نشریه علوم دامی
(پژوهش و سازندگی)

شماره ۱۱۵، تابستان ۱۳۹۶
ص‌ص: ۳~۱۶

تأثیر جدایه انتروکوکوس فاسیوم مجرای گوارشی سبزقبا و لاکتوفید بر عملکرد، فراسنجه‌های خونی، ریخت شناسی ژژنوم بلدرچین ژاپنی

- **باقر حیدری صادق**
دانشجوی پرورش وتولید طیور، گروه علوم دامی، دانشگاه بیرجند
- **سید جوادحسینی واشان** (نویسنده مسئول)
عضو هیئت علمی گروه علوم دامی، دانشگاه بیرجند.
- **نظر افضلی**
عضو هیئت علمی گروه علوم دامی، دانشگاه بیرجند
- **محسن مجتهدی**
عضو هیئت علمی گروه علوم دامی، دانشگاه بیرجند

تاریخ دریافت : دی ۱۳۹۴ تاریخ پذیرش : آذر ۱۳۹۵

شماره تماس نویسنده مسئول: ۰۹۱۵۳۶۱۱۹۰۰
Email jhosseiniv@birjand.ac.ir

چکیده

هدف این آزمایش بررسی افزودن جدایه باکتری *انتروکوکوس فاسیوم* مجرای گوارش سبزقبا و پروبیوتیک تجاری لاکتوفید به سه روش اسپری، آشامیدنی و توأم اسپری و آشامیدنی بر عملکرد، خصوصیات لاشه، فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون، ریخت شناسی روده و جمعیت میکروبی بافت روده بلدرچین ژاپنی بود. برای این منظور تعداد ۲۸۰ جوجه یک روزه بطور تصادفی در ۳۵ واحد آزمایشی و ۷ تیمار و در قالب طرح کاملا تصادفی توزیع شد. تیمارهای آزمایشی شامل: ۱-شاهد ۲- اسپری محلول حاوی 10^{11} CFU باکتری *انتروکوکوس فاسیوم* دستگاه گوارش سبزقبا (SE) روی پرنده، ۳-آشامیدنی محلول حاوی 10^{11} CFU SE، ٤- آشامیدنی + اسپری محلول حاوی 10^{11} CFU SE، ٥- اسپری محلول حاوی 10^{11} CFU لاکتوفید روی پرنده، و ٦- آشامیدنی محلول حاوی 10^{11} CFU لاکتوفید، ۷- اسپری+ آشامیدنی محلول حاوی 10^{11} CFU پروبیوتیک لاکتوفید بود. تحلیل داده‌ها نشان داد که افزودن باکتری *انتروکوکوس فاسیوم* و پروبیوتیک لاکتوفید باعث کاهش ضریب تبدیل خوراک و بهبود افزایش وزن بدن و غلظت پروتئین خون بلدرچین شد. میزان مصرف خوراک و وزن نسبی اجزای لاشه، غلظت HDL و تری گلیسرید خون تفاوت معنی‌داری نشان نداد. غلظت کلسترول و LDL خون در روش توأمان افشانه و آشامیدنی جدایه باکتری و لاکتوفید به طور معنی‌داری کاهش یافت ($P < ۰/۰۵$). شاخص‌های بافت شناسی ژژنوم شامل ارتفاع پرز و نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت در تیمارهای دریافت کننده جدایه یا پروبیوتیک در مقایسه با شاهد افزایش و عرض پرز و عمق کریپت در شاهد در مقایسه با سایر تیمارها بالاترین بود. عیار پادتن بر ضد SRBC و IgM و جمعیت لاکتوباسیلوس ژژنوم در تیمارهای آزمایشی در مقایسه با شاهد افزایش یافت. بنابراین استفاده از جدایه *انتروکوکوس فاسیوم* سبزقبا و پروبیوتیک لاکتوفید به روش توأم اسپری و آشامیدنی، احتمالا باعث بهبود وزن بدن، کاهش کلسترول و LDL خون و افزایش عیار پادتن بر ضد SRBC و افزایش ارتفاع پرز و کاهش عمق کریپت بافت ژژنوم، و افزایش جمعیت لاکتوباسیلوس ژژنوم می‌شود.

واژه‌های کلیدی: انتروکوکوس فاسیوم ، فراسنجه‌های خونی، ریخت شناسی بافت روده، بلدرچین ژاپنی

Animal Science Journal (Pajouhesh & Sazandegi) No 115 pp: 3-16

Effect of Enterococcus facium isolates from intestine of Coracias garrulus on performance, blood biochemical and intestine morphology of Japanese Quail

By: Heydari- Sadegh[1], B., Hosseini-Vashan[2]*. S.J., Afzali[2], N., Mojtahdi[2], M .

1: Student of poultry production management and husbandry, Animal Science Department, University of Birjand, I.R. Iran

2: Animal Science Department, University of Birjand, Birjand, I.R. Email: Iran

Received: January 2016 **Accepted: November 2016**

The purpose of this study was to investigate the effect of acidophilus bacterial isolates from intestine of *Coracias garrulus* and Lactofeed® probiotic with three usage methods including spraying, water drinking and jointly methods of drinking and spraying on performance, carcass characteristics, blood biochemical parameters, intestinal morphology and microbial population of *Japanese quail.* A total of 280 chicks were arranged into 35 experimental units with 7 treatments in a completely randomized design. The treatments were control, spraying, drinking and jointly method of spraying+ drinking of the acidophilus bacterial isolates, and spraying, drinking and jointly spraying+ drinking of commercial probiotic with concentration of 10^{11} CFU. Two birds from each replicate were sacrificed, then blood was gathered and plasma was extracted. Addition of acidophilus bacterial isolates and commercial probiotic decreased FCR, and increased body weight gain and blood protein concentration of quails. The dietary treatments did not affect feed intake, carcass relative weight, blood HDL and triglyceride. The results were revealed that addition of acidophilus bacterial isolates and commercial probiotic were decreased the serum cholesterol and LDL concentration of quail. The jejuna histomorphometry were showed that height of villi and the ratios of height of villi to crypt depth were significantly enhanced in experimental treatments as comparison to control, but, the villi width and crypt depth were highest in control treatments. The antibody response against SRBC and IgM were increased in birds received acidophilus bacterial isolates or the commercial probiotic. The lactobacillus microflora counts were increased in experimental treatments as compared to control groups. It is concluded that supplementation of acidophilus bacterial isolates or commercial probiotic with jointly method of drinking and spraying improved the body weight and FCR, immune system, blood cholesterol, LDL, jejunum morphology and lactobacillus microflora counts of Japanese quail.

Key words: Enterococcus facium, Blood parameters, Intestine morphology, Japanese quail

مقدمه

سامانه گوارش جوجه تازه متولد شده کاملاً استریل است و بتدریج میکروارگانیزم‌های مختلف از طریق خوراک، آب و محیط به سرعت وارد دستگاه گوارش شده و کلنی ایجاد می‌کنند.

کلنی‌های ایجاد شده توسط میکروارگانیسم‌ها در دستگاه گوارش، جمعیت میکروبی مجرای گوارشی پرنده را تشکیل می‌دهند (شمش شرق و خسروی، ۱۳۹۰). افزودن آنتی بیوتیک‌ها به خوراک پرندگان می‌تواند آثار منفی حضور باکتری‌های بیماری‌زای دستگاه گوارش را به عنوان رقبای مصرف کننده مواد مغذی کاهش داده و در نتیجه مقدار جذب مواد مغذی را از لایه مخاطی روده تسهیل کنند (Ferket, 2002). استفاده از آنتی‌بیوتیک‌های محرک رشد در بیشتر کشورهای دنیا از جمله در اتحادیه اروپا ممنوع شده است و روش‌های جایگزین متنوعی از جمله مصرف انواع پروبیوتیک‌ها، پری‌بیوتیک‌ها، اسیدیفایرها و اسانس‌های گیاهی مطرح شده است (Chichlowski *et al.*, 2007).

پروبیوتیک‌ها، افزودنی‌های خوراکی میکروبی هستند که از طریق بهبود تعادل میکروبی روده اثرات سودمندی بر فعالیت دستگاه گوارش و در نتیجه بر عملکرد حیوان دارند (Fuller, 1997).

