



"مقاله پژوهشی"

تأثیر لاکتوباسیلوس روتری جداسازی شده از دستگاه گوارش طیور بومی ایران بر عملکرد
رشد، خصوصیات لاشه، فراسنجه‌های خونی و پاسخ ایمنی جوجه‌های گوشتیرباب احمدی^۱، مجید متقی‌طلب^۲، مریم رویان^۳ و رامین صیقلانی^۴

۱- دانشجوی کارشناسی‌ارشد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

۲- استاد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران، (نویسنده مسوول: mmotaghi@guilan.ac.ir)

۳- استادیار، منطقه شمال کشور، پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی ایران (ABRII)، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی (AREEO)، رشت، ایران

۴- کارشناس، منطقه شمال کشور، پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی ایران (ABRII)، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی (AREEO)، رشت، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۳/۷ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۷/۲۳

صفحه: ۳۸ تا ۴۸

چکیده مبسوط

مقدمه و هدف: در سال‌های اخیر بسیاری از کشورها استفاده از آنتی‌بیوتیک‌های محرک رشد را به دلیل اثرات سوء آن‌ها بر سلامت انسان و حیوان ممنوع یا محدود اعلام نموده‌اند. پروبیوتیک‌ها به‌عنوان جایگزین آنتی‌بیوتیک‌های محرک رشد، نقش مهمی در بهبود عملکرد، سلامت و افزایش کیفیت تولیدات دامی دارند. لاکتوباسیلوس‌ها از جمله باکتری‌های غالب پروبیوتیکی محسوب می‌شوند. در این مطالعه تأثیر دو سویه‌ی لاکتوباسیلوس روتری جدا سازی شده از دستگاه گوارش مرغ‌های بومی شمال غرب و جنوب غرب ایران بر عملکرد، خصوصیات لاشه، فراسنجه‌های خونی و پاسخ ایمنی جوجه‌های گوشتی مورد بررسی قرار گرفتند.

مواد و روش‌ها: در این آزمایش از ۳۰۰ قطعه جوجه‌ی گوشتی نر سویه‌ی آربراکرز پلاس در قالب طرح کاملاً تصادفی در ۵ تیمار، ۴ تکرار و ۱۵ قطعه جوجه در هر تکرار استفاده شد. تیمارهای آزمایشی شامل: ۱- جیره‌ی پایه به‌عنوان تیمار کنترل، ۲- جیره‌ی پایه + آنتی‌بیوتیک آویلامایسین، ۳- جیره‌ی پایه + پروبیوتیک تجاری باپوپول، ۴- جیره‌ی پایه + ایزوله‌ی لاکتوباسیلوس روتری (Plr₂) MG547731 و ۵- جیره‌ی پایه + ایزوله‌ی لاکتوباسیلوس روتری (Plr₃) MG547727 بودند.

یافته‌ها: نتایج این آزمایش نشان داد که تیمارهای حاوی پروبیوتیک تجاری، آنتی‌بیوتیک و تیمار ایزوله‌ی لاکتوباسیلوس روتری Plr₂ باعث افزایش معنی‌دار افزایش وزن روزانه در دوره پایانی شد ($p < 0.05$). ایزوله‌های بومی و پروبیوتیک تجاری به‌طور معنی‌داری موجب کاهش وزن نسبی سنگدان و پیش‌مده شدند ($p < 0.05$) اما اختلاف معنی‌داری در وزن نسبی سایر اجزای لاشه جوجه‌های گوشتی مشاهده نشد ($p > 0.05$). پس از اولین تزریق SRBC، تیمارهای حاوی آنتی‌بیوتیک و ایزوله‌ی لاکتوباسیلوس روتری (Plr₂) منجر به افزایش معنی‌دار ایمونوگلوبولین M ($p < 0.05$) و پس از دومین تزریق، تیمارهای حاوی ایزوله‌ی لاکتوباسیلوس روتری (Plr₂) و پروبیوتیک تجاری منجر به افزایش معنی‌دار ایمونوگلوبولین G و کل شدند ($p < 0.05$). عبار تیترا آنتی‌بادی علیه واکسن نیوکاسل اختلاف معنی‌داری را بین تیمارها با گروه کنترل نشان نداد ($p > 0.05$). در میزان گلوکز، کلسترول، تری‌گلیسرید، VLDL و LDL سرم تفاوت معنی‌داری بین تیمارها با گروه کنترل به دست نیامد ($p > 0.05$). استفاده از آنتی‌بیوتیک باعث کاهش غلظت HDL سرم نسبت به سایر تیمارهای آزمایشی شد ($p < 0.05$).

