



تأثیر ایزوله‌های لاکتوباسیلوس روتری و لاکتوباسیلوس سالیواریوس جدا شده از دستگاه گوارش طیور بومی شمال ایران بر عملکرد، لیپیدهای سرمی و پارامترهای ایمنی جوجه‌های گوشتی

مریم رویان^۱، مریم هاشمی^۲ و رامین صیقلانی^۳

۱- منطقه شمال کشور، پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی ایران (ABRII)، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی (AREEO)، رشت، ایران،
(نویسنده مسؤول: m.royan@abrii.ac.ir)

۲- پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی ایران (ABRII)، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی (AREEO)، کرج، ایران

۳- منطقه شمال کشور، پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی ایران (ABRII)، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی (AREEO)، رشت، ایران
تاریخ دریافت: ۹۷/۷/۱۴ تاریخ پذیرش: ۹۸/۲/۳۰ صفحه: ۲۶ تا ۱۸

چکیده

هدف از این مطالعه بررسی اثرات استفاده از سه سویه لاکتوباسیلوس روتری (*L. reuteri* ABRIG17 (MF686477) و *L. reuteri* ABRIG23 (MF686483)؛ *L. reuteri* ABRIG3 (MF686463))، جداسازی شده از بخش‌های دُوندنوم و ژُنزنوم مجوای گوارش مرغ‌های بومی گیلان و یک سویه لاکتوباسیلوس سالیواریوس (*L. salivarius* NABRII58 (MH595986))، جداسازی شده از دستگاه گوارش اردک بومی مازندران بر عملکرد، لیپیدهای سرمی و پارامترهای ایمنی جوجه‌های گوشتی بود. سویه‌های مذکور طی یک روش غربالگری به منظور یافتن باکتری‌های با پتانسیل پروبیوتیکی از میان ۳۸۳ باکتری اسید لاکتیکی گرم مثبت و کاتالاز منفی جداسازی شدند. در آزمایش از ۵۰۰ قطعه جوجه گوشتی نر یک روزه نژاد راسن ۳۰۸ در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با ۵ تیمار، ۵ تکرار و ۲۰ قطعه پرنده در هر تکرار استفاده شد. تیمارهای آزمایش عبارتند بودند از: ۱- جیره پایه به عنوان گروه شاهد (تیمار C)، ۲- جیره پایه + ۱ گرم در کیلوگرم از پودر مخلوط حاوی باکتری (*L. reuteri* ABRIG3 (MF686463) (تیمار LR1)، ۳- جیره پایه + ۱ گرم در کیلوگرم از باکتری (*L. reuteri* ABRIG23 (MF686483) (تیمار LR2)، ۴- جیره پایه + ۱ گرم در کیلوگرم از باکتری (*L. salivarius* (MH595986) (تیمار LR3) و ۵- جیره پایه + ۱ گرم در کیلوگرم از باکتری (*L. reuteri* ABRIG17 (MF686477) (تیمار LS). مصرف سویه‌های باکتریایی در تیمارها وزن پایان دوره شدند (NABRII58 (p>۰/۰۵)). بعلاوه مصرف سویه باکتریایی در تیمار LR1 منجر به افزایش وزن روزانه کل دوره شد (p<۰/۰۵). هر سه سویه لاکتوباسیلوس روتری مورد استفاده یعنی تیمارهای LR1، LR2 و LR3 باعث کاهشی معنی دار در چربی حفره بطنی شدند (p<۰/۰۵). در تیمار LR3 افزایش درصد لاشه مشاهده شد (p<۰/۰۵). سنجش اینونگلوبولین‌های سرم خون جوجه‌های گوشتی پس از دو محله تزریق گلbulوی‌های قرمز گوسفند نشان داد که تیمار LR3 دارای بالاترین سطح ایمونوگلوبولین کل پس از دو میان تزریق نسبت به تیمار شاهد بود (p<۰/۰۵) و سطح IgG در تیمار LR1 پس از اولین تزریق نسبت به گروه شاهد افزایش یافت (p<۰/۰۵). پس از تزریق دوم، میزان IgG چهار تیمار آزمایشی مورد مطالعه بالاتر از تیمار شاهد بود (p<۰/۰۵)، اما از نظر IgM تفاوت معنی داری بین تیمارهای آزمایشی و تیمار شاهد مشاهده نشد. غلظت کل کلسترول سرم تیمار LR2 به طور معنی داری (p<۰/۰۵) پائین تر از سایر تیمارها بود. تفاوت معنی داری از نظر تری گلیسیرید بین تیمار کترول و سه تیمار LS و LR2 (LR1 و وجود نداشت و تنها سطح تری گلیسیرید LR3 بالاتر از سایرین بود (p<۰/۰۵)). سطح HDL یا کلسترول خوب در تیمار LS بالاتر از تیمار کترول بود (p<۰/۰۵). از نظر سطح LDL سرم تفاوت معنی داری بین تیمارهای آزمایشی و شاهد وجود نداشت. مطالعه حاضر مشخص نمود که امکان جداسازی باکتری‌های با قابلیت پروبیوتیکی از جمعیت میکروبی طیور بومی وجود داشته و باکتری‌های جداسازی شده قادر به بهبود صفات تولیدی و ایمنی جوجه‌های گوشتی می‌باشند. نکته قابل توجه اثر مطلوب سویه لاکتوباسیلوس سالیواریوس جداسازی شده از مجرای گوارش اردک بومی بر افزایش وزن و اینونگلوبولین‌های سرم خون جوجه‌های گوشتی پیشنهاد می‌نماید باکتری‌های اختصاصی مجرای گوارش یک گونه از طیور می‌تواند به عنوان پروبیوتیک در دیگر گونه‌های طیور مورد استفاده قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: باکتری‌های اسید لاکتیک، پروبیوتیک، جوجه گوشتی، سیستم ایمنی، عملکرد

غذایی، منجر به افزایش تجمع چربی در حفره شکمی پرنده‌های اصلاح شده، شده است که صفتی نامطلوب محسوب می‌شود (۹). برخی گزارشات تأیید کننده تاثیرات مثبت لاکتوباسیلوس‌ها بر متابولیسم چربی و کاهش چربی حفره بطنی جوجه‌های گوشتی هستند (۴۲، ۴۵، ۲۰). در مطالعه پیشین محققین حاضر، سویه‌های لاکتوباسیلوسی با پتانسیل پروبیوتیکی را از قسمت‌های مختلف مجرای گوارش طیور بومی ایران جداسازی و تعیین مشخصات کردند (۳۵) و در تحقیق حاضر اثرات چهار سویه‌ی لاکتوباسیلوسی شامل ۳ سویه‌ی ایران *L. reuteri* جدا شده از دُوندنوم و ژُنزنوم مرغ‌های بومی گیلان و یک سویه *L. salivarius* جدا شده از دستگاه

مقدمه
پروبیوتیک‌ها به عنوان مهم‌ترین جایگزین آنتی‌بیوتیک‌های محرك رشد، شامل میکروب‌های زنده‌ای هستند که با بهبود تعادل میکروبی مجرای گوارش منجر به ارتقاء سلامت میزان می‌شوند (۱۹). لاکتوباسیلوس‌ها جزء فلور طبیعی مجرای گوارش جوجه‌های گوشتی بوده و از جمله سویه‌های رایج مورد استفاده در ترکیب مکمل‌های پروبیوتیکی هستند (۳۷، ۱۹). برای طراحی یک مکمل پروبیوتیکی جدید سویه‌های باکتریایی ترجیحاً باید جزء میکروفلور طبیعی مجرای گوارش همان گونه باشند (۲۰). روند اصلاح نژاد جوجه‌های گوشتی با هدف بهبود سرعت رشد و ضربت تبدیل