استفاده از افزودنی‌های خوراکی برای رسیدن به دو هدف کنترل میکروارگانیزم‌های بیماری‌زا (از قبیل سالمونلا و کلی‌فرم) و بالا بردن میکروارگانیزم‌های سودمند دستگاه گوارش صورت می‌گیرد (Dahama *et al.*, 2014). در تحقیقی بذرافشان و همکاران (۱۳۹۱) تاثیر برخی باکتری‌های پروبیوتیکی از جمله *پدیوکوکوس اسیدی لاکتیس*[1]، *انتروکوکوس فاسیوم*[2]، *باسیلوس سوبتیلیس*[3]، *باسیلوس لیشنی فرمیس*[4]، *لاکتوکوکوس لاکتیس*[5] و *پدیوکوکوس پنتوزاسوس*[6] را با غلظت 10^9 CFU در آب آشامیدنی بلدرچین‌های مورد بررسی قرار دادند. یافته‌های آن‌ها حاکی از بالاتر بودن وزن بدن بلدرچین‌ها در تمام تیمارها در مقایسه با شاهد بود به استثنای بلدرچین‌های دریافت کننده پدیوکوکوس اسیدی‌لاکتیس که وزن مشابه شاهد داشتند، وزن بدن و وزن لاشه در گروه دریافت کننده لاکتوکوکوس لاکتیس بالاترین سطح بود. عوامل محیطی و درونی مختلف، به میزان زیادی بر استقرار باکتری‌ها و جایگزین شدن برخی کلنی‌ها موثر هستند. عوامل محیطی مهم شامل جمعیت میکروبی محیط، درجه حرارت، نوع خوراک و روش‌های تغذیه و عوامل درونی نیز شامل pH روده، غلظت اسیدهای چرب فرار، اثرات متقابل میکروبی و عوامل فیزیولوژیکی (انگل‌ها، اسیدهای صفراوی، ترشحات دستگاه گوارش) می‌باشند. با مصرف پروبیوتیک‌ها ارگانیسم‌های مفید تکثیر یافته و باعث حذف رقابتی و تخریب میکروارگانیسم‌های مهاجم شده است؛ یا از طریق جذب پادگن آزادشده از باکتری‌های مرده بیماری‌زا باعث تحریک سامانه ایمنی می‌شوند (Jin *et al.*, 1998). از مشخصه‌های *لاکتوباسیلوس*‌ها می‌توان به گرم مثبت بودن، مقاومت به اسید، شکل غیر اسپوری، تخمیرکنندگی بسیار شدید و تولید بالای اسید لاکتیک حاصل از تخمیر شکر توسط آن‌ها اشاره نمود (Axelsson, 1998).

جمعیت میکروبی روده جوجه‌های گوشتی با افزایش سن تغییر پیدا می‌کند. برخی باکتری‌ها مانند کلستریدیوم، باکتروئید و استرپتوکوکوس، توانایی هیدرولیز اسیدهای صفراوی در امولسیون چربی‌ها و هضم و جذب مناسب چربی‌های جیره را نداشته و نهایتاً باعث کاهش رشد پرنده می‌شوند (شمش شرق و خسروی، ۱۳۹۰). پروبیوتیک سبب افزایش ارتفاع پرز در ژوژنوم و ایلئوم می‌شود، افزایش در ارتفاع پرز و نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت، به طور مستقیمی وابسته به افزایش چرخش در اپیتلیال است (تشفام و کریمی، ۱۳۸۴).

پرنده سبزقبا یا European Roller با نام علمی *Coracias garrulus* است. این پرنده کلاغ مانند، منقاری قوی و اندکی قلاب مانند و خوش رنگ با گردن کوتاه است. *انتروکوکسی فاسیوم* گونه باکتریایی غالب مجرای گوارشی سبزقبا می‌باشد (عبدی‌نژاد، ۱۳۹۵). انتروکوکسی از جنس‌های اصلی باکتری اسید لاکتیکی با توزیع وسیع در طبیعت است که ماندگاری و مقاومت آنها به فراسنجه‌های بازدارندهٔ رشد مثل اسیدیته، نمک، خشکی، حرارت و مواد شیمیایی ضد عفونی کننده دلیل اصلی فراوانی بیشتر آن در مقایسه با سایر باکتری‌های اسید لاکتیکی است (لطفی و همکاران، ۱۳۸۹). انتروکوکسی‌ها به لحاظ ویژگی‌های شیمیائی گرم مثبت و کاتالاز منفی می‌باشند و از توانایی رشد در محیط حاوی ۶/۵ درصد نمک و ۴۰ درصد املاح صفراوی برخوردارند. این باکتری‌ها فلور طبیعی روده حیوانات خونگرم از جمله انسان محسوب می‌شوند (Saeed *et al.*, 2005) .بنابراین هدف از این آزمایش بررسی افزودن جدایه باکتری *انتروکوکوس فاسیوم* مجرای گوارش سبزقبا و پروبیوتیک تجاری لاکتوفید بر عملکرد، خصوصیات لاشه، فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون و ریخت شناسی و جمعیت میکروبی روده بلدرچین ژاپنی بود.

---

[1] *Pediococcus acidilacticci*

[2] *Faecium*

[3] *Bacillus subtilis*

[4] *Bacillus lichenifomis*

[5] *Lactocucus Lactis*

[6] *Pentosaceus Pediococcus*

مواد و روش‌ها

عملکرد: در این آزمایش، تعداد ۲۸۰ قطعه بلدرچین ژاپنی نر یکروزه از کارخانه جوجه کشی باقران بیرجند خریداری و در ۳۵ واحد آزمایشی شامل ۷ تیمار، ۵ تکرار و ۸ جوجه در هر قفس توزیع شد. تیمارهای آزمایش شامل: ۱- شاهد؛ ۲- افشانه محلول حاوی 10^{11}CFU جدایه انتروکوکوس فاسیوم سبزقبا؛ ۳- روش افزودن محلول حاوی 10^{11}CFU انتروکوکوس فاسیوم سبزقبا در لیترآب آشامیدنی؛ ۴- استفاده توأم محلول حاوی 10^{11}CFU افشانه و آشامیدنی جدایه نتروکوکوس فاسیوم سبزقبا؛ ۵- افشانه محلول حاوی 10^{11}CFU پروبیوتیک لاکتوفید؛ ۶- روش افزودن محلول حاوی 10^{11}CFU پروبیوتیک لاکتوفید در لیتر آب آشامیدنی؛ ۷- توأم محلول حاوی 10^{11}CFU افشانه و آشامیدنی پروبیوتیک لاکتوفید بودند. اسپری در روزهای اول، دهم، بیست و چهارم و سی و پنجم در درون ظرف توزین با غلظت 10^{11} CFU انجام شد. جیره مورد استفاده برای کلیه تیمارهای آزمایشی مشابه و در قالب سه جیره آغازین (۱۴-۱ روزگی)، رشد (۲۴-۱۵ روزگی) و پایانی (۴۷-۲۵ روزگی) تنظیم شد (آویاژن، ۲۰۰۹؛ جدول۱). در انتهای دوره آغازین، رشد و پایانی مصرف خوراک و وزن بدن ثبت شد. ضریب تبدیل خوراک نیز بصورت دوره‌ای محاسبه شد. در روز ۴۷، دو پرنده از هر واحد آزمایشی کشتار و خون گیری گردید پس از کشتار، اجزاء لاشه تفکیک و توزین گردید. وزن نسبی اجزای لاشه در برابر وزن زنده محاسبه شد. به منظور تعیین طول نسبی بخش‌های مختلف روده باریک، پس از ذبح و جداسازی دوازدهه، ژژنوم و ایلئوم، با خط کش (۱۰۰سانتی‌متر) طول روده اندازه‌گیری و سپس بر وزن زنده پرنده تقسیم و وزن نسبی آن بخش محاسبه گردید.