نتیجه‌گیری: افزودن ایزوله‌های لاکتوباسیلوس روتری بومی به جیره می‌تواند اثرات مثبتی مشابه پروبیوتیک تجاری بر عملکرد، ایمنی و فراسنجه‌های خونی جوجه‌های گوشتی داشته باشد.

واژه‌های کلیدی: آنتی‌بیوتیک، پاسخ ایمنی، جوجه‌های گوشتی، فراسنجه‌های خونی، لاکتوباسیلوس

مقدمه

استفاده از آنتی‌بیوتیک‌های محرک رشد برای کنترل و تغییر الگوی جمعیتی میکروارگانیسم‌ها به نفع باکتری‌های مطلوب برای سالیان متمادی از اهمیت بسیاری برخوردار بود. با این وجود در سال‌های اخیر و با مشخص شدن اثرات سوء آن‌ها بر سلامت جامعه و ایجاد انواع مقاومت‌های دارویی و آلرژیک در حیوان و انسان، استفاده از آنتی‌بیوتیک‌های محرک رشد در بسیاری از کشورها ممنوع شده است (۶). استفاده از پروبیوتیک‌ها به‌عنوان جایگزین آنتی‌بیوتیک‌های محرک رشد، به‌دلیل اثرات مفید روی عملکرد، سلامت و تولید مثل طیور اهمیت فراوانی دارد (۴۵، ۳۴). پروبیوتیک‌ها نوعی افزودنی خوراکی هستند که با مکانیسم بهبود میکروفلور دستگاه گوارشی، اثرات مفید خود را اعمال کرده و موجب بهبود ضریب تبدیل خوراک، کاهش باکتری‌های بیماری‌زا، بهبود سیستم ایمنی و افزایش کیفیت تولیدات گوشتی می‌شود (۳۲). غالباً از لاکتوباسیلوس‌ها به‌عنوان سویه‌های بالقوه‌ی پروبیوتیکی در طیور استفاده می‌شود. لاکتوباسیل‌ها، باکتری‌های گرم مثبت، بدون هاگ، میله‌ای شکل و کاتالاز منفی هستند که به‌عنوان مهم‌ترین جمعیت میکروفلور

بی‌هوازی در دستگاه گوارش حیوانات محسوب می‌شوند (۴۳). گونه‌های پروبیوتیکی با اثر بر ریخت‌شناسی دستگاه گوارش، جمعیت میکروبی روده و همچنین فراسنجه‌های سرمی، باعث بهبود عملکرد، سلامت عمومی و تولیدمثل در طیور می‌شوند (۴۹، ۱۴). این قابلیت به‌دلیل رقابت در استفاده از مواد مغذی یا رقابت بر سر جایگاه‌های اتصال روی دیواره‌ی اپیتلیال روده و یا به دلیل تولید مواد ضد میکروبی توسط پروبیوتیک‌ها است (۲۰، ۱۹). لاکتوباسیلوس روتری یک گونه‌ی لاکتوباسیلوسی است که اثرات مفیدی بر سلامت میزبان دارد. نتایج مطالعات متعدد تأیید کننده‌ی ایمنی و اثرات مفید لاکتوباسیلوس روتری در مصرف‌کننده می‌باشد (۴۲، ۳۱). گونه‌ی لاکتوباسیلوس روتری قادر به تولید روترین می‌باشند. اهمیت این ماده به‌عنوان عامل حذف رقابتی پاتوژن‌ها در روده‌ی مرغ بومی است (۴۷). گزارش شده است که مکمل‌سازی آب آشامیدنی طیور از سویه‌ی پروبیوتیکی لاکتوباسیلوس روتری حامل ژن بتاگلوکاناز قادر است به سلول‌های اپیتلیال روده و چینه‌دان طیور بچسبند و به‌دلیل ظرفیت ترش‌حی آنزیم بتاگلوکاناز، به هضم بتاگلوکان جیره کمک نموده و باعث کاهش اثرات ضد مغذی بتاگلوکان‌ها در جیره می‌شود

