



The effect of adding Galangal powder and probiotics on carcass characteristics, blood cells, caecal bacteria population and ileum morphology of Japanese quail under heat stress conditions

Maryam Mahmoodinejad¹ | Bahram Shohreh² | Zarbakh Ansari Pirsaraei³ | Soheil Yousefi⁴

1. Department of Animal Science, Faculty of Animal Sciences and Fisheries, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran. E-mail: m.mahmoudinejad@stu.sanru.ac.ir
2. Department of Animal Science, Faculty of Animal Sciences and Fisheries, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran. E-mail: b.shohreh@sanru.ac.ir
3. Corresponding Author, Department of Animal Science, Faculty of Animal Sciences and Fisheries, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran. E-mail: z.ansari@sanru.ac.ir
4. Department of Animal Science, Faculty of Animal Sciences and Fisheries, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran. E-mail: s.yousefi@sanru.ac.ir

Article Info

Article type:
Research Article

Article history:

Received 10 November 2024
Received in revised form
13 February 2025
Accepted 14 February 2025
Published online 4 May 2025

Keywords:

Antibiotic
Antioxidant
Coliform
Medicinal plants

ABSTRACT

Objective: The use of probiotics and medicinal plants as growth promoters and alternatives to antibiotics in the diet of broiler chickens leads to the prevention of the the growth of harmful intestinal bacteria, including coliforms, increased resistance to pathogens, promotes the synthesis of antioxidants and antibacterials, stimulates local immunity, and improves immune system function. Therefore, this study aimed to investigate the effect of adding sea galangal (*Alpinia officinarum*) powder and probiotics on growth performance, carcass characteristics, blood cell population, caecal bacterial population, and ileum tissue morphology of Japanese quail under heat stress conditions

Materials and Methods: The experiment was conducted using 480 quail chicks in a completely randomized design with 24 experimental units, six treatments, and four replications. Experimental treatments included: 1- Control (basal diet without galangal powder or probiotics); 2- Basal diet with 50 mg of galangal powder; 3- Basal diet with 100 mg of galangal powder; 4- Basal diet with 50 mg of galangal powder+ 0.2 g/kg lactofeed probiotic; 5- Basal diet with 100 mg of galangal powder+ 0.2 g/kg lactofeed probiotic; 6- Basal diet with 0.2 g/kg lactofeed probiotic only. Performance traits (weight gain, feed intake, and feed conversion ratio) of quail chicks were evaluated at 10, 20, and 35 days of age and over the whole period. Carcass characteristics, blood cells, caecal bacterial populations, and ileum tissue morphology were also assessed.

Results: The use of galangal powder and probiotics significantly improved feed intake and feed conversion ratio under heat stress conditions. Carcass yield was higher in quail that received galangal powder + probiotics ($P<0.05$). The heterophil level and heterophil-to-lymphocyte ratio and lymphocytes count in quail fed diets containing galangal powder and probiotics were lower than in the control group under heat stress conditions ($P<0.05$). The population of lactic acid bacteria in the cecum of birds fed diets containing galangal powder and probiotics was higher than in other treatments ($P<0.05$). Under heat stress conditions, the total bacterial population and the population of cecum coliforms were higher in the control treatment than in other experimental groups. Villus height, crypt thickness, and the villus height-to-crypt depth ratio in the ileum tissue were higher in birds fed 50 mg of galangal powder+ 0.2 g/kg probiotic than in the control treatment under heat stress conditions ($P<0.05$); while the highest crypt depth was observed in birds fed the control treatment. The parameters of crypt diameter, inner and outer muscle layer thickness of ileum tissue were not affected by any of the experimental treatments under heat stress conditions.

Conclusions: In conclusion, adding 50 mg of sea galangal powder + 0.2 g/kg lactofeed probiotics to the basal diet under heat stress conditions significantly improved carcass yield, caecal bacteria population, blood cell counts, and ileum tissue morphology of Japanese quail.

Cite this article: Mahmoodinejad, M., Shohreh, B., Ansari Pirsaraei, Z., & Yousefi, S. (2025). The effect of adding Galangal powder and probiotics on carcass characteristics, blood cells, caecal bacteria population and ileum morphology of Japanese quail under heat stress conditions. *Journal of Animal Production*, 27 (1), 57-69.
DOI: <https://doi.org/10.22059/jap.2025.385108.623814>



© The Author(s).

DOI: <https://doi.org/10.22059/jap.2025.385108.623814>

Publisher: University of Tehran Press.



تأثیر افزودن پودر خولنجان و پروبیوتیک بر ویژگی‌های لاشه، سلول‌های خونی، جمعیت باکتری‌های روده کور و مورفولوژی ایلئوم بلدرچین ژاپنی در شرایط تنش گرمایی

مریم محمودی‌نژاد^۱ | بهرام شهره^۲ | زربخت انصاری پیرسرائی^۳ | سهیل یوسفی^۴

۱. گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران. رایانامه: m.mahmoudinejad@stu.sanru.ac.ir
 ۲. گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران. رایانامه: b.shohreh@sanru.ac.ir
 ۳. نویسنده مسئول، گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران. رایانامه: z.ansari@sanru.ac.ir
 ۴. گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران. رایانامه: s.yousefi@sanru.ac.ir

اطلاعات مقاله

چکیده

نوع مقاله: مقاله پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۸/۲۰
 تاریخ بازنگری: ۱۴۰۳/۱۱/۲۵
 تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۱/۲۶
 تاریخ انتشار: ۱۴۰۴/۰۲/۱۴

هدف: استفاده از پروبیوتیک‌ها و گیاهان دارویی به‌عنوان محرک رشد و جایگزین آنتی‌بیوتیک‌ها در جیره جوجه‌های گوشتی منجر به جلوگیری از رشد باکتری‌های مضر روده از جمله کلی‌فرم‌ها، افزایش مقاومت در برابر عوامل بیماری‌زا، سنتز آنتی‌اکسیدان‌ها و آنتی‌باکتریال‌ها، تحریک ایمنی موضعی، بهبود عملکرد سیستم ایمنی می‌شود. لذا این تحقیق با هدف بررسی اثر افزودن پودر خولنجان و پروبیوتیک‌ها بر عملکرد رشد، ویژگی‌های لاشه، جمعیت سلول‌های خونی، جمعیت باکتری‌های سکوم و مورفولوژی بافت ایلئوم بلدرچین ژاپنی در شرایط تنش گرمایی انجام شد.

روش پژوهش: مطالعه حاضر با استفاده از ۴۸۰ قطعه جوجه بلدرچین یک‌روزه در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۲۰ واحد آزمایشی با شش تیمار و چهار تکرار انجام گرفت. تیمارهای آزمایشی شامل ۱- شاهد (جیره پایه بدون پودر خولنجان و پروبیوتیک)؛ ۲- جیره پایه به‌همراه ۵۰ میلی‌گرم پودر خولنجان؛ ۳- جیره پایه به‌همراه ۱۰۰ میلی‌گرم پودر خولنجان؛ ۴- جیره پایه به‌همراه ۵۰ میلی‌گرم پودر خولنجان + ۰/۲ گرم بر کیلوگرم پروبیوتیک لاکتوفید؛ ۵- جیره پایه به‌همراه ۱۰۰ میلی‌گرم پودر خولنجان + ۰/۲ گرم بر کیلوگرم پروبیوتیک لاکتوفید؛ ۶- جیره پایه به‌همراه ۰/۲ گرم بر کیلوگرم پروبیوتیک لاکتوفید بود. صفات عملکردی (افزایش وزن، مصرف خوراک و ضریب تبدیل خوراک) جوجه‌های بلدرچین در کل دوره آزمایش موردبررسی قرار گرفت. ویژگی‌های لاشه، سلول‌های خونی، جمعیت باکتری‌های روده کور و مورفولوژی ایلئوم موردبررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: استفاده از پودر خولنجان و پروبیوتیک باعث بهبود خوراک مصرفی و ضریب تبدیل خوراک در شرایط تنش گرمایی شد. بازده لاشه در جوجه‌هایی که پودر خولنجان + پروبیوتیک دریافت کردند بیش‌تر بود ($P < 0.05$). مقدار هتروفیل و نسبت هتروفیل به لنفوسیت و مقدار لنفوسیت‌ها در بلدرچین‌های تغذیه‌شده با جیره‌های حاوی پودر خولنجان و پروبیوتیک کم‌تر از گروه شاهد در شرایط تنش گرمایی بود ($P < 0.05$). جمعیت باکتری‌های اسیدلاکتیک روده کور پرنده‌گانی که با جیره حاوی پودر خولنجان و پروبیوتیک تغذیه شدند، بیش‌تر از سایر تیمارها بود ($P < 0.05$). در شرایط تنش گرمایی جمعیت کل باکتری و جمعیت کلی‌فرم روده کور در تیمار شاهد نسبت به سایر گروه‌های آزمایشی بالاتر بود. ارتفاع پرز، ضخامت کریپت و ارتفاع پرز به عمق کریپت بافت ایلئوم در پرنده‌گان تغذیه‌شده با ۵۰ میلی‌گرم پودر خولنجان + ۰/۲ گرم بر کیلوگرم پروبیوتیک نسبت به تیمار شاهد در شرایط تنش گرمایی بالاتر بود ($P < 0.05$). درحالی‌که بیش‌ترین عمق کریپت در پرنده‌گان تغذیه‌شده با تیمار شاهد مشاهده شد. فراسنجه‌های قطر کریپت، ضخامت لایه عضلانی داخلی و خارجی بافت ایلئوم در شرایط تنش گرمایی تحت تأثیر هیچ‌کدام از تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت.