ایمنی: برای تعیین عیار پادتن علیه گلبول قرمز گوسفندی ($SRBC^{۷}$)، میزان $۰/۲^{cc}$ در سن ۳۰ و ۴۰ روزگی به دو پرنده از هر تکرار از طریق ورید بال تزریق و ۷ روز بعد (۴۷ روزگی)، از طریق کشتار خون‌گیری به عمل آمد و سرم نمونه‌ها پس از سانتریفیوژ به مدت ۱۰ دقیقه با ۲۵۰۰ دور در دقیقه جداسازی گردید و با استفاده از روش هماگلوتیناسیون، غلظت پادتن بر ضد SRBC اندازه‌گیری گردید (Nelson *et al.*, 1995).

فراسنجه‌های خونی: دو قطعه پرنده در روز ۴۷ انتخاب، توزین و ذبح شد جهت تهیه پلاسما، نمونه‌های خون حاوی ماده ضد انعقاد به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۲۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ گردید و پس از تهیه نمونه‌ها در ^{o}C ۲۰- فریز شد. فراسنجه‌های خونی شامل، کلسترول، تری گلیسرید، LDL-C، HDL-C، پروتئین تام، توسط دستگاه اتوآنالایزر جسان چم مدل ۲۰۰ (ساخت ایتالیا) و کیت های آزمایشگاهی شرکت پارس آزمون تعیین شد.

تهیه باکتری *انتروکوکوس فاسیوم* سبزقبا: پروبیوتیک مورد استفاده با نام تجاری لاکتوفید ساخت شرکت تک ژن زیست کشور ایران بود. باکتری‌های غالب این پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، لاکتوباسیلوس کازئی، بیفدوباکتریوم و انتروکوکوس فاسیوم هستند. در این آزمایش جهت تهیه انتروکوکوس مجرای گوارشی سبزقبا، نمونه محتویات روده تعداد ۵ قطعه پرنده سبزقبا از منطقه سربیشه استان خراسان جنوبی تهیه و سپس روی محیط کشت آگار کانت تکثیر گردید. در مرحله بعد جهت تکثیر باکتری‌های اسید دوست روده سبزقبا از محیط MRS آگار استفاده شد. برای تهیه محیط کشت باکتری *انتروکوکوس فاسیوم* بر اساس راهنمای شرکت سازنده محیط کشت، ۵۵ گرم از محیط کشت MRS آگار در یک لیتر آب مخلوط و روی شعله همزده شد تا زمانی که کل محیط کشت در آب مقطر حل و محلول شفاف شد و حدود ۲ دقیقه جوشانیده شد. ارلن به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ^{oC} ۱۲۱ اتوکلاو و پس از سرد شدن، محیط کشت روی پلیت ریخته شد سپس پلت‌ها کشت و در شرایط بی هوازی در دمای ^{oC} ۳۷ تکثیر شد برای رشد کلنی‌ها، گاز CO_2 به پتری‌دیش‌ها تزریق و به مدت ۲۴ ساعت داخل انکوباتور با دمای ^{oC}۳۷ قرار داده شد (Macfaddin, 1985).

[7] -Sheep red blood cell

جدول ۱. ترکیب جیره‌های آزمایشی مورد استفاده در تغذیه بلدرچین ژاپنی

ماده خوراکی	آغازین	رشد	پایانی
ذرت	۵۳/۳۶	۵۶/۴۹	۵۸/۸۱
کنجاله سویا (۴۴ درصد پروتئین)	۳۹/۶۶	۳۸/۵۷	۳۵/۷۲
پودر ماهی	۲/۹۹	۰/۰۰	۰/۰۰
روغن سویا	۱/۸۷	۲/۵۰	۲/۹۹
دی کلسیم فسفات	۰/۸۶	۰/۵۲	۰/۴۵
کربنات	۱/۲۱	۱/۲۱	۱/۳۲
مکمل ویتامینه*	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵
مکمل معدنی**	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵
نمک	۰/۳۰	۰/۲۰	۰/۲۰
ترکیب شیمیائی محاسبه شده			
انرژی قابل متابولیسم (کیلوکالری در کیلوگرم)	۳۰۰۰	۳۰۵۰	۳۱۰۰
پروتئین خام (درصد)	۲۴	۲۲	۲۰
چربی خام (درصد)	۴/۱۶	۴/۸۴	۵/۴۱
کلسیم (درصد)	۰/۸۱	۰/۷۰	۰/۷۰
فسفر (درصد)	۰/۳۲	۰/۳۰	۰/۲۸
متیونین+سیستئین (درصد)	۰/۷۳۶	۰/۶۶۸	۰/۶۳۴
لیزین (درصد)	۱/۴۳۱	۱/۲۶۶	۱/۱۸۸

* هر کیلوگرم مکمل ویتامینه مرغ‌گوشتی حاوی ۴۴۰۰۰۰۰ واحد ویتامین A، ۷۲۰۰۰ واحد ویتامین D، ۱۴۴۰۰ میلی‌گرم ویتامین E، ۲۰۰۰ میلی‌گرم ویتامین K، ۶۴۰ میلی‌گرم کوبالامین، ۶۱۲ میلی‌گرم ویتامین C، ۳۰۰۰ میلی‌گرم ریبوفلاوین، ۴۸۹۶ میلی‌گرم اسید پانتوتنیک، ۱۲۱۶۰ میلی‌گرم نیاسین، ۶۱۲ میلی‌گرم پیریدوکسین.

** هر کیلوگرم مکمل معدنی مرغ‌گوشتی حاوی ۶۴/۵ گرم منگنز، ۳۳/۸ گرم روی، ۸ گرم مس، ۶۴۰ میلی‌گرم ید، ۱۹۰ میلی‌گرم کبالت و ۸ گرم سلنیوم.

بررسی جمعیت میکروبی ژژنوم: برای تعیین جمعیت میکروبی از هر میکروتیوپ به ترتیب مقدار ۰/۱ گرم نمونه مدفوع در یک میلی‌لیتر حل و سپس مقدار ^{cc}۰/۱ برداشت و در مقدار ^{cc}۱۰ آب مقطر پزشکی حل شد و از آن مقدار ^{cc} ۰/۱ با سرنگ استریل روی پتری دیش ریخته شد. و پس از چند مرحله رقیق سازی در شرایط کاملا استریل روی محیط کشت‌های مک کانکی (محیط کشت مناسب برای باکتری‌های اشرشیاکلی و سالمونلا)، MRS آگار (محیط کشت مناسب برای باکتری‌های اسیدلاکتیک) و آگارکانت (محیط کشت مناسب برای رشد کل میکروب‌ها) طبق دستورالعمل کارخانه سازنده آن کشت شد (Macfaddin, 1985). بعد از رشد کلنی‌ها، تعداد کلنی شمارش و برای هر تیمار ثبت شد.

ریخت‌شناسی روده باریک: برای این منظور، قطعه یک سانتی‌متری از ناحیه‌ی میانی ژژنوم پرندگان کشتار شده (۲ قطعه پرنده از هر تکرار) برداشته و پس از شستشو با محلول سالین، در محلول فرمالین ۱۰ درصد ثابت شد. نمونه‌ها در آزمایشگاه بافت شناسی دانشکده دامپزشکی فردوسی مشهد توسط دستگاه اتوماتیک هیستوکینت (هیستوکینت مدل Leica, TP۱۰۲۰، آلمان) مجهز به ساعت خودکار برقی پاساژ (آبگیری، شفاف سازی و آغشته نمودن به پارافین جهت قالب‌گیری) شدند. پس از قالب‌گیری و سردشدن قالب‌ها، برش‌هایی به ضخامت ۷ میکرومتر توسط دستگاه میکروتوم (Leitz, leisa, مدل ۱۵۱۲، آلمان) تهیه شد بعد از آبگیری و زدودن پارافین توسط گزیلل و الکل اتیلیک و شماره گذاری لام‌ها؛ درمرحله بعد لام‌ها در محلول هماتوکسیلین فرو برده شد و بعد از تثبیت رنگ، جهت رنگ

آمیزی سیتوپلاسم، لام‌ها در ظرف حاوی ائوزین قرار داده شد سپس نمونه های رنگ شده، مورد آبگیری و خشک نمودن قرار گرفت (تشفام و همکاران، ۱۳۸۴). فراسنجه‌های مختلف ژژنوم شامل طول و عرض پرزها و عمق کریپت توسط عدسی چشمی مدرج میکروسکوپ اولیمپوس دارای دوربین عکس‌برداری متصل به کامپیوتر (میکروسکوپ اولیمپوس CX31، اولیمپوس، آمریکا) انجام شد. جهت کاهش خطای اندازه گیری، میانگین ۵ نقطه جداگانه از هر فراسنجه محاسبه و در ضریب عدسی شیئی ضرب گردید. همچنین نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت محاسبه گردید.