پروبیوتیکی از دستگاه گوارش مرغ‌های بومی شمال غرب و جنوب غرب ایران در پژوهشکده بیوتکنولوژی جانوری می‌باشند. بدین منظور سویه‌های مذکور از میان باکتری‌های اسیدلاکتیکی گرم مثبت (باکتری‌های گرم مثبت در برابر رنگ‌آمیزی گرم واکنش مثبتی نشان داده و با جذب کریستال ویوله توسط پیتیدو گلیکان 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 نظیر باکتری‌های اسیدلاکتیکی انجام می‌شود) و KOH منفی (مخلوط نمودن کلنی باکتریایی با 3% KOH، از جمله تست‌های افتراق باکتری‌های گرم مثبت از باکتری‌های گرم منفی است) جداسازی شدند (۲۳). باکتری‌های انتخاب شده تمام تست‌های مربوط به تعیین خصوصیات پروبیوتیکی نظیر توانایی تحمل اسید معده (۵۱)، توانایی تحمل صفرا موجود در روده کوچک، مهار پاتوژن‌های سالمونلا اینتیریتیدیس، سالمونلا تیفی موریوم و فقدان همولیز را پشت سر گذاشته (۴۴) و به منظور شناسایی ملکولی از نظر ناحیه 16S باکتریایی بررسی شدند (۲۳). پس از خوانش، میزان شباهت قطعات مذکور با قطعات مشابه در بانک NCBI با استفاده از نرم‌افزار بلاست مشخص شد و قطعات مذکور در بانک ژنی NCBI ثبت شدند (۲۳). تست حساسیت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های مذکور به منظور انتخاب باکتری‌های حساس به ۸ آنتی‌بیوتیک توصیه شده توسط EFSA به منظور اطمینان از عدم انتقال ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی برای آنتی‌بیوتیک‌های مهم مورد استفاده در پزشکی و دامپزشکی نیز انجام شد (۳۵).

این دو ایزوله‌ی لاکتوباسیلوس روتری پس از تکثیر جداگانه در محیط کشت MRS مایع در ۳۷ درجه سانتی‌گراد و در شرایط بی‌هوازی کشت شدند و سلول‌های باکتریایی به وسیله سانتریفوژ جداسازی، و سوپرناتانت باکتری‌ها خارج گردید. سپس پلیت‌های باکتریایی به‌طور جداگانه در فریزدراپ‌آماده گردید. پس از تعیین غلظت باکتری‌های موجود در پودر باکتریایی فریزدراپ شده هر یک از جدایه‌ها به منظور استفاده در تغذیه جوجه‌های گوشتی به میزان $10^9 \times 1/36$ CFU/g به منظور مخلوط نمودن با خوراک روزانه در آرد ذرت رقیق شدند (۴۳). تعداد ۳۰۰ قطعه جوجه‌ی گوشتی نر یک روزه‌ی سویه‌ی آربراکرز پلاس در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با ۵ تیمار، ۴ تکرار و ۱۵ قطعه جوجه در هر تکرار توزیع شدند. تیمارهای آزمایش شامل: ۱- جیره‌ی پایه به‌عنوان تیمار کنترل، ۲- جیره‌ی پایه + ۱۰۰ گرم در تن آنتی‌بیوتیک آویلامایسین، ۳- جیره‌ی پایه + ۲۰۰ گرم در تن پروبیوتیک تجاری بایوپول، ۴- جیره‌ی پایه + ۱ گرم در کیلوگرم از پودر باکتری لاکتوباسیلوس روتری MG547731 (PIr_2) و ۵- جیره‌ی پایه + ۱ گرم در کیلوگرم از پودر باکتری لاکتوباسیلوس روتری MG547727 (PIr_3) بودند. جیره‌ی پایه بر اساس ذرت و کنجاله سویا برای دوره آغازین (۱۰-۱ روزگی)، رشد (۲۴-۱۱ روزگی) و پایانی (۴۲-۲۵ روزگی) تنظیم گردید. اجزای خوراک و ترکیب مواد مغذی جیره‌ی پایه در جدول ۱ آورده شده است. به‌منظور ارزیابی شاخص ایمنی