نتیجه‌گیری: براساس نتایج این پژوهش، استفاده از سطح ۵۰ میلی‌گرم پودر خولنجان + ۰/۲ گرم بر کیلوگرم پروبیوتیک لاکتوفید در شرایط تنش گرمایی باعث بهبود بازده لاشه، جمعیت باکتری‌های روده کور، سلول‌های خونی و مورفولوژی ایلئوم بلدرچین ژاپنی شد.

کلیدواژه‌ها:

آنتی‌اکسیدان
 آنتی‌بیوتیک
 کلی‌فرم
 گیاهان دارویی

استناد: محمودی‌نژاد، مریم؛ شهره، بهرام؛ انصاری پیرسرائی، زربخت و یوسفی، سهیل (۱۴۰۴). تأثیر افزودن پودر خولنجان و پروبیوتیک بر ویژگی‌های لاشه، سلول‌های خونی، جمعیت باکتری‌های روده کور و مورفولوژی ایلئوم بلدرچین ژاپنی در شرایط تنش گرمایی. *نشریه تولیدات دامی*، ۲۷ (۱)، ۵۷-۶۹.
 DOI: <https://doi.org/10.22059/jap.2025.385108.623814>



۱. مقدمه

شوک ناشی از تنش گرمایی در پرندگان یک معضل مهم و و منبع نگران‌کننده‌ای برای اقتصاد در صنعت طیور است. پرندگان تحت استرس گرمایی عملکرد رشد، شاخص‌های تولید، متابولیسم، ایمنی، رفتار، آسایش و پاسخ‌های فیزیولوژیکی ناکارآمدتری دارند (Oladokun et al., 2023). تنش گرمایی موجب تولید رادیکال‌های آزاد، عدم تعادل آنتی‌اکسیدانی بدن و در نهایت سبب بروز استرس اکسیداتیو در طیور می‌شود (Oladokun et al., 2023). استفاده از آنتی‌بیوتیک‌های محرک رشد باعث ایجاد دو مشکل اساسی در سلامتی می‌شود که شامل باقی‌مانده‌های آنتی‌بیوتیکی در بافت‌های بدن و فرآورده‌های دامی و مقاومت باکتری‌های بیماری‌زا به آنتی‌بیوتیک است، پژوهش‌های زیادی برای پیدا کردن جایگزین‌های مناسب برای این نوع آنتی‌بیوتیک‌ها انجام شده است که بتوانند نتایج مشابهی در بهبود رشد و راندمان خوراک داشته باشند (Hafeez et al., 2015). پس از ممنوع‌شدن استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها به‌عنوان محرک رشد در صنعت پرورش طیور، اتحادیه اروپا در سال ۲۰۰۶ به مواد غیر آنتی‌بیوتیکی با توان محرک رشد شامل اسیدهای آلی، پروبیوتیک‌ها و گیاهان دارویی توجه بیش‌تری کرده است (Hafeez et al., 2015).

ترکیبات فیتوژنیک با فعالیت آنتی‌اکسیدانی مانند پلی‌فنول‌ها که متابولیت ثانویه حیاتی موجود در گیاهان هستند، می‌توانند به کنترل استرس حرارتی در طیور کمک کنند (Elghalid et al., 2021). پروبیوتیک‌ها به‌عنوان یک جایگزین امیدوارکننده برای آنتی‌بیوتیک‌ها در صنعت طیور ظاهر شده‌اند و نه‌تنها نرخ رشد را افزایش می‌دهند، بلکه باعث کاهش بروز بیماری‌های دام و طیور می‌شوند (Nadhifah et al., 2020). علاوه بر این، آن‌ها اثرات مہاری بر عوامل بیماری‌زای موجود در خوراک را نشان می‌دهند و به بهبود میکروبیوتای روده طیور کمک می‌کنند (Nadhifah et al., 2020). امروزه پروبیوتیک‌های تجاری متعددی در صنعت پرورش طیور استفاده می‌شوند از جمله پروبیوتیک تجاری لاکتوفید حاوی انواع باکتری‌های تولیدکننده اسیدلاکتیک بوده که از جمله میکروارگانیسم‌های طبیعی موجود در دستگاه گوارش دام و طیور محسوب می‌شوند.

گیاه خولنجان با نام علمی *Alpinia officinarum* که به‌عنوان گالانگال نیز شناخته می‌شود یکی از اصلی‌ترین جنس‌های شناخته‌شده خانواده زنجبیلیان می‌باشد (Menne et al., 2024). خولنجان به‌دلیل وجود پلی‌فنل‌ها، آنتوسیانین، گلیکوزیدها و تیوکاربامات‌ها، ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی را داراست که رادیکال‌های آزاد را خنثی می‌کنند و بهبود وضعیت سلامت طیور تحت شرایط تنش گرمایی را تسهیل می‌کند (Elghalid et al., 2021; Menne et al., 2024).

مطالعه وحدت‌پور (۱۳۹۷) نشان داد که افزودن پروبیوتیک‌های پروتوکسین و فرماکتو به جیره بلدرچین ژاپنی، موجب بهبود افزایش وزن و ضریب تبدیل غذایی می‌شود. همچنین در تحقیقی تأثیر زنجبیل و پروبیوتیک بر عملکرد، پاسخ ایمنی هومورال و جمعیت میکروبی روده بلدرچین موردبررسی قرار گرفت و نتایج نشان داد که پروبیوتیک بر افزایش وزن بدن، مصرف خوراک و بهبود ضریب تبدیل جوجه بلدرچین‌های ژاپنی مؤثر بوده است (Pourtaheri et al., 2017). در پژوهشی نشان داده شده است که افزودن ترکیبات موجود در ریزوم خولنجان آنزیم‌های گوارشی مانند گلوکاز، اکسیداز، کاتالاز و پراکسیداز را تحریک می‌کند که گوارش را تسهیل می‌کند و در نهایت وزن بدن را افزایش می‌دهد (Elghalid et al., 2021). Abdel-Azeem & Basyony (2019) سطوح مختلف عصاره ریزوم خولنجان را بر روی بیوشیمی خون، بیومارکرهای آنتی‌اکسیدانی، پراکسیداسیون لیپیدی، عملکرد تولیدی و صفات لاشه جوجه‌های گوشتی در طول تنش گرمایی یا فصل تابستان مورد مطالعه قرار دادند. نتایج نشان داد مصرف خولنجان کم‌ترین تلفات همراه با بهترین ضریب تبدیل خوراک و افزایش وزن بدن را نشان داد. این نتایج مثبت، نشان دهنده این است که افزودن عصاره خولنجان به خوراک جوجه‌های گوشتی، به کاهش اثرات نامطلوب استرس گرمایی در این جوجه‌ها کمک می‌کند. Elghalid et al. (۲۰۲۱) نشان دادند اضافه کردن خولنجان به جیره مرغ‌های گوشتی باعث افزایش قابل توجه وزن بدن در شش هفته شد.

با توجه به موارد فوق و این که هر دو افزودنی پروبیوتیک و گیاه دارویی خولنجان می‌توانند به عنوان ابزاری برای تقویت سیستم آنتی اکسیدانی، سیستم ایمنی، بهبود جمعیت میکروبی روده و عملکرد رشد به کار روند، فرضیه ما این بود که مصرف پودر خولنجان به همراه پروبیوتیک بتواند سبب بروز اثرات هم افزایی بین این دو ماده شده و در نتیجه باعث بهبود عملکرد، جمعیت میکروبی و مورفولوژی روده در بلدرچین تحت شرایط تنش گرمایی شود. لذا در این پژوهش تأثیر افزودن پودر خولنجان و پروبیوتیک بر ویژگی‌های لاشه، جمعیت سلول خونی، جمعیت باکتری‌های روده کور و بافت مرفولوژی ایلئوم بلدرچین ژاپنی در شرایط تنش گرمایی بررسی شد.