نگهداری شد. سپس هر یک از جدایه‌ها به منظور استفاده در تقدیم جوجه‌های گوشتی به میزان 10^{10} CFU/g در آرد ذرت به منظور مخلوط نمودن با خوراک روزانه رقیق شدند. (۳۸)

آزمایش با جوجه‌های گوشتی

تعداد ۵۰۰ قطعه جوجه گوشتی نر یک روزه سویه راس ۳۰۸ در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با ۵ تیمار، ۵ تکرار و ۲۰ قطعه پرنده در هر تکرار توزیع شدند. میانگین وزن اولیه گروه‌های آزمایشی در زمان شروع آزمایش ۴۲ گرم بود و جوجه‌ها به طور تصادفی به تکرارها اختصاص یافتند. تیمارهای این آزمایش عبارتند بودند از ۱-جیره پایه به عنوان شاهد (تیمار C)، ۲-جیره پایه + ۱ گرم در کیلوگرم از پودر مخلوط حاوی باکتری (MF686463) *L. reuteri* ABRIG3 (تیمار1 (LR1)، ۳-جیره پایه + ۱ گرم در کیلوگرم از باکتری *L. reuteri* ABRIG23 (MF686483) (تیمار2 (LR2)، ۴-جیره پایه + ۱ گرم در کیلوگرم از باکتری (MF686477) *L. ABRIG17*) (تیمار3 (LR3) و ۵-جیره پایه + ۱ گرم در کیلوگرم از باکتری *L. salivarius* NABRII58 (MH595986) (تیمار4 (LR4)). جیره پایه، یک جیره‌ی تجاری فاقد آنتی‌بیوتیک و فرموله شده بر پایه ذرت و کنجاله سویا برای دوره آغازین (روز ۱۰-۲۱)، رشد (روز ۱۱-۲۱) و پایانی (روز ۴۲-۲۱) بود. جیره به فرم پودری بوده و دو بار در روز (صبح و عصر) ظروف دانخوری پر می‌شدن و در طول شبانه روز جوجه‌ها دسترسی آزاد به آب و غذا داشتند. این آزمایش به مدت ۴۲ روز انجام شد و جوجه‌ها طبق برنامه واکسیناسیون مرسم جوجه گوشتی واکسینه شدند. افزایش وزن، مصرف خوراک و ضریب تبدیل غذایی جوجه‌های گوشتی برای دوره های آغازین (۱۰ روزگی)، رشد (۲۶ روزگی)، پایانی (۴۲ روزگی) و کل دوره پرورش محاسبه و همه ارقام براساس میزان تلفات هر گروه تصحیح شد.

تزریق گلبول‌های قرمز گوسفنده (SRBC)

برای تهییه سوسپانسیون قابل تزریق SRBC، خون دفیرینه گوسفنده به مدت ۱۰ دقیقه در ۲۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شد. مایع بالایی دور ریخته شد و به همان میزان سرم فیزیولوژی (محلول کلرید سدیم ۰/۹ درصد) به آن اضافه شد و طی سه مرحله پس از سانتریفوژ مجدد، محلول بالایی دور ریخته شد. گلبول‌های قرمز شسته شده با محلول کلرید سدیم رقیق شد و محلول ۵ درصد گلبول قرمز شسته شده آماده برای تزریق به دست آمده تا زمان استفاده در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در یخچال نگهداری شد (۲۶). طی روزهای ۲۲ و ۳۵ از دوره پرورش، به ۲ جوجه از هر تکرار، ۱۰ سی‌سی گلبول قرمز گوسفنده ۵ درصد از طریق ورید بال تزریق شد و سطوح IgM، IgG و ایمنوگلوبولین کل، ۷ روز بعد از هر یک از تزریق‌ها اندازه‌گیری شد (۳۲). برای این منظور ۲۵ میکرولیتر سرم و ۲۵ میکرولیتر محلول با فرسفتات به داخل اولین چاهک پلیت ۹۶ تابی (۸×۱۲) اضافه و پلیت در داخل انکوواتور در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد برای مدت نیم ساعت قرار داده شد. پس از نیم ساعت به بقیه چاهک‌ها ۲۵ میکرولیتر محلول با فرسفتات اضافه و سپس رقت‌های

گوارش اردک بومی مازندران بر عملکرد رشد، ذخایر چربی حفره‌ی بطنه، لیبیدهای سرمی، وزن اندام‌های داخلی و عملکرد سیستم ایمنی مرغ‌های گوشتی بررسی شد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه اثر استفاده از سه سویه لاکتوپاسیلوس *L. reuteri* ABRIG17 (MF686477)، *L. reuteri* ABRIG3 (MF686483)، *L. reuteri* ABRIG23 (MF686463)، *L. salivarius* NABRII58 ((L. salivarius) (MH595986)) جداسازی شده از دستگاه گوارش اردک بومی مازندران بر عملکرد، لیبیدهای سرمی و پارامترهای ایمنی جوجه‌های گوشتی مورد بررسی قرار گرفت. سویه‌های مذکور طی یک رویه غربالگری به منظور یافتن باکتری‌های با پتانسیل پروبیوتیکی از میان ۳۸۳ باکتری اسید لاکتیکی گرم مثبت (باکتری‌های گرم مثبت شامل گروهی از باکتری‌ها هستند که در برابر رنگ‌آمیزی گرم واکنش مثبتی نشان داده و با جذب کریستال ویوله توسط پپتیدوگلیکان موجود در دیواره، به رنگ آبی تیره و بنفش دیده می‌شوند)، کاتالاز منفی (کاتالاز آنزیمی است که باعث آزاد سازی اکسیژن از آب اکسیژنه می‌شود و این تست برای شناسایی باکتری‌های کاتالاز منفی نظریه باکتری‌های اسید لاکتیکی انجام می‌شود) و KOH منفی (مخلوط نمودن کلنی باکتری‌ای با ۳%KOH از جمله تست‌های افتراق باکتری گرم مثبت از باکتری گرم منفی است) جداسازی شدند (۳۵). باکتری‌های انتخاب شده تمام تست‌های مربوط به تعیین خصوصیات پروبیوتیکی نظریه توانایی تحمل اسید معده (۴۵)، توانایی تحمل صفرای موجود در روده کوچک (۲۳)، مهار پاتوژن‌های سالمونلا/پتیریتیدیس، سالمونلا تیفی موریوم و فقدان همولیز را پشت سر گذاشته و به منظور شناسایی ملکولی از نظر ناحیه ۱۶s باکتری‌ای بررسی شدند (۳۵). پس از خوانش، میزان شباخت قطعات مذکور با قطعات مشابه در بانک NCBI با استفاده از نرم افزار بلاست مشخص شد و قطعات مذکور در بانک ژنی NCBI ثبت گردیدند (۳۵). تست حساسیت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های مذکور به منظور انتخاب باکتری‌های حساس به ۸ آنتی‌بیوتیک توصیه شده توسط EFSA^۱ و اطمینان از عدم انتقال ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی در برابر آنتی‌بیوتیک‌های مهم مورد استفاده در پیشکشی و دامپزشکی (آمپی‌سیلین، جنتامایسین، کانامایسین، استرپتومامایسین، اریترومامایسین، کلیندامایسین، تتراسایکلین و کلرامفینیکل) نیز انجام شد (۷).

