



دانشکده کشاورزی
گروه پرورش و مدیریت طیور

گزارش مقدماتی طرح پژوهشی

عنوان: مقایسه اثر پروبیوتیک‌های تولید جهاد دانشگاهی با آنتی‌بیوتیک و پروبیوتیک‌های تجاری بر عملکرد جوجه‌های گوشتی

مجری: دکتر شعبان رحیمی

همکاران:

- 1- دکتر محمد امیر کریمی ترشیزی
- 2- دکتر علیرضا بهنامی‌فر
- 3- مهندس نازنین سلطانی
- 4- مهندس شکیبا عربگل
- 5- مهندس نیما احمد پور بیجارپس

این طرح به سفارش مرکز ملی ذخایر ژنتیک و زیستی ایران انجام شده است.

بهمن 1402



گزارش مقدماتی طرح پژوهشی

مقایسه اثر پروبیوتیک‌های تولید جهاد دانشگاهی با آنتی‌بیوتیک و پروبیوتیک‌های تجاری بر عملکرد جوجه‌های گوشتی

مجری طرح: دکتر شعبان رحیمی

همکاران طرح:

نام و نام‌خانوادگی	شغل	درجه علمی	نوع همکاری
دکتر محمد امیر کریمی ترشیزی	عضو هیئت‌علمی گروه پرورش و مدیریت طیور دانشگاه تربیت مدرس	دانشیار	مشاور تغذیه و آزمایشگاه
دکتر علیرضا بهنامی‌فر	دانش‌آموخته دکتری علوم طیور از دانشگاه تربیت مدرس	دکترای علوم طیور	همکاری در کلیه مراحل اجرای طرح
مهندس نازنین سلطانی	دانشجوی دکتری فیزیولوژی دام و طیور دانشگاه تربیت مدرس	کارشناسی ارشد علوم طیور	همکاری در کلیه مراحل اجرای طرح
مهندس شکیبا عربگل	دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی دام و طیور	کارشناسی علوم دامی	همکاری در کلیه مراحل اجرای طرح
مهندس نیما احمد پور بیجارپس	دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی دام و طیور	کارشناسی علوم دامی	همکاری در کلیه مراحل اجرای طرح

چکیده

این تحقیق به منظور مقایسه اثر چهار پروبیوتیک تولید مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران با آنتی‌بیوتیک و دو پروبیوتیک تجاری بر عملکرد جوجه‌های گوشتی انجام شد. در این مطالعه از 400 قطعه جوجه گوشتی آرین (مخلوط هر دو جنس) در قالب طرح کاملاً تصادفی، با هشت تیمار و پنج تکرار و 10 قطعه جوجه در هر تکرار استفاده گردید. در طول دوره پرورش، همه گروه‌های آزمایشی دسترسی آزاد به آب و خوراک داشتند و جیره‌ها برای چهار دوره‌ی پیش‌دان: 1 تا 14 روزگی، میان‌دان: 15 تا 24 روزگی، پایان‌دان 1: از 25 تا 35 روزگی، و پایان‌دان 2 از 36 تا 42 روزگی در اختیار جوجه‌ها قرار داده شد.

گروه‌های آزمایشی شامل: 1- گروه شاهد؛ 2- پروبیوتیک تولید مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران حاوی باکتری *Pediococcus acidilactici* (فرمولاسیون 1)؛ 3- پروبیوتیک تولیدی مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران حاوی باکتری *Lactobacillus brevis* (فرمولاسیون 2)؛ 4- پروبیوتیک تولیدی مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران حاوی باکتری‌های *Pediococcus*، *Enterococcus* sp.، *Lactobacillus brevis*، *Bacillus* sp. و *acidilactici* (فرمولاسیون 3)؛ 5- پروبیوتیک تولیدی مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران حاوی باکتری‌های *Pediococcus acidilactici*، *Lactobacillus brevis*، *Kluyveromyces marxianus* و *Pichia fermentas* (فرمولاسیون 4)؛ 6- آنتی‌بیوتیک اکسی تتراسایکلیلین 10٪؛ 7- پروبیوتیک تجاری چند سویه بیوپول (bio poul) و 8- پروبیوتیک تجاری چند سویه لاکتوفید بود. خوراک و آب آشامیدنی گروه شاهد فاقد هر گونه افزودنی بود و پروبیوتیک فرمولاسیون 1، 3 و 4 به ترتیب به مقدار 500، 300 و 500 گرم در هر هزار لیتر به آب آشامیدنی گروه‌های آزمایشی مربوطه اضافه شدند. پروبیوتیک فرمولاسیون 2 به میزان یک کیلوگرم در هر تن به خوراک مصرفی جوجه‌ها اضافه شد؛ و از پروبیوتیک تجاری bio poul به صورت محلول در آب به ترتیب به میزان 100 و 75 گرم در هر 1000 لیتر در روزهای 0 تا 10 و پس از 10 روزگی در آب آشامیدنی گروه آزمایشی مورد نظر استفاده شد. پروبیوتیک لاکتوفید از 0 تا 21 روزگی به میزان 200 گرم، و از 21 روزگی تا زمان کشتار به میزان 100 گرم در هر تن خوراک گروه آزمایشی مربوطه اضافه شد. همچنین از آنتی‌بیوتیک اکسی تتراسایکلیلین 10٪ به میزان 30 گرم در هر 100 لیتر آب آشامیدنی در سه روز اول تغییر جیره‌های پرورشی یعنی در روزهای: 1، 2، 3، 15، 16، 17، 25، 26، 27، 36، 37، 38 استفاده شد.

شاخص‌های عملکردی پرندگان شامل خوراک مصرفی، وزن بدن و ضریب تبدیل در پایان هر هفته و شاخص اروپایی درکل دوره مورد ارزیابی قرار گرفت. به منظور ارزیابی سیستم ایمنی همورال در روزهای 28 و 35 پرورش، 0/1 میلی‌لیتر گلبول قرمز گوسفند (SRBC) 5 درصد به یک پرنده (خروس) از هر واحد آزمایشی تزریق شد و سپس در روز 42 پس از خون‌گیری، برای تعیین عیار پادتن تولیدشده علیه گلبول قرمز گوسفند از روش هم‌آگلوتیناسیون میکروتیتر استفاده گردید. همچنین برای ارزیابی ایمنی سلولی، مقدار 0/1 میلی‌لیتر از محلول فیتوهم‌آگلوتنین و محلول سالین به‌صورت جلدی در ریش پرندگان تزریق شد و بیست و چهار ساعت پس از تزریق، ضخامت محل تزریق‌شده اندازه‌گیری شده و به‌منظور بررسی میزان تکثیر سلول‌های T در سیستم ایمنی سلولی، مورد ارزیابی قرار گرفت.

نتایج حاصل از آزمایش نشان داد که وزن جوجه‌ها در پایان هفته‌ی اول تحت تأثیر گروه‌های آزمایشی قرار نگرفته است. در پایان هفته دوم، گروه شاهد دارای کمترین وزن، و بیشترین میانگین وزنی مربوط به گروه فرمولاسیون 1 بود و سایر گروه‌های آزمایشی عملکردی مابین این دو گروه از خود نشان داده‌اند ($P < 0/05$). در پایان هفته سوم، به ترتیب بیشترین و کمترین وزن مربوط به گروه آنتی‌بیوتیک و شاهد بوده است و پس از گروه آنتی‌بیوتیک، گروه فرمولاسیون 1 بیشترین وزن را از خود نشان داد ($P < 0/05$). در هفته چهارم نیز بیشترین و کمترین وزن به ترتیب مربوط به گروه آنتی‌بیوتیک و شاهد بود و سه گروه فرمولاسیون 1، 4 و لاکتوفید نسبت به سه گروه دیگر وزن بیشتری داشتند ($P < 0/05$). در هفته پنجم، گروه شاهد دارای وزن کمتری از سایر گروه‌ها بود و هفت گروه آزمایشی دیگر از لحاظ آماری عملکرد مشابهی را از خود نشان دادند ($P < 0/05$). سرانجام در پایان هفته ششم، بیشترین میانگین وزن بدن مربوط به گروه آنتی‌بیوتیک بود. پس از آن، گروه‌های آزمایشی فرمولاسیون 4 و لاکتوفید، سپس گروه‌های فرمولاسیون 1، 2 و 3، و پس از آن‌ها تیمار بیوپول که همگی وزن بیشتری نسبت به گروه شاهد از خود نشان دادند قرار داشتند ($P < 0/05$).

در هفته اول بیشترین و کمترین مصرف خوراک به ترتیب مربوط به گروه‌های فرمولاسیون 3 و بیوپول بود و سایر گروه‌ها میزان مصرف خوراکی مابین این دو گروه از خود نشان دادند ($P < 0/05$). در هفته دوم تفاوت معنی‌داری در مصرف خوراک وجود نداشت؛ و در هفته سوم، گروه آنتی‌بیوتیک بیشترین مصرف خوراک و پس از آن گروه لاکتوفید، گروه‌های فرمولاسیون 1 تا 4، و سپس بیوپول مصرف خوراک بیشتری را نسبت به گروه شاهد از خود نشان دادند ($P < 0/05$). در هفته‌های چهارم و پنجم بیشترین مقدار مصرف خوراک مربوط به گروه لاکتوفید و کمترین مصرف خوراک مربوط به گروه‌های دریافت‌کننده آنتی‌بیوتیک و بیوپول بود ($P < 0/05$). در پایان هفته ششم گروه آنتی‌بیوتیک نسبت به سایر گروه‌ها خوراک بیشتری را مصرف کرد و کمترین مصرف خوراک مربوط به گروه شاهد بوده است ($P < 0/05$). در کل دوره، گروه لاکتوفید بیشترین مقدار خوراک را مصرف کرده و پس از آن گروه‌های آنتی‌بیوتیک و فرمولاسیون 4، سپس گروه‌های فرمولاسیون 1 و 2، و پس از آن‌ها گروه‌های فرمولاسیون 3 و بیوپول، خوراک بیشتری را مصرف کرده‌اند و کمترین میزان خوراک مصرفی مربوط به گروه شاهد بوده است ($P < 0/05$).