(۲۸، ۵۳). پروبیوتیک‌های اسیدلاکتیکی به‌دلیل تخمیر بی‌هوازی کربوهیدرات‌ها، باعث تولید اسیدهای چرب فرار، اسیدلاکتیک و اسید سوکسینیک در دستگاه گوارش شده که به‌عنوان سوخت متابولیکی سلول‌های اپیتلیوم استفاده می‌شوند (۴). استفاده از پروبیوتیک‌ها باعث افزایش رقابت با پاتوژن‌ها بر سر جایگاه‌های اتصال در دیواره روده گشته و آزاد شدن آنتی‌ژن از میکروارگانیسم‌های مرده و جذب آن‌ها توسط سلول‌های ایمنی، باعث تحریک پاسخ ایمنی می‌گردد (۹). هم‌چنین با افزایش ترشح گاما اینترفرون‌ها مانند ایمونوگلوبولین A و تولید پادتن، باعث افزایش سایر ایمونوگلوبولین‌ها (IgG, IgM) و نیز افزایش فعالیت فاگوسیتوزی گلبول‌های سفید خون می‌گردند (۲۹). گزارش شده است که پروبیوتیک‌های حاوی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوم بیفیدوم، همراه با استرپتوکوکوس فیکالیس، با افزایش ترشح آنتی‌بادی سرم باعث افزایش تولید و پاسخ آنتی‌بادی سیستمیک علیه گلبول‌های قرمز خون گوسفند (SRBC) نسبت به تیمار شاهد می‌گردند (۱۷). در تحقیقات دیگری نشان داده شد که مصرف پروبیوتیک باسیلوس سوبیتیلیس در جیره طیور منجر به بهبود پاسخ آنتی‌بادی علیه SRBC و ویروس عامل بیماری نیوکاسل می‌شود (۲۵). استفاده از پروبیوتیک در خوراک باعث افزایش فعالیت تکثیر و عملکرد سلول‌های تولیدکننده آنتی‌بادی و در نتیجه افزایش پاسخ ایمنی در بدن جوجه‌ها می‌گردد (۳۵). مصرف پروبیوتیک‌ها با بهبود سلامت عمومی روده، باعث کاهش هزینه‌های پرورش می‌گردد زیرا از کاهش اشتها و مشکلات گوارشی جلوگیری نموده و بازدهی استفاده از مواد مغذی جیره را افزایش می‌دهد، که در نهایت اثرات مثبتی بر کل عملکرد پرند خواهد داشت (۲۳). در تحقیق رویان و همکاران (۴۱) چندین سویه‌ی لاکتوباسیلوسی از دستگاه گوارش مرغ‌های بومی مناطق روستایی شمال غرب و جنوب غرب ایران جداسازی شد و توانایی پروبیوتیکی سویه‌های مذکور در شرایط برون‌تنی ارزیابی گردید. لذا در این مطالعه سویه‌ی باکتریایی لاکتوباسیلوس روتری (*L. reuteri* ABRIN31 (MG547727)) جداسازی شده از دستگاه گوارش مرغ بومی شمال غرب و سویه‌ی باکتریایی لاکتوباسیلوس روتری (*L. reuteri* ABRIN31 (MG547727)) جداسازی شده از دستگاه گوارش مرغ بومی جنوب غرب ایران که از توانایی پروبیوتیکی مناسبی در شرایط برون‌تنی برخوردار بودند، به‌منظور تغذیه‌ی جوجه‌های گوشتی استفاده شد. هدف از مطالعه‌ی حاضر، بررسی اثرات دو سویه‌ی مذکور به‌صورت منفرد روی عملکرد، شاخص‌های لاشه، پاسخ ایمنی و فراسنجه‌های خونی در مقایسه با پروبیوتیک تجاری بایوپول و آنتی‌بیوتیک محرک رشد آویلامایسین است.

مواد و روش‌ها

دو سویه لاکتوباسیلوس روتری (*L. reuteri* MG547731) و (*L. reuteri* MG547727) مورد استفاده در این تحقیق، حاصل یک رویه غربالگری به‌منظور یافتن باکتری‌های با پتانسیل پروبیوتیکی طی فرایند پروژة غربالگری و جداسازی جدایه‌های

نتایج و بحث

نتایج اثرات باکتری‌های اسید لاکتیکی جداسازی شده از دستگاه گوارش طیور بومی، آنتی‌بیوتیک محرک رشد و پروبیوتیک تجاری بر افزایش وزن روزانه، خوراک مصرفی و ضریب تبدیل خوراک در جدول ۲ نشان داده شده است. بر اساس داده‌های این جدول، تفاوت معنی‌داری در میزان خوراک مصرفی و ضریب تبدیل طی دوره‌های آغازین، رشد، پایانی و کل دوره بین تیمارهای آزمایشی به دست نیامد ($p > 0.05$). در دوره پایانی تیمارهای حاوی پروبیوتیک تجاری، آنتی‌بیوتیک محرک رشد و تیمارهای حاوی باکتری لاکتوباسیلوس روتری بومی (PIR₂) منجر به افزایش معنی‌دار وزن روزانه پرند (گرم/پرنده/روز) شدند ($p < 0.05$). نتایج برخی مطالعات با استفاده از پروبیوتیک‌های تجاری مختلف در جیره‌های گوشتی حاکی از عدم تأثیر معنی‌دار در

افزایش وزن روزانه و عملکرد در تیمارهای حاوی پروبیوتیک‌های متفاوت بود (۳۴،۴). سلیم و همکاران (۲۵) نیز گزارش نمودند که مصرف پروبیوتیک لاکتوباسیلوس روتری در جیره‌ی پایه به مدت ۴۲ روز، ضمن افزایش وزن بدن و کاهش مصرف خوراک و بهبود ضریب تبدیل خوراک، موجب افزایش ایمنوگلوبولین طیور گردید. دلیل بهبود در ضریب تبدیل خوراک و عملکرد در شرایط استفاده از محرک‌های رشد مانند پروبیوتیک، می‌تواند نتیجه مسدود شدن جایگاه‌های اتصال باکتری‌های پاتوژن در مخاط روده‌ی باریک، کاهش میزان صدمه به دیواره‌ی روده کاهش میزان سرعت جایگزینی سلول‌های روده به واسطه این افزودنی‌ها، افزایش راندمان مواد مغذی مورد استفاده و در نهایت ارتقای عملکرد پرند باشد (۲۲).