چهار باکتری انتخاب شده به طور جداگانه در محیط کشت MRS مایع و در ۳۷ درجه سانتی‌گراد و در شرایط بی‌هوایی کشت شدند. بعد از کشت جدایه‌ها، سلول‌های باکتری‌ای توسط سانتریفوژ جداسازی شده و سوپرناکانت این باکتری‌ها دور ریخته شد. پس از شستشوی پلیت‌های باکتری‌ای، پلیت‌های باکتری‌ای جداگانه فریزدرای شدند. پودرهای فریزدرای شده به مدت چند ماه در یخچال و در دمای ۴ درجه

LR1 و LR2 به طور معنی‌داری ($p < 0.05$) بالاتر از سایر تیمارها و تیمار شاهد بود. در دوره پایانی، جوجه‌های دریافت کننده تیمار LR1 دارای میزان مصرف خوراک روزانه بالاتری نسبت به تیمار شاهد و سایر تیمارها بود ($p < 0.05$) و در کل دوره پرورش (۱۴-۲۴ روزگی)، پرندگان دریافت کننده تیمار LR1 مصرف خوراک بالاتری داشتند ($p < 0.05$). ضریب تبدیل غذایی تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت.

استفاده از باکتری پروپیوتوکی در جیره خوراکی جوجه‌های گوشتشی از جمله روش‌های رایج و سریع برای ورود و معرفی میکروفلور مفید به سیستم گوارشی پرندگان است (۳۸، ۳۹). مطالعات بسیاری مشخص نموده‌اند که پروپیوتوکی‌ها باعث بهبود عملکرد پرندگان و کارایی خوراک به علت افزایش جذب مواد مغذی در جوجه‌های گوشتشی شدن، اما بسیاری از باکتری‌های پروپیوتوکی تاثیر معنی‌داری بر روی بهبود عملکرد جوجه گوشتشی نداشته‌اند (۳۹، ۴۰، ۴۱). چنین باکتری‌های قادر به کنترل پاتوژن‌های دستگاه گوارش جوجه‌های گوشتشی بوده (۴۰) و یا منجر به ظهور اثرات مفیدی نظیر کاهش چربی حفره بطنی علی‌رغم عدم تاثیر گذاری مثبت بر افزایش وزن روزانه، خوراک مصرفی و یا ضریب تبدیل غذایی شدن (۴۲). در یک تحقیق، گزارش شد که *L. johnsonii* و *L. reuteri* منجر به اندکی افزایش در میزان خوراک مصرفی جوجه‌های گوشتشی شدن (۴۱) که این امر در توازن با نتایج به دست آمده در نتیجه مصرف تیمار LR1 و LR2 در این تحقیق بود. اثرات سودمند پروپیوتوکی‌ها می‌تواند به دلیل تولید فاکتورهایی باشد که باعث تحریک سیتوکین‌ها و اینمی سلولی می‌شوند (۶) که نتیجه آن تحریک اشتها (۵) و بهبود تعادل میکروبی روده باشد که باعث کوتاه شدن زمان استقرار میکروفلور روده می‌شود (۴۱). یکی از سازوکارهای کاهش تعداد پاتوژن‌های زنده موجود در مجرای گوارش از طریق تولید ترکیبات ضدباکتریایی نظیر لاکتوسیدین، اسیدوفیلین، اسیدهای آلی و باکتریوسین‌ها و نیز تولید پراکسید هیدروژن است (۴۱، ۴۲). حذف رقابتی دیگر سازوکار عمل پروپیوتوکی‌ها علیه میکرووارگانیسم‌های بیماری‌زا است که طی آن رقابت برای جایگاه اتصال در مجرای گوارش و نیز رقابت برای دسترسی به مواد مغذی انجام می‌گیرد. باکتری‌های بیماری‌زا و غیر بیماری‌زا به‌طور معمول برای دسترسی به مواد مغذی به رقابت می‌پردازند. باکتری‌های غیر بیماری‌زا معمولاً قدرت رقابتی بالایی داشته و در نتیجه از توانایی کلینی‌سازی بالاتری در مجرای روده برخوردارند (۱۴). یکی دیگر از عملکردهای منسوب به پروپیوتوکی‌ها که می‌تواند اثری مستقیم بر عملکرد تولیدی پرندگان داشته باشد، اثر آمها بر افزایش فعالیت آنزیم‌های گوارشی است که به هضم کربوهیدرات‌ها، چربی و پروتئین‌های مختلف و جذب مواد مغذی کمک می‌نماید (۳۴). پروپیوتوکی‌ها باعث کاهش فعالیت آنزیم‌های باکتریایی تولید شده توسط باکتری‌های بیماری‌زا مانند بتا گلوکورونیداز و بتا گلوکوزیداز می‌شوند (۳۸). خنثی‌سازی سومون موجود در روده، افزایش ناجیه جذب در روده کوچک از طریق بهبود مورفولوژی روده شامل افزایش ارتفاع پرزه‌ها، افزایش تعداد سلول‌های کاپلت و کاهش عمق کریپت است (۱۴، ۳۰).

۲۵ میکرولیتر محلول ۱ SRBC درصد به هر چاهک اضافه نموده سپس پلیت به مدت ۴۵ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه و پس از آن شماره‌ای اولین خانه‌ی لیز شده یادداشت گردید تیترها بر اساس لگاریتم ۲ گزارش شدند.

از آنجایی که ایمنوگلوبولین M به ۲- مرکاپتواتانول حساس است و در حضور آن تخریب می‌شود، با افزودن این ماده به چاهک اول می‌توان آن را حذف کرد که تیتر مشاهده شده نشان‌دهنده میزان ایمنوگلوبولین G است. تفاضل تیتر ایمنوگلوبولین G از تیتر آنتی SRBC کل، تیتر ایمنوگلوبولین M به دست می‌آید. برای اندازه‌گیری آنتی‌بادی حساس به ۲- مرکاپتواتانول (ایمنوگلوبولین M) ۲۵ میکرولیتر از سرم با ۲۵ میکرولیتر محلول بافرسفات 0.01 مولار در دمای ۳۷ درجه برای مدت نیم ساعت انکوبه گردید بقیه مراحل مانند آزمایش آنتی SRBC کل است. آنتی‌بادی مقاوم به ۲- مرکاپتواتانول (ایمنوگلوبولین G) از کسر کل تیتر آنتی SRBC به دست آمد (۴۰).