داده‌های تحقیق در نرم افزار اکسل ثبت شد و سپس آنالیز آماری داده‌ها توسط نرم افزار SAS ویرایش ۹.۱ (۲۰۰۳) انجام گرفت، روش آماری آنالیز واریانس یک طرفه بود و $P\leq 0.05$ به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد آنالیز آماری مشاهداتی که یک بار در طول دوره آزمایش اندازه گیری شدند با استفاده از رویه مدل خطی عمومی (GLM[8]) انجام شد و میانگین‌های بدست آمده توسط آزمون توکی با سطح احتمال ۰/۰۵ مورد مقایسه قرار گرفت.

نتایج و بحث

عملکرد: داده‌های مربوط به تاثیر تیمارهای آزمایشی بر وزن بدن، مصرف خوراک و ضریب تبدیل خوراک در جدول ۲ ارائه شده است. استفاده از جدایه *انتروکوکوس فاسیوم* مجرای گوارشی سبزقبا و پروبیوتیک لاکتوفید و روش مورد استفاده (آشامیدنی یا اسپری) تأثیر معنی‌داری بر افزایش وزن بدن جوجه بلدرچین‌های ژاپنی در دوره‌های آغازین و رشد نشان نداد هر چند وزن بدن و ضریب تبدیل خوراک در تمامی تیمارهای آزمایشی در مقایسه با شاهد بالاتر بود. مصرف خوراک در هیچ یک از دوره‌ها تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت. بطور مشابه در مطالعه‌ای که از پروبیوتیک پروبیولاک استفاده شده بود نیز گزارش شد پروبیوتیک بر مصرف خوراک جوجه‌های گوشتی بی‌اثر است (Panda *et al.*, 2000). در آزمایش Mountzouris *et al.*, (2010) نیز گزارش شد که افزودن پروبیوتیک حاوی چند گونه متفاوت باکتری به جیره جوجه‌های گوشتی، تأثیر معنی‌داری بر مصرف خوراک نسبت به شاهد نداشت که با یافته‌های این مطالعه مطابقت دارد.

ضریب تبدیل خوراک و وزن بدن در دوره پایانی معنی‌دار شد ($P <$ ۰/۰۵) و در گروه دریافت کننده جدایه انتروکوکوس فاسیوم سبز قبا به صورت توأم افشانه و آشامیدنی بیشترین وزن بدن و کمترین ضریب تبدیل خوراک را درمقایسه با شاهد نشان دادند ($P <$ ۰/۰۵). در مطالعه مشابهی افزودن پروبیوتیک کلواستات تا ۰/۱ درصد به جیره جوجه گوشتی باعث بهبود وزن بدن و کاهش ضریب تبدیل خوراک گردید (سلطانی و همکاران، ۱۳۹۴). در یک مطالعه پروبیوتیک پروتکسین باعث کاهش وزن معنی دار بلدرچین ژاپنی نسبت به گروه شاهد شد ولی استفاده از مخلوط پروبیوتیک و پری‌بیوتیک باعث افزایش معنی‌دار وزن بدن نسبت به گروه شاهد شد (Vahdatpour *et al.*, 2011). مظفری قله جوق و همکاران (۱۳۹۲) گزارش نمودند که افزودن پروبیوتیک به روش افشانه اثر بهتری نسبت به افزودن آن به خوراک دارند بطوریکه جوجه‌های دریافت کننده به روش افشانه دارای افزایش وزن بالاتر و ضریب تبدیل پایین‌تر در مقایسه با روش خوراکی داشتند. وزن بدن بلدرچین‌های تغذیه شده با لاکتوکوکوس لاکتیس بطور معنی‌داری بالاتر از شاهد بود (بذرافشان و همکاران، ۱۳۹۱). بطور کلی پروبیوتیک‌ها از طریق تغییر جمعیت میکروبی مجرای گوارشی باعث افزایش جمعیت میکروبی مفید و افزایش راندمان مصرف خوراک می‌شوند (Dahama et al., 2014) ولی Mountzouris *et al.*, (2010) گزارش نمودند در صورت استفاده از سطوح بالای پروبیوتیک‌ها در جیره‌ها ممکن است بدلیل بازچرخ اضافی مواد مغذی توسط باکتری‌ها بخشی از مواد مغذی هدر بروند و در نتیجه راندمان مصرف خوراک کاهش یابد (Mountzouris *et al.*, 2010). بنابراین در هنگام استفاده از پروبیوتیک‌ها علاوه بر روش دوز مورد استفاده نیز از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است.

[8] General linear model

جدول ۲. تاثیر جدایه باکتری انتروکوکوس سبزقبا و پروبیوتیک لاکتوفید بر وزن بدن (گرم)، مصرف خوراک (گرم) و ضریب تبدیل خوراک بلدرچین ژاپنی

دوره	تیمار	شاهد	انتروکوکوس فاسیوم			پروبیوتیک لاکتوفید			اشتباه	سطح
	صفت		افشانه	آشامیدنی	افشانه +آشامیدنی	افشانه	آشامیدنی	افشانه +آشامیدنی	معیار میانگین	معنی داری
۱-۱۰	BW	۳۲/۳۴	۳۰/۰۰	۲۹/۲۴	۳۳/۱۴	۲۹/۹۸	۳۱/۷۹	۳۲/۰۵	۲/۰۲	۰/۷۸۶
روزگی	FI	۴۸/۳۹	۴۶/۸۹	۴۶/۸۳	۴۷/۹۹	۴۵/۵۴	۴۷/۴۶	۴۷/۵۱	۱/۱۳۲	۰/۶۶۷۴
	FCR	۱/۴۹	۱/۵۶	۱/۶۳	۱/۴۶	۱/۵۲	۱/۵۳	۱/۵۳۰	۰/۰۹۸	۰/۷۳۰
۱۱-۲۴	BW	۶۳/۵۲	۶۶/۶۲	۶۶/۲	۶۷/۵۳	۷۰/۳۶	۶۹/۲۴	۶۸/۶۸	۴/۳۵	۰/۹۴۶
روزگی	FI	۱۳۳/۹۹	۱۳۹/۳۸۸	۱۲۸/۸۹	۱۲۵/۶۵	۱۲۷/۲۴	۱۳۰/۴۹	۱۳۸/۶۶	۶/۲۵۳	۰/۵۹۶۱
	FCR	۲/۱۵	۲/۱۰	۱/۹۶	۱/۹۳	۱/۸۳	۱/۹۱	۲/۰۵	۰/۱۶۴	۰/۶۲۴
۲۵-۴۷	BW	۱۰۷/۸۴^{c}	۱۲۵/۱۰^{bc}	۱۳۴/۷۳^{ab}	۱۴۹/۱۷^{a}	۱۱۹/۴۷^{bc}	۱۲۵/۱^{bc}	۱۲۹/۱۶^{abc}	۷/۴۷۶	۰/۰۲۳۸
روزگی	FI	۵۱۲/۴۹	۵۱۲/۹۹	۵۲۷/۰۳	۵۲۰/۱۰	۵۲۱/۱۱	۵۳۴/۲۴	۵۳۶/۲۴	۲۱/۱۸	۰/۹۵۷۰
	FCR	۴/۷۹^{a}	۴/۱۲^{ab}	۴/۰۹^{ab}	۳/۵۰^{b}	۴/۴۵^{ab}	۴/۲۹^{ab}	۴/۱۸۷^{ab}	۰/۳۰۳	۰/۰۶۲
۰-۴۷	BW	۲۱۱/۸۶^{b}	۲۴۰/۹۰^{ab}	۲۳۸/۳۳^{ab}	۲۵۵/۰۶^{a}	۲۳۱/۰۸^{ab}	۲۳۸/۳۳^{ab}	۲۴۰/۰۰^{ab}	۶/۶۵	۰/۰۰۶
روزگی	FI	۶۹۴/۸	۶۹۸/۲	۷۰۲/۷	۶۸۸/۵	۶۹۳/۷	۷۱۶/۱	۷۲۲/۸	۲۵/۷۴	۰/۹۶۱
	FCR	۳/۲۵^{a}	۳/۰۱^{ab}	۲/۹۴^{ab}	۲/۶۶^{b}	۳/۰۵^{ab}	۳/۰۲^{ab}	۳/۰۲^{ab}	۰/۱۳۹	۰/۰۱۹۴

^{ab}وجود حروف مشابه روی میانگین‌های هر ردیف، نشان دهنده عدم اختلاف معنی‌دار بین آن‌ها می‌باشد (P<۰/۰۵).