۲. روش پژوهش

برای انجام این پژوهش، ریزوم خولنجان به مقدار مورد نیاز از شرکت زرین گیاهینه اصفهان خریداری شد و در ادامه جهت اجرای طرح پروبیوتیک لاکتوفید از شرکت تک ژن تهیه شد. مطالعه حاضر در زمستان ۱۴۰۲، به مدت ۳۵ روز در سالن تحقیقات پرورش طیور گروه علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری انجام شد. آزمایش با استفاده از ۴۸۰ قطعه جوجه بلدرچین یک روزه در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۲۰ واحد آزمایشی با شش تیمار و چهار تکرار انجام شد. جوجه‌ها از روز یازدهم به طور تصادفی بین یکی از شش تیمار آزمایشی شامل ۱- جیره پایه بدون ماده افزودنی، ۲- جیره پایه به اضافه ۵۰ میلی گرم پودر خولنجان در هر کیلوگرم دان، ۳- جیره پایه به اضافه ۱۰۰ میلی گرم پودر خولنجان در هر کیلوگرم دان، ۴- جیره پایه به اضافه ۵۰ میلی گرم پودر خولنجان در هر کیلوگرم دان به اضافه ۰/۲ گرم بر کیلوگرم پروبیوتیک لاکتوفید، ۵- جیره پایه به اضافه ۱۰۰ میلی گرم پودر خولنجان در هر کیلوگرم دان به اضافه ۰/۲ گرم بر کیلوگرم پروبیوتیک لاکتوفید، ۶- جیره پایه به اضافه ۰/۲ گرم بر کیلوگرم پروبیوتیک لاکتوفید توزیع شدند. اجزا و ترکیبات جیره‌های آزمایشی در طول دوره پرورش با توجه به احتیاجات مواد مغذی توصیه شده بلدرچین NRC (1994) و نرم افزار جیره نویسی UFFDA تنظیم شدند، ترکیب جیره پایه در جدول (۱) نشان داده شده است.

جدول ۱. اجزا و ترکیب شیمیایی جیره پایه

مقدار	ترکیب شیمیایی مواد مغذی (درصد)	درصد	اجزا و ترکیبات
۲۹۰۰/۰۰	انرژی قابل متابولیسم (کیلوکالری در کیلوگرم)	۴۷/۷۲	ذرت
۲۴/۰۱	پروتئین خام (درصد)	۳۵/۳۰	کنجاله سویا
۱/۲۷	لیزین (درصد)	۷/۰۲	گلوتن ذرت
۰/۵۰	متیونین (درصد)	۱/۲۴	روغن سویا
۰/۸۱	متیونین + سیستین (درصد)	۰/۸۱	کربنات کلسیم
۰/۳۱	فسفر قابل دسترس (درصد)	۱/۳۱	دی کلسیم فسفات
۰/۸۱	کلسیم (درصد)	۰/۲۶	نمک
۰/۱۵	سدیم (درصد)	۰/۲۵	مکمل ویتامینی*
		۰/۲۵	مکمل معدنی**
		۰/۳۱	جوش شیرین
		۰/۱۷	دی ال-متیونین
		۰/۱۳	ال-لیزین هیدروکلراید
		۰/۲۰	ال-ترئونین

* مکمل ویتامینی (به ازای هر کیلوگرم جیره) حاوی ۹۰۰۰ واحد بین المللی ویتامین A، ۲۰۰۰ واحد بین المللی ویتامین D3، ۲۰ واحد بین المللی ویتامین E سه میلی گرم ویتامین K (منادیون)، ۰/۰۱۶ میلی گرم ویتامین B12، ۰/۰۱۶ میلی گرم بیوتین، یک میلی گرم فولاسین، ۲۵ میلی گرم اسید پانتوتیک، ۳۰ میلی گرم نیاسین، ۲/۸ میلی گرم پیریدوکسین، ۶/۶ میلی گرم ریبوفلاوین، ۱/۷ میلی گرم تیامین بود.

** مکمل معدنی (به ازای هر کیلوگرم جیره) حاوی ۱۲ میلی گرم مس، ۱/۰۰ میلی گرم ید، ۴۰ میلی گرم آهن، ۱۰۰ میلی گرم منگنز، ۰/۳ میلی گرم سلنیوم و ۶۰ میلی گرم روی و ۸۵ میلی گرم کوبین بود.

در تمام ۳۵ روز آزمایش، پرندگان به‌طور آزاد به آب و خوراک دسترسی داشتند. برای ایجاد تنش گرمایی، از سن ۲۱ تا ۳۵ روزگی، تمام جوجه‌ها به‌مدت هشت ساعت در شبانه روز از ساعت ۸ صبح تا پنج بعدازظهر در معرض دمای $38 \pm 1/00$ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. در انتهای دوره پرورش (سن ۳۵ روزگی) از هر تکرار، یک پرنده (جنس نر) با رعایت وزنی حدود میانگین وزن همان تکرار انتخاب و پس از نصب پلاک روی پای پرنده، برای کشتار به کشتارگاه ایستگاه آموزشی و پژوهشی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری منتقل و پس از کشتار و پرکنی، تفکیک لاشه انجام شد. بازده لاشه، سینه، ران کامل، کبد، طحال، قلب و بورس فابریوس به‌صورت مجزا وزن شدند تا اثر تیمارهای آزمایشی روی آن‌ها مشخص شود. سپس وزن هرکدام از این بخش‌ها نسبت به وزن زنده سنجیده و به این صورت وزن نسبی آن‌ها تعیین گردید. همچنین، در انتهای دوره، یک قطعه پرنده با رعایت وزنی معادل میانگین وزن همان تکرار انتخاب و $0/5$ میلی‌لیتر خون از ورید بال هر پرنده گرفته و با استفاده از کیت‌های آزمایشگاهی، شاخص‌های سیستم ایمنی مانند تعداد هتروفیل و لنفوسیت، نسبت هتروفیل به لنفوسیت قبل و بعد از اعمال تنش گرمایی اندازه‌گیری شد.

در سن ۳۵ روزگی از هر تکرار یک پرنده (جنس نر) با وزن نزدیک به میانگین انتخاب و پس از کشتار، دستگاه گوارش خارج و پس از جداکردن قسمت انتهایی روده کور محتویات آن تخلیه شد و بلافاصله مورد آزمایش قرار گرفتند. برای رقیق کردن نمونه‌ها از روش رقیق کردن پی در پی به نسبت یک به ۱۰ در محلول استریل بافر فسفات سالین استفاده شد، بدین ترتیب که یک گرم ماده دفعی به ۸ میلی‌لیتر بافر اضافه گردید (رقت ۱-) یک میلی‌لیتر از رقت ۱- را برداشته و به ۸ میلی‌لیتر بافر اضافه شد (رقت ۲)، بدین ترتیب سری رقت تا ۹- تهیه شد. پس از رقیق‌سازی ۱۰۰ میکرولیتر از رقت هر نمونه بر روی محیط کشت‌های آماده‌شده قرار گرفت. برای شمارش باکتری‌های تولیدکننده اسیدلاکتیک از محیط کشت MRS agar آگار (ساخت شرکت QUELAB)، شمارش باکتری‌های اشریشیاکلی از محیط کشت اختصاصی اشریشیاکلی EMB (ساخت شرکت CONDALAB) و برای شمارش جمعیت کل میکروبی از محیط کشت Nutrient agar (ساخت شرکت HIMEDIA) استفاده شد. تمام اعمال کشت زیر هود و در حضور شعله انجام گرفت. در نهایت انکوباسیون باکتری‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲۴ ساعت انجام گردید. پس از شمارش تعداد کلنی‌ها در هر پلیت، با استفاده از دستگاه کلنی کانتر عدد حاصل در عکس رقت ضرب و سپس لگاریتم آن‌ها محاسبه تا لگاریتم تعداد کلنی در واحد وزن ($\log_{10} \text{cfu/g}$) به‌دست آمده مورد آنالیز قرار بگیرد. به‌منظور بررسی ریخت‌شناسی بافت ایلئوم روده باریک بلدرچین‌های ژاپنی در سن ۳۵ روزگی، قطعات دو سانتی‌متری از ایلئوم پرندگان کشتار شده (یک قطعه از هر تکرار) جدا شد. نمونه‌ها پس از شست‌وشو با محلول بافر فسفات سالین در داخل ظروف پلاستیکی حاوی فرمالین ۱۰ درصد تثبیت شدند. سپس فراسنجه‌های ریخت‌شناسی نظیر ارتفاع و ضخامت پرزها، قطر و عمق کریپت و ضخامت لایه عضلانی داخلی و خارجی اندازه‌گیری شد.

داده‌های حاصل با استفاده از رویه GLM نرم‌افزار آماری SAS (نسخه ۹/۱) برای رابطه (۱) تجزیه و میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح معنی‌داری پنج درصد مقایسه شدند.

$$Y_{ij} = \mu + A_j + e_{ij} \quad \text{رابطه (۱)}$$

در این رابطه، Y_{ij} مقدار مشاهده‌شده برای یک متغیر مشخص؛ μ ، میانگین کل؛ A_j ، اثر سطح j ام تیمار A و e_{ij} ، خطای آزمایش بود.