ضریب تبدیل در هفته‌های اول تا سوم، پنجم و ششم دارای تفاوت معنی‌داری مابین گروه‌های آزمایشی نداشت. در هفته چهارم، گروه آنتی‌بیوتیک ضریب تبدیل کمتری را نسبت به سایر گروه‌ها داشت ($P < 0/05$) و در کل دوره پرورش، تمامی گروه‌های آزمایشی از لحاظ آماری ضریب تبدیل یکسانی نسبت به یکدیگر نشان دادند که در مقایسه با گروه شاهد مقدار کمتری بود ($P < 0/05$).

گروه شاهد دارای شاخص اروپایی کمتری نسبت به سایر گروه‌های آزمایشی بود و سایر گروه‌ها از لحاظ آماری عملکردی یکسانی را از خود نشان دادند ($P < 0/05$).

با توجه به نتایج این طرح می‌توان گفت که پروبیوتیک‌های تولید مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران تاثیر خوب و قابل قبولی بر عملکرد جوجه‌های گوشتی داشته و قابلیت رقابت با سایر پروبیوتیک‌های تجاری را دارند، و می‌توان از آنها به عنوان جایگزین آنتی‌بیوتیک‌های محرک رشد در صنعت طیور استفاده نمود.

کلمات کلیدی: پروبیوتیک، آنتی‌بیوتیک، عملکرد، شاخص اروپایی، سیستم ایمنی

فهرست مطالب

عنوان	صفحه
بخش اول	
مقدمه.....	8
1-1.....	1
مقدمه.....	9
بخش دوم	
1-2 روش پژوهش و مراحل انجام طرح.....	13
1-1-2 محل و زمان انجام آزمایش.....	14
2-1-2 آماده سازی سالن.....	14
3-1-2 مدیریت.....	14
پرورش.....	14
4-1-2 بزرگسالان.....	15
واکسیناسیون.....	15
2-2 پرندگان و گروه های آزمایشی.....	15
3-2 مدل آماری.....	16
طرح.....	16
4-2 جیره های.....	16
غذایی.....	16
5-2 آزمایش های.....	18
ای.....	18
1-5-2 می گان.....	18
وزن.....	18
زنده.....	18
2-5-2 خوراک.....	18
مصرفی.....	18
3-5-2.....	18
ضریب تبدیل.....	18
4-5-2.....	18
تلفات.....	18

- 5-5-2 شاخص تولید 18
- 2-6 متغیرهای اندازه‌گیری‌شده در رابطه با عملکرد سیستم ایمنی 18
- 2-6-1 ارزیابی ایمنی 18
- 2-6-1-1 تزریق گلبول قرمز گوسفند (SRBC) و تعیین عیار پادتن تولیدشده علیه آن 18
- 2-6-1-2 تعیین عیار پادتن علیه ویروس نیوکاسل 20
- 2-6-2 ایمنی 20
- 2-6-1-3 حساسیت ریش جوجه‌ها به تزریق فیتوهماگلوتنین 20
- 2-6-3 پاسخ به دی نیتروکلوئید بنزن 21
- 2-7 وزن نسبی اندام‌ها و اجزای لاش 21
- 2-8 ارزیابی جمعیت میکروبی روده 21
- 2-8-1 جمع‌آوری نمونه جهت کشت میکروبی 21
- 2-8-2 اندازه‌گیری جمعیت میکروبی 21
- 2-8-1-2 تهیه محیط کشت 21
- 2-8-2-2 شمارش کلنی 22
- 2-9 مورفولوژی روده 22
- 2-9-1 تهیه نمونه برای بررسی‌های مورفولوژی روده و تثبیت نمونه‌های روده 22
- 2-9-2 اندازه‌گیری ارتفاع پرزهای روده باریک و عمق کریپت‌ها 23

آماده سازی	1-2-9-2
23.....نمونه ها	
پاساژ	2-2-90-2
23.....بافت	
رنگ	3-2-9-2
24.....آمیزی	
مراحل اصلی در رنگ	4-2-9-2
25.....آمیزی	
روش رنگ آمیزی هماتوکسیلین و	5-2-9-2
25.....اُوزین	
اندازه گیری ابعاد پرزها و عمق	6-2-9-2
26.....کریپت ها	
سنگش کیفیت	10-2
26.....گوشت	
	1-10-2
26.....رنگ	
ظرفیست نگرهداری	2-10-2
26.....آب	
اُفت	3-10-2
26.....پخت	
بخش سوم	
نتایج	2.....
7	
1-3 عملکرد (میانگین وزن بدن، خوراک مصرفی و ضریب تبدیل	
خوراک)	28.....
میانگین وزن	1-1-3
28.....زنده	
خوراک	2-1-3
29.....مصرفی	
ضریب تبدیل	3-1-3
30.....خوراک	
شاخص	4-1-3
31.....اروپایی	

32.....	نتیجه گیری
33.....	فهرست منابع

بخش اول

مقدمه

1-1- مقدمه

افزایش روزافزون جمعیت و احتیاج به منابع غذایی برای مصرف انسانی و همچنین تحقق امنیت غذایی در کشورهای جهان، باعث افزایش تولیدات کشاورزی شده است. در میان سایر بخش‌های کشاورزی، صنعت طیور رشد قابل‌ملاحظه‌ای داشته است. این افزایش تولید و مصرف تولیدات طیور به دلیل ارزان‌تر و سالم‌تر بودن این منبع پروتئینی نسبت به گوشت قرمز بوده است. از این رو افراد زیادی به دلیل بازگشت سریع سرمایه این صنعت، مشتاق به تولید و پرورش طیور گوشتی شده‌اند. از طرفی افزایش تقاضا برای مصرف گوشت طیور، باعث فشار بیشتر به صنعت تولید طیور گوشتی، و به دنبال آن فشار بیشتر به پرندگان برای افزایش عملکرد آن‌ها شده است. این فشار مضاعف موجب بروز اختلالات فراوانی در پرورش طیور گوشتی شده که رسیدن به وزن مطلوب بازار را دشوارتر می‌کند. به همین دلیل، داشتن بدنی سالم و کارآمد برای حمایت از این سرعت رشد و بهبود سیستم ایمنی در جوجه‌های گوشتی ضرورت دارد.

امروزه اهمیت سلامت دستگاه گوارش به عنوان اندامی که پشتیبانی از رشد را با توجه به نقشی که در گوارش، جذب غذا و حفظ سلامت پرنده دارد، بیش از گذشته روشن شده است. به همین دلیل توجه محققین زیادی در سرتاسر جهان به آن جلب شده است (Sarangi et al., 2016). در همین راستا برای چندین دهه آنتی‌بیوتیک‌ها در صنعت پرورش طیور به‌طور گسترده‌ای برای بهبود رشد، بازده خوراک و سلامت عمومی استفاده شده‌اند. اگرچه درمان آنتی‌بیوتیکی در برابر بیماری‌های عفونی مؤثر است، با این حال مصرف مداوم و طولانی‌مدت مقادیر تحت‌درمانی آنتی‌بیوتیک‌ها می‌تواند باعث بروز مقاومت دارویی در پرنده و مصرف‌کننده شود که این خود دلیلی بر نگرانی‌های مصرف‌کنندگان در برابر مصرف تولیدات طیور صنعتی می‌باشد. به همین دلیل استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها در صنعت طیور به‌طور فزاینده‌ای با محدودیت‌ها و ممنوعیت‌هایی مواجه شده است و تحقیقات زیادی برای یافتن جایگزینی مناسب برای آن‌ها صورت گرفته است. از جایگزین‌های پیشنهادی برای آنتی‌بیوتیک‌های محرک رشد می‌توان پروبیوتیک‌ها، پری‌بیوتیک‌ها، سین‌بیوتیک‌ها، اسانس

های گیاهی، اسیدیفایرها، آنزیم‌ها و باکتریوفاژها را نام برد که در اینجا مختصراً به نقش پروبیوتیک‌ها در پیشگیری و کنترل بیماری‌های عفونی و حفاظت از سلامت طیور اشاره میشود:

برای پروبیوتیک‌ها می‌توان تعاریف متفاوتی را به کار برد، که نقطه‌نظر مشترک تمام این تعاریف در تأکید بر زنده بودن آن‌ها است. پروبیوتیک‌ها به‌عنوان میکروارگانیسم‌های زنده‌ای که با بهبود تعادل میکروبی دستگاه گوارش اثرات سودمندی بر میزبان دریافت‌کننده بر جای می‌گذارند شناخته شده‌اند. اسیدهای چرب با زنجیره کوتاه تولیدشده توسط میکروبیوتای روده یکی از عوامل مهم برهمکنش بین میکروارگانیسم‌های روده و باکتری‌های بیماری‌زا هستند (Budden *et al.*, 2017). اثرات مثبت پروبیوتیک‌ها بر میزبان عمدتاً از طریق سه مکانیسم اعمال می‌گردد که شامل: 1- حذف رقابتی 2- خاصیت ضد باکتریایی و 3- تحریک سیستم ایمنی است (Ohimain and Ofongo, 2012). مهم‌ترین مکانیسمی که می‌توان برای پروبیوتیک‌ها خاطرنشان کرد، حذف رقابتی است که از طریق رقابت بر سر مکان‌های اتصال به مخاط روده و مواد مغذی در دسترس عمل می‌کنند (Cox and Dalloul, 2015a). پروبیوتیک‌ها همچنین می‌توانند با تولید باکتریوسین و کولیسین باعث کاهش زنده‌مانی باکتری‌های بیماری‌زا شوند و با محافظت از پرزهای روده، باعث افزایش کارایی در دفع مواد سمی تولید شده توسط باکتری‌های بیماری‌زا از بدن پرنده شوند (Hume, 2011). پروبیوتیک‌ها برای ارتقای کارایی صنعت طیور و عملکرد و سلامت حیوانات با هدف قراردادن کارایی رشد، پیشگیری از بیماری و بهبود استفاده از خوراک مورد استفاده قرار گرفته‌اند. برخی از مطالعات نشان داده که پروبیوتیک‌ها هیچ خطری بر سلامت انسان و دام و محیط زیست ندارند. از جمله مهم‌ترین مزیت پروبیوتیک‌ها این است که برخلاف آنتی‌بیوتیک‌ها هیچ باقی‌مانده دارویی ندارند و باعث مقاومت آنتی‌بیوتیکی در مصرف‌کننده نمی‌شوند (Abd-El- Rahman *et al.*, 2012). پروبیوتیک‌ها در ایران از دیرباز استفاده می‌شدند، و تقریباً تمام پروبیوتیک‌های مصرفی ایران از خارج از کشور وارد می‌شده‌اند. با این حال با توانمندسازی صنایع تولیدی و حمایت‌ها و پشتکار فعالان در این صنعت فراورده‌های پروبیوتیک نوظهور در ایران روز به روز در حال افزایش است. طولانی‌بودن فاصله زمانی بین تولید و بسته‌بندی محصولات پروبیوتیکی در کشورهای صادر کننده، حمل دریایی، انبارداری و توزیع بین مصرف‌کنندگان احتمالاً باعث کاهش کیفیت و کارآمدی نمونه‌های وارداتی می‌شود. از طرف

دیگر وقتی محصولی کاملاً متکی به واردات باشد باعث افزایش خروج ارز از کشور شده و هزینه مصرف آن را به طور فزاینده‌ای افزایش خواهد داد. از نظر امنیتی و پدافند غیرعامل نیز می‌توان به این نکته اشاره کرد که اگر کاملاً این فراورده‌ها از خارج وارد شوند، احتمال دارد که از دیدگاه بیوتروریسم و اگروتوریسم به طور عمدی به عوامل بیماری‌زا آلوده شده و همانند یک سلاح بیولوژیک، چرخ صنعت تولید و پرورش طیور در ایران را از حرکت باز دارند و ضربه سنگینی به تأمین امنیت غذایی و اقتصاد کشور وارد سازند.

در طی این سال‌ها تولیدکنندگان داخلی زیادی، محصولات پروبیوتیک خود را راهی بازار مصرف کرده‌اند که طبق کاتالوگ‌های موجود در سطح تئوری عملکرد مشابه با نمونه‌های خارجی و چه‌بسا بهتر از آن‌ها را از خود نشان داده‌اند. بنابراین برای حصول اطمینان کیفیت این محصولات داخلی بهتر است که آن‌ها را در شرایط مزرعه‌ای مورد آزمون قرار دهیم. توصیه می‌شود تا برای رسیدن به نتیجه دقیق و بدون جهت‌دهی، آزمایش این محصولات در شرایط پرورشی کاملاً ایزوله مانند مراکز دانشگاهی و علمی انجام شود تا تأثیر فراورده‌های تولیدی داخلی بر سلامت پرنده و نهایتاً مصرف کنندگان، مورد ارزیابی دقیق قرار گیرد. اگر این محصولات از کیفیت مورد نظر برخوردار بودند، می‌توان از آن‌ها به عنوان جایگزینی مناسب برای فراورده‌های خارجی مشابه یاد کرد تا از آن‌ها در صنعت پرورش طیور کشور استفاده شود. از جمله مزیت‌هایی که در استفاده از این محصولات می‌توان به آن اشاره کرد عبارتند از:

- 1- حمایت از تولید داخل
- 2- افزایش اشتغال‌زایی
- 3- استفاده از فراورده تازه‌تر و سالم‌تر
- 4- کاهش هزینه خرید و حمل‌ونقل
- 5- کاهش خروج ارز از کشور
- 6- پشتیبانی خدمات پس از فروش

لذا آزمایش پیشرو به مقایسه اثر چند محصول پروبیوتیک تولید مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران با آنتی‌بیوتیک محرک رشد و برخی پروبیوتیک‌های موجود در بازار ایران بر شاخص‌های عملکردی، ایمنی، ریخت‌شناسی و جمعیت میکروبی روده در جوجه‌های گوشتی پرداخته است.

بخش دوم

روش پژوهش و مراحل انجام طرح

2-1- روش پژوهش و مراحل انجام طرح

2-1-1- محل و زمان انجام طرح

این طرح از تاریخ 1402/09/07 الی 1402/10/19 در سالن‌های مرغداری تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس انجام، و ادامه آزمایش‌ها روی نمونه‌های اخذشده در حال انجام است.

2-1-2- آماده‌سازی سالن

ابتدا کلیه قسمت‌های سالن پرورش اعم از کف و دیوارها، لوازم مورد استفاده، دانخوری‌ها، آبخوری‌ها و سایر وسایل به وسیله آب شستشو و بعد با محلول فرمالین 10٪ ضدعفونی گردید. سپس تمامی وسایل مورد نیاز از قبیل آبخوری و دانخوری مورد نیاز در هفته اول، بعد از شستشو و ضدعفونی در داخل سالن‌ها قرار داده شدند. سپس برای ضدعفونی قسمت‌های غیرقابل شستشو و اطمینان بیشتر، کل سالن با استفاده از بلوک آجر فرمالین گاز داده شد (ضدعفونی گردید). سپس سلامت و سایل گرمایشی و هواکش‌های سالن مورد بررسی قرار گرفت و بخاری‌ها دو روز قبل از ورود جوجه‌ها برای رسیدن دمای سالن به حد مطلوب روشن شدند.

2-1-3- مدیریت پرورش

پیش از ورود جوجه‌ها دمای سالن پرورشی با روشن کردن منابع حرارتی به 32 درجه سلسیوس رسید. جوجه‌ها به هنگام ورود به سالن، به صورت تصادفی درون پن‌های آزمایشی قرار گرفتند و جیره‌های آزمایشی و آب در اختیار آن‌ها قرار داده شد. لازم به ذکر است که در 24 ساعت ابتدای ورود جوجه‌ها از آب شکر 5٪ و مکمل معدنی و ویتامینه استفاده گردید. در روز اول جوجه‌ها تحت تأثیر 24 ساعت روشنائی قرار گرفتند و پس از آن تا پایان دوره برنامه نوری سالن، طبق راهنمای مدیریت پرورش جوجه گوشتی آرین تنظیم گردید.

2-1-4- برنامه واکسیناسیون

برنامه واکسیناسیون بر اساس توصیه اداره دامپزشکی منطقه، طبق جدول (2-1) اجرا شد. دمای سالن بعد از واکسیناسیون 1 تا 2 درجه سلسیوس افزایش داده می‌شد. لازم به ذکر است که پس از هر بار واکسیناسیون به منظور جلوگیری از تنش، مولتی‌ویتامین در اختیار پرندگان قرار می‌گرفت.

جدول 2-1. برنامه و نحوه واکسیناسیون گروه‌های آزمایشی

سن (روز)	واکسن	روش استفاده
1	برونشیت (H 120)	اسپری
1	نیوکاسل (B1)	اسپری
24	نیوکاسل (Lasota)	قطره چشمی

2-2- پرندگان و گروه‌های آزمایشی

تعداد 400 قطعه جوجه گوشتی سویه آرین (مخلوط هر دو جنس)، در قالب طرح کاملاً تصادفی به هشت گروه آزمایشی با پنج تکرار و 10 قطعه جوجه در هر تکرار تقسیم شدند. گروه‌های آزمایشی عبارت بودند از:

1- گروه شاهد (جیره پایه بدون دریافت هیچ گونه مواد افزودنی)

2- جیره پایه + پروبیوتیک تولیدی مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران حاوی باکتری *Pediococcus acidilactici* (فرمولاسیون 1)

3 - جیره پایه + پروبیوتیک تولیدی مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران حاوی باکتری *Lactobacillus brevis* (فرمولاسیون 2)

4- جیره پایه + پروبیوتیک تولیدی مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران حاوی باکتری‌های *Lactobacillus brevis*، *Enterococcus sp.*، *Pediococcus acidilactici* و *Bacillus sp.* (فرمولاسیون 3)