BW: وزن بدن؛ FI: مصرف خوراک؛ FCR: ضریب تبدیل خوراک

اجزای لاشه: داده‌های مرتبط با تأثیر باکتری انتروکوکوس مجرای گوارشی سبزقبا و پروبیوتیک لاکتوفید بر وزن نسبی اجزای لاشه در جدول ۳ ارائه شده است. تیمارهای آزمایشی بر هیچ یک از اوزان نسبی اجزای لاشه تأثیری نداشت. بذرافشان و همکاران (۱۳۹۱) گزارش نمودند افزودن باکتری‌های پروبیوتیکی مانند پدیوکوکوس لاکتیس در مقایسه با لاکتوکوکوس لاکتیس بطور معنی‌داری بازده لاشه را کاهش داد ولی در مطالعه حاضر تأثیر معنی‌داری روی بازده لاشه نداشت. در بعضی مطالعات دیگر، افزودن پروبیوتیک اثر معنی‌داری بر اجزای لاشه نداشت (Ayasan and Okan, 2001). در پژوهش حاضر، افزودن جدایه باکتری انتروکوکوس فاسیوم یا لاکتوفید تأثیر معنی‌داری بر وزن نسبی سینه، ران، کبد، طحال، بورس فابرسیوس و کیسه صفرا نداشت. بطور مشابه افزودن پروبیوتیک به جیره طیور تأثیر معنی‌داری بر وزن نسبی اجزای لاشه از جمله طحال، بورس فابرسیوس، کیسه صفرا، نداشت که با مطالعه حاضر همخوانی داشت (سلطانی و همکاران، ۱۳۹۴ و Sharifi *et al.*, 2012). وزن نسبی اجزای روده باریک شامل دوازدهه، ژژنوم، ایلئوم در ۲۸ و ۴۷ روزگی تحت تأثیر جیره‌های آزمایشی قرار نگرفت (جدول ۴) بجز وزن نسبی دوازدهه که در ۲۸ روزگی در گروه آشامیدنی استروپتوکوکوس فاسیوم بالاترین و در شاهد کمترین بود (P<۰/۰۵) این نتایج با یافته‌های پیشین همخوانی دارد (سلطانی و همکاران، ۱۳۹۴ و Sharifi *et al.*, 2012).

جدول ۳. تاثیر جدایه باکتری انتروکوکوس سبزقبا و پروبیوتیک لاکتوفید بر وزن نسبی اجزای لاشه (درصدی از وزن زنده)

دوره	تیمار	شاهد	انتروکوکوس فاسیوم			پروبیوتیک لاکتوفید			اشتباه معیار	سطح معنی
	صفت		افشانه	آشامیدنی	افشانه +آشامیدنی	افشانه	آشامیدنی	افشانه +آشامیدنی	میانگین	داری
۲۸	لاشه	۶۸/۹۸	۶۶/۶	۶۷/۲	۷۰/۴۸	۶۸/۶۸	۶۸/۷۰	۶۹/۷۱	۱/۷۱۶	۰/۵۲۹
روزگی	سینه	۱۳/۸۷	۱۲/۵۳	۱۳/۲۶	۱۳/۸۷	۱۳/۰۲	۱۳/۴۳	۱۳/۴۷	۰/۳۸۹	۰/۲۱۸
	ران	۱۸/۸۴	۱۹/۶۸	۱۹/۰۰	۲۲/۱۸	۲۰/۸۰	۱۹/۴۳	۲۰/۸۱	۰/۸۴۶	۰/۰۹۳
	کبد	۲/۸۵	۲/۷۵	۳/۲۷	۲/۹۷	۲/۹۶	۳/۱۹	۲/۷۶	۰/۲۵۷	۰/۷۱۳
	طحال	۰/۱۱	۰/۱۰	۰/۱۳	۰/۱۱	۰/۰۹	۰/۱۱	۰/۱۱	۰/۰۲۲	۰/۹۴۷
	بورس	۰/۱۷	۰/۲۲	۰/۲۱	۰/۱۴	۰/۱۵	۰/۱۶	۰/۱۵	۰/۰۳۹	۰/۶۳۶
	صفرا	۰/۰۷	۰/۰۶	۰/۰۸	۰/۰۹	۰/۱۰	۰/۱۰	۰/۰۶	۰/۰۱۸	۰/۰۷۹
۴۷	لاشه	۷۱/۷۲	۷۱/۴۹	۷۱/۵۸	۶۹/۹۴	۷۳/۰۳	۷۰/۹۷	۶۹/۸۹	۲/۱۴۷	۰/۹۵۰
روزگی	سینه	۱۳/۸	۱۳/۴۸	۱۴/۰۱	۱۳/۲۳	۱۴/۱۶	۱۴/۴۸	۱۳/۰۰	۰/۸۵	۰/۷۸۳
	ران	۲۰/۸۶	۲۱/۵۹	۲۱/۲۴	۲۰/۱۴	۲۱/۹۷	۲۱/۴۸	۲۰/۹۴	۱/۱۴۵	۰/۵۴۶
	کبد	۲/۹۷	۲/۳۴	۲/۲۶	۲/۲۸	۲/۲۵	۲/۸۵	۲/۳۷	۰/۳۵۴	۰/۸۷۸
	طحال	۰/۰۹	۰/۰۶	۰/۰۸	۰/۰۷	۰/۰۸	۰/۰۶	۰/۰۸	۰/۰۲۹	۰/۰۸۶
	بورس	۰/۰۶	۰/۰۵	۰/۰۶	۰/۰۷	۰/۰۸	۰/۰۷	۰/۰۴	۰/۰۱۳	۰/۶۵۸
	صفرا	۰/۰۵	۰/۰۴	۰/۰۷	۰/۰۵	۰/۰۶	۰/۰۶	۰/۰۵	۰/۰۱	۰/۵۶۸

نداشتن حروف معنی‌داری روی میانگین‌های هر ردیف نشان دهنده عدم اختلاف معنی‌دار است ($P > ۰/۰۵$).

جدول٤. تاثیر جدایه باکتری انتروکوکوس سبزقبا و پروبیوتیک لاکتوفید بر طول نسبی روده کوچک (سانتی‌متر/ وزن بدن) بلدرچین ژاپنی

دوره	تیمار	شاهد	انتروکوکوس فاسیوم			پروبیوتیک لاکتوفید			اشتباه	سطح
	صفت		افشانه	آشامیدنی	افشانه +آشامیدنی	افشانه	آشامیدنی	افشانه +آشامیدنی	معیار میانگین	معنی داری
۲۸	دوازدهه	۱۰۸/۴۸^{b}	۱۳۳/۷۲^{ab}	۱۷۱/۳۴^{a}	۱۴۹/۸۰^{ab}	۱۴۴/۷۵^{ab}	۱۳۵/۰۷^{ab}	۱۱۷/۲۳^{b}	۱۵/۶۰	۰/۰۱۳۴
روزگی	ژئوژئوم	۲۷۹/۳۶	۲۶۷/۹۶	۲۹۴/۰۳	۲۶۷/۳۵	۳۳۱/۸۵	۲۹۸/۱۷	۲۸۶/۴۰	۲۲/۰۱	۰/۴۳۵
	ایلئوم	۲۷۳/۵۸	۲۳۲/۳۹	۲۸۷/۷۶	۲۳۸/۹۹	۲۸۵/۴۰	۲۷۶/۴۰	۲۵۵/۲۳	۲۰/۸۲	۰/۳۶۵
۴۷	دوازدهه	۸۴/۹۳	۷۲/۳۸	۷۱/۲۸	۷۵/۱۲	۷۲/۱۴	۶۷/۲۲	۷۲/۹۳	۷/۰۵	۰/۷۲۴
روزگی	ژئوژئوم	۱۶۶/۳۱	۱۷۰/۱۳	۱۸۵/۵۵	۱۷۰/۴۸	۱۸۴/۹۶	۱۵۸/۱۰	۱۷۰/۶۸	۱۳/۰۰	۰/۷۴۶
	ایلئوم	۱۵۳/۱۳	۱۶۰/۰۲	۱۷۹/۶۷	۱۵۶/۲۵	۱۵۸/۰۳	۱۵۰/۰۴	۱۴۱/۸۵	۱۳/۴۰	۰/۶۰۸

^{ab}وجود حروف مشابه روی میانگین‌های هر ردیف، نشان دهنده عدم اختلاف معنی‌دار بین آن‌ها می‌باشد ($P<۰/۰۵$).