۳. یافته‌های پژوهش

نتایج مربوط به مصرف خوراک، وزن بدن و ضریب تبدیل خوراک در بلدرچین‌های تغذیه‌شده با پودر خولنجان و

پروبیوتیک در جدول (۲) گزارش شده است. نتایج نشان می‌دهد در شرایط تنش گرمایی فراسنجه وزن بدن تحت تأثیر پودر خولنجان و پروبیوتیک قرار نگیرد فراسنجه مصرف خوراک تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت ($P < 0.05$)، به‌طوری‌که در شرایط تنش گرمایی استفاده همزمان از سطح ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم پودر خولنجان با ۰/۲ گرم بر کیلوگرم پروبیوتیک، باعث کاهش مصرف خوراک از تیمار شاهد شد ($P < 0.05$). فراسنجه ضریب تبدیل خوراک تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت ($P < 0.05$). به‌طوری‌که ضریب تبدیل غذایی در پرندگانی که با جیره شاهد تغذیه شدند، در مقایسه با پرندگانی که با جیره پایه به‌همراه ۵۰ میلی‌گرم پودر خولنجان + ۰/۲ گرم بر کیلوگرم پروبیوتیک لاکتوفید و جیره پایه به‌همراه ۱۰۰ میلی‌گرم پودر خولنجان + ۰/۲ گرم بر کیلوگرم پروبیوتیک لاکتوفید تغذیه شدند بالاتر بود.

جدول ۲. تأثیر پودر خولنجان و پروبیوتیک بر افزایش وزن بدن (گرم)، مصرف خوراک (گرم)، ضریب تبدیل خوراک بلدرچین

P value	SEM	تیمارهای آزمایشی *						فراسنجه
		۶	۵	۴	۳	۲	۱	
۰/۳۷۱	۱/۶۳	۲۳۷/۱	۲۳۸/۴	۲۴۰/۰	۲۳۲/۵	۲۳۴/۳	۲۲۹/۲	افزایش وزن
۰/۰۴۸	۲/۳۹	۶۷۰/۳ ^{ab}	۶۶۸/۳ ^b	۶۶۸/۵ ^b	۶۷۵/۴ ^{ab}	۶۷۳/۵ ^{ab}	۶۸۱/۳ ^a	مصرف خوراک
۰/۰۰۷	۰/۰۲	۲/۸ ^{ab}	۲/۸ ^b	۲/۷ ^b	۲/۹ ^{ab}	۲/۸ ^{ab}	۲/۹ ^a	ضریب تبدیل غذایی

a-b: تفاوت میانگین‌ها با حروف غیر مشابه در هر ردیف معنی‌دار است ($P < 0.05$).

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها.

* تیمارهای آزمایشی شامل ۱- شاهد (بدون پودر خولنجان و پروبیوتیک، تغذیه با جیره پایه)؛ ۲- جیره پایه به‌همراه ۵۰ میلی‌گرم پودر خولنجان؛ ۳- جیره پایه به‌همراه ۱۰۰ میلی‌گرم پودر خولنجان؛ ۴- جیره پایه به‌همراه ۵۰ میلی‌گرم پودر خولنجان + ۰/۲ گرم بر کیلوگرم پروبیوتیک لاکتوفید؛ ۵- جیره پایه به‌همراه ۱۰۰ میلی‌گرم پودر خولنجان + ۰/۲ گرم بر کیلوگرم پروبیوتیک لاکتوفید؛ ۶- جیره پایه به‌همراه ۰/۲ گرم بر کیلوگرم پروبیوتیک لاکتوفید بود.

نتایج آزمایش مربوط به تأثیر پودر خولنجان و پروبیوتیک بر بازده لاشه و وزن نسبی اندام‌های داخلی بلدرچین ژاپنی در جدول (۳) گزارش شده است. در شرایط تنش گرمایی فراسنجه بازده لاشه تحت تأثیر پودر خولنجان و پروبیوتیک قرار گرفت ($P < 0.05$)، به‌طوری‌که گروه‌های آزمایشی چهار، پنج و شش باعث افزایش معنی‌داری در بازده لاشه نسبت به تیمار شاهد شد (جدول ۳). در شرایط تنش گرمایی فراسنجه وزن سینه و ران تحت تأثیر گروه‌های آزمایشی قرار نگیرد و همچنین سایر فراسنجه‌های اندام‌های داخلی تحت تأثیر پودر خولنجان و پروبیوتیک قرار نگیرد.

جدول ۳. تأثیر پودر خولنجان و پروبیوتیک بر بازده لاشه و وزن نسبی اندام‌های داخلی بلدرچین ژاپنی

P value	SEM	تیمارهای آزمایشی *						فراسنجه
		۶	۵	۴	۳	۲	۱	
۰/۰۳	۲/۹۸	۶۷/۰۰ ^a	۶۸/۲۵ ^a	۶۹/۲۵ ^a	۶۵/۰۰ ^{ab}	۶۶/۲۵ ^{ab}	۶۲/۰۰ ^b	بازده لاشه (درصد)
۰/۳۷	۱/۲۸	۲۴/۸۱	۲۴/۳۹	۲۵/۴۵	۲۴/۲۱	۲۴/۹۱	۲۳/۴۵	سینه (درصد)
۰/۳۶	۰/۸۱	۱۴/۹۵	۱۵/۴۳	۱۴/۸۷	۱۴/۳۷	۱۴/۵۳	۱۴/۲۴	ران (درصد)
۰/۵۰	۰/۰۱	۰/۰۸	۰/۰۹	۰/۱۰	۰/۰۸	۰/۰۹	۰/۰۸	قلب (درصد)
۰/۸۵	۰/۲۳	۲/۵۳	۲/۵۷	۲/۶۳	۲/۴۷	۲/۵۱	۲/۴۲	کبد (درصد)
۰/۹۹	۰/۱۲	۱/۳۵	۱/۳۶	۱/۳۴	۱/۳۵	۱/۳۴	۱/۳۳	چینه دان (درصد)
۱/۰۰	۰/۱۲	۰/۷۹	۰/۷۹	۰/۷۸	۰/۷۹	۰/۷۸	۰/۷۸	طحال (درصد)
۰/۲۰	۰/۰۱	۰/۱۰	۰/۱۱	۰/۰۹	۰/۰۹	۰/۰۹	۰/۰۷	بورس فایروس (درصد)

a-b: تفاوت میانگین‌ها با حروف غیر مشابه در هر ردیف معنی‌دار است ($P < 0.05$).

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها.

* تیمارهای آزمایشی شامل ۱- شاهد (بدون پودر خولنجان و پروبیوتیک، تغذیه با جیره پایه)؛ ۲- جیره پایه به‌همراه ۵۰ میلی‌گرم پودر خولنجان؛ ۳- جیره پایه به‌همراه ۱۰۰ میلی‌گرم پودر خولنجان؛ ۴- جیره پایه به‌همراه ۵۰ میلی‌گرم پودر خولنجان + ۰/۲ گرم بر کیلوگرم پروبیوتیک لاکتوفید؛ ۵- جیره پایه به‌همراه ۱۰۰ میلی‌گرم پودر خولنجان + ۰/۲ گرم بر کیلوگرم پروبیوتیک لاکتوفید؛ ۶- جیره پایه به‌همراه ۰/۲ گرم بر کیلوگرم پروبیوتیک لاکتوفید بود.

اثر پودر خولنجان و پروبیوتیک بر جمعیت سلول‌های خونی در جدول (۴) گزارش شده است. نتایج نشان داد که در ابتدای تنش پودر خولنجان و پروبیوتیک تأثیری روی جمعیت سلول خونی ندارد و در انتهای تنش فراسنجه‌های هتروفیل، لنفوسیت و نسبت هتروفیل به لنفوسیت تحت تأثیر تیماری‌های آزمایشی قرار گرفت ($P < 0.05$)؛ به‌طوری‌که پودر خولنجان و پروبیوتیک باعث افزایش لنفوسیت و کاهش هتروفیل نسبت به تیمار شاهد شد. کاهش هتروفیل و نسبت هتروفیل به لنفوسیت و افزایش لنفوسیت‌ها در پرندگان تغذیه‌شده با جیره‌های حاوی پودر خولنجان و پروبیوتیک نسبت به شاهد در شرایط تنش گرمایی مشاهده شد.