در ۴۲ روزگی، ۱۰ جوجه از هر تیمار (۲) جوجه از هر تکرار، به طور تصادفی انتخاب شد و پس از ۵ ساعت گرسنگی، نمونه‌های سرم خون گرفته شد و اندازه‌گیری پارامترهای خونی شامل کلسترول کل، تری‌گلیسیرید، لیپوپروتئین‌های با چگالی پایین (LDL) و لیپوپروتئین‌های با چگالی بالا (HDL) با استفاده از دستگاه اتوآنالایزر TECHNICON، USA)RA-1000 پارس آزمون (تهران، ایران) استفاده شد. در روز ۴۲ دو جوجه قبلی که به منظور جمع‌آوری سرم انتخاب گردیده بودند وزن کشی شده و با قطع رگ گردن کشتار شدند. بلافضله پس از کشتار وزن اندام‌های قلب، کبد، طحال، بورس، پانکراس و چربی حفره‌ی بطنی تعیین شد و به صورت درصدی از وزن بدن بیان شدند. همه داده‌ها با استفاده از روش GLM با استفاده از نرم‌افزار SAS (۲۰۰۸) نسخه $\frac{9}{2}$ بر اساس طرح کاملاً تصادفی آنالیز گردید و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از روش دانکن در سطح احتمال 0.05 انجام شد.

نتایج و بحث

۱۰ اثرات جدایه مربوط به ۳ جدایه *L. reuteri* و *LR1* (*L. salivarius*) و یک جدایه *LR3* (LS) بر وزن بدن، افزایش وزن روزانه، میزان مصرف خوراک و ضریب تبدیل غذایی جوجه‌های گوشتشی در جدول ۱ آورده شده است. در پایان دوره ۴۲ روزگی، میانگین وزن بدن جوجه‌های گوشتشی که جیوه حاوی *LR1* و LS را دریافت کننده جیوه شاهد بود معنی‌داری بیشتر از تیمار دریافت کننده جیوه شاهد بود ($p < 0.05$). طی کل دوره پرورش، جوجه‌های گوشتشی دریافت کننده تیمار *LR1* دارای افزایش وزن روزانه بالاتری نسبت به تیمار شاهد و دو تیمار *LR2* و *LR3* بود ($p < 0.05$). تفاوت معنی‌داری در میزان خوراک مصرفی روزانه طی دوره‌ی آغازین بین تیمارهای آزمایشی مشاهده نگردید. طی دوره‌ی رشد، میزان مصرف خوراک روزانه جوجه‌های دریافت کننده تیمار

جدول ۱- اثر مصرف چهار باکتری اسید لاکتیکی بر صفات تولیدی جوجه ۱۲۲-های گوشتی

Table 1. Effect of four lactic acid bacteria on production traits of broiler chickens

P-Value	خطای استاندارد میانگین	لакتوباسیلوس سالیواریوس سویه NABRII58 (MH595986)	لакتوباسیلوس روتوفی ABRIG17 (MF686477)	لакتوباسیلوس روتوفی سویه ABRIG23 (MF686483)	لакتوباسیلوس روتوفی سویه ABRIG3 (MF686463)	شاهد
وزن نهایی بدن (گرم)						
.۰/۰۳۳	۳۶/۲۹	۲۵۰/۱ ^a	۲۳۶/۴ ^b	۲۴۱/۰ ^{ab}	۲۴۹/۵ ^a	۲۳۷/۷ ^b
خوارک مصرفی (روز/ پرندہ/ گرم) (سن به روز)						
.۰/۶۹	.۰/۵۳	۲۴/۹۸	۲۳/۹۸	۲۴/۶۸	۲۴/۷۰	۲۴/۹۲
.۰/۰۲	۱/۹۱	۱۰۵/۳ ^c	۱۰۶/۲ ^c	۱۱۲/۷ ^{ab}	۱۱۳/۳ ^a	۱۰۷/۱ ^{bc}
.۰/۰۴	۳/۴۶	۲۶۰/۴ ^{ab}	۲۵۳/۰ ^b	۲۶۲/۷ ^{ab}	۲۶۶/۳ ^a	۲۵۳/۴ ^b
.۰/۰۴	۱/۱۶	۱۴۶/۵ ^b	۱۴۵/۲ ^b	۱۴۹/۴ ^{ab}	۱۵۳/۳ ^a	۱۴۷/۰ ^b
افزایش وزن روزانه (روز/ پرندہ/ گرم) (سن به روز)						
.۰/۲۵	.۰/۵۱	۱۹/۲۰	۱۷/۸۲	۱۸/۴۸	۱۹/۲۴	۱۹/۱۵
.۰/۱۳	۱/۲۱	۵۰/۴۷	۵۰/۰۲	۵۳/۳۶	۵۳/۳۷	۴۹/۴۰
.۰/۰۴	۲/۷۷	۱۲۷/۸ ^{ab}	۱۲۲/۴ ^b	۱۲۳/۰ ^b	۱۳۲/۶ ^a	۱۲۴/۷ ^{ab}
.۰/۰۳	۱/۴۸	۸۵/۱۴ ^{ab}	۸۲/۲۶ ^b	۸۳/۳۸ ^b	۸۸/۸۳ ^a	۸۴/۱۶ ^b
ضریب تبدیل غذایی (سن به روز)						
.۰/۲۹	.۰/۰۲	۱/۳۰	۱/۳۴	۱/۳۳	۱/۲۸	۱/۳۰
.۰/۱۶	.۰/۰۳	۲/۰۹	۲/۰۴	۲/۱۱	۲/۱۲	۲/۱۶
.۰/۲۸	.۰/۰۴	۲/۰۴	۲/۰۶	۲/۱۳	۲/۰۱	۲/۰۳
.۰/۳۸	.۰/۰۲	۱/۷۲	۱/۷۵	۱/۷۹	۱/۷۲	۱/۷۴

*: در جمله‌های آزمایشی = به جایه شاهد ۱ گرم در کیلوگرم از مخلوط حاوی باکتری‌های مورد بررسی افزوده گردید.

: اختلاف بین اعداد با حروف غیر مشابه در هر ردیف معنی داری است ($p < 0.05$). a-c

و باعث دفع بیشتر اسیدهای صفراء و در مدفعه می‌شود (۳۹). تفاوت معنی داری از نظر تری گلیسیرید بین تیمار کنترل و سه تیمار LR2، LR1 و LS مشاهده نشد و تنها سطح تری گلیسیرید LR3 بالاتر از سایرین بود ($p < 0.05$). اکثر مطالعات پیشین کاهش سطح تری گلیسیرید سرم در اثر مصرف پروبیوتیک‌ها را گزارش کردند (۱، ۲۱، ۱۸، ۳، ۲) که مغایر با یافته‌های مطالعه حاضر است و گزارش‌هایی نیز از عدم تاثیر مصرف پروبیوتیک بر سطح تری گلیسیرید سرم وجود دارند (۱۲). سطح HDL یا کلسترول خوب در تیمار LS بالاتر از تیمار کنترل بود ($p < 0.05$) و سایر تیمارها از این نظر تفاوت معنی داری با تیمار شاهد نداشتند. از نظر سطح LDL سرم تفاوت معنی داری بین تیمارهای آزمایشی و شاهد وجود نداشت. نتایج مشاهده شده متفاوت از یافته‌های تحقیقی دیگر بود که گزارش نمودند مکمل‌سازی پروبیوتیک باعث کاهش سطح LDL سرم شد، اما اثری بر سطح HDL سرم نداشت (۲۱)، با این حال، عدم تاثیر مکمل‌سازی پروبیوتیک بر سطح LDL و HDL سرم نیز گزارش شده است (۴).