جدول ۵. تاثیر جدایه باکتری انتروکوکوس سبزقبا و پروبیوتیک لاکتوفید بر فراسنجه‌های خونی (میلی‌گرم/ دسی‌لیتر) و سامانه ایمنی خوراک بلدرچین ژاپنی (۴۷ روزگی)

	تیمار	شاهد	انتروکوکوس فاسیوم			پروبیوتیک لاکتوفید			اشتباه معیار میانگین	سطح معنی داری
	صفت		افشانه	آشامیدنی	افشانه +آشامیدنی	افشانه	آشامیدنی	افشانه +آشامیدنی		
لیپیدهای خونی	Chol	۳۲۱/۴^{a}	۲۷۷/۴^{ab}	۲۷۹/۹^{ab}	۲۶۱/۷^{b}	۲۶۶/۳^{ab}	۲۷۲/۹^{ab}	۲۵۱/۲^{b}	۱۷/۸۳	۰/۰۲۳۰
	LDL	۱۵۳^{a}	۹۸/۲^{b}	۱۱۲/۹^{ab}	۱۱۲/۷^{ab}	۹۳/۳^{b}	۱۲۲/۵^{ab}	۸۸/۶^{b}	۱۷/۵۳	۰/۰۲۲۳
	HDL	۱۲۵/۷	۱۳۲/۲	۱۳۰/۸	۱۲۸/۷	۱۳۰/۷	۱۳۱/۹	۱۲۷/۳	۱۰/۹۵	۰/۶۹۹
	TG	۲۱۳/۱	۱۹۵/۷	۱۸۰/۶	۲۰۱/۳	۲۱۱/۳	۱۷۲/۵	۱۷۶/۳	۲۷/۱	۰/۵۸۶
پروتئین تام		۳/۷۶^{b}	۳/۸۲^{ab}	۳/۸۸^{ab}	۳/۹^{ab}	۳/۸^{ab}	۳/۳^{b}	۴/۴^{a}	۰/۲۸۶	۰/۰۲۲۹
پاسخ ایمنی	SRBC	۵/۶^{b}	۶/۴^{ab}	۷/۴^{ab}	۷/۸^{a}	۶/۸^{ab}	۸/۲^{a}	۶/۸^{ab}	۱/۴۰	۰/۰۳۳
	IgG	۱/۸	۱/۶	۲/۴	۲/۴	۱/۲	۲/۸	۱/۶	۰/۴۹	۰/۴۳۹
	IgM	۳/۸^{b}	۴/۸^{ab}	۵^{ab}	۵/۴^{ab}	۴/۶^{ab}	۵/۸^{a}	۵/۲^{ab}	۰/۶۸	۰/۰۴۱

^{ab}وجود حروف مشابه روی میانگین‌های هر ردیف، نشان دهنده عدم اختلاف معنی‌دار بین آن‌ها می‌باشد (P<۰/۰۵).

Chol: کلسترول؛ LDL: لیپوپروتئین با دانسیته پائین؛ HDL: لیپوپروتئین با دانسیته بالا؛ TG: تری گلیسرید؛ SRBC: سلول قرمز خونی گوسفندی؛ IgG: ایمنوگلوبولین G؛ IgM: ایمنوگلوبولین M.

ایمنی: نتایج مربوط به تیتر پادتن علیه گلبول قرمز گوسفندی در بلدرچین ژاپنی دریافت کننده باکتری اسید دوست گونه سبزقبا و پروبیوتیک لاکتوفیدلاکتوفید در جدول ۵ نشان داده شده است. تحلیل آماری این داده‌ها نشان می‌دهد کمترین تیتر پادتن بر ضد SRBC در تیمار شاهد و تیمار دریافت کننده پروبیوتیک لاکتوفید به صورت افشانه بود و بیشترین تیتر پادتن مربوط به تیمار دریافت کننده پروبیوتیک لاکتوفیدبه صورت آشامیدنی و تیمار دریافت کننده توأم افشانه و آشامیدنی باکتری انتروکوکوس فاسیوم سبزقبا بود (P<۰/۰۵). عیار ایمنوگلوبولین G, M در آشامیدنی پروبیوتیک تجاری در مقایسه با شاهد بالاترین بود (P<۰/۰۵). باکتری‌های تولیدکننده اسیدلاکتیک در پروبیوتیک‌ها بر فعالیت سلولهای کشنده طبیعی (NK[9]) و بهبود وظایف سامانه ایمنی سلولی آنها می‌تواند موثر باشد (Gill *et al.,* 2001). بطور کلی پروبیوتیک‌ها از دو طریق تحریک اتصال فلور میکروبی به دیواره مجرای گوارش و محدودیت فضا برای پاتوژن‌ها و دوم جذب پادگن‌های آزاد شده توسط میکروارگانیزم‌های مرده باعث تحریک سامانه ایمنی می‌گردند (Ahmad, 2006). مکانیزم اثر پروبیوتیک‌ها بر پاسخ ایمنی به تعداد باکتری پروبیوتیک، دوز پروبیوتیک و روش مورد استفاده، و زمینه ژنتیکی میزبان بستگی دارد (Haghighi *et al.,* 2005). این یافته‌ها حاکی از اثر مثبت ترکیبات پروبیوتیکی بر سامانه ایمنی بلدرچین ژاپنی می‌باشد.

فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون: داده‌های مرتبط با تأثیر باکتری انتروکوکوس مجرای گوارشی سبزقبا و پروبیوتیک لاکتوفید بر برخی فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون شامل غلظت پروتئین، کلسترول، LDL، HDL و تری‌گلیسرید سرم خون بلدرچین ژاپنی در جدول ۵ارائه شده است. غلظت پروتئین تام سرم خون در تیمار دریافت کننده توأم آشامیدنی و افشانه پروبیوتیک لاکتوفید افزایش یافت که این افزایش به لحاظ آماری با آشامیدنی انتروکوکوس اختلاف معنی‌داری نشان داد (P <۰/۰۵). غلظت کلسترول، و LDL در همه تیمارهای دریافت کننده جدایه انتروکوکوس و پروبیوتیک لاکتوفید کاهش یافت ولی فقط در تیمار دریافت کننده توأم آشامیدنی و افشانه لاکتوفید، کاهش آن با شاهد معنی دار بود (P <۰/۰۵). نتایج آزمایش حاضر نشان داد که پروبیوتیک باعث کاهش کلسترول و LDL می‌شود که شاید بخاطر آن باشد که پروبیوتیک‌ها در متابولیسم چربی‌های غذایی کمتر موثر می‌باشند و بیشتر از کربوهیدرات‌ها به

[9] Natural Killer

عنوان سوبسترا استفاده می‌کنند و کمتر چربی‌های خوراک را تحت تأثیر قرار می‌دهند و همین امر باعث می‌شود که احتمالا میزان جذب چربی کمتر شود (Fuller, 1997). در مطالعه دیگری، افزودن پروبیوتیک حاوی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*، *بیفیدوباکتریوم* و *آسپرژیلوس آریزا* به جیره جوجه‌های گوشتی نشان دادکه سطح کلسترول خون در گروه شاهد نسبت به تیمار حاوی پروبیوتیک به طور معنی‌داری بالاتر بود و در تیمار دریافت کننده پروبیوتیک بطور معنی‌داری کاهش یافت (بذرافشان و همکاران، ۱۳۹۱؛ Panda et al., 2000؛ و Sharifi *et al.*, 2012).

