه ذره و شکل فیزیکی جیره (آردی در مقابل پلت) را روی تعداد ویلی‌ها، ارتفاع ویلی و عمق کریپت در دئودنوم جوجه‌های گوشتی مورد بررسی قرار گرفت، مشخص شد، پرندگانی که جیره پلت دریافت کردند تعداد ویلی و عمق کریپت بیش‌تری در مقایسه با پرندگان تغذیه شده با جیره آردی داشتند. هم‌چنین افزایش در اندازه ذرات جیره صرف‌نظر از شکل فیزیکی خوراک منجر به کریپت‌های با عمق بیش‌تر و تعداد بیش‌تر ویلی می‌شود (۲۱). اگرچه در نتایج اخیر عمق کریپت و ارتفاع پرز تحت تأثیر نوع خوراک نبود، اما عرض ویلی در خوراک کرامبل در مقایسه با آردی بیش‌تر بود که این اثر افزایشی در عرض ویلی با افزودن پروبیوتیک نیز تحت تأثیر قرار گرفت. استفاده از ۰/۱ درصد پروبیوتیک پروتکسین، ارتفاع ویلی (دئودنوم، ژژنوم و ایلئوم) را در جوجه‌های گوشتی در سن ۲۱ و ۴۲ روزگی به‌طور معنی‌داری در مقایسه با کنترل افزایش داد (۲۲). گزارش شده است که جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با پروبیوتیک *Bacillus subtilis* در سطوح صفر، ۰/۲، ۰/۵ و ۱ درصد، ارتفاع ویلی در دئودنوم در سطح ۰/۲ درصد و در ایلئوم در سطح ۱ درصد به‌طور معنی‌داری در ۲۸ روزگی در مقایسه با کنترل افزایش یافت (۲۳). هم‌چنین Santin، نشان داد که جوجه‌های تغذیه شده با ساکارومایسز سرویسیا در سطح ۰/۱ و ۰/۲ درصد ارتفاع ویلی بیش‌تری در ژژنوم و ایلئوم در مقایسه با کنترل در ۷ روزگی داشتند (۲۴)، نتایج حاصل از این مطالعه با نتایج با ما در سطح ۲ درصد پروبیوتیک مشابه است. این نتایج احتمالاً به‌دلیل افزایش در تشکیل اسیدهای چرب کوتاه زنجیر تحریک شده با پروبیوتیک است. Smirnov و همکاران، گزارش کردند استفاده از پروبیوتیک بایومین لیمبو در سطح ۰/۰۵ و ۰/۰۲۵ درصد در جوجه‌های گوشتی به‌طور معنی‌داری (عرض و طول پرز را در مقایسه با کنترل افزایش داد و سطح ۰/۰۲۵ درصد بیش‌ترین عمق را در مقایسه با سایر تیمارها داشت ($P<0/01$). عرض سلول‌های کریپت به‌طور معنی‌داری در سطح ۰/۱، ۰/۰۵ و ۰/۰۲۵ درصد پروبیوتیک در مقایسه با کنترل افزایش داشت ($P<0/01$) (۲۵) که با نتایج ما در مورد عرض و طول پرز مشابه است، هرچند در نتایج ما بالاترین سطح استفاده از پروبیوتیک (۲ درصد) بیش‌ترین عمق کریپت را نشان داد. اجزای دیواره سلولی باکتری‌ها و پروبیوتیک‌ها نقش مهمی در برهم‌کنش باکتری‌های عالی‌تر دارد. این اجزا شامل پپتیدوگلایکان‌ها و لیپوپلی‌ساکاریدهای باکتری‌ها می‌باشند. هر دو نوع مولکول فعال‌کننده قوی سیستم ایمنی هستند. پپتیدوگلایکان‌ها در هر دو باکتری‌های گرم مثبت و منفی و لیپوپلی‌ساکاریدها فقط در باکتری‌های گرم منفی وجود دارند. این مولکول‌ها به‌طور مداوم در حین تکثیر و مرگ سلولی رها می‌شوند (۲۶). هم‌چنین گزارش شده است که میزان پادتن، وزن بورس و طحال ناشی از مصرف پروبیوتیک را در مقایسه با شاهد افزایش یافته است (۱۴). برخی از باکتری‌های موجود در پروبیوتیک‌ها، خصوصاً لاکتوباسیل‌ها، که قادر هستند سیستم ایمنی بدن را تحریک کنند (۲۷)، به‌صورت سلول‌های زنده در طول دیواره روده تکثیر شده و در محدوده وسیعی توسعه پیدا می‌کنند. استفاده از لاکتوباسیلوس اثر معنی‌داری بر وزن اندام‌های گوارشی (کبد، طحال، بورس، سنگدان) داشته است (۲۸) که نتایج مطالعه حاضر آن را تائید می‌کند. طول و ویژگی‌های مورفولوژیک روده می‌تواند میزان جذب مواد مغذی را تحت تأثیر قرار دهد (۲۹، ۳۰) و به‌عنوان یک سد در برابر عوامل پاتوژن و عوامل شیمیایی عمل نماید. بررسی‌های به‌عمل آمده وجود اثر متقابل میان باکتری‌های موجود در فرآورده‌های پروبیوتیکی و سلول‌های پوششی روده را نشان می‌دهند (۲۵)، به‌طوری که استفاده از پروبیوتیک به تقویت استحکام پوششی به‌عنوان یک سد بیولوژیک نیز کمک می‌نماید. براساس نتایج پژوهش‌های محققین طول روده می‌تواند تحت تأثیر فاکتورهای تغذیه‌ای تغییر نماید. با افزودن پروبیوتیک (باسیلوس سوبتیلیس به‌همراه ساکرومیسیس سرویسیه) عمق کریپت، طول و مساحت پرز روده تحت تأثیر مصرف پروبیوتیک در طول دوره آزمایش قرار نگرفت (۳۱) براساس گزارش‌های موجود تأثیرگذاری پروبیوتیک روی سلول‌های اپیتلیال و مورفولوژی بخش‌های مختلف روده بسته به زمان مصرف و نوع پروبیوتیک می‌تواند متفاوت باشد. طی مطالعه‌ای که روی تأثیرات پروبیوتیک و سیمبیوتیک صورت گرفت، مشخص شد وزن طحال و تیموس در جوجه‌های مصرف‌کننده پروبیوتیک نسبت به گروه مصرف‌کننده سیمبیوتیک در ۳۵ روزگی افزایش می‌یافت، ولی وزن بورس فابرسیوس تغییری نکرد. پروبیوتیک‌ها می‌توانند در سنین اولیه نیز روی رشد اندام‌های