نتایج آنالیز لبیدهای سرم جوجه‌های گوشتی تعذیه شده با ۴ باکتری اسید لاکتیکی در ۴۱ روزگی در جدول ۲ نشان داده شده است. در این مطالعه، غلظت کل کلسترول سرم تیمار LR2 به طور معنی داری ($p < 0.05$) پائین‌تر از سایر تیمارها بود. در مطالعات پیشین کاهش کلسترول کل سرم در اثر مصرف پروبیوتیک گزارش شده است (۱۸، ۴). هر چند که در مطالعه حاضر این اثر تنها در مورد یکی از پروبیوتیک‌های بررسی شده مشاهده شد. اثر کاهش کلسترول ناشی از پروبیوتیک‌ها در جوجه‌های گوشتی ممکن است به دلیل سازوکارهای متفاوتی باشد. باکتری‌های اسید لاکتیکی قادر به جذب کلسترول با منشاء داخلی و یا خارجی در مجرای روده هستند (۱۰) و همچنین کاهش یا مهار بیان سطوح پروتئین Niemann-Pick C1-like1 شده است؛ این پروتئین در سطح سولولهای روده‌ای بیان شده و باعث کاهش جذب کلسترول می‌شود (۱۶). باکتری‌های اسید لاکتیکی آنزیم هیدرولاز نمک‌های صفراء را تولید می‌کنند که مسئول دکتریوگه کردن نمک‌های صفراء است

جدول ۲- نتایج آنالیز لیپید سرم‌های جوجه‌های گوشتشی تعذیب شده با چهار باکتری اسید لاکتیکی
Table 2. Serum lipids analysis of broiler chickens fed with four lactic acid bacteria

P-Value	خطای استاندارد میانگین	لاکتوباسیلوس سالیواریوس NABRII58 (MH595986)	لاکتوباسیلوس روتری ABRIG17 سویه (MF686477)	لاکتوباسیلوس روتری ABRIG23 سویه (MF686483)	لاکتوباسیلوس روتری ABRIG3 سویه (MF686463)	شاهد	پارامترهای خونی (mg/dl)
.۰/۱۲	۱/۹۷	۳۵/۰	۲۸/۶	۳۰/۴	۳۳/۶	۳۵/۱	LDL
.۰/۰۴	۲/۳۴	۷۷/۲ ^a	۶۷/۷ ^{ab}	۵۸/۱ ^c	۶۶/۱ ^{ab}	۶۳/۷ ^{bc}	HDL
.۰/۰۷	۵/۰۷	۶۰/۶ ^b	۸۳/۱ ^a	۵۵/۷ ^b	۵۹/۲ ^b	۶۵/۷ ^b	TG
.۰/۰۲۰	۳/۴۸	۱۱۶/۷ ^a	۱۱۳/۰ ^a	۹۹/۶ ^{ab}	۱۱۱/۶ ^a	۱۱۲/۱ ^a	کلسترول کل

*: در جیره‌های آزمایشی = به جیره شاهد ۱ گرم در کیلوگرم از مخلوط حاوی باکتری‌های مورد بررسی افزوده گردید.
LDL: لیپوپروتئین‌های با چگالی باین، HDL: لیپوپروتئین‌های با چگالی بالا. a-c: اختلاف بین اعداد با حروف غیر مشابه در هر ردیف معنی‌داری است ($p < 0.05$).

تخمیری حاوی لاکتوباسیلوس‌های گوناگون منجر به افزایش قابل ملاحظه IgG و IgM گردید (۲۲). در تحقیقی دیگر، *Lactobacillus acidophilus* و *Lactobacillus casei* منجر به افزایش پاسخ IgA شد، در حالیکه پاسخ IgG نسبت به گروه شاهد تغییری نیافت (۱۵). اثر تحریک‌کننده پروپوتوتیک‌ها بر سیستم ایمنی باعث کاهش حساسیت پرنده در برابر بیماری‌ها می‌شود. این عمل از طریق افزایش سطح انتی‌بادی خون، افزایش فعالیت ماکروفازی و افزایش تولید ایمونوگلوبولین IgA و IgG و IgM تولید ویتامین‌ها، آنزیم‌ها و سایر کوفاکتورها و برخی فاکتورهای محرك رشد نظیر اسید مالیک و اسیدهای چرب کوتاه زنجیر باعث تکثیر باکتری‌های سودمند می‌شوند (۳۶، ۳۰، ۸).

نتایج آنالیز ایمنوگلوبولین‌های سرم پس از دو مرحله تزریق SRBC در جدول ۳ نشان داده شده است. در این مطالعه از نظر سطح ایمنوگلوبولین کل تیمار LR3 دارای بالاترین سطح پس از دومین تزریق نسبت به تیمار شاهد بود ($p < 0.05$) و تفاوت معنی‌داری بین سه تیمار دیگر و تیمار شاهد از این نظر مشاهده نگردید. از نظر سطح G IgG تیمار LR1 دارای سطح بالاتری پس از اولین تزریق نسبت به گروه شاهد بود ($p < 0.05$)، اما تفاوت معنی‌داری بین این تیمار و دو تیمار LS و LR2 و مشاهده نشود. پس از تزریق دوم، میزان IgG چهار تیمار آزمایشی مورد مطالعه بالاتر از تیمار شاهد بود ($p < 0.05$). از نظر IgM تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی و تیمار شاهد مشاهده نشد. مطالعات مختلف مشخص نموده‌اند که تیمارهای حاوی باکتری‌های پروپوتوتیکی باعث تحریک سیستم ایمنی جوجه‌های گوشتشی، افزایش ایمنوگلوبولین کل، IgG و IgM به دنبال تزریق SRBC می‌شوند (۴۳). به علاوه، مصرف خوراک

جدول ۳- نتایج آنالیز ایمنوگلوبولین‌های سرم جوجه‌های گوشتشی تعذیب شده با ۴ باکتری اسید لاکتیکی پس از دو مرحله تزریق SRBC
Table 3. Analysis of serum immunoglobulins in broiler chicks fed four lactic acid bacteria after two steps of SRBC injection

P-Value	خطای استاندارد میانگین	لاکتوباسیلوس سالیواریوس NABRII58 (MH595986)	لاکتوباسیلوس روتری ABRIG17 سویه (MF686477)	لاکتوباسیلوس روتری ABRIG23 سویه (MF686483)	لاکتوباسیلوس روتری ABRIG3 سویه (MF686463)	شاهد	
.۰/۱	.۰/۲۹	۳/۷۰ ^a	۲/۵۰ ^{bc}	۳/۰۰ ^{abc}	۲/۳۰ ^c	۳/۲۲ ^{ab}	IgM1
.۰/۴	.۰/۴۵	۳/۸۰ ^{ab}	۲/۵۰ ^b	۳/۱۱ ^{ab}	۴/۲۰ ^a	۲/۶۶ ^b	IgG1
.۰/۴	.۰/۵۹	۷/۵۰ ^a	۵/۰۰ ^b	۶/۱۱ ^{ab}	۶/۵۰ ^{ab}	۵/۸۸ ^{ab}	Total2
.۰/۲	.۰/۴۳	۳/۶۶	۵/۰۰	۴/۶۲	۳/۴۲	۵/۰۰	IgM2
.۰/۰۱	.۰/۴۵	۴/۶۶ ^a	۴/۸۸ ^a	۴/۳۷ ^a	۴/۱۴ ^a	۲/۷۰ ^b	IgG2
.۰/۰۴	.۰/۴۱	۸/۳۳ ^{bc}	۹/۸۸ ^a	۹/۰۰ ^{ab}	۷/۵۷ ^c	۷/۷۰ ^{bc}	Total2

*: در جیره‌های آزمایشی = به جیره شاهد ۱ گرم در کیلوگرم از مخلوط حاوی باکتری‌های مورد بررسی افزوده گردید.
a-c: اختلاف بین اعداد با حروف غیر مشابه در هر ردیف معنی‌داری است ($p < 0.05$).
IgM1=ایمونوگلوبولین M در ۲۹ روزگی، IgG1=ایمونوگلوبولین G در ۲۹ روزگی، Total=کل ایمونوگلوبولین‌ها در پاسخ به تزریق گلوبول‌های قرمز گوسفنده در ۲۹ روزگی، IgM2=ایمونوگلوبولین M در ۴۲ روزگی، IgG2=ایمونوگلوبولین G در ۴۲ روزگی، Total=کل ایمونوگلوبولین‌ها در پاسخ به تزریق گلوبول‌های قرمز گوسفنده در ۴۲ روزگی.