جدول ۲- اثرات مصرف باکتری‌های اسید لاکتیکی بومی، آنتی‌بیوتیک محرک رشد و پروبیوتیک تجاری بر شاخص‌های عملکردی جوجه‌های گوشتی (گرم/پرنده/روز)

Table 2. Consumption effects of native lactic acid bacteria, growth-promoter antibiotics and commercial probiotics on performance indicators in broilers (gram/bird/day)

SEM	p-value	تیمارهای آزمایشی				شاهد	شاخص‌های عملکردی	دوره‌ی پرورش
		لاکتوباسیلوس روتری PIR ₃ ^۲	لاکتوباسیلوس روتری PIR ₂ ^۱	پروبیوتیک تجاری بایوپول	آنتی‌بیوتیک آویلامایسین			
۰/۹۹	۰/۸۴	۱۷/۸۴	۱۸/۱۴	۱۸/۲۵	۱۶/۸۶	۱۷/۶۰	افزایش وزن (گرم/پرنده/روز)	دوره آغازین (۱-۱۰ روزگی)
۱/۲۱	۰/۹۳	۲۳/۵۴	۲۳/۶۲	۲۴/۴۹	۲۳/۱۴	۲۳/۲۲	مصرف خوراک (گرم/پرنده/روز)	
۰/۰۵۶	۰/۸۹	۱/۳۲	۱/۳۰	۱/۳۳	۱/۳۸	۱/۳۳	ضریب تبدیل خوراک	دوره رشد (۱۱-۲۴ روزگی)
۲/۸۴	۰/۴۹	۵۹/۴۷	۶۲/۶۲	۶۳/۷۲	۵۸/۳۳	۵۷/۲۰	افزایش وزن (گرم/پرنده/روز)	
۲/۴۴	۰/۲۱	۸۰/۰۸	۸۳/۷۴	۸۴/۲۹	۸۱/۰۰	۷۵/۷۲	مصرف خوراک (گرم/پرنده/روز)	دوره پایانی (۲۵-۴۲ روزگی)
۰/۰۳	۰/۵۷	۱/۳۵	۱/۳۳	۱/۳۲	۱/۳۹	۱/۳۴	ضریب تبدیل خوراک	
۲/۵۰	۰/۰۱	۱۰۳/۶ ^{ab}	۱۱۰/۰۳ ^a	۱۰۹/۰۸ ^a	۱۰۶/۱۴ ^a	۹۵/۷ ^{ab}	افزایش وزن (گرم/پرنده/روز)	کل دوره پرورش (۴۲ روز)
۳/۸۱	۰/۳۴	۲۰۲/۹۸	۲۰۲/۷۲	۲۰۴/۶۵	۱۹۳/۹۱	۲۰۰/۳۶	مصرف خوراک (گرم/پرنده/روز)	
۰/۰۵	۰/۱۰	۱/۹۶	۱/۸۴	۱/۸۸	۱/۸۳	۲/۰۴	ضریب تبدیل خوراک	کل دوره پرورش (۴۲ روز)
۲/۳۰	۰/۱۱	۶۴/۰۵	۶۹/۵۷	۶۹/۸۷	۶۶/۵۱	۶۱/۲۶	افزایش وزن (گرم/پرنده/روز)	
۳/۰۷	۰/۵۳	۱۱۰/۰۷	۱۱۵/۰۳	۱۱۶/۷۹	۱۱۰/۹۶	۱۱۲/۷۰	مصرف خوراک (گرم/پرنده/روز)	کل دوره پرورش (۴۲ روز)
۰/۰۳	۰/۱۹	۱/۷۲	۱/۶۵	۱/۶۷	۱/۶۷	۱/۷۸	ضریب تبدیل خوراک	

میانگین‌های هر ردیف با حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند ($p < 0.05$)

۱-PIR₂: گروه مصرف کننده جیره پایه همراه با یک گرم در کیلوگرم از پودر باکتری لاکتوباسیلوس روتری (MG547731) ABRIN35

۲-PIR₃: گروه مصرف کننده جیره پایه همراه با یک گرم در کیلوگرم از پودر باکتری لاکتوباسیلوس روتری (MG547727) ABRIN31