ریخت شناسی روده: داده‌های مربوط به ریخت شناسی ژژنوم بلدرچین‌های ژاپنی نشان می‌دهد، بیشترین ارتفاع پرز مربوط به تیمار دریافت کننده پروبیوتیک لاکتوفید به صورت افشانه بود (جدول ۶) و کمترین طول پرز مربوط به تیمار شاهد بود. عرض پرز در تیمار دریافت کننده شاهد بالاترین و کمترین عرض پرز مربوط به تیمار توأم افشانه و آشامیدنی انتروکوکوس فاسیوم سبز قبا بود (P<۰/۰۵). عمق کریپت نیز مشابه با عرض پرز در تمام تیمارهای آزمایشی نسبت به تیمار شاهد کاهش یافت (P<۰/۰۵). نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت در تیمار شاهد پایین‌ترین و روش آشامیدنی جدایه انتروکوکوس فاسیوم بیشترین بود (۰/۰۰۰۱ > P). بطور مشابه مظفری قله جوق و همکاران نیز تأثیر روش مورد استفاده پروبیوتیک را بررسی نمودند در مطالعه مذکور، روش افشانه تأثیر بهتری بر ارتفاع پرز و نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت داشت (مظفری قله جوق و همکاران، ۱۳۹۲) که با یافته‌ها مطالعه حاضر همخوانی دارد. اثر سطوح مختلف پروبیوتیک بر ریخت شناسی روده جوجه‌های گوشتی نشان می‌دهد پروبیوتیک مورد استفاده موجب افزایش طول پرزهای روده در سن ۴۲ روزگی گردید و عمق کریپت در ابتدای روده را کاهش داد (تشفام و همکاران، ۱۳۸۴؛ Gunal *et al.*, 2006). بطور کلی هر چه ارتفاع پرز بالاتر باشد فضا برای جذب مواد مغذی بالاتر خواهد بود و در نتیجه راندمان استفاده از مواد مغذی افزایش می‌یابد.

جمعیت میکروبی روده کور: در جدول ۷ اثر تیمارهای آزمایشی بر جمعیت میکرب‌های موجود در روده کور بلدرچین ژاپنی نشان داده شده است. جمعیت کلی فرم‌ها در تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی داری با تیمار شاهد نشان نداد هرچند درتیمار شاهد و تیماری که جدایه انتروکوکوس فاسیوم را به صورت افشانه دریافت کرده بود بیشتر بود. جمعیت لاکتوباسیلوس‌ها در تیمار دریافت کننده جدایه انتروکوکوس فاسیوم که به صورت توأمان افشانه و آشامیدنی در مقایسه با شاهد افزایش یافت (P<۰/۰۵). در مطالعه دیگری افزودن سویه جدید پروبیوتیک تخمیر یافته *لاکتوباسیلوس AD1* در جیره بلدرچین ژاپنی باعث افزایش جمعیت باکتری لاکتیک اسید و لاکتوباسیل و انتروسیتی در مدفوع شد در سکوم بلدرچین ها نیز شمار ایکلای را کاهش داد (Strompfova *et al.*, 2005). مظفری قله جو و همکاران (۱۳۹۲) گزارش نمودند که افزودن پروبیوتیک به روش افشانه یا افشانه و خوراکی باعث افزایش باکتری‌های لاکتوباسیلوس مجرای گوارشی جوجه‌ها گردید. این تغییر جمعیت میکروبی از کلی‌فرمی به لاکتوباسیلی نشان‌دهنده بهبود وضعیت جمعیت میکروبی در جهت افزایش کارایی مجرای گوارشی می‌باشد.

جدول ٦. تاثیر جدایه باکتری انتروکوکوس سبزقبا و پروبیوتیک لاکتوفید بر ریخت شناسی روده باریک بلدرچین ژاپنی در ٤٧ روزگی(میکرومتر)

صفت	شاهد	انتروکوکوس فاسیوم			پروبیوتیک لاکتوفید			اشتباه معیار میانگین	سطح معنی داری
		افشانه	آشامیدنی	افشانه +آشامیدنی	افشانه	آشامیدنی	افشانه +آشامیدنی		
ارتفاع پرز	۵۰۴/۳۳^{c}	۵۷۵^{ab}	۵۸۷/۶۶^{ab}	۵۷۸/۳۳^{ab}	۶۱۳/۳۳^{a}	۵۲۲/۳۳^{c}	۵۳۶/۳۳^{bc}	۱۹/۱۴	۰/۰۰۰۱
عرض پرز	۱۴۴/۳۳^{a}	۱۳۳/۴۱^{ab}	۱۱۲/۲۲^{b}	۹۴^{b}	۱۰۴/۲۱^{b}	۹۵/۸۷^{b}	۱۰۷/۷۷^{b}	۱۱/۲۸	۰/۰۰۰۱
عمق کریپت	۱۵۳^{a}	۱۴۰^{ab}	۱۲۷/۳۳^{b}	۱۱۹^{b}	۱۳۱/۳۳^{b}	۱۲۴/۶۶^{b}	۱۳۲^{b}	۸/۶۱	۰/۰۰۰۱
ارتفاع پرز: عمق کریپت	۳/۴۴^{d}	۴/۳۲^{bc}	۵/۰۹^{a}	۴/۵۷^{abc}	۴/۷۷^{ab}	۴/۲۱^{bc}	۴/۰۸^{c}	۰/۲۹۸	۰/۰۰۰۱

^{ab}وجود حروف مشابه روی میانگین‌های هر ردیف، نشان دهنده عدم اختلاف معنی‌دار بین آن‌ها می‌باشد (P<۰/۰۵).

جدول ۷. تاثیر جدایه باکتری انتروکوکوس سبزقبا و پروبیوتیک لاکتوفید بر جمعیت باکتریایی روده کور بلدرچین ژاپنی در ٤٧ روزگی

شمارش باکتریایی (کلنی *۱۰^{۶})	شاهد	انتروکوکوس فاسیوم			پروبیوتیک لاکتوفید			اشتباه معیار میانگین	سطح معنی داری
		افشانه	آشامیدنی	افشانه +آشامیدنی	افشانه	آشامیدنی	افشانه +آشامیدنی		
جمعیت باکتریایی تام	۳۳/۸۶	۳۸/۴۲	۳۹/۸۶	۳۸/۳۹	۳۷/۶۷	۳۸/۲۰	۳۷/۴۱	۴/۰۳	۰/۲۲۱
کلی‌فرم‌ها	۲۰/۴۲	۲۴/۸۱	۱۹/۴۱	۱۸/۴۳	۱۷/۸۰	۱۹/۶۴	۱۸/۶۱	۳/۷۳	۰/۱۷۸
لاکتوباسیل‌ها	۱۳/۱۳^{b}	۱۵/۰۲^{ab}	۲۱/۲^{ab}	۲۲/۴^{a}	۱۹/۹۲^{ab}	۱۹/۰۴^{ab}	۲۰/۶^{ab}	۲/۱۵	۰/۰۲۸

^{ab}وجود حروف مشابه روی میانگین‌های هر ردیف، نشان دهنده عدم اختلاف معنی‌دار بین آن‌ها می‌باشد (P<۰/۰۵).

نتیجه گیری کلی: افزودن جدایه انتروکوس فاسیوم مجرای گوارشی سبزقبا باعث بهبود وزن بدن، ضریب تبدیل خوراک، پاسخ ایمنی و کاهش کلسترول خون گردید. از طرف دیگر ریخت شناسی روده را بهبود و جمعیت باکتری لاکتوباسیلی روده کور را افزایش داد. پروبیوتیک لاکتوفید هر چند بر عملکرد اثر نداشت ولی باعث کاهش کلسترول خون بهبود پاسخ ایمنی و جمعیت میکروبی گردید. علاوه بر این جوجه‌های دریافت کننده توأمان آشامیدنی و اسپری جدایه باکتری پاسخ بهتری را نشان دادند. بنابراین با توجه به یافته‌های این آزمایش می‌توان از این جدایه باکتری بصورت توأم آشامیدنی و اسپری در صنعت مرغداری و پرورش بلدرچین بعنوان یک پروبیوتیک مؤثر در جهت بهبود عملکرد، کاهنده کلسترول و بهبود سامانه ایمنی استفاده نمود.