چربی حفره بطئی کمتری نسبت به تیمار شاهد بودند ($p < 0.05$). سه باکتری از میان چهار باکتری مورد استفاده در این تحقیق منجر به کاهش چربی حفره بطئی شدند. چربی حفره بطئی به عنوان ضایعات و دوربریز صنعت پرورش طیور گوشتشی بوده و میزان چربی حفره شکمی پارامتری قابل اعتماد برای قضاوت در مورد چربی کل لاشه می‌باشد، زیرا بخش

درصد وزن نسبی اندام‌های داخلی و اجزای لاشه نسبت به وزن زنده در جدول ۴ خلاصه شده است. تفاوت معنی‌داری در وزن نسبی سینه، ران، بورس فابریسیوس، سنگدان، قلب، طحال و کبد بین تیمارهای آزمایشی و شاهد مشاهده شد، اما تیمار LR3 دارای درصد لاشه بالاتری نسبت به تیمار شاهد بود ($p < 0.05$). سه تیمار LR1، LR2 و LR3 دارای میزان

باکتری اسید لاکتیکی لاکتوباسیلوس جانسونی (*Lactobacillus johnsonii BS15*) به هر دو صورت زنده و یا تخریب شده به میزان $10^6 \times 1$ به ازای هر گرم خوارک منجر به کاهش معنی‌دار چربی خفره بطنی شد (۴۲). از جمله دلایل قابل ذکر برای این اثر کنترل موثر متاپولیسم چربی توسط باکتری‌های پروبیوتیکی و محدود نمودن بیوسنتز چربی‌ها توسط این باکتری‌ها (۴۴) و نیز افزایش کاتابولیسم اسیدهای چرب توسط آنها است (۱۷).

اعظم چربی بدن طیور در محوطه بطنی تجمع می‌یابد (۱۳). گزارش شده است که لاکتوباسیلوس‌ها با کاهش چربی خفره بطنی و کاهش چربی لاشه منجر به بهبود کیفیت لاشه می‌شوند (۱۹). در تحقیقی مشاهده شد زمانیکه غاظلت باکتری *Lactobacillus* اسید لاکتیکی لاکتوباسیلوس جانسونی (*Lactobacillus johnsonii BS15*) در جیره از $10^6 \times 1$ به ازای هر گرم خوارک افزایش یافت منجر به کاهش معنی‌دار چربی خفره بطنی چوجه‌های گوشته شد (۲۵). در گزارشی دیگر، استفاده از

جدول ۴- اثر مصرف چهار باکتری اسید لاکتیکی بر درصد وزن نسبی اندام‌های داخلی و اجزاء لاشه

Table 4. Effect of consumption of four lactic acid bacteria on the percentage of relative weight of internal organs and carcass components

P-Value	خطای استاندارد میانگین	لاکتوباسیلوس سالیوایروس سویه NABRII58 (MH595986)	لاکتوباسیلوس روترئی ABRIG17 سویه (MF686477)	لاکتوباسیلوس روترئی ABRIG23 سویه (MF686483)	لاکتوباسیلوس روترئی ABRIG3 سویه (MF686463)	شاهد	(درصد از وزن بدن)
.۰/۰۲	.۰/۱۰	۲/۷۷ ^a	۲/۶۷ ^{ab}	۲/۴ ^b	۲/۶۸ ^{ab}	۲/۶ ^{ab}	کبد
.۰/۰۲	.۰/۱۳۸	۱/۵۷ ^{ab}	۱/۲۱ ^b	۱/۳۴ ^b	۱/۳۵ ^b	۱/۸۲ ^a	چربی بطنی
.۰/۹۹	.۰/۰۱	.۰/۱۳۶	.۰/۱۳۹	.۰/۱۳۴	.۰/۱۳۷	.۰/۱۳۶	طحال
.۰/۱۷	.۰/۰۱۸	.۰/۴۷	.۰/۴۲	.۰/۴۲	.۰/۴۴	.۰/۴۶	قلب
.۰/۴۴	.۰/۰۴	۱/۲۷	۱/۳۰	۱/۳۰	۱/۲۱	۱/۲۵	سنگدان
.۰/۲۸	.۰/۰۰۸	.۰/۱۰	.۰/۰۹	.۰/۰۸	.۰/۱۰	.۰/۰۸	بورس
.۰/۳۳	۱/۳۰	۲۴/۷۷	۲۶/۸۶	۲۵/۹۵	۲۳/۷۷	۲۷/۰۷	فایبریسیوس
.۰/۵۲	.۰/۸۸	۱۹/۲۷	۱۹/۸۲	۱۹/۳۲	۱۸/۲۵	۲۰/۴۲	سینه
.۰/۵۸	.۰/۰۳	۱/۲۸	۱/۳۶	۱/۳۴	۱/۲۹	۱/۳۳	ران
.۰/۱۸	.۰/۷۴	۵۹/۹۴ ^{ab}	۷۱/۵۱ ^a	۷۰/۵۴ ^{ab}	۶۹/۸۴ ^{ab}	۶۸/۹۳ ^b	نسبت سینه به ران
							لشه

*: در جیره‌های آزمایشی = به جیره شاهد ۱ گرم در کیلوگرم از مخلوط حاوی باکتری‌های مورد بررسی افزوده گردید.

a-c: اختلاف بین اعداد با حروف غیر مشابه در هر ردیف معنی‌داری است ($p < 0.05$).

جداسازی شده از مجرای گوارش اردک بومی بر افزایش وزن و ایمونوگلوبولین‌های سرم خون جوچه‌های گوشته بود که پیشنهاد می‌نماید باکتری‌های اختصاصی مجرای گوارش یک گونه از طیور می‌تواند به عنوان پروبیوتیک در دیگر گونه‌های طیور مورد استفاده قرار گیرد.