باکتریایی دستگاه گوارش طیور نقش عمده‌ای در عملکرد و راندمان استفاده از مواد مغذی جیره داشته و در شرایط عادی قسمت اعظم باکتری‌های دستگاه گوارش طیور از باکتری‌های مفید تشکیل و فقط در صورت بروز تنش یا بیماری ترکیب باکتری‌های دستگاه گوارش تغییر می‌کند. به نظر می‌رسد که در شرایط معمولی، پروبیوتیک‌ها نتوانند تأثیر معنی‌داری در عملکرد ایجاد کنند، اما افزودن آن‌ها به جیره می‌تواند از بروز بیماری‌هایی با منشاء باکتریایی جلوگیری کرده یا میزان خسارات ناشی از اثرات میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا را کاهش دهند. محققین در مطالعه‌ی گزارش کردند که وقتی جیره غذایی حیوان از لحاظ اسید آمینه (سیستین و

گزارش شده است که پروبیوتیک‌ها می‌توانند از طریق تعدیل جمعیت میکروبی و کاهش اسیدیته مجرای گوارش، افزایش فعالیت آنزیم‌های باکتریایی و در نتیجه افزایش فعالیت آنزیم‌های گوارشی، بهبود سلامت مخاط روده و تقویت سیستم ایمنی، موجب افزایش قابلیت هضم و جذب مواد مغذی و در نهایت بهبود عملکرد پرندگان شوند (۱۶).

تیمار حاوی پروبیوتیک از طریق افزایش تعداد لاکتوباسیلوس‌ها و بهبود صفات مورفولوژیکی روده منجر به افزایش توانایی هضم و جذب دستگاه گوارش و به تبع آن بهبود افزایش وزن بدن نسبت به گروه شاهد و تأمین مطلوب‌تر مواد مغذی مورد نیاز پرند شده است (۷). جمعیت

میزان ایمونوگلوبولین کل و ایمونوگلوبولین G تیمارهای آزمایشی حاوی پروبیوتیک تجاری و تیمار لاکتوباسیلوس روتری MG547731 (PIr₂) به صورت معنی‌داری بالاتر از تیمار شاهد و سایر تیمارهای مورد مطالعه بود ($p < 0.05$). قدرت آنتی‌بادی به‌عنوان شاخصی از توانایی سیستم همومرال در تحقیق ایمونولوژیک حیوان و اکولوژی مورد استفاده قرار می‌گیرد. پروبیوتیک‌ها می‌توانند سیستم ایمنی پرنده را تحت تأثیر قرار دهند. زیرا ضمن افزایش تعداد سلول‌های دیواره روده، ترشح گاما اینترفرون‌ها، لنفوسیت‌ها و آنتی‌بادی موضعی را نیز افزایش می‌دهند. افزایش و تولید گاما اینترفرون روی سیستم ایمنی حیوان تأثیر گذاشته و تولید پادتن‌ها به‌خصوص ایمونوگلوبولین M و ایمونوگلوبولین G را افزایش می‌دهد (۲). گزارش شده است که افزودنی‌های محرک رشد از جمله پروبیوتیک‌ها، زیرمجموعه‌ای از سلول‌های سیستم ایمنی را به‌منظور تولید سیتوکین‌ها (که نقش مهمی در القاء و تنظیم پاسخ‌های ایمنی دارند) تحریک می‌کنند (۳۹). سایر تحقیقات نشان دادند که تولید سیتوکین‌های سلول T کمکی ۲ از قبیل اینترلوکین-۲ با مصرف لاکتوباسیل‌ها افزایش می‌یابد (۴۴). نتایج مطالعات نشان داده است که مصرف لاکتوباسیلوس‌ها از طریق آب آشامیدنی در جوجه‌های گوشتی تازه تفریح شده، موجب افزایش سطوح ایمونوگلوبولین A در روده‌ی کوچک و سطوح ایمونوگلوبولین‌های G و M در سرم گردید (۳۱،۳۳). تزریق داخل وریدی SRBC منجر به بدست آوردن تیترا بالاتر نسبت به تزریق داخل عضلانی و داخل صفاقی شده و پاسخ ثانویه‌ی آنتی‌بادی علیه SRBC تزریق شده، با قدرت بیشتری همراه است، زیرا با افزایش سن جوجه‌ها، سیستم ایمنی تکامل بیشتری یافته و آثار ناشی از پاسخ اولیه، موجب تقویت تولید آنتی‌بادی در پاسخ ثانویه می‌شوند. بنابراین می‌توان انتظار داشت که پاسخ ثانویه نسبت به پاسخ اولیه شدیدتر باشد. تغییرات تیترا آنتی‌بادی علیه گلبول قرمز گوسفندی در آزمایش‌های مختلف ممکن است تحت تأثیر روش و محل تزریق آنتی‌ژن، جنس حیوان، شرایط تغذیه، استرس، حرارت محیط، سن و زمینه ژنتیکی جوجه‌ها متفاوت باشد (۴۳،۳۸). نتایج مطالعات نشان دادند که پروبیوتیک‌ها مشابه پری‌بیوتیک‌ها با افزایش تیترا آنتی‌بادی‌ها علیه SRBC، موجب بهبود پاسخ ایمنی جوجه‌های گوشتی می‌شوند (۸). حقیقی و همکاران (۱۷)، در یک مطالعه‌ی اثر استفاده از پروبیوتیک حاوی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوم بر پاسخ ایمنی همومرال در جیره جوجه‌های گوشتی بررسی و دریافتند که سطح پادتن سرم علیه SRBC در گروه دریافت‌کننده پروبیوتیک، در مقایسه با گروه شاهد به‌طور معنی‌داری افزایش یافته بود. بهبود و تحریک سیستم ایمنی بدن به وسیله پروبیوتیک‌ها، ممکن است به سه طریق انجام شود: ۱- افزایش تولید آنتی‌بادی سیستمیک، که معمولاً از نوع ایمونوگلوبولین‌های M (IgM)، G (IgG) و اینترفرون‌ها هستند، ۲- افزایش تولید آنتی‌بادی موضعی در سطوح مخاطی بدن، از قبیل دیواره روده (این نوع آنتی‌بادی‌ها معمولاً از نوع IGA است)، ۳- افزایش فعالیت ماکروفاژها که از طریق افزایش فاگوسیتوز میکروارگانسیم‌ها