سیستم ایمنی تأثیر داشته باشند، ولی میزان تأثیر آن‌ها براساس سویه باکتریایی و سن پرنده می‌تواند متفاوت باشد. در این بررسی در سن ۳ روزگی پروبیوتیک‌ها تأثیری روی رشد اندام‌های مربوط به سیستم ایمنی نداشتند (۳۲). با توجه به یافته‌ها، میزان لنفوسیت‌ها و مونوسیت‌ها تحت تأثیر سطوح متفاوت پروبیوتیک پروتکسین و نیز نوع خوراک قرار گرفت. به‌نظر می‌رسد که استفاده از افزودنی پروبیوتیک پروتکسین باعث بهبود وضعیت ایمنی جوجه‌ها می‌شود. استفاده از سطوح مختلف پروبیوتیک باعث کاهش خطی طول و عرض پرز روده کوچک جوجه‌های بلدرچین گردید، اما منجر به افزایش خطی عمق کریپت شد. از طرف دیگر نوع خوراک تنها بر عرض پرز روده کوچک تأثیر داشت. مصرف خوراک کرامبل باعث افزایش طول پرز و عرض پرز گردید. این نتایج نشان می‌دهد که مصرف خوراک کرامبل سبب مطلوب شدن هضم و جذب بهتر مواد مغذی می‌شود پروبیوتیک پروتکسین مورد استفاده در این آزمایش بر وزن نسبی اندام‌های کبد، طحال و بورس فابرسیوس تأثیر داشته است، بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که پروبیوتیک‌ها در تحریک سیستم ایمنی سلولی و اندام‌های پشتیبان آن فعال‌تر بوده‌اند. با توجه به اهمیت و حساسیت پرورش بلدرچین، نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که استفاده از پروبیوتیک پروتکسین می‌تواند برخی از خصوصیات بخش‌های روده کوچک و رشد اندام‌های سیستم ایمنی را تحت تأثیر قرار دهد.