مطالعه حاضر مشخص نمود که امکان جdasازی باکتری‌های با قابلیت پروبیوتیکی از جمیعت میکروبی طیور بومی وجود داشته و باکتری‌های جdasازی شده قادر به بهبود صفات تولیدی و اینمنی جوچه‌های گوشته می‌باشند. نکته قابل توجه اثر مطلوب سویه لاکتوباسیلوس سالیوایروس

منابع

1. Abeer, E.S.M and S.A. Mosaad. 2015. Effect of dietary probiotic and/or prebiotic supplementation on growth performance, carcass traits and some serum biochemical alterations in broiler chicken. Journal of Animal Science Advances, 5: 1480-1492.
2. Al-Saad, S., M. Abbad and A. Abo Yones. 2014. Effect of some growth promoters on blood hematoloy and serum composition of broiler chickens. International Journal of Agricultural Research, 9: 265-270.
3. Ashayerizadeh, A., N. Dabiri, K.H. Mirzadeh and M.R. Ghorbani. 2011. Effect of dietary supplementation of probiotic and prebiotic on growth indices and serum biochemical parameters of broiler chickens. Cell and Animal Biology, 5: 152-156.
4. Ashayerizadeh, O., B. Dastar, F. Samadi, M. Khomeiri, A. Yamchi and S. Zerehdaran. 2014. Comparison between the effects of two multi-strain probiotics and antibiotics on growth performance, carcass characteristics, gastrointestinal microbial population and serum biochemical values of broiler chickens. Journal of Animal Science, 3: 110-119.
5. Asli, M.M., S.A. Hosseini, H. Lotfollahian and F. Shariatmadari. 2007. Effect of probiotics, yeast, vitamin E and C supplements on performance and immune response of laying hen during high environmental temperature. International Journal of Poultry Science, 6: 895-900.
6. Britton, R.A. and J. Versalovic. 2008. Probiotics and gastrointestinal infections: a review article. Interdiscip Perspect Infect Dis 1-10. <http://dx.doi.org/10.1155/2008/290769>. Hindawi Publishing Corporation.

7. EFSA: Panel on additives and products or substances used in animal feed, guidance on the assessment of bacterial susceptibility to antimicrobials of human and veterinary importance. 2012. EFSA Journal, 10: 1-10.
8. Eto, S.F., F.G. Andrade, J.W. Pinheiro, M.R. Balanin, S.P. Ramos and E.J. Venancio. 2012. Effect of inoculation route on the production of antibodies and histological characteristics of the spleen in laying hens. Brazilian Journal of Poultry Science, 14: 63-66.
9. Fouad, A.M. and H.K. El-Senousey. 2014. Nutritional factors affecting abdominal fat deposition in poultry: a review. Asian-Australasian Journal of Animal Science, 27: 1057-1068.
10. Gilliland, S.E. 1989. Acidophilus milk-products a review of potential benefits to consumers. Journal of Dairy Science, 72: 2483-2495.
11. Goto, Y. and H. Kiyono. 2012. Epithelial barrier: an interface for the cross-communication between gut flora and immune system. Immunological Reviews, 245: 147-163.
12. Haddadin, M.S.Y., S.M. Abdulrahim, E.A.R. Hashlamoun and R.K. Robinson. 1996. The effect of Lactobacillus acidophilus on the production and commercial composition of hen's egg. Poultry Science, 66: 480-486.
13. Hermier, D. 1997. Lipoprotein metabolism and fattening in poultry. Journal of Nutrition, 127: 805S-808S.
14. Hibbing, M.E., C. Fuqua, M.R. Parsek and S.B. Peterson. 2010. Bacterial competition: surviving and thriving in the microbial jungle. Nature Reviews Microbiology, 8: 15-25.
15. Huang, M.K., Y.J. Choi, R. Houde, J.W. Lee, B. Lee and X. Zhao. 2004. Effects of Lactobacilli and an acidophilic fungus on the production performance and immune responses in broiler chickens. Poultry Science, 83: 788-795.
16. Huang, Y. and Y. Zheng. 2010. The probiotic Lactobacillus acidophilus reduces cholesterol absorption through the down-regulation of Niemann-Pick C1-like 1 in Caco-2 cells. British Journal of Nutrition, 103: 473-478.
17. Homma, H. and T. Shinohara. 2004. Effects of probiotic Bacillus cereus toyoii on abdominal fat accumulation in the Japanese quail (*Coturnix japonica*). Animal Science Journal, 75: 37-41.
18. Iqramu, M.H., A. Nazim and A.M. Mohammad. 2017. Comparative analysis of body weight and serum biochemistry in broilers supplemented with some selected probiotics and antibiotic growth promoters. Journal of Advanced Veterinary and Animal Research, 4: 288-294.
19. Kalavathy, R., N. Abdullah, S. Jalaludin and Y.W. Ho. 2003. Effects of Lactobacillus cultures on growth performance, abdominal fat deposition, serum lipids and weight of organs of broiler chickens. British Poultry Science, 44: 139-144.
20. Kalavathy, R., N. Abdullah, S. Jalaludin, M. Wong and Y.W. Ho. 2009. Effects of Lactobacillus cultures on performance of laying hens, and total cholesterol, lipid and fatty acid composition of egg yolk. Journal of Science Food and Agriculture, 89: 482-486.
21. Kalavathy, R., N. Abdullah, S. Jalaludin and Y.W. Ho. 2010. Effects of Lactobacillus cultures on growth performance, abdominal fat deposition, serum lipids and weight of organs of broiler chickens. British Poultry Science, 44: 139-144.
22. Koenen, M.E., J. Kramer, R. Van der Hulst, L. Heres, S.H.M. Jeurissen and W.J.A. Boersma. 2004. Immunomodulation by probiotic lactobacilli in layer- and meat-type chickens, British Poultry Science, 45: 355-366
23. Kumar, A. and D. Kumar. 2015. Characterization of Lactobacillus isolated from dairy samples for probiotic properties. Anaerobe, 33: 117-123.
24. La Ragione, R.M., A. Narbad, M.J. Gasson and M.J. Woodward. 2004. In vivo characterization of Lactobacillus johnsonii F19785 for use as a defined competitive exclusion agent against bacterial pathogens in poultry. Letters in Applied Microbiology, 38: 197-205.
25. Liu, L., X. Ni, D. Zeng, H. Wang, B. Jing and Z. Yin. 2016. Effect of a dietary probiotic, Lactobacillus johnsonii BS15, on growth performance, quality traits, antioxidant ability and nutritional and flavour substances of chicken meat. Animal Production Science, 57: 920-926.
26. Munns, P.L. and S.L. Lamont. 1991. Research note: Effects age and immunization interval on the immunity response T-cell dependent and T-cell independent antigens in chickens. Poultry Science, 70: 2371-2374.
27. Murry, J.A.C., J.A. Hinton and R.J. Buhr. 2006. Effect of botanical probiotic containing Lactobacilli on growth performance and populations of bacteria in the ceca, cloaca and carcass rinse of broiler chickens. International Journal of Poultry Science, 5: 344-350.
28. Maiorka, A., E. Santin, S.M. Sugeta, J.C. Almeida and M. Macari. 2001. Utilization of prebiotics, probiotics and symbiotic in diets parameters. Brazilian Journal of Poultry Science, 3: 75-82.
29. Olnoord, C.G., S.S.M. Beski, P.A. Iji and M. Choct. 2015. Delivery routes for probiotics: Effects on broiler performance, intestinal morphology and gut microflora. Animal Nutrition, 1: 192-202.
30. Otutumi, L.C, M.B. Gois, E.R. de Moraes Garcia and M.M. Loddi. 2012. Variations on the efficacy of probiotics in poultry. In: Rigobelo EC (ed) Probiotics in animals. InTech, Rijeka. doi:10.5772/3319, 248.
31. Pelicano, E.R.L., P.A. Souza, H.B.A. Souza, A. Oba, E.A. Norkus, L.M. Kodawara and T.M.A. Lima. 2004. Performance of broilers fed diets containing natural growth promoters. Brazilian Journal of Poultry Science, 6: 231-236.