لازین) کمبود دارد، در این شرایط (کمبود) مصرف پروبیوتیک‌ها نسبت به زمانی که جیره از نظر اسید آمینه کمبودی ندارد به‌طور معنی‌داری موجب بهبود ضریب تبدیل خوراک و وزن بدن می‌شود. به بیان دیگر پروبیوتیک‌ها در جیره‌های کم پروتئین کارآمدتر هستند (۵۲). نتایج مطالعات نشان داده‌اند که علاوه بر شاخص‌هایی مانند شرایط پرورش و شیوه‌ی مصرف پروبیوتیک، غلظت پروبیوتیک مورد استفاده در جیره از جمله عوامل موثر بر ارتقاء معنی‌دار عملکرد جوجه‌های گوشتی می‌باشد (۴۶،۲۴).

نتایج اثرات باکتری‌های اسید لاکتیکی جداسازی شده از دستگاه گوارش طیور بومی، آنتی‌بیوتیک محرک رشد و پروبیوتیک تجاری بر وزن نسبی لاشه، اجزای لاشه و اندام‌های داخلی در جدول ۳ نشان داده شده است. در این مطالعه، تیمارهای پروبیوتیکی و آنتی‌بیوتیک محرک رشد منجر به کاهش معنی‌دار وزن سنگدان و پیش‌معده در ۴۲ روزگی شده ($p < 0.05$)، اما اختلاف معنی‌داری در وزن نسبی سایر اجزاء به دست نیامد ($p > 0.05$). منطبق با نتایج این مطالعه، آواد و همکاران (۳) گزارش نمودند که تیمار حاوی سین‌بیوتیک منجر به کاهش وزن پیش‌معده می‌گردد. نتیجه آنالیز داده‌ها، حاکی از بهبود درصد لاشه از نظر عددی در تیمارهای آزمایشی نسبت به تیمار کنترل می‌باشد. ملجی و همکاران (۲۹) گزارش کردند که افزودن پروبیوتیک به جیره موجب افزایش معنی‌دار بازده لاشه نسبت به تیمار شاهد شد. با این حال رشد عضله سینه و سایر اندام‌های داخلی تحت تأثیر تیمارها قرار نگرفتند. نتایج برخی از مطالعات حاکی از آن است که استفاده از سویه‌های مختلف لاکتوباسیلوس، هیچ اثری در وزن نسبی قلب، کبد، طحال، بورس و پانکراس ندارد. این یافته‌ها نشان می‌دهند که چنین پروبیوتیک‌هایی اثری بر اعضای حیاتی و سلامت عمومی حیوان ندارند (۱،۱۴). نتایج متفاوت در گزارش‌های تحقیقاتی مختلف ممکن است به‌علت تفاوت در سن و نژاد جوجه، ترکیب جیره، زمان مصرف و نوع پروبیوتیک تجاری و مقدار مصرف پروبیوتیک، شیوه‌های مدیریتی و شرایط محیطی در آزمایش‌های مختلف باشد (۲۹).