جدول ۴. تأثیر پودر خولنجان و پروبیوتیک بر تعداد (درصد) هتروفیل، لنفوسیت و نسبت هتروفیل به لنفوسیت در بلدرچین ژاپنی

فراسنجه	تیمارهای آزمایشی *							SEM	P value
	۱	۲	۳	۴	۵	۶			
ابتدای تنش									
هتروفیل	۳۵/۲۵	۳۴/۴۷	۳۴/۳۵	۳۴/۸۵	۳۴/۴۲	۳۴/۶۵	۳/۱۸	۰/۹۹۸	
لنفوسیت	۴۹/۳۲	۴۹/۵۰	۵۰/۴۳	۵۱/۹۷	۵۱/۱۸	۵۱/۶۰	۲/۴۳	۰/۵۵۱	
نسبت هتروفیل به لنفوسیت	۰/۷۱۲	۰/۶۹۸	۰/۶۸۰	۰/۶۶۹	۰/۶۷۲	۰/۶۷۲	۰/۰۴	۰/۷۴۰	
انتهای تنش									
هتروفیل	۴۴/۲۷ ^a	۴۰/۲۷ ^b	۴۱/۱۷ ^b	۳۸/۷۱ ^b	۳۸/۴۳ ^b	۳۹/۶۵ ^b	۱/۶۰	۰/۰۰۱	
لنفوسیت	۵۰/۷۰ ^d	۵۶/۵۰ ^c	۵۷/۴۳ ^{bc}	۶۰/۲۷ ^a	۵۹/۲۳ ^{ab}	۵۸/۶۰ ^{abc}	۱/۴۶	۰/۰۰۱	
نسبت هتروفیل به لنفوسیت	۰/۸۷۳ ^a	۰/۷۱۳ ^b	۰/۷۱۶ ^b	۰/۶۴۳ ^c	۰/۶۴۸ ^{bc}	۰/۶۷۶ ^{bc}	۰/۰۳۳	۰/۰۰۱	

a-b: تفاوت میانگین‌ها با حروف غیر مشابه در هر ردیف معنی‌دار است ($P < 0.05$).

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها.

* تیمارهای آزمایشی شامل ۱- شاهد (بدون پودر خولنجان و پروبیوتیک، تغذیه با جیره پایه)؛ ۲- جیره پایه به‌همراه ۵۰ میلی‌گرم پودر خولنجان؛ ۳- جیره پایه به‌همراه ۱۰۰ میلی‌گرم پودر خولنجان؛ ۴- جیره پایه به‌همراه ۵۰ میلی‌گرم پودر خولنجان + ۰/۲ گرم بر کیلوگرم پروبیوتیک لاکتوفید؛ ۵- جیره پایه به‌همراه ۱۰۰ میلی‌گرم پودر خولنجان + ۰/۲ گرم بر کیلوگرم پروبیوتیک لاکتوفید؛ ۶- جیره پایه به‌همراه ۰/۲ گرم بر کیلوگرم پروبیوتیک لاکتوفید بود.

تأثیر پودر خولنجان و پروبیوتیک بر فلور میکروبی روده کور بلدرچین ژاپنی در جدول (۵) گزارش شده است. در شرایط تنش گرمایی پرندگانی که با پودر خولنجان و پروبیوتیک تغذیه شدند، جمعیت باکتری‌های اسیدلاکتیک روده کور افزایش یافت ($P < 0.05$)؛ به‌طوری‌که بالاترین جمعیت باکتری‌های اسیدلاکتیک در گروه آزمایشی چهار و کم‌ترین جمعیت در تیمار شاهد مشاهده شد، بین گروه‌های مصرف‌کننده افزودنی تفاوت معنی‌داری وجود ندارد. در شرایط تنش گرمایی جمعیت کل باکتری و جمعیت کلی‌فرم روده کور در تیمار شاهد نسبت به گروه‌های آزمایشی بالاتر بود (جدول ۵).

جدول ۵. تأثیر پودر خولنجان و پروبیوتیک بر فلور میکروبی روده کور (لگاریتم ۱۰ کلونی/گرم) بلدرچین‌های ژاپنی

فراسنجه	تیمارهای آزمایشی *						SEM	P value
	۱	۲	۳	۴	۵	۶		
جمعیت کل باکتری‌ها	۱۲/۹۵ ^a	۱۲/۰۳ ^{ab}	۱۲/۱۱ ^{ab}	۱۰/۳۵ ^c	۱۰/۲۶ ^c	۱۱/۷۸ ^b	۰/۶۹۳	۰/۰۰۲
جمعیت کلی‌فرم‌ها	۷/۹۷ ^a	۶/۶۳ ^b	۶/۹۴ ^b	۶/۳۴ ^b	۶/۴۶ ^b	۶/۴۳ ^b	۰/۶۸۳	۰/۰۲۹
جمعیت باکتری‌های اسید لاکتیک	۷/۱۳ ^b	۹/۱۶ ^a	۹/۲۰ ^a	۹/۴۴ ^a	۹/۲۹ ^a	۹/۳۳ ^a	۱/۰۴	۰/۰۴۱

میانگین‌های با حروف غیر مشابه در هر ردیف دارای اختلاف معنی‌دار است ($P < 0.05$).

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها.

* تیمارهای آزمایشی شامل ۱- شاهد (بدون پودر خولنجان و پروبیوتیک، تغذیه با جیره پایه)؛ ۲- جیره پایه به‌همراه ۵۰ میلی‌گرم پودر خولنجان؛ ۳- جیره پایه به‌همراه ۱۰۰ میلی‌گرم پودر خولنجان؛ ۴- جیره پایه به‌همراه ۵۰ میلی‌گرم پودر خولنجان + ۰/۲ گرم بر کیلوگرم پروبیوتیک لاکتوفید؛ ۵- جیره پایه به‌همراه ۱۰۰ میلی‌گرم پودر خولنجان + ۰/۲ گرم بر کیلوگرم پروبیوتیک لاکتوفید؛ ۶- جیره پایه به‌همراه ۰/۲ گرم بر کیلوگرم پروبیوتیک لاکتوفید بود.

تأثیر پودر خولنجان و پروبیوتیک بر مورفولوژی بافت ایلتوم بلدرچین‌های ژاپنی در جدول (۶) گزارش شده است. فراسنجه ارتفاع و ضخامت پرز در گروه آزمایشی چهار نسبت به گروه شاهد و گروه آزمایشی دو بالاتر بود ($P < 0.05$). در شرایط تنش گرمایی بالاترین افزایش عمق کریپت در گروه تیمار شاهد مشاهده شد، همچنین پرنده‌گانی که با پودر خولنجان و پروبیوتیک تغذیه شده بودند عمق کریپت نسبت به تیمار شاهد کاهش یافته بود ($P < 0.05$). در شرایط تنش گرمایی فراسنجه‌های ضخامت لایه عضلانی داخلی، خارجی و قطر کریپت تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت.

جدول ۶. تأثیر پودر خولنجان و پروبیوتیک بر مورفولوژی بافت ایلتوم بلدرچین‌های ژاپنی (میکرومتر)

P value	SEM	تیمارهای آزمایشی *						فراسنجه
		۶	۵	۴	۳	۲	۱	
۰/۰۰۲	۱۶/۸۴	۷۶.۰ ^b	۷۶.۵ ^b	۷۸.۴ ^a	۷۵.۸ ^b	۷۲.۲ ^c	۷۲.۳ ^c	ارتفاع پرز
۰/۰۰۱	۵/۳۱	۳۱.۵ ^{ab}	۳۱.۹ ^{ab}	۳۲.۲ ^a	۳۱.۴ ^{ab}	۳۱.۳ ^b	۳۰.۲ ^c	ضخامت پرز
۰/۰۱۵	۷/۴۷	۲۲.۵ ^b	۲۱.۹ ^b	۲۲.۳ ^b	۲۳.۰ ^{ab}	۲۲.۸ ^b	۲۴.۰ ^a	عمق کریپت
۰/۹۶۱	۵/۸۹	۲۲/۵۱	۲۱/۷۱	۱۹/۹۳	۱۹/۲۰	۱۹/۸۹	۲۱/۴۸	قطر کریپت
۰/۰۰۱	۰/۱۱۹	۳/۳۷ ^b	۳/۴۴ ^{ab}	۳/۵۷ ^a	۳/۳۰ ^b	۳/۳۰ ^b	۳/۰۰ ^c	ارتفاع پرز به عمق کریپت
۰/۳۳۰	۳/۰۷	۲۳۹	۲۳۸	۲۴۰	۲۳۸	۲۳۶	۲۳۵	ضخامت لایه عضلانی داخلی
۰/۱۶۱	۴/۶۱	۱۰۷	۱۰۶	۱۰۹	۱۰۴	۱۰۵	۱۰۰	ضخامت لایه عضلانی خارجی

میانگین‌های با حروف غیر مشابه در هر ردیف دارای اختلاف معنی‌دار است ($P < 0.05$).

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها.

* تیمارهای آزمایشی شامل ۱- شاهد (بدون پودر خولنجان و پروبیوتیک، تغذیه با جیره پایه)؛ ۲- جیره پایه به‌همراه ۵۰ میلی‌گرم پودر خولنجان؛ ۳- جیره پایه به‌همراه ۱۰۰ میلی‌گرم پودر خولنجان؛ ۴- جیره پایه به‌همراه ۵۰ میلی‌گرم پودر خولنجان + ۲۰/۲ گرم بر کیلوگرم پروبیوتیک لاکتوفید؛ ۵- جیره پایه به‌همراه ۱۰۰ میلی‌گرم پودر خولنجان + ۲۰/۲ گرم بر کیلوگرم پروبیوتیک لاکتوفید؛ ۶- جیره پایه به‌همراه ۲۰/۲ گرم بر کیلوگرم پروبیوتیک لاکتوفید بود.