منابع

بذرافشان ،خ. کریمی ترشیزی ،م.ا. رحیمی،ش. (۱۳۹۱). تاثیر برخی باکتری های جدا شده از پروبیوتیک های تجاری بر رشد، ترکیب لاشه و سیستم ایمنی بلدرچین ژاپنی. مجله پژوهش و سازندگی (نشریه علوم دامی). ۹۶: ۱۵-۲۴.

تشفام، م.، رحیمی، ش.، و کریمی، ک. (۱۳۸۴). تأثیر سطوح مختلف پروبیوتیک بر مورفولوژی مخاط روده جوجه‌های گوشتی. مجله دانشکده دامپزشکی، دوره ۶۰ :۲۱۱- ۲۰۵.

سلطانی، م.، مظهری، م.، و اسماعیلی پور، ا.ع. (۱۳۹۴) اثر سطوح گوناگون پروبیوتیک کلوستات بر عملکرد و ایمنی جوجه های گوشتی تحت تنش گرمایی در دورهٔ پایانی. تولیدات دامی. ۱۷(۲): ۲۹۱-۳۰۰.

شمس شرق، م.، و خسروی، ع.، (۱۳۹۰). افزوودنی‌های خوراکی در تغذیه طیور. چاپ اول. دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ص ص: ۱۵-۱۳۰.

کریمی ترشیزی، م. ا.، سیفی، ک.، رحیمی، ش. و یوسفیان، س. (۱۳۹۲). بررسی کارآیی پروبیوتیک بر عملکرد رشد بلدرچین ژاپنی. همایش ملی دام و طیور، ۱۲ اردیبهشت ۱۳۹۲، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ص. ۷۶۹-۷۷۲.

لطفی، ح.، حجازی، م. ا.، ملکی زنجانی، ب.، و برزگری، ا. (۱۳۸۹) جداسازی، شناسایی بیوشیمیایی و مولکولی باکتریهای با پتانسیل پروبیوتیکی از محصولات لبنی سنتی مناطق هریس و سراب. مجله پژوهش‌های صنایع غذایی. ۳: ۲۰.

عبدی نژاد، م. (۱۳۹۵). روش‌های مقابله با پرنده زنبورخوار (سبزقبا). انتشارات موسسه محیط زیستی سرزمین ایده آل ما.

مظفری قله جوق، م.، گلیان، ا.، و کرمانشاهی، ح. (۱۳۹۲) اثر پروبیوتیک پدیوکوکوس‌اسیدی‌لاکتیسی بر عملکرد، قابلیت هضم مواد مغذی، بافت‌شناسی و فلور میکروبی روده در جوجه‌های گوشتی. پایان نامه دانشگاه فردوسی مشهد.

Ahmad, I. (2006). Effect of probiotics on broilers performance. International Journal of Poultry Science. 5: 593-597.

Aviagen. (2009). Ross 308 broiler management guide.Aavailable at www.aviagen.com

Axelsson, L. (1998). Lactic acid bacteria: classification and physiology. In: Salminen, S. and VonWright, A., eds. Lactic acid bacteria: microbiology and functional aspects. 2nd edition. New York. Marcel Dekker Inc. pp 1-72.

Ayasan, T., and Okan, F. (2001). The effect of a diet with different probiotic (Protexin) levels on the fattening performance and carcass characteristics of Japanese quails. Proceedings of XVth European Symposium on the Quality of Poultry Meat. pp: 169-174. Kuþadasi, Turkey.

Chichlowski, M., Croom, W.J., Edens, F.W., MacBride, B.W., Qiu, R., Chiang, C.C., Daniel, L.R., Havenstein, G.B. and Koci M.D. (2007) Microarchitecture and spatial relationship between bacteria and ileal, cecal and colonic epithelium in chicks fed a direct-fed microbial, PrimaLac, and salinomycin. Poultry Science. 86: 1121-1132.

Dhama, K., Tiwari, R., Khan, R.U., Chakraborty, S., Gopi, M., Karthik, K., Saminathan, M., Desingu, P.A., and Sunkara, L.T. (2014). Growth promoters and novel feed additives improving poultry production and health, bioactive principles and beneficial applications: The Trends and Advances-a Review. International Journal of Pharmacology. 10: 129-159.

Ferket, P.R. (2002). Use of oliosacccharidies and gut modifiers as replacements for dielary antibiotics. Proceeding 63rd Minnesota nutrition Conference, Septembr 17-18, Eagan, MN, pp 169-182.

Fuller, R. (1977). The importance of Lactobacilli in maintaining normal microbial balance in the crop. British Poultry Science. 1: 85-94.

Gill, H., Rutherfurd, G. and Cross, M. (2001). Dietary probiotic supplementation enhances natural killer cell activity in the elderly. Journal of Clinical Immunology. 21(4):264- 271.

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. International Journal of Poultry Science. 5:62.

Haghighi, H.R., Gong, J., Gyles, C.L., Hayes, M.A., Sanei, B., Parvizi, P., Gisavi, H., Chambers, J.R. and Sharif. S. (2005). Modulation of antibody-mediated immune response by probiotics in chickens. Clinical Diagnostic Laboratory Immunology. 12: 1387–1392.

Jin, L. Z., Abdullah, N. and Jalaleldin, S. (1998). Growth performance, intestinal microbial population and serum cholesterol of broilers diets containing Lactobacillus cultures. Poultry Science, 77: 1259-1265.

Macfaddin, (1985). Media for isolation-cutivaton- indentification- maintenance bacteria, vol.1. willwams and wilkins, Baltiore, MD.

Mountzouris KC, Tsitrsikos P, Palamidi I, Arvaniti A, Mohnl M, Schatzmayr G and Fegeros K (2010). Effects of probiotic inclusion levels in broiler nutrition on growth performance, nutrient digestibility, plasma immunoglobulins, and cecal microflora composition. Poultry Science. 89: 58-67.

Nelson, N.A., Lakshmanan, N., Lamoni, S.J. (1995). Sheep red blood cell and Brucella abortus antibody responses in chickens selected for multitrait immunocompetence. Poultry Science. 74: 1603-1609

Panda, A. K. Reddy, M.R., RamaRao, S.V., Raju. M.V.L.N., and Paraharaj, N.K. (2000). Growth, carcass characteristics, immunocompetence and response to Escherchia coli on broiler fed diets with various level of probiotic .Archive fur. Geflugelqunde. 64: 152-156.

SAS institute, (2003), SAS/STAT®, user's guide, release 9.1 edition, SAS institute Inc, cary, NC.

Sharifi, S.D., Dibamehr, A., Lotfollahian, H. and Baurhoo, B. (2012). Effects of flavomycin and probiotic supplementation to diets containing different sources of fat on growth performance, intestinal morphology, apparent metabolizable energy, and fat digestibility in broiler chickens. Poultry Science. 91: 918-927.

Saeed, A.K., Mohamad, S.N., and Ashraf, A.K. (2005). Selective isolation of multi drug resistant Enterococcus spp. From poultry and dairy farms: Detection of virulence and vancomycin resistance gene markers by PCR. Molecular Cellular Probes. 19: 27-34.

Strompfova, V., Marcinakova, M., Gancarcikova, S., Jonecova, Z., Scirankova, L., Guba, P., Koscova, J., Boldizarova, K., and Laukova, A. (2005). New probiotic strain Lactobacillus fermentum AD1 and its effect in Japanese quail. Veterinary Medicina,(Czech). 50(9): 415–420.

Vahdatpour, T., Nikpiran, H., Babazadeh, D., Vahdatpour, S. and Jafargholipour, M.A. (2011). Effects of Protexin, Fermacto and combination of them on blood enzymes and performance of Japanese quails (Coturnix Japonica). Annals of Biological Research. 2(3): 283-291.