تشکر و قدردانی

این پروژه به‌عنوان پایان‌نامه کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد اسلامی (واحد کاشمر) انجام شد. از تمام عزیزانی که به‌نحوی در این طرح یاری نمودند، سپاسگزاری می‌گردد.

منابع

1. **Eckert, N., Lee, J., Hyatt, D., Stevens, S., Anderson, S., Anderson, P. and Caldwell, D., 2010.** Influence of probiotic administration by feed or water on growth parameters of broilers reared on medicated and nonmedicated diets. Journal of Applied Poultry Research. 19(1): 59-67.
2. **Hasanzadeh, M., Tolouei, T., Nikbakht, G., Alkaragoly, H., Rezaei Far, A. and Ghahri, H., 2017.** Efficacy of Echinacea purpurea and protexin on systemic and mucosal immune response to Newcastle diseases virus vaccination (VG/GA strain) in commercial turkey poults. Iranian Journal of Veterinary Medicine. 11(1): 85-95 .
3. **Alagawany, M., Abd El-Hack, M.E., Farag, M., Sl Karthik, K. and Dhama, K., 2018.** The use of probiotics as eco-friendly alternatives for antibiotics in poultry nutrition. Environmental Science and Pollution Research. 25(11): 10611-10618.
4. **Abd El-Hack, M., Mahgoub, S., Alagawany, M. and Ashour, E., 2017.** Improving productive performance and mitigating harmful emissions from laying hen excreta via feeding on graded levels of corn DDGS with or without Bacillus subtilis probiotic. Journal of animal physiology and animal nutrition. 101(5): 904-913.
5. **Kaur, S., 2015.** Bacteria isolated from fermented food products. International Journal of Probiotics & Prebiotics. 10(1): 17.
6. **Hasani sorkhani, E., Afsharmanesh, M., Salarmoini, M., Ebrahimnejad, H. and Khajeh Bami, M., 2021.** Evaluation of the effects of different levels of Pennyroyal essential oil and probiotic containing Bacillus coagulens on performance, carcass characteristics and meat quality of broiler chickens. Journal of Animal Environment. 13(1): 163-172. (In Persian)
7. **Abdel-Hafeez, H.M., Saleh, E.S., Tawfeek, S.S., Youssef, I. M. and Abdel-Daim, A.S., 2017.** Effects of probiotic, prebiotic, and synbiotic with and without feed restriction on performance, hematological indices and carcass characteristics of broiler chickens. Asian-Australasian journal of animal sciences. 30(5): 672.
8. **Momenizadeh, Z., Maghsoudlou, Sh., Bayat Koohsar, J. and Ghanbari, F., 2020.** Evaluation of probiotics and butyric acid glycerides through feed and drinking water on growth performance, carcass characteristics and gut microflora in broiler chickens. Journal of Animal Environment. 12(4): 231-244. (In Persian)
9. **Youssef, A.W., Hassan, H., Ali, H. and Mohamed, M., 2013.** Effect of probiotics, prebiotics and organic acids on layer performance and egg quality. Asian J Poult Sci. 7(2): 65-74
10. **Soomro, R.N., Abd El-Hack, M.E., Shah, S.S., Taha, A.E., Alagawany, M., Swelum, A.A. and El-Edel, M.A., 2019.** Impact of restricting feed and probiotic supplementation on growth performance, mortality and carcass traits of meat-type quails. Animal science journal. 90(10): 1388-1395.
11. **Anjum, M., Khan, A., Azim, A. and Afzal, M., 2005.** Effect of dietary supplementation of multi-strain probiotic on broiler growth performance. Pakistan Vet. J. 25(1): 25-29.
12. **Fernandes, B., Martins, M., Mendes, A., Milbradt, E., Sanfelice, C., Martins, B. and Bresne, C., 2014.** Intestinal integrity and performance of broiler chickens fed a probiotic, a prebiotic, or an organic acid. Brazilian Journal of Poultry Science. 16(4): 417-424 .
13. **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.
14. **Kabir, S.L., Rahman, M., Rahman, M., Rahman, M. and Ahmed, S., 2004.** The dynamics of probiotics on growth performance and immune response in broilers. International Journal of Poultry Science. 3(5): 361-364.
15. **Ahmad, I., 2006.** Effect of probiotics on broilers performance. International Journal of Poultry Science. 5(6): 593-597.
16. **Haghighi, H.R., Gong, J., Gyles, C.L., Hayes, M.A., Sanei, B., Parvizi, P. and Sharif, S., 2005.** Modulation of antibody-mediated immune response by probiotics in chickens. Clinical and Vaccine Immunology. 12(12): 1387-1392.
17. **Fuller, R., 1997.** Probiotics 2: applications and practical aspects (Vol. 2): Springer Science & Business Media.