۴. بحث

در حال حاضر، افزودنی‌های خوراک گیاهی و پروبیوتیک به‌طور گسترده در برنامه‌های تغذیه طیور استفاده و اثر آن‌ها مورد بررسی قرار گرفته است. بسیاری از افزودنی‌های گیاهی و پروبیوتیک بهبود عملکرد رشد، هضم مواد مغذی، کارایی تغذیه و سلامت روده در مرغ‌ها را نشان داده‌اند (Abd El-Hack et al., 2020؛ محمدی ساعی و همکاران، ۱۳۹۹). نتایج آزمایش حاضر نشان داد در شرایط تنش گرمایی پودر خولنجان و پروبیوتیک باعث بهبود عملکرد بلدرچین ژاپنی می‌شود. در پژوهشی سطوح مختلف پودر خولنجان روی فراسنجه‌های خون، فراسنجه‌های آنتی‌اکسیدانی، پراکسیداسیون لیپیدی، عملکرد تولیدی و صفات لاشه جوجه‌های گوشتی در طول تنش گرمایی یا فصل تابستان مورد مطالعه قرار دادند. نتایج نشان داد که گروه‌های مکمل‌شده با پودر ریزوم خولنجان، کم‌ترین نرخ تلفات همراه با بهترین ضریب تبدیل خوراک و افزایش وزن بدن را نشان داد، این نتایج مثبت، نشان‌دهنده این است که افزودن پودر خولنجان به خوراک جوجه‌های گوشتی، به کاهش اثرات نامطلوب استرس گرمایی بر این جوجه‌ها کمک می‌کند (Abdel-Azeem & Basyony, 2019). در این پژوهش در شرایط تنش گرمایی ترکیب پودر خولنجان و پروبیوتیک باعث بهبود صفات عملکردی نسبت به تیمار شاهد شد. پودر خولنجان دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی، محرک ترشح شیرهای گوارشی و میکروب‌کشی قوی است و گالانترین موجود در این اسانس با کاهش میکروب‌های مضر کانال گوارش و نیز از طریق افزایش ترشحات لوزالمعده و دیگر اندام‌های گوارشی باعث افزایش هضم و جذب مواد مغذی و در نتیجه وزن بلدرچین‌ها را بهبود می‌بخشد (Elghalid et al., 2021). پروبیوتیک‌ها با افزایش فعالیت آنزیم‌های گوارشی و خنثی‌کردن سموم داخلی که توسط سایر میکروارگانیسم‌ها تولید می‌شوند، باعث عملکرد بهتر سطح جذبی روده و اثرات سودمند بر عملکرد طیور می‌شوند. در این

آزمایش در شرایط تنش گرمایی، استفاده از پودر خولنجان و پروبیوتیک باعث افزایش وزن لاشه در پرندگان شد ($P < 0.05$)، اما تفاوت معنی‌داری در سایر فراسنجه‌های اندام‌های داخلی مشاهده نشد.

مطالعه وحدتپور (۲۰۱۸) نشان داد که افزودن پروبیوتیک‌های پروتوکسین و فرماکتو به جیره بلدرچین ژاپنی، موجب بهبود افزایش وزن و ضریب تبدیل خوراک می‌شود. عدم تأثیر افزودنی‌ها بر وزن نسبی کبد، طحال، قلب در این آزمایش با گزارش‌های قبلی در این خصوص همخوانی دارد. افزایش هتروفیل و نسبت هتروفیل به لنفوسیت و کاهش لنفوسیت‌ها در پرندگانی که با جیره پایه فاقد پودر خولنجان و پروبیوتیک شده بود، در زمان استفاده از پودر خولنجان و پروبیوتیک لاکتوفید جمعیت هتروفیل کاهش و جمعیت لنفوسیت افزایش یافته که باعث کاهش نسبت هتروفیل به لنفوسیت شده است. تنش گرمایی یک واکنش تطبیقی ثابت به اختلالات حرارتی خارج از منطقه آسایش حرارتی پرنده است. پرندگان نسبت به سایر حیوانات در برابر دمای شدید آسیب‌پذیرتر هستند، زیرا غدد عرق ندارند و سطح بدن با پره‌های ضخیم پوشیده شده‌اند که مانع از دست‌دادن آسان گرما از بدن آن‌ها به محیط می‌شود (Uyanga et al., 2022)، که این امر باعث آسیب‌پذیری آن‌ها در برابر استرس حرارتی می‌شود که یکی از بزرگ‌ترین مشکلات زیست‌محیطی پرورش‌دهندگان طیور، به‌ویژه در مناطق گرمسیری می‌باشد. پژوهش‌ها نشان می‌دهد که پرندگان تحت استرس حرارتی عملکرد رشد، شاخص‌های تولید، متابولیسم و سیستم ایمنی ناکارآمدتری دارند (Oladokun et al., 2023). نسبت هتروفیل به لنفوسیت به‌عنوان شاخص تنش در حیوانات مختلف از جمله جوجه‌های گوشتی است و در توافق با نتایج آزمایش حاضر، اضافه کردن پروبیوتیک می‌تواند به مهار تنش‌های تغذیه‌ای با هر استرسی که باعث افزایش نسبت هتروفیل به لنفوسیت شود، کمک کنند (Rahimi & Khaksefidi, 2006). همسو با نتایج حاضر، پژوهش‌گران با افزودن دو نوع پروبیوتیک (بیومین-ایمبو و پروتکسین) به جیره‌های جوجه گوشتی راس ۳۰۸ پرورش‌یافته در شرایط عادی و تحت تنش سرمایی از سن سه تا شش هفتگی گزارش کردند، افزودن هر دو پروبیوتیک پروتکسین و بیومین-ایمبو منجر به افزایش لنفوسیت و کاهش هتروفیل و نسبت هتروفیل به لنفوسیت شدند، به‌طوری‌که با شاهد پرورش‌یافته در دمای توصیه‌شده قابل رقابت بودند، اما نتوانستند موجب کاهش تعداد کل گلبول‌های سفید خون جوجه‌های تحت تنش سرمایی شوند (Regnier & Kelley, 1981).

آنتی‌اکسیدان‌های موجود در گیاهان دارویی از پراکسیداسیون چربی‌های غشای سلول جلوگیری می‌کنند و مانع تضعیف سیستم ایمنی بدن می‌شوند. از طرفی خواص ضد میکروبی، ضد ویروسی و ضد قارچی ترکیبات موجود در گیاهان دارویی در بهبود عملکرد سیستم ایمنی مؤثر است و می‌تواند با افزایش تعداد گلبول‌های سفید محیط را برای تهاجم عوامل خارجی نامناسب سازند (Upadhaya & Kim, 2017). استفاده از پروبیوتیک در جیره با تغییر و تعادل مناسب جمعیت میکروبی، افزایش رشد باکتری‌های مفید و ایجاد محیطی سالم در دستگاه گوارش پرنده سبب جذب بهتر و بیش‌تر مواد مغذی و بهبود پاسخ ایمنی می‌شوند. یکی از مهم‌ترین فرایندها در پاسخ‌های ایمنی جوجه‌های گوشتی به شرایط استرس‌زا، اتصال باکتری و عوامل خارجی به هتروفیل‌ها می‌باشد که اولین خط دفاعی در پرندگان هستند. این عامل سبب افزایش رادیکال‌های آزاد همانند سوپراکسید و پراکسید هیدروژن می‌شوند. حضور این رادیکال‌های آزاد در فضای داخل سلولی، به سلول‌های ایمنی و بافت‌های اطراف آسیب وارد می‌کند (Dalolio et al., 2015)؛ ترکیباتی مانند گالانگین، کمفرول، استات در پودر خولنجان به‌عنوان آنتی‌اکسیدان‌های اصلی در خون با رادیکال‌های پروکسی واکنش نشان می‌دهند. این واکنش‌ها اثرات رادیکال‌های آزاد را کاهش می‌دهند و از بافت‌ها محافظت می‌کنند. Yarmohammadi Barbarestan et al. (2017)، کاهش نسبت هتروفیل در جوجه‌های تحت تنش گرمایی تغذیه‌شده با جیره حاوی عصاره الکلی نعنای فلفی را گزارش کردند. اسانس‌های گیاهی موجود در گیاهان دارویی به‌عنوان ترکیبات