- 5- جیره پایه + پروبیوتیک تولیدی مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران حاوی باکتری‌های *Pediococcus acidilactici*, *Lactobacillus brevis*, *Kluyveromyces marxianus* و *Pichia fermentas* (فرمولاسیون 4)
- 6- جیره پایه + آنتی‌بیوتیک اکسی تتراسایکیلین 10٪
- 7- جیره پایه + پروبیوتیک تجاری چند سویه بیوپول (bio poul)
- 8- جیره پایه + پروبیوتیک تجاری چند سویه لاکتوفید
- خوراک و آب آشامیدنی گروه شاهد فاقد هر گونه افزودنی بود و پروبیوتیک فرمولاسیون 1، 3 و 4 به ترتیب به مقدار 500، 300 و 500 گرم در هر هزار لیتر به آب آشامیدنی گروه‌های آزمایشی مربوطه در کل دوره اضافه شدند. پروبیوتیک فرمولاسیون 2 به میزان یک کیلوگرم در هر تن به خوراک مصرفی جوجه‌ها در تمام دوره پرورش اضافه شد؛ و از پروبیوتیک تجاری bio poul به صورت محلول در آب به ترتیب به میزان 100 و 75 گرم در هر 1000 لیتر در روزهای 0 تا 10 و پس از 10 روزگی در آب آشامیدنی گروه آزمایشی استفاده شد. پروبیوتیک لاکتوفید از 0 تا 21 روزگی به میزان 200 گرم در تن و از 21 روزگی تا زمان کشتار به میزان 100 گرم در هر تن خوراک مصرفی گروه‌های آزمایشی اضافه شد. همچنین از آنتی‌بیوتیک اکسی تتراسایکیلین 10٪ به میزان 30 گرم در هر 100 لیتر آب آشامیدنی در سه روز اول تغییر جیره‌های پرورشی، یعنی روزهای 1، 2، 3، 15، 16، 17، 25، 26، 27، 36، 37، 38 استفاده شد.

2-3- مدل آماری طرح

مدل آماری مورد استفاده در این پژوهش به صورت $Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij}$ است. در این مدل y_{ij} : مقدار هر مشاهده، μ : میانگین صفت مورد مطالعه، T_i : اثر تیمارهای آزمایشی، و e_{ij} : اثر خطای آزمایشی است، تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها در این مطالعه با استفاده از نسخه 9/1 نرم‌افزار SAS و Proc GLM صورت گرفت. پس از تجزیه واریانس، میانگین‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن مقایسه شدند.

2-4- جیره غذایی

جیره‌ها بر اساس کاتالوگ سویه آرین برای چهار دوره: 1 تا 14 روزگی: پیش‌دان (انرژی: 2870 کیلوکالری، پروتئین خام: 22 درصد)، 15 تا 24 روزگی: میان‌دان (انرژی: 2950 کیلوکالری، پروتئین خام: 20 درصد)،

25 تا 35 روزگی: پایان دان 1 (انرژی: 3025 کیلوکالری، پروتئین خام: 18/5 درصد)، و 36 تا 42 روزگی: پایان دان 2 (انرژی: 3025 کیلوکالری، پروتئین : 17/5 درصد) به جوجه‌ها داده شد.

جدول 2-2 ترکیبات جیره غذایی در دوره‌های مختلف پرورش جوجه‌های گوشتی

پایان دان 2	پایان دان 1	میان دان	پیش دان	تراکم مواد مغذی در جیره
3025	3025	2950	2870	انرژی (کیلوکالری)
17/5	18/5	20	22	پروتئین خام (%)
1/04	1/10	1/20	1/33	لیزین (%)
0/45	0/47	0/51	0/57	متیونین (%)
0/17	0/17	0/17	0/17	سدیم (%)
0/78	0/78	0/87	0/96	کلسیم (%)
0/39	0/39	0/44	0/48	فسفر (%)
اجزای جیره (%)				
53	47	46/3	44/1	ذرت
22/5	24	28/5	30	کنجاله سویا
8/5	10	10	10	گلوتن ذرت
11	13	10	10	گندم
1	1	1	1	روغن سویا
1	1/2	1/2	1/2	منو کلسیم فسفات
0/15	0/2	0/2	0/4	DL- متیونین
0/15	0/2	0/2	0/33	L- لیزین

0/05	0/1	0/1	0/2	L- ترئونین
1/61	1/75	1/7	1/7	کربنات کلسیم
0/2	0/15	0/15	0/17	نمک
0/84	1/4	0/65	0/9	پیش مخلوط آنزیم‌ها، ویتامین‌ها و سایر افزودنی‌ها

2-5- آزمایش‌های مزرعه‌ای

2-5-1- میانگین وزن زنده

در پایان روزهای 7، 14، 21، 28، 35 و 42 جوجه‌های هر پن به صورت گروهی، 2-1 ساعت بعد از قطع خوراک، با ترازوی دیجیتال با دقت ± 5 گرم وزن شده و نتایج به صورت میانگین وزن یادداشت گردید.

2-5-2- خوراک مصرفی روزانه

به منظور تعیین متوسط خوراک مصرفی هر جوجه در پایان هر هفته از رابطه زیر محاسبه شد.

$$\text{مقدار خوراک باقیمانده در هر مرحله} - \text{مقدار خوراک توزیع شده در هر مرحله} = \text{خوراک مصرفی روزانه}$$

$$\text{تعداد روز مرغ هر مرحله}$$

2-5-3- ضریب تبدیل غذایی

محاسبه ضریب تبدیل غذایی در هر مرحله، از تقسیم متوسط خوراک مصرفی روزانه بر افزایش وزن در همان دوره به دست آمد.

$$\text{مقدار خوراک مصرفی در طول دوره مورد نظر (گرم)} = \text{ضریب تبدیل غذایی}$$

$$\text{افزایش وزن در زمان مورد نظر (گرم)}$$

2-5-4- تلفات

در طول دوره آزمایش در صورت بروز تلفات، تعداد آن در هر واحد آزمایشی و وزن آن به‌طور روزانه ثبت شد تا افزایش وزن و خوراک مصرفی جوجه‌های تلف‌شده در طی آزمایش منظور شود. همچنین لاشه‌ها به منظور تشخیص علت مرگ مورد کالبدگشایی قرار گرفتند.

2-5-5- شاخص تولید اروپایی

از شاخص تولید اروپایی به منظور مقایسه‌ی بهتر عملکرد گروه‌های آزمایشی در جوجه‌های گوشتی طبق فرمول زیر استفاده شد.

$$\text{شاخص تولید} = 100 \times \frac{\text{میانگین وزن (kg)} \times \text{درصد ماندگاری}}{\text{تعداد روزهای پرورش} \times \text{ضریب تبدیل غذایی}}$$

2-6- متغیرهای اندازه‌گیری‌شده در رابطه با عملکرد سیستم ایمنی

2-6-1- ارزیابی ایمنی همورال

2-6-1-1- تزریق گلبول قرمز گوسفند (SRBC) و تعیین عیار پادتن تولیدشده علیه آن

برای تهیه SRBC ابتدا با سرنگ آغشته شده با هپارین، از گوسفند خون‌گیری شد. سپس سه بار با محلول بافر فسفات‌سالین استریل (PBS) به‌وسیله سانتریفوژ در 2500 rpm شستشو داده شد تا لایه Buffy coat جدا و حذف شود، سپس سوسپانسیون گلبول قرمز گوسفند 5 درصد در PBS تهیه شد. در روزهای 28 و 35 به دو پرنده از هر واحد آزمایشی مقدار 0/1 میلی‌لیتر از سوسپانسیون گلبول قرمز گوسفند 5 درصد در PBS، به عضله سینه تزریق شد. هفت روز بعد از تزریق دوم گلبول قرمز، از همان پرنده‌ها از طریق ورید بال خون‌گیری شد.

برای تعیین عیار پادتن تولیدشده علیه گلبول قرمز گوسفند از روش هماگلوتیناسیون میکروتیتر استفاده شد. به این منظور نمونه‌های سرم جهت خنثی شدن سیستم کمپلمان و عدم تداخل آن با پادتن ضد گلبول قرمز گوسفند به مدت 30 دقیقه در دمای 56 درجه سلسیوس گرمخانه‌گذاری شد. به کلیه چاهک‌های میکروپلیت U شکل، مقدار 25 میکرولیتر محلول بافر فسفات سالین افزوده شد. سپس از هر نمونه سرم مقدار 25 میکرولیتر به اولین چاهک هر یک از ردیف‌های هشت‌گانه میکروپلیت افزوده شد و با استفاده از میکروپیپت، سری رقت با عامل رقت $\frac{1}{2}$ تهیه گردید. بدین ترتیب که پس از چند بار مخلوط کردن سرم و بافر در اولین چاهک هر ردیف، مقدار 25 میکرولیتر از مخلوط به چاهک بعدی منتقل و این عمل تا آخرین چاهک ادامه یافت. از آخرین چاهک نیز 25 میکرولیتر از مخلوط، بیرون ریخته شد تا کلیه چاهک‌ها حاوی 25 میکرولیتر مخلوط سرم و بافر باشند. در میکروپلیت یک ردیف به‌عنوان شاهد در نظر گرفته شد و به آن سرم اضافه نشد.

در مرحله آخر به هر یک از چاهک‌ها 25 میکرولیتر سو سپانسیون 1 در صد گلبول قرمز گو سفند در PBS به‌عنوان آنتی‌ژن افزوده شد و پلیت‌ها به مدت یک ساعت در دمای 37 درجه سلسیوس و 2 ساعت در 4 درجه سلسیوس قرار گرفتند. پس از سپری شدن این مدت، لگاریتم در مبنای 2 عکس آخرین رقتی که در آن هماگلوتیناسیون دیده می‌شد به‌عنوان عیار پادتن ثبت گردید.