18. **Rolfe, R.D., 2000.** The role of probiotic cultures in the control of gastrointestinal health. The Journal of nutrition. 130(2): 396S-402S.

19. **Strompfova, V., Marcinakova, M., Gancarcikova, S., Jonecova, Z., Scirankova, L., Guba, P. and Laukova, A., 2005.**. New probiotic strain Lactobacillus fermentum AD1 and its effect in Japanese quail. Vet Med Czech. 50(9): 415-420.

20. **Reshadi-Nejad, S., Tabeidian, S.A. and Toghyani, M., 2015.** The effect of diet type (mash, pellets, extruded and crumble) on some immune responses broiler chicken. Paper presented at the Biological Forum.

21. **Dahlke, F., Ribeiro, A.M.L., Kessler, A.D.M., Lima, A.R. and Maiorka, A., 2003.** Effects of corn particle size and physical form of the diet on the gastrointestinal structures of broiler chickens. Brazilian Journal of Poultry Science. 5(1): 61-67.

22. **Gunal, M., Yayli, G., Kaya, O., Karahan, N. and Sulak, O., 2006.** The effects of antibiotic growth promoter, probiotic or organic acid supplementation on performance, intestinal microflora and tissue of broilers. Int. J. Poult. Sci. 5(2):149-155.

23. **Samanya, M. and Yamauchi, K.E., 2002.** Histological alterations of intestinal villi in chickens fed dried *Bacillus subtilis* var. natto. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology. 133(1): 95-104.

24. **Santin, E., 2001.** Testinal mucosa development of broiler chickens fed diets containing *Saccharomyces cerevisiae* cell wall. Journal of Applied Poultry Research. 10(3): 236-244.

25. **Smirnov, A., Perez, R., Amit-Romach, E., Sklan, D. and Uni, Z., 2005.** Mucin dynamics and microbial populations in chicken small intestine are changed by dietary probiotic and antibiotic growth promoter supplementation. The Journal of Nutrition. 135(2): 187-192.

26. **Hogg, S., 2013.** Essential microbiology: John Wiley & Sons.

27. **Christensen, H.R., Frøkiær, H. and Pestka, J.J., 2002.** Lactobacilli differentially modulate expression of cytokines and maturation surface markers in murine dendritic cells. The Journal of Immunology. 168(1): 171-178.

28. **Taherpour, K. and Moravej, H., 2009.** Uric acid glycerides on performance and serum composition in broiler chickens. African Journal of Biotechnology. 8(10).

29. **Rahimi, S. and Grimes, J., 2015.** ultrastructure of small intestine in turkey poults. Poultry Science. 88(3): 491-503.

30. **Miles, R., Butcher, G., Henry, P. and Littell, R., 2006.** Effect of antibiotic growth promoters on broiler performance, intestinal growth parameters, and quantitative morphology. Poultry Science. 85(3): 476-485.

31. **Chen, K.L., Kho, W.L., You, S.H., Yeh, R.H., Tang, S.W. and Hsieh, C.W., 2009.** Effects of *Bacillus subtilis* var. natto and *Saccharomyces cerevisiae* mixed fermented feed on the enhanced growth performance of broilers. Poultry Science. 88(2): 309-315.

32. **Awad, W., Ghareeb, K., Abdel-Raheem, S. and Böhm, J., 2009.** Effects of dietary inclusion of probiotic and synbiotic on growth performance, organ weights, and intestinal histomorphology of broiler chickens. Poultry Science. 88(1): 49-56.