ضدتنش کاربرد دارند، افزودنی‌های گیاهی با داشتن اثرات فارماکولوژی متعدد در بهبود عملکرد سیستم ایمنی مؤثر هستند و می‌توانند محیط را برای تهاجم عوامل خارجی نامناسب سازند (Tavakolinasab & Taherpour, 2017). ترکیب جمعیت میکروبی روده پرندگان رابطه مستقیمی با هضم و جذب مواد مغذی و در نتیجه، رشد و افزایش وزن بدن جوجه‌ها دارد، بنابراین افزایش لاکتوباسیلوس‌ها و کاهش اشرشیا کولی می‌تواند به‌طور غیر مستقیم راندمان هضم و جذب مواد مغذی را در روده بهبود دهد. در این پژوهش، در شرایط تنش گرمایی جمعیت کل باکتری‌ها و کلی‌فرم‌ها در روده کور پرندگان در تیمار شاهد نسبت به پرندگانی که با پودر خولنجان و پروبیوتیک تغذیه شدند بالاتر بود، به‌نظر می‌رسد با بهبود جذب مواد مغذی احتمال رسیدن مواد مغذی به سکوم کاهش خواهد یافت و مواد مغذی کم‌تری در دسترس باکتری‌های مضر مانند اشریشیا اکلاهی قرار خواهند گرفت و همان‌طور که در پژوهش حاضر نشان داده شده است، جمعیت این باکتری مضر در سکوم پرنده در مقایسه با تیمار شاهد کاهش یافت. پروبیوتیک‌ها با خاصیت آنتاگونیسم آن‌ها با باکتری‌های پاتوژن از طریق تولید ترکیبات ضد میکروبی و یا رقابت با باکتری‌های پاتوژن برای اتصال به موقعیت‌های موجود در روده، سبب افزایش جذب مواد مغذی و بهبود رشد می‌شوند (Burel, 2007).

اثرات سودمند پروبیوتیک لاکتوفید نیز بر شاخص عملکردی، پاسخ ایمنی همورال و جمعیت میکروبی سکوم و روده جوجه‌های گوشتی گزارش شده است (جهانبانی و همکاران، ۱۳۹۴). پروبیوتیک با تولید ترکیبات ضد میکروب و رقابت برای متصل شدن به جایگاه‌های اتصال موجود در مخاط روده از طریق مانع رقابتی موجب کاهش جمعیت باکتری‌های کلی‌فرم و افزایش باکتری‌های اسیدلاکتیک شود (Abd El-Hack et al., 2020). در یک پژوهش، افزودن پودر برگ اکالیپتوس در سطح یک و دو درصد به جیره جوجه‌های گوشتی تأثیر معنی‌دار بر کاهش تعداد باکتری‌ها سالمونلا و اشریشیاکلاهی روده‌ای داشته است (Abu-Taleb et al., 2003)، که با یافته‌های پژوهش حاضر موافق بود. در پژوهشی دیگر گزارش شد که افزودن عصاره فلفل سیاه در سطح دو میلی‌گرم در میلی‌لیتر آب آشامیدنی جوجه‌های گوشتی تأثیر معنی‌داری بر کاهش باکتری‌های اشریشیاکلاهی و لاکتوباسیلوس در مقایسه با تیمار شاهد و افزودن آنتی‌بیوتیک داشته است (Ghaedi et al., 2013). نتایج نشان می‌دهد در شرایط تنش گرمایی استفاده از ۵۰ میلی‌گرم پودر خولنجان + ۲۰ گرم بر کیلوگرم پروبیوتیک در جیره پایه پرندگان باعث افزایش ارتفاع، ضخامت پرز و نسبت ارتفاع به ضخامت پرز ایلئوم نسبت به تیمار شاهد شده بود، اما فراسنجه‌های قطر کریپت، ضخامت لایه عضلانی داخلی و ضخامت لایه عضلانی خارجی تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت. De Souza et al. (2018)، گزارش کردند که استفاده از پروبیوتیک در جیره جوجه‌های گوشتی طول و ضخامت پرزها را در دوازده و ژوژنوم افزایش داد، در واقع بیان کردند افزایش فعالیت آنزیم‌های گوارشی و جمعیت میکروب‌های مفید در دستگاه گوارش، از علت‌های افزایش طول و مساحت پرز در روده می‌باشد. میکروارگانیسم‌ها روی ساختار دستگاه گوارش اثر می‌گذارد، بدین ترتیب که تجدید ساختمان سلول‌های بافت پوششی زودتر صورت گرفته و طول پرزهای روده‌ای طولی‌تر می‌شود. در نتیجه افزایش سطح مخاطی بر برآیند جذب افزوده می‌شود (محمدی ساعی و همکاران، ۱۳۹۹).

گزارش شده است که افزودن پروبیوتیک در شرایط تنش به جیره بلدرچین ژاپنی موجب افزایش ارتفاع پرز و نسبت طول پرز به عمق کریپت می‌شود (محمدی ساعی و همکاران، ۱۳۹۹). که هم راستا با نتایج مطالعه حاضر است. در مطالعات بافت‌شناسی، تغییری در ریخت‌شناسی روده در اثر مصرف پروبیوتیک مشاهده نشده است (Rahimi & Khaksefidi, 2006) که در تضاد با یافته‌های آزمایش حاضر است. براساس گزارش‌های موجود،

تأثیرگذاری پروبیوتیک بر سلول‌های اپیتلیال و مورفولوژی بخش‌های مختلف روده بسته به زمان مصرف و نوع پروبیوتیک می‌تواند متفاوت باشد. پروبیوتیک‌ها با تأثیر بر فلور طبیعی، ارتفاع پرزهای روده و بهبود فرایند جذب عملکرد را بهبود می‌دهند، همچنین اسیدهای چرب زنجیره کوتاه حاصل از تخمیر انجام‌شده به‌وسیله باکتری‌های پروبیوتیک در تغذیه سلول‌های روده و ریخت‌شناسی آن اثرات سودمند دارند (ابراهیمی و همکاران، ۱۳۹۵)، همچنین تأثیر مثبت پودر خولنجان بر جمعیت میکروبی و ریخت‌شناسی ایلئوم ممکن است مربوط به ترکیبات غنی از فلاونوئید و همچنین ساپونین‌ها و اسیدهای چرب موجود در خولنجان باشد که اثر محرک رشد را نشان می‌دهد (Menne et al., 2024). فلاونوئیدها می‌توانند تکثیر باکتری‌های مفید روده را افزایش دهد، و باعث تحریک رشد پرزهای اپیتلیال روده و ترشح آنزیم‌های گوارشی شوند، که برای هضم و جذب مواد مغذی مفید است (Menne et al., 2024; Prihambodo et al., 2021). به‌نظر می‌رسد در پژوهش حاضر، حضور همزمان پروبیوتیک و پودر خولنجان در جیره، به‌دلیل داشتن اثرات هم‌کوشی تأثیر مناسبی در تعدیل جمعیت میکروبی روده و ریخت‌شناسی روده در شرایط تنش گرمایی داشته است.

۵. نتیجه‌گیری و پیشنهادها

براساس نتایج حاصل از این پژوهش در شرایط تنش گرمایی استفاده از پودر خولنجان و پروبیوتیک لاکتوفید باعث بهبود، عملکرد، بازده لاشه، جمعیت باکتری‌های روده کور، سلول‌های خونی و مورفولوژی ایلئوم بلدرچین ژاپنی شد. با توجه به نتایج، از بین نسبت‌های مختلف مورد مطالعه، استفاده ۵۰ میلی‌گرم پودر خولنجان + ۰/۲ گرم بر کیلوگرم پروبیوتیک و سطح ۰/۲ گرم بر کیلوگرم پروبیوتیک لاکتوفید در جیره پایه بلدرچین ژاپنی توصیه می‌شود.

۶. مشارکت نویسندگان

مریم محمودی نژاد: طراحی پژوهش، اجرای پژوهش، انجام آزمایش‌ها و تهیه پیش‌نویس مقاله؛
بهرام شهره: طراحی پژوهش، همکاری و نظارت در انجام پژوهش و آماده‌سازی مقاله؛
زریخت انصاری پیرسرانی: طراحی پژوهش، همکاری و نظارت در انجام پژوهش، بازبینی، نهایی‌سازی و ارسال مقاله؛
سهیل یوسفی: مشارکت در طراحی پژوهش، مشاوره و نظارت بر انجام پژوهش و آماده‌سازی مقاله.

۷. ملاحظات اخلاقی

نویسندگان اصول اخلاقی را در انجام و انتشار این پژوهش علمی رعایت نموده‌اند و این موضوع مورد تأیید همه آن‌هاست.

۸. تعارض منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان وجود ندارد.

۹. حامی مالی

این پژوهش با حمایت مالی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری انجام شده است.