2-1-6-2- تعیین عیار پادتن علیه ویروس نیوکاسل

واکسن نیوکاسل لاسوتا در سن 24 روزگی به روش آشامیدنی به جوجه‌ها داده شد و در روز 42 یک پرندۀ از هر پن به‌طور تصادفی انتخاب و از طریق ورید بال خون‌گیری انجام شد. پس از جداسدن سرم از لخته خون، تعیین عیار پادتن علیه ویروس واکسن نیوکاسل در نمونه‌های سرم با استفاده از روش ممانعت از هم‌آگلوتیناسیون انجام شد.

2-6-2- ایمنی سلولی

2-1-2-6-2- حساسیت ریش جوجه‌ها به تزریق فیتوهم‌آگلوتنین

در روز 41 دوره پرورش، از هر پن 1 پرنده (خروس) به طور تصادفی انتخاب و با رنگ های مختلف علامت گذاری شدند. ضخامت ریش سمت راست هر پرنده قبل از تزریق اندازه گیری و سپس مقدار 0/1 میلی لیتر از محلول فیتوهمگلوتنین و محلول سالین به صورت جلدی در آن تزریق شد. بیست و چهار ساعت پس از تزریق، ضخامت محل تزریق شده اندازه گیری شد و به منظور بررسی میزان تکثیر لنفوسیت های T در سیستم ایمنی سلولی، اختلاف ضخامت قبل و بعد از هر تزریق به عنوان معیار سنجش در نظر گرفته شد.

2-2-6-2 پاسخ به دی نیتروکلروبنزن

این مرحله شامل تماس پوست پرنده ها با 0/25 میلی لیتر دی نیتروکلروبنزن (DNCB- 10 mg/mL) در سن 41 روزگی بود. به منظور بررسی میزان واکنش، ضخامت پوست پیش از چالش و 24 ساعت پس از چالش اندازه گیری شد.

2-7- وزن نسبی اندام ها و اجزای لاشه

در روز 42، تعداد یک پرنده از هر تکرار، به عبارتی پنج پرنده از هر گروه آزمایشی به طور تصادفی انتخاب و بعد از وزن کشی کشتار شدند. پس از کشتار و انجام عملیات پوست کنی، جدا کردن سر و پاها، و خالی نمودن محتویات شکم؛ وزن نسبی اندام های مختلف دستگاه گوارش شامل کبد، پیش معده، سنگدان، قلب، طحال، و بورس فابریسیوس؛ و قسمت های مختلف لاشه شامل وزن سینه، ران، پشت و گردن، بال ها و چربی محوطه بطنی اندازه گیری شد.

طول بخش های مختلف روده باریک (دوازدهه، ژژونوم، ایلئوم) نیز بر حسب سانتی متر اندازه گیری شد.

2-8- ارزیابی جمعیت میکروبی روده

2-8-1- جمع آوری نمونه جهت کشت میکروبی

در 42 روزگی، از هر تکرار (واحد آزمایشی)، یک پرنده انتخاب و دستگاه گوارش آن در شرایط آسپتیک در مجاورت شعله باز شد. مقدار یک گرم از محتویات بخش سکوم به وسیله قطعات فویل آلومینیومی که قبلاً استریل شده بودند، برداشته شده و به لوله‌های آزمایشی حاوی 9 میلی‌لیتر محلول PBS استریل افزوده شد.

2-8-2- اندازه‌گیری جمعیت میکروبی

2-8-2-1- تهیه محیط کشت

جهت ارزیابی میکروارگانیسم‌های موجود در بافت روده، از محیط‌های کشت عمومی و انتخابی استفاده شد. محیط MRS agar برای شمارش جمعیت باکتری‌های اسید لاکتیک، محیط پلیت‌کانت‌آگار برای شمارش جمعیت کلی باکتری‌های هوازی، و محیط Mac Conkey agar برای شمارش اختصاصی گونه‌های اشریشیاکلی مورد استفاده قرار گرفتند. در موارد لازم آگار نیز به محیط کشت‌ها اضافه شد. بعد از تهیه مواد و آماده‌سازی محیط‌های اولیه، فرآیند سترون‌سازی در دمای 121 درجه سلسیوس، به مدت 15 دقیقه صورت گرفت و محیط‌ها در پلیت‌های ده سانتی‌متری با میزان مساوی توزیع شدند.

2-8-2-2- شمارش کلنی

تمامی پلیت‌های رشدیافته بعد از گذشت مدت گرماگذاری، شمارش شده و تعداد کلنی‌ها به صورت CFU/g گزارش شدند. روال کار به این صورت بود که تعداد کلنی‌ها روی هر پلیت، شمارش شده و با فرمول زیر به شمارش نهایی رسید.

تعداد کلنی باکتری در هر گرم از نمونه = تعداد کلنی‌های شمارش شده روی هر پلیت $\times$ عکس ضریب رقت $\times$ ضریب تصحیح حجم کشت داده شده

2-9- مورفولوژی روده

2-9-1- تهیه نمونه برای بررسی‌های مورفولوژی روده و تثبیت نمونه‌های روده

در روز 42، از هر تکرار یک قطعه پرنده انتخاب و پس از ثبت مشخصات و وزن‌کشی، کشتار گردید. پس از بازکردن لاشه، دستگاه گوارش خارج گردید. سپس روده باریک از اتصالات روده‌بند آزاد و روی میز در

کنار یک متر قرار داده شد. سپس از سه قسمت روده باریک (دوازدهه، ژژونوم و ایلئوم)، قطعاتی به طول 3 سانتیمتر جدا گردید. ایلئوم از محل زائده میکل تا محل اتصال روده‌های کور در نظر گرفته شد. قطعات جدا شده با استفاده از سرنگ حاوی محلول بافر فسفات‌سالین شسته و پس از خالی کردن محتویات درون آن‌ها به داخل ظروف پلاستیکی برچسب‌دار حاوی فرمالین 10٪ منتقل شدند.

2-9-2- اندازه‌گیری ارتفاع پرزهای روده باریک و عمق کریپت‌ها

2-9-2-1- آماده‌سازی نمونه‌ها

برای آماده‌سازی نمونه‌ها به مواد و حلال‌هایی نیاز می‌باشد که شامل محلول اتانول با غلظت‌های 70، 80 و 90 درصد، الکل مطلق، زایلول، پارافین، رنگ‌های هماتوکسیلین¹ و ائوزین² و محلول اسید الکل است. به‌منظور تهیه الکل به غلظت‌های 70، 80 و 90٪، الکل مطلق به نسبت موردنظر با آب مقطر رقیق شد. وجود الکل در پارافین ایجاد اشکال می‌کند بدین منظور از زایلول استفاده شد. زایلول یکی از شفاف‌کننده‌ها است که هم در مراحل پاساژ و هم در مراحل رنگ‌آمیزی استفاده می‌شود.

2-9-2-2- پاساژ بافت

برای تهیه اسلایدهای بافتی با ضخامت کم که بتوان در زیر میکروسکپ نوری مشاهده کرد، قبل از برش‌گیری نیاز به انجام مراحل روی بافت است تا بتواند استحکام موردنظر را کسب کرده و آماده برای برش‌گیری شود. بدین منظور از روشی متداول برای این کار به نام روش واکس پارافین استفاده شد. این روش شامل آب‌گیری³ بافت، شفاف‌سازی⁴ و پارافینه‌شدن⁵ آن است که با سرد شدن پارافین، به‌سرعت جامد شده و سختی مناسب جهت برش‌گیری را کسب می‌کند و دارای دوازده مرحله به‌ترتیب زیر است:

(1) الکل 70 درصد به مدت 1 ساعت

(2) الکل 80 درصد به مدت 1 ساعت

(3) الکل 90 درصد به مدت 1 ساعت

¹ Hematoxylin

² Eosin

³ Dehydration

⁴ Clearing

⁵ Impregnation

- (4) الکل مطلق 1، به مدت 1 ساعت
- (5) الکل مطلق 2، به مدت 1 ساعت
- (6) الکل مطلق 3، به مدت 1/5 ساعت
- (7) زایلول 1، به مدت 2 ساعت
- (8) زایلول 2، به مدت 2 ساعت
- (9) زایلول 3، به مدت 2 ساعت
- (10) پارافین مذاب 1، به مدت 1 ساعت
- (11) پارافین مذاب 2، به مدت 1 ساعت
- (12) پارافین مذاب 3، به مدت 1 ساعت

بعد از حدود 21 ساعت نمونه‌های بافتی، آماده قالب‌گیری هستند. قالب‌گیری نمونه‌ها توسط پارافین مذاب و در قالب‌های فلزی انجام گرفت. مرحله بعدی برش نمونه‌ها بود که توسط میکروتوم چرخان^۶، و با ضخامت 5 میکرومتر انجام گرفت. مقاطع تهیه‌شده از هر نمونه، روی آب در ظرف مخصوص آب گرم 40 درجه سلسیوس پهن شدند تا چروک‌های احتمالی آن‌ها باز شده و به‌راحتی روی لام قرار گیرند. لام‌های آماده‌شده به مدت یک ساعت در آن 56 درجه سلسیوس قرار گرفت تا ضمن خشک‌شدن، پارافین‌های اضافی روی مقاطع و لام‌ها ذوب شود.

برای چسبانیدن برش‌ها روی لام به نکات زیر توجه شد.