32. Rahimi, S.H. and A. Khaksefidi. 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: 23-28.
33. Rinttila, T. and J. Apajalahti. 2013. Intestinal microbiota and metabolites implications for broiler chicken health and performance. *Journal of Applied Poultry Research*, 22: 647-658.
34. Risoen, P.A., P. Ronning, I.K. Hegna and A.B. Kolsto. 2004. Characterization of broad range antimicrobial substance from *Bacillus cereus*. *Journal of Applied Microbiology*, 96: 648-655.
35. Royan, M. H. Alaei Kordhashlaghi, F. Afraz, M. Hashemi, S.M.F. Vahidi and R. Seighalani. 2018. Screening Lactobacilli isolates from Northern Iran Backyard chickens as bio-control strategy against *Salmonella Enteritidis* and *Salmonella Typhimurium*. *kafkas universitesi veteriner fakultesi dergisi journal*, 24: 423-430.
36. Salminen, S. and A. Von Wright. 1998. Lactic acid bacteria: microbiology and functional aspects. Marcel Dekker, New York.
37. Saminathan, M., C.C. Sieo, K. Ramasamy, N. Abdullah and Y.W. Ho. 2014. Effects of dietary prebiotics, probiotic and synbiotics on performance, caecal bacterial populations and caecal fermentation concentrations of broiler chickens. *Journal of Scence of Food and Agriciculture*, 94: 341-348.
38. Shokryazdan, P., M. Faseleh Jahromi, J.B. Liang, K. Ramasamy, C.C. Sieo and Y.W. Ho. 2017. Effects of a Lactobacillus salivarius mixture on performance, intestinal health and serum lipids of broiler chickens. *PLoS ONE*, 12: e0175959.
39. Surono, I.S. 2003. In vitro probiotic properties of indigenous dadhi lactic bacteria. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 16: 726-731.
40. Van der Zijpp, A.J. and F.R. Leenstra. 1980. Genetic analysis of the humoral immune response of White Leghorn chicks. *Poultry Science*, 59: 1363-1369.
41. Vila, R., E. Esteve-Garcia and J. Brufau. 2010. Probiotic micro-organisms: 100 years of innovation and efficacy; modes of action (reviews). *World Poultry Science Journal*, 65: 369-380.
42. Wang, H., X. Ni, X. Qing, D. Zeng, M. Luo, L. Liu, G. Li, K. Pan and B. Jing. 2017. Live probiotic lactobacillus johnsonii BS15 promotes growth performance and lowers fat deposition by improving lipid metabolism, Intestinal Development, and Gut Microflora in Broilers. *Frontiers in Microbiology*, 8: 1073. doi: 10.3389/fmicb.2017.01073.
43. Wondmeneh, E., T. Getachew and T. Dessie. 2012. Immunomodulatory Effect of Effective Microorganisms (EM) in chickens. *Research Journal of Immunology*, 5(1): 17-23.
44. Yamamoto, M., F. Saleh, M. Tahir, A. Ohtsuka and K. Hayashi. 2007. The effect of Koji-fed (fermented distillery byproduct) on the growth performance and nutrient metabolizability in broiler. *Journal of Poultry Science*, 44: 291-296.
45. Yamazaki, M., H. Ohtsu, Y. Yakabe, M. Kishima and H. Abe. 2012. In vitro screening of lactobacilli isolated from chicken excreta to control *Salmonella Enteritidis* and *Typhimurium*. *British Poultry Science*, 53: 183-189.

Effect of Isolates of *Lactobacillus reuteri* and *Lactobacillus salivarius* Isolated from the Gastrointestinal Tract of Native Poultry of Northern of Iran on Performance, Serum Lipids and Immune Parameters of Broiler Chickens

Maryam Royan¹, Maryam Hashemi² and Ramin Seighalani³

1- North Region Branch, Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran (ABRII), Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Rasht, IRAN

(Corresponding author: m.royan@abrii.ac.ir)

2- Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran (ABRII), Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, IRAN

3- North Region Branch, Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran (ABRII), Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Rasht, IRAN

Received: October 6, 2018 Accepted: May 20, 2019

Abstract

The purpose of this study was to investigate the effects of the use of three lactobacillus strains (*L. reuteri* ABRIG17 (MF686477), *L. reuteri* ABRIG23 (MF686483), *L. reuteri* ABRIG3 (MF686463)), isolated from duodenum and Jejunum sections of the native Guilan chickens and one isolate of *L. salivarius* NABRII58 (MH595986) isolated from the digestive system of the native ducks of Mazandaran, on serum lipids and immune parameters of broiler chickens. The strains were isolated from 383 gram-positive and catalase negative lactic acid bacteria in a screening procedure for the detection of bacteria with probiotic potential. In the experiment, 500 male Ross 308 male broiler chicks were used in a completely randomized design with 5 treatments, 5 replicates and 20 birds per replicate. The treatments consisted of: 1-The basal diet as control group (treatment C), 2- The basal diet + 1 g / kg of mixed powder containing MF686463 (*L. reuteri* ABRIG3 (LR1), 3- The base diet + 1 g /kg of *L. reuteri* ABRIG23 (MF686483) (LR2 treatment), 4- The basal diet + 1 g / kg of *L. reuteri* (MF686477) ABRIG17 (LR3 treatment) and 5- The basal diet + 1 g / kg of *L. salivarius* (MH595986) NABRII58 (Treatment LS). The use of bacterial strains in LR1 and LS treatments resulted in improved weight gain at the end of the experiment ($P < 0.05$). The bacterial strains in LR1 treatment improved daily weight gain in whole experimental period ($P < 0.05$). All three strains of Lactobacillus used, namely, LR1, LR2 and LR3 treatments, caused a significant decrease in abdominal fat pad ($P < 0.05$). In LR3 treatment, the increase in carcass weight was observed ($P < 0.05$). Measuring serum immunoglobulins in broiler chicks after two stages of sheep red blood cell injection showed that LR3 had the highest total immunoglobulin level after the second injection ($P < 0.05$), and IgG levels in the LR1 treatment increased after the first injection compared to the control group ($P < 0.05$). After the second injection, the IgG of all the four experimental groups were higher than control group ($P < 0.05$), but IgM showed no significant difference between experimental treatments and control group. Total serum cholesterol concentration of LR2 treatment was significantly ($P < 0.05$) lower than other treatments. There was no significant difference in serum triglyceride level between control and the LR1, LR2 and LS treatments, and only LR3 triglyceride level was higher than others ($P < 0.05$). The level of HDL or good cholesterol in LS treatment was higher than the control group ($P < 0.05$). Serum LDL level did not show any significant difference between the experimental and control groups. The present study revealed that probiotic bacteria can be isolated from native poultry microbial populations and isolated bacteria can improve the production and immunity of broiler chicks. It is worthy of note that the positive effect of *Lactobacillus salivarius* strain isolated from the native duck gastrointestinal tract on the weight gain and serum immunoglobulins in broiler chickens suggested that the gastrointestinal bacteria of a species of poultry could be used as a probiotic in other types of poultry.

Keywords: Broiler chickens, Immune system, Lactic acid bacteria, Performance, Probiotics