۱۰. منابع

- ابراهیمی، حسین؛ هوشمند، محمد؛ خواجهی، مختار و نقی‌ها، اصغر (۱۳۹۵). اثرات پری‌بیوتیک، پروبیوتیک و مخلوط آن‌ها بر عملکرد، پاسخ ایمنی و فلور میکروبی دستگاه گوارش جوجه‌های گوشتی. *پژوهش‌های تولیدات دامی*، ۷ (۱۳)، ۶۰-۶۹. <https://doi.org/10.18869/acadpub.rap.7.13.69>
- جهانبانی، حسین؛ حسینی‌واشان، سیدجواد؛ غیائی، سید احسان و محمدی، عباس (۱۳۹۴). اثر انتروکوکوس فاسیوم مجرای گوارشی سبزی‌ها و لاکتوفید بر عملکرد، فراسنجه‌های خونی و جمعیت میکروبی روده جوجه‌های گوشتی. *تحقیقات تولیدات دامی*، ۴ (۴)، ۴۷-۶۱.
- محمدی ساعی، محسن؛ یاراحمدی، بهروز؛ فرجانی کیش، قاسم و نوروزیان، حسن (۱۳۹۹). تأثیر سطوح مختلف پروبیوتیک جیره بر شاخص‌های ریخت‌شناسی و میکروب‌شناسی روده بلدرچین‌های ژاپنی. *پژوهش‌های تولیدات دامی*، ۱۱ (۲۹)، ۱۰-۱۷. <https://doi.org/10.52547/rap.11.29.10>
- وحدت‌پور، توحید (۱۳۹۷). اثرات افزودنی‌های خوراکی بر شاخص‌های بیوشیمیایی و ایمونولوژیک خون و عملکرد بلدرچین‌های ژاپنی (*Coturnix coturnix Japonica*). *پژوهش‌های تولیدات دامی*، ۹ (۲۲)، ۴۰-۵۱.

References

- Abd El-Hack, M. E., El-Saadony, M. T., Shafi, M. E., Qattan, S. Y., Batiha, G. E., Khafaga, A. F., ... & Alagawany, M. (2020). Probiotics in poultry feed: A comprehensive review. *Journal of animal physiology and animal nutrition*, 104(6), 1835-1850. <https://doi.org/10.1111/jpn.13454>
- Abdel-Azeem, A. A. S., & Basyony, M. M. (2019). Some blood biochemical, antioxidant biomarkers, lipid peroxidation, productive performance and carcass traits of broiler chicks supplemented with *Alpinia galangal* rhizomes extract during heat stress. *Egyptian Poultry Science Journal*, 39(2), 345-363. <https://doi.org/10.21608/epsj.2019.35009>
- Abu Taleb, A. M., Salah, H. M., Ezzat, I. E., & El Barkouky, E. (2003). Effect of feeding camphor (*Eucalyptus globules*) levels on some immunity characteristics, growth and gut microflora of Japanese quails. *Isotope and Radiation Research*, 35(4), 701-711.
- Burel, C. (2007). Feeding animal or microflora: the nutritional dilemma.
- Dalólio, F. S., Albino, L. F. T., Lima, H. J. D. A., Silva, J. N. D., & Moreira, J. (2015). Heat stress and vitamin E in diets for broilers as a mitigating measure. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, 37(4), 419-427. <https://doi.org/10.4025/actascianimsci.v37i4.27456>
- De Souza, L. F., Araújo, D. N., Stefani, L. M., Giometti, I. C., Cruz-Polycarpo, V. C., Polycarpo, G., & Burbarelli, M. F. (2018). Probiotics on performance, intestinal morphology and carcass characteristics of broiler chickens raised with lower or higher environmental challenge. *Austral journal of veterinary sciences*, 50(1), 35-41. <http://dx.doi.org/10.4067/S0719-81322018000100107>
- Ebrahimi, H., Houshmand, M., Khajavi, M., & Naghiha, A. (2016). Single or combined effects of prebiotic and probiotic on performance, immunity response and gut flora of broiler chickens. *Research on Animal Production*, 7(13), 69-60. (In Persian). <https://doi.org/10.18869/acadpub.rap.7.13.69>
- Elghalid, O.A., El-Tahawy, W.S., Abdel Salam, H., & Elnaggar, A.S. (2021). Effect of dietary inclusion of galangal (*Alpinia galanga*) on growth performance and some physiological parameters of broiler chicks. *Egyptian Poultry Science Journal*, 41(4), 723-737. <https://doi.org/10.21608/epsj.2021.213300>
- Ghaedi, H., Nasr, J., Kheiri, F., Miri, Y., & Rahimian, Y. (2013). Effect of use virginiamycin as probiotic, black pepper extract as phytochemical feed additive on performance of broiler chicks. *Scholarly Journal of Agricultural Science*, 3(12), 521-525.
- Hafeez, A., Männer, K., Schieder, C., & Zentek, J. (2016). Effect of supplementation of phytochemical feed additives (powdered vs. encapsulated) on performance and nutrient digestibility in broiler chickens. *Poultry Science*, 95(3), 622-629. <https://doi.org/10.3382/ps/pev368>
- Jahanbani, H., Hosseini-Vashan, S. J., Ghiasi, S. E., & Mohammadi, A. (2015). Effect of *Enterococcus faecium* isolates from *Coracias garrulus* and lacto-fermented probiotic on performance, blood parameters and intestine microflora of broiler chickens. 4 (4), 47-61. (In Persian).

- Menne, L., Mazzuoli-Weber, G., & Elfers, K. (2024). Effects of Chinese ginger *Alpinia officinarum*-based phytopharmaceutical compound on gastric motility. *Phytomedicine Plus*, 4(2), 100552. <https://doi.org/10.1016/j.phyplu.2024.100552>
- Mohammadi Saei, M., Yarahmadi, B., Farjanikish, G., & Norouzian, H. (2020). Effects of Different Dietary Levels of Probiotic on Morphological and Microbiological Indices of Intestine in Japanese Quails. *Research On Animal Production*, 11(29), 10-17. (In Persian). <https://doi.org/10.52547/rap.11.29.10>.
- Nadhifah, N., Masu, M. E., Mulyati, M., Hartantyo, R. Y., Trihastuti, A., & Widiyanto, S. (2020, September). The effects of addition MarolisTM probiotics for broiler performance and meat quality. In *AIP Conference Proceedings*, 2260, 1. <https://doi.org/10.1063/5.0015719>
- Oladokun, S., Dridi, S., & Adewole, D. (2023). An evaluation of the thermoregulatory potential of in ovo delivered bioactive substances (probiotic, folic acid, and essential oil) in broiler chickens. *Poultry Science*, 102(5), 102602. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2023.102602>
- Olfati, A., Mojtahedin, A., Sadeghi, T., Akbari, M., & Martinez-Pastor, F. (2018). Comparison of growth performance and immune responses of broiler chicks reared under heat stress, cold stress and thermoneutral conditions. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 16(2), e0505-e0505. <https://doi.org/10.5424/sjar/2018162-12753>
- Pourtaheri, M., F.B. Kasmani, M. Mehri and H.M. Emarat. 2017. The effect of ginger and probiotic soner formance, hemoral immune response and microbiological populations of intestine in Japanesequail. *Animal production*, 19(1), 189-200. <https://doi.org/10.22059/JAP.2016.59964>
- Prihambodo, T. R., Sholikin, M. M., Qomariyah, N., Jayanegara, A., Batubara, I., Utomo, D. B., & Nahrowi, N. (2020). Effects of dietary flavonoids on performance, blood constituents, carcass composition and small intestinal morphology of broilers: a meta-analysis. *Animal Bioscience*, 34(3), 434-442. <https://doi.org/10.5713/ajas.20.0379>
- Rahimi, S. H., & Khaksefidi, A. (2006). A comparison between the effects of a probiotic (Bioplus 2B) and an antibiotic (virginiamycin) on the performance of broiler chickens under heat stress condition. *Iranian Journal of veterinary research*, 7(3), 23-28. <https://doi.org/10.22099/IJVR.2006.2645>
- Regnier, J. A., & Kelley, K. W. (1981). Heat-and cold-stress suppresses in vivo and in vitro cellular immune responses of chickens. *American Journal of Veterinary Research*, 42(2), 294-299.
- Tavakolinasab, F., & Taherpour, K. (2017). The Comparative Effect of Berberis Vulgaris Seed, Symbiotic and Virginiamycin (VM) on Performance and Immune Response of Broilers. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 9(2), 196-209. <https://doi.org/10.22067/IJASR.V9I2.55641>
- Upadhaya, S. D., & Kim, I. H. (2017). Efficacy of phytogenic feed additive on performance, production and health status of monogastric animals—a review. *Annals of Animal Science*, 17(4), 929-948. <https://doi.org/10.1515/aoas-2016-0079>
- Vahdatpour, T. (2018). Effects of feed additives on biochemical and immunological indices of blood and performance of Japanese quails (*Coturnix coturnix Japonica*). *Research on Animal Production*, 9(22), 40-51. (In Persian).
- Yarmohammadi Barbarestani, S., Samadi, F., Hassani, S., & Asadi, G. (2017). Effects of encapsulated nano-and microparticles of peppermint (*Mentha piperita*) alcoholic extract on the growth performance, blood parameters and immune function of broilers under heat stress condition. *Iranian Journal of Applied Animal Science*, 7(4), 669-677.