- ثبت مشخصات نمونه در کنار لام
- تمیز کردن لام‌ها در محلول اسید الکل (98 سانتی‌متر مکعب الکل و 2 سانتی‌متر مکعب اسید کلریدریک)
- کشیدن ماده چسبنده روی لام که برش را روی آن ثابت نماید. این مواد عبارت بود از:
- مخلوط سفیده تخم‌مرغ و گلیسرین به نسبت مساوی و چند دانه کوچک تیمول
- برای نگهداری لام‌ها از گرمخانه 37 درجه سلسیوس تا زمان رنگ‌آمیزی استفاده شد.

⁶ Rotary microtome

2-9-3- رنگ آمیزی

رنگ آمیزی های انجام شده شامل رنگ آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین بود. لام های آماده شده و با کیفیت مناسب انتخاب شدند و رنگ آمیزی انجام گرفت.

2-9-4- مراحل اصلی در رنگ آمیزی

مراحل اصلی در رنگ آمیزی تقریباً عکس مراحل از ابتدا تا مرحله برش گیری می باشد. با این تفاوت که زمان ها در آن تغییراتی کرده و به طور کلی شامل موارد زیر می باشند:

1. برداشتن و پاک کردن پارافین به وسیله زایلول
 2. برداشت زایلول با الکل مطلق
 3. رنگ آمیزی
 4. دهیدراتاسیون از طریق درجات متفاوت الکل
 5. شفاف کردن در زایلول
 6. چسباندن لامل با چسب انتلان
- 2-10-5- روش رنگ آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین به ترتیب شامل:

- آب گیری برش ها
- رنگ هماتوکسیلین 15 دقیقه
- شستشو در آب روان 5 دقیقه
- اسید الکل 10 تا 15 ثانیه (به منظور جدا نمودن رنگ اضافی از سیتوپلاسم)
- شستشو در آب روان 5 تا 10 دقیقه
- رنگ ائوزین 1 ثانیه
- الکل 50 درصد 2 تا 3 دقیقه
- دهیدراته کردن (آب گیری)
- شفاف کردن

- چسبانیدن لامل روی لام

2-9-2- اندازه‌گیری ابعاد پرزها و عمق کریپت‌ها و شمارش گابلت سل‌ها

لام‌های رنگ‌آمیزی‌شده در بزرگ‌نمایی‌های مختلف با میکروسکپ نوری مورد مشاهده قرار گرفتند. شاخص‌های اندازه‌گیری شده شامل ارتفاع و عرض پرزها، و اندازه‌گیری ارتفاع (عمق) غدد روده‌ای و شمارش سلول‌های گابلت بود. ارتفاع (از رأس پرز تا قاعده آن) و عمق کریپت (از قاعده پرز تا انتهای غدد) با انطباق گراتیکول بر ناحیه موردنظر اندازه‌گیری شد. تعداد گابلت سل نیز در هر 100 میکرومتر شمارش شد.

2-10- سنجش کیفیت گوشت

2-10-1- رنگ

برای ارزیابی میزان روشنایی (L)، قرمزی (a) و زردی (b) گوشت، ابتدا گوشت‌های قسمت‌های ران و سینه به قطعات یک‌اندازه تقسیم شدند و سپس با استفاده از نرم‌افزار Color Grab، آنالیز رنگ انجام شد.

2-10-2- ظرفیت نگهداری آب

برای تعیین افت خونابه یک گرم از گوشت پس از توزین، به مدت 4 دقیقه در سانتریفیوژ با دور 3335 قرار داده شد. نمونه پس از سانتریفیوژ به آرامی با پارچه کتان خشک و دوباره توزین شد. سپس به مدت 24 ساعت در دمای 70 درجه سلسیوس نگهداری شده و در نهایت با استفاده از فرمول زیر، ظرفیت نگهداری آب محاسبه شد (Castellini et al., 2002).

$$\text{ظرفیت نگهداری آب} = \frac{\text{وزن پس از خشک کردن (گرم)} - \text{وزن پس از سانتریفیوژ (گرم)}}{\text{وزن اولیه (گرم)}} \times 100$$

2-10-3- افت پخت

برای اندازه‌گیری افت در نتیجه پخت نیز یک سانتیمتر مکعب از گوشت بریده و پس از توزین به مدت 24

ساعت در دمای 4 درجه سلسیوس نگهداری شده و سپس به مدت 10 دقیقه در حمام آبگرم در دمای 85 درجه سلسیوس قرار داده شده و با یک پارچه کتان تمیز شده و دوباره وزن می شود (Bertrama et al., 2003).

$$\text{اُفت در نتیجه پخت} = 100 \times \frac{\text{وزن نهایی (گرم)} - \text{وزن اولیه (گرم)}}{\text{وزن اولیه (گرم)}}$$

2-10-5- غلظت مالون دی آلدئید

برای اندازه گیری میزان اکسیداسیون گوشت، غلظت مالون دی آلدئید به عنوان نشانگر پراکسیداسیون چربی در نمونه گوشت مورد سنجش قرار گرفت. بدین منظور ابتدا یک گرم از نمونه گوشت ران و سینه در لوله ای دردار و قابل سانتریفیوژ قرار داده شد و روی آن 4 میلی لیتر اسید تری کلرواستیک و 2/5 میلی لیتر بوتیلیتدهیدروکسی تولوئن ریخته شد و به مدت 60 ثانیه با دور بالا و رتکس گردید. در مرحله بعد لوله ها در $3000 \times g$ و به مدت 3 دقیقه سانتریفیوژ شدند. بعد از سانتریفیوژ، لایه هگزان رویی دور ریخته و فاز آبی با کاغذ واتمن نمره یک صاف شد و با اسید تری کلرواستیک به حجم 5 میلی لیتر رسانده شد. سپس مقدار 3 میلی لیتر اسید تیوباربیوتیک به لوله استاندارد و نمونه ها اضافه شد و به مدت 30 دقیقه در بن ماری 70 درجه سلسیوس قرار داده شدند. بعد از آن، نمونه ها در آب یخ خنک شده و در طول موج 532 نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شدند.

بخش سوم

نتایج آزمایش‌ها

3-1- عملکرد (میانگین وزن بدن، خوراک مصرفی و ضریب تبدیل خوراک)

3-1-1- میانگین وزن زنده

نتایج مربوط به اثر گروه‌های آزمایشی بر میانگین وزن جوجه‌های گوشتی در جدول 3-1 گزارش شده است. همان‌طور که در این جدول مشاهده می‌شود، وزن جوجه‌ها در پایان هفته‌ی اول تحت تأثیر گروه‌های آزمایشی قرار نگرفته است. در پایان هفته دوم، گروه شاهد دارای کمترین وزن؛ و بیشترین میانگین وزنی مربوط به گروه فرمولاسیون 1 بوده است و سایر گروه‌های آزمایشی عملکردی مابین این دو گروه از خود نشان داده‌اند ($P < 0/05$). در پایان هفته سوم، به ترتیب بیشترین و کمترین وزن مربوط به گروه آنتی‌بیوتیک و شاهد بوده است و پس از گروه آنتی‌بیوتیک، گروه فرمولاسیون 1 بیشترین وزن را داشته است. در میان سایر گروه‌های آزمایشی، گروه‌های فرمولاسیون 3 و 4، و لاکتوفید نسبت به فرمولاسیون 2 وزن بیشتری داشتند و گروه بیوپول میانگین وزنی کمتر از بقیه گروه‌ها ولی بیشتر از گروه شاهد داشت ($P < 0/05$). در هفته چهارم نیز بیشترین و کمترین وزن به ترتیب مربوط به گروه آنتی‌بیوتیک و شاهد بود و سه گروه فرمولاسیون 1، 4 و لاکتوفید نسبت به سه گروه باقیمانده وزن بیشتری را دارا بودند ($P < 0/05$). در هفته پنجم گروه شاهد دارای وزن کمتری از سایر گروه‌ها بود و هفت گروه آزمایشی دیگر از لحاظ آماری عملکرد مشابهی را از خود نشان دادند ($P < 0/05$). سرانجام در پایان هفته ششم، بیشترین میانگین وزن مربوط به گروه آنتی‌بیوتیک بود. پس از آن، گروه‌های آزمایشی فرمولاسیون 4 و لاکتوفید، سپس گروه‌های فرمولاسیون 1، 2 و 3، و پس از آن‌ها تیمار بیوپول قرار داشتند که همگی وزن بیشتری نسبت به گروه شاهد از خود نشان دادند ($P < 0/05$).

جدول 3-1. مقایسه وزن (گرم) گروه‌های آزمایشی مختلف در پایان هفته‌های مختلف پرورش

گروه‌های آزمایشی	هفته اول	هفته دوم	هفته سوم	هفته چهارم	هفته پنجم	هفته ششم
شاهد	135/48	300/05 ^b	575/11 ^d	942/85 ^c	1447/48 ^b	1969/71 ^d
آنتی‌بیوتیک	148/76	312/44 ^{ab}	660/92 ^a	1070/12 ^a	1594/88 ^a	2231/08 ^a
فرمولاسیون 1	145/44	319/32 ^a	636/72 ^{ab}	1027/94 ^{ab}	1560/68 ^a	2145/48 ^{bc}
فرمولاسیون 2	141/16	310/08 ^{ab}	620/40 ^{bc}	1010/78 ^b	1533/34 ^a	2141/29 ^{bc}
فرمولاسیون 3	144/48	317/72 ^{ab}	630/44 ^{abc}	1010/64 ^b	1563/40 ^a	2136/08 ^{bc}
فرمولاسیون 4	135/36	315/20 ^{ab}	626/16 ^{abc}	1026/36 ^{ab}	1578/60 ^a	2182/40 ^{ab}

2189/09 ^{ab}	1519/20 ^a	1026/66 ^{ab}	634/56 ^{abc}	316/84 ^{ab}	143/80	لاکتوفید
2093/04 ^c	1447/48 ^a	999/00 ^b	600/32 ^{cd}	302/24 ^{ab}	142/16	بیوپول
19/14	17/59	11/03	8/33	4/32	3/42	SEM
<0/0001	<0/0001	<0/0001	<0/0001	0/02	0/10	P value

^{a-d}: در هر ستون میانگین‌های با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند ($P < 0/05$).

SEM: انحراف استاندارد میانگین

3-1-2- خوراک مصرفی

همان‌طور که در جدول 3-2 مشاهده می‌شود در هفته اول بیشترین و کمترین مصرف خوراک به ترتیب مربوط به گروه‌های فرمولاسیون 3 و بیوپول بود و سایر گروه‌ها میزان مصرف خوراکی مابین این دو گروه از خود نشان دادند ($P < 0/05$). در هفته دوم تفاوت معنی‌داری در مصرف خوراک در سه هفته اول وجود نداشت ($P > 0/05$). در هفته سوم گروه آنتی‌بیوتیک بیشترین مصرف خوراک و پس از آن گروه لاکتوفید، گروه‌های فرمولاسیون 1 تا 4، و سپس بیوپول مصرف خوراک بیشتری نسبت به گروه شاهد از خود نشان دادند ($P < 0/05$). در هفته‌های چهارم و پنجم بیشترین مقدار مصرف خوراک مربوط به گروه لاکتوفید و کمترین مصرف خوراک مربوط به گروه‌های دریافت‌کننده آنتی‌بیوتیک و بیوپول بوده است ($P < 0/05$).

در پایان هفته ششم گروه آنتی‌بیوتیک نسبت به سایر گروه‌ها خوراک بیشتری را مصرف کرده است و کمترین مصرف خوراک مربوط به گروه شاهد بوده است ($P < 0/05$).

در کل دوره، گروه لاکتوفید بیشترین مقدار خوراک را مصرف کرده و پس از آن گروه‌های آنتی‌بیوتیک و فرمولاسیون 4، سپس گروه‌های فرمولاسیون 1 و 2، و پس از آن‌ها گروه‌های فرمولاسیون 3 و بیوپول خوراک بیشتری را مصرف کرده‌اند و کمترین میزان خوراک مصرفی مربوط به گروه شاهد بوده است ($P < 0/05$).

جدول 2-3. مقایسه خوراک مصرفی (گرم) گروه‌های آزمایشی مختلف در پایان هفته‌های مختلف پرورش

گروه‌های آزمایشی	هفته اول	هفته دوم	هفته سوم	هفته چهارم	هفته پنجم	هفته ششم	کل دوره
شاهد	101/31 ^{abc}	254/25	452/48 ^d	694/88 ^{bcd}	1034/85 ^{abc}	1201/37 ^c	3739/17 ^d
آنتی‌بیوتیک	104/96 ^{ab}	251/40	559/96 ^a	672/56 ^d	1047/24 ^{abc}	1395/58 ^a	4031/70 ^{ab}
فرمولاسیون 1	94/88 ^{bc}	256/32	512/20 ^{bc}	725/04 ^{ab}	1022/20 ^{bc}	1291/10 ^{abc}	3901/74 ^{bc}
فرمولاسیون 2	96/00 ^{bc}	251/80	503/32 ^{bc}	722/56 ^{ab}	1047/43 ^{abc}	1282/88 ^{bc}	3903/99 ^{bc}
فرمولاسیون 3	108/46 ^a	242/34	502/88 ^{bc}	688/60 ^{cd}	1021/00 ^{bc}	1283/08 ^{bc}	3846/36 ^{cd}
فرمولاسیون 4	97/36 ^{bc}	254/64	504/96 ^{bc}	728/60 ^{ab}	1075/24 ^{ab}	1355/32 ^{ab}	4016/12 ^{ab}
لاکتوفید	97/84 ^{abc}	254/36	516/44 ^b	731/32 ^a	1094/39 ^a	1356/72 ^{ab}	4051/07 ^a
بیوپول	93/14 ^c	239/46	476/88 ^{cd}	709/56 ^{abc}	1005/32 ^c	1275/32 ^{bc}	3799/68 ^{cd}
SEM	2/62	4/64	8/90	8/17	14/21	25/86	33/97
P value	0/0028	0/12	<0/0001	<0/0001	0/0019	0/0003	<0/0001

^{a-d}: در هر ستون میانگین‌های با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند ($P < 0/05$).
SEM: انحراف استاندارد میانگین

3-1-3- ضریب تبدیل خوراک

همان‌طور که در جدول 3-3 مشاهده می‌شود ضریب تبدیل در هفته‌های اول تا سوم، پنج و شش تفاوت معنی‌داری مابین گروه‌های آزمایشی نیست ($P > 0/05$). در هفته چهارم، گروه آنتی‌بیوتیک دارای ضریب تبدیل کمتری نسبت به سایر گروه‌ها بود ($P < 0/05$)؛ و در کل دوره پرورش، تمامی گروه‌های آزمایشی از لحاظ آماری ضریب تبدیل یکسانی نسبت به یکدیگر نشان دادند که در مقایسه با گروه شاهد مقدار کمتری بوده است ($P < 0/05$).

جدول 3-3. مقایسه ضریب تبدیل گروه‌های آزمایشی مختلف در پایان هفته‌های مختلف پرورش

گروه‌های آزمایشی	هفته اول	هفته دوم	هفته سوم	هفته چهارم	هفته پنجم	هفته ششم	کل دوره
شاهد	1/07	1/54	1/65	1/89 ^a	2/05	2/30	1/93 ^a
آنتی‌بیوتیک	0/97	1/53	1/61	1/64 ^b	1/99	2/19	1/84 ^b
فرمولاسیون 1	0/91	1/47	1/61	1/85 ^a	1/92	2/21	1/85 ^b
فرمولاسیون 2	0/96	1/49	1/62	1/85 ^a	2/00	2/11	1/85 ^b
فرمولاسیون 3	1/05	1/39	1/61	1/81 ^a	1/85	2/24	1/83 ^b
فرمولاسیون 4	1/03	1/41	1/62	1/82 ^a	1/95	2/24	1/87 ^b
لاکتوفید	0/95	1/47	1/62	1/86 ^a	1/97	2/23	1/88 ^b
بیوپول	0/92	1/49	1/59	1/78 ^a	1/93	2/22	1/85 ^b
SEM	0/03	0/03	0/03	0/03	0/04	0/04	0/01
P value	0/3	0/4	0/9	0/0005	0/12	0/18	<0/0001

^{a, b} در هر ستون میانگین‌های با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند ($P < 0/05$).

SEM: انحراف استاندارد میانگین

3-1-3- شاخص اروپایی

همان‌طور که در جدول 3-4 مشاهده می‌شود گروه شاهد دارای شاخص اروپایی کمتری نسبت به سایر گروه‌های آزمایشی بوده و سایر گروه‌ها از لحاظ آماری عملکردی یکسان از خود نشان داده‌اند ($P < 0/05$).

جدول 3-4. مقایسه شاخص اروپایی گروه‌های آزمایشی مختلف در پایان دوره پرورش

شاخص اروپایی	گروه‌های آزمایشی
242/01 ^b	شاهد
283/18 ^a	آنتی‌بیوتیک
275/50 ^a	فرمولاسیون 1
268/63 ^a	فرمولاسیون 2
277/03 ^a	فرمولاسیون 3

277/12 ^a	فرمولاسیون 4
270/90 ^a	لاکتوفید
269/10 ^a	بیوپول
5/08	SEM
0/0002	P value

^{a, b}: در هر ستون میانگین‌های با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند ($P < 0/05$).
SEM: انحراف استاندارد میانگین

نتیجه‌گیری

در این مطالعه از پروبیوتیک‌های تک سویه و چند سویه تولید مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران و نمونه‌های تجاری در آب آشامیدنی و جیره غذایی جوجه‌های گوشتی استفاده شد. نتایج حاصل نشان داد که استفاده از این پروبیوتیک‌ها در مقایسه با گروه شاهد موجب افزایش وزن بدن، بهبود ضریب تبدیل، افزایش عملکرد جوجه‌های گوشتی و شاخص اروپایی شده است و می‌توانند جایگزین‌های مناسبی برای آنتی‌بیوتیک‌های محرک رشد در پرورش جوجه‌های گوشتی باشند.

- Abd El-Hack, M.E., Mahgoub, S.A., Alagawany, M., and Ashour, E.A.** (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**, 904-913.
- Agawane, S.B., and Lonkar, P.S.** (2019). Effect of probiotic containing *Saccharomyces boulardii* on experimental ochratoxycosis in broilers: hematobiochemical studies. *jvs* **5**, 359-367.
- Anwar, H., and Rahman, Z.U.** (2016). Efficacy of protein, symbiotic and probiotic supplementation on production performance and egg quality characteristics in molted layers. *Tropical Animal Health and Production*, **48**, 1361-1367.
- Bajagai, Y., Klieve, A., Dart, P., and Bryden, W.** (2016). Animal production and health div probiotics. *Animal Nutrition: Production, Impact and Regulation; Food and Agriculture Organization of the United Nations: Rome, Italy*.
- Beiki Bandarabadi, M., Yaghoobfar, A., Hashemi, M., and Dakhili, M.** (2010). The effects ??
- Budden, K.F., Gellatly, S.L., Wood, D.L., Cooper, M.A., Morrison, M., Hugenholtz, P., and Hansbro, P.M.** (2017). Emerging pathogenic links between microbiota and the gut–lung axis. *Nature Reviews Microbiology*, **15**, 55-63.
- Carvalho, I.T., and Santos, L.** (2016). Antibiotics in the aquatic environments: A review of the European scenario. *Environment International* **94**, 736-757.
- Cengiz, Ö., Köksal, B.H., Tatlı, O., Sevim, Ö., Ahsan, U., Üner, A.G., Ulutaş, P.A., Beyaz, D., Büyükyörük, S., Yakan, A., and Önel, A.G.** (2015). Effect of dietary probiotic and high stocking density on the performance, carcass yield, gut microflora, and stress indicators of broilers. *Poultry Science*, **94**, 2395-2403.
- Deng, Q., Shi, H., Luo, Y., Zhao, H., and Liu, N.** (2020). Effect of dietary Lactobacilli mixture on *Listeria monocytogenes* infection and virulence property in broilers. *Poultry Science*, **99**, 3655-3662.
- Devarajan, N., Köhler, T., Sivalingam, P., van Delden, C., Mulaji, C.K., Mpiana, P.T., Ibelings, B.W., and Poté, J.** (2017). Antibiotic resistant *Pseudomonas* spp. in the aquatic environment: A prevalence study under tropical and temperate climate conditions. *Water Research*, **115**, 256-265.
- Fathi, M., Ebeid, T., Al-Homidan, I., Soliman, N., and Abou-Emera, O.** (2017). Influence of probiotic supplementation on immune response in broilers raised under hot climate. *British Poultry Science*, **58**, 512-516.
- Gonzalez Ronquillo, M., and Angeles Hernandez, J.C.** (2017). Antibiotic and synthetic growth promoters in animal diets: Review of impact and analytical methods. *Food Control*, **72**, 255-267.
- Gueimonde, M., Sánchez, B., de los Reyes-Gavilán, C., and Margolles, A.** (2013). Antibiotic resistance in probiotic bacteria. *Frontiers in Microbiology*, **4**. Pages?
- Hassanein, S.M., and Soliman, N.K.** (2010). Effect of probiotic (*Saccharomyces cerevisiae*) adding to diets on intestinal microflora and performance of Hy-Line layers hens. *Journal of American Science*, **6**, 159-169.
- Hume, M.** (2011). Food safety symposium: potential impact of reduced antibiotic use and the

- Jadhav, K., Sharma, K., Katoch, S., Sharma, V., and Mane, B.** (2015). Probiotics in broiler poultry feeds: A review. *Journal of Physiology and Animal Nutrition*, **1**, 4-16.
- Jazi, V., Foroozandeh, A.D., Toghyani, M., Dastar, B., Rezaie Koochaksaraie, R., and Toghyani, M.** (2018). Effects of *Pediococcus acidilactici*, mannan-oligosaccharide, butyric acid and their combination on growth performance and intestinal health in young broiler chickens challenged with *Salmonella Typhimurium*. *Poultry Science*, **97**, 2034-2043.
- Kabir, S., Rahman, M., Rahman, M., Hosain, M., Akand, M., and Das, S.** (2005). Viability of probiotics in balancing intestinal flora and effecting histological changes of crop and caecal tissues of broilers. *Biotechnology*, **4**, 325-330.
- Kamboh, A.A.** (2018). Synergetic effects of multispecies probiotic supplementation on certain blood parameters and serum biochemical profile of broiler chickens. *J. Anim. Health Prod*, **6**, 27-34.
- Kemgang, T.S., Kapila, S., Shanmugam, V.P., and Kapila, R.** (2014). (Cross-talk between probiotic lactobacilli and host immune system. *Journal of Applied Microbiology*, **117**, 303-319.
- Kempf, I., and Zeitouni, S.** (2012). Coût biologique de la résistance aux antibiotiques : analyse et conséquences. *Pathologie Biologie*, **60**, e9-e14.
- Latha, S., Vinothini, G., John Dickson Calvin, D., and Dhanasekaran, D.** (2016). In vitro probiotic profile based selection of indigenous actinobacterial probiont *Streptomyces* sp. JD9 for enhanced broiler production. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, **121**, 124-131.
- Lee, K.-W., Ho Hong, Y., Lee, S.-H., Jang, S.I., Park, M.-S., Bautista, D.A., Donald Ritter, G., Jeong, W., Jeoung, H.-Y., An, D.-J., Lillehoj, E.P., and Lillehoj, H.S.** (2012). Effects of anticoccidial and antibiotic growth promoter programs on broiler performance and immune status. *Research in Veterinary Science*, **93**, 721-728.
- Lokapirnasari, W.P., Sahidu, A.M., Maslachah, L., Sabdoningrum, E.K., and Yulianto, A.B.** (2020). Effect of *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus acidophilus* in laying hens challenged by *Escherichia coli* infection. *Sains Malaysiana*, **49**, 1237-1244.
- Martínez, E.A., Babot, J.D., Lorenzo-Pisarello, M.J., Apella, M.C., and Chaia, A.P.** (2016). Feed supplementation with avian *Propionibacterium acidipropionici* contributes to mucosa development in early stages of rearing broiler chickens. *Beneficial Microbes*, **7**, 687-698.
- Neveling, D.P., van Emmenes, L., Ahire, J.J., Pieterse, E., Smith, C., and Dicks, L.M.T.** (2020). Effect of a multi-species probiotic on the colonisation of *Salmonella* in broilers. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, **12**, 896-905.
- Nigro, L.M., Hyde, A.S., MacGregor, B.J., and Teske, A.** (2016). Phylogeography, salinity adaptations and metabolic potential of the candidate division KB1 bacteria based on a partial single cell genome. *Frontiers in Microbiology*, **7**, 1266.
- Oakley, B.B., and Kogut, M.H.** (2016). Spatial and temporal changes in the broiler chicken cecal and fecal microbiomes and correlations of bacterial taxa with cytokine gene expression. *Frontiers in Veterinary Science*, **3**.
- Olnood, C.G., Beski, S.S.M., Choct, M., and Iji, P.A.** (2015). Novel probiotics: Their effects on growth performance, gut development, microbial community and activity of broiler chickens. *Animal Nutrition*, **1**, 184-191.
- Pourakbari, M., Seidavi, A., Asadpour, L., and MartíNez, A.** (2016). Probiotic level effects on growth performance, carcass traits, blood parameters, cecal microbiota, and immune response of broilers. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, **88**.
- Rhayat, L., Jacquier, V., Brinch, K.S., Nielsen, P., Nelson, A., Geraert, P.A., and Devillard, E.** (2017). *Bacillus subtilis* s train specificity affects performance improvement in broilers. *Poultry Science*, **96**, 2274-2280.

- Sadeghi, A., Toghyani, M., and Gheisari, A.** (2015). Effect of various fiber types and choice feeding of fiber on performance, gut development, humoral immunity, and fiber preference in broiler chicks. *Poultry Science*, **94**, 2734-2743.
- Shang, Y., Kumar, S., Oakley, B., and Kim, W.K.** (2018). Chicken gut microbiota: importance and detection technology. *Frontiers in Veterinary Science*, **5**, pages?
- Smith, J.M.** (2014). A review of avian probiotics. *Journal of Avian Medicine and Surgery*, **28**, 87-94.
- Sohail, M.U., Hume, M.E., Byrd, J.A., Nisbet, D.J., Shabbir, M.Z., Ijaz, A., and Rehman, H.** (2015). Molecular analysis of the caecal and tracheal microbiome of heat-stressed broilers supplemented with prebiotic and probiotic. *Avian Pathology*, **44**, 67-74.
- Sureshkumar, S., Jung, S.K., Kim, D., Oh, K.B., Yang, H., Lee, H.C., Jo, Y.J., Lee, H.S., Lee, S., and Byun, S.J.** (2020). Administration of *L. salivarius* expressing 3D8 scFv as a feed additive improved the growth performance, immune homeostasis, and gut microbiota of chickens. *Animal Science Journal*, **91**, e13399.
- Xiang, Q., Wang, C., Zhang, H., Lai, W., Wei, H., and Peng, J.** (2019). Effects of different probiotics on laying performance, egg quality, oxidative status, and gut health in laying hens. *Animals*, **9**, 1110.
- Yitbarek, A., Echeverry, H., Munyaka, P., and Rodriguez-Lecompte, J.C.** (2015). Innate immune response of pullets fed diets supplemented with prebiotics and synbiotics. *Poultry Science*, **94**, 1802-1811.
- Zaghari, M., Sarani, P., and Hajati, H.** (2020). Comparison of two probiotic preparations on growth performance, intestinal microbiota, nutrient digestibility and cytokine gene expression in broiler chickens. *Journal of Applied Animal Research*, **48**, 166-175.
- Zhao, C., Ge, B., De Villena, J., Sudler, R., Yeh, E., Zhao, S., White David, G., Wagner, D., and Meng, J.** (2001). Prevalence of *Campylobacter* spp., *Escherichia coli*, and *Salmonella* serovars in retail chicken, turkey, pork, and beef from the greater Washington, D.C., Area. *Applied and Environmental Microbiology*, **67**, 5431-5436.