نتایج آنالیز ایمونوگلوبولین‌های سرم پس از دو مرحله تزریق گلبول‌های قرمز گوسفند (SRBC) در جدول ۴ نشان داده شده است. در این مطالعه از نظر سطح ایمونوگلوبولین کل، تیمارهای حاوی پروبیوتیک تجاری و ایزوله‌های لاکتوباسیلوسی بومی (PIr₂, PIr₃) دارای بالاترین سطح پس از اولین تزریق نسبت به تیمار شاهد بوده ($p < 0.05$) و تفاوت معنی‌داری بین تیمار حاوی آنتی‌بیوتیک محرک رشد و تیمار کنترل از این نظر به دست نیامد ($p > 0.05$). از نظر سطح ایمونوگلوبولین M پس از اولین تزریق نیز، تیمارهای حاوی آنتی‌بیوتیک محرک رشد و ایزوله‌ی لاکتوباسیلوس روتری MG547731 (PIr₂) دارای سطح بالاتری نسبت به گروه کنترل بودند ($p < 0.05$)، اما تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای آنتی‌بیوتیک محرک رشد و ایزوله‌های پروبیوتیک بومی، نسبت به گروه کنترل از نظر سطح ایمونوگلوبولین G پس از تزریق اول مشاهده نگردید ($p > 0.05$). پس از تزریق دوم،

ویروس نیوکاسل نداشت (۱۸،۲۰). این نتایج با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد. رحمان و همکاران (۳۷) در مطالعه‌ای اثر پروبیوتیک‌های حاوی لاکتوباسیلوس را بر عیار پادتن نیوکاسل در جوجه‌های گوشتی بررسی کردند و دریافتند که مصرف پروبیوتیک در کل دوره، به‌طور چشم‌گیری عیار پادتن ویژه‌ی نیوکاسل را در مقایسه با گروه شاهد افزایش داد که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت ندارد. نتایج حاصل از این بررسی حاکی از آن است که مصرف پروبیوتیک در جیره در کل دوره، به‌طور چشم‌گیری عیار پادتن ویژه‌ی نیوکاسل را در مقایسه با گروه شاهد افزایش داد که با ماهیت آنتی‌ژن، زمان واکنش‌های، سن و نژاد پرند اشاره کرد (۴۰).

چاپمن و همکاران (۲۶) گزارش نمودند که تأثیر پروبیوتیک‌ها بر عملکرد سیستم ایمنی به مقدار دوز مصرف بستگی دارد. در صورت مصرف پروبیوتیک‌ها با دوزهای بالاتر، سیستم ایمنی با تکثیر لئوسیت‌های T و B تحریک شده و سلول‌های B با تمایز به سلول‌های تولیدکننده ایمونوگلوبولین‌ها موجب افزایش تولید آنتی‌بادی شده و در این صورت از تکثیر و انتشار گونه‌های پاتوژن و بیماری‌زا ممانعت به عمل می‌آید. این در حالی است که مصرف مقادیر کم پروبیوتیک سیستم ایمنی را تحریک کرده و شدت عفونت را کاهش می‌دهد اما قادر به ممانعت از کلونیزاسیون گونه‌های مهاجم و بیماری‌زا نمی‌باشد (۵۵) در مطالعه حاضر اثر جدایه‌های لاکتوباسیلوس روتری و پروبیوتیک پایوپول بر افزایش عددی تیتراژ آنتی‌بادی علیه نیوکاسل احتمالاً در پیشگیری از بیماری نیوکاسل موثر و ممکن است دوز بالاتر از باکتری، محافظت بیشتری ایجاد کند.

نمایان می‌گردد (۱۴). با توجه به افزایش اختصاصی تیتراژ آنتی‌بادی علیه SRBC می‌توان احتمال داد که تولید اختصاصی آنتی‌بادی افزایش و وضعیت عمومی ایمنی ارتقاء یافته باشد. جمعیت میکروبی روده با فراهم‌سازی سدی طبیعی، در برابر باکتری‌های مضر، از رشد پاتوژن‌ها ممانعت نموده و با تولید باکتریوسین‌ها یا سایر مواد، باعث ارتقاء عملکرد سیستم ایمنی می‌شوند.

نتایج حاصل از داده‌های مربوط به اثرات تیمارهای آزمایشی در عیار آنتی‌بادی علیه واکسن نیوکاسل در روز ۲۸ و ۴۱ دوره پرورش در جدول ۵ نشان داده شده است. واکسن نیوکاسل در روز ۲۸ و ۴۱ دوره پرورش، اختلاف معنی‌داری را بین تیمارهای آزمایشی با تیمار شاهد نشان نداد. اولین پاسخ ایمنی در برابر نیوکاسل از نوع ایمنی سلولی است که در ۳-۲ روز اول بعد از واکنش‌های با سویه‌ی زنده بروز قابل تشخیص بوده و طی ۳-۴ هفته به حداکثر می‌رسد. پادتن‌ها در طی ۱۰-۶ روز بعد از عفونت می‌رسند. این پادتن‌های ممانعت‌کننده از هم‌اگلوتیناسیون، تا یک سال در پرندگان بهبودیافته قابل تشخیص می‌باشند. نتایج حاصل از مقایسه‌ی میانگین عیار آنتی‌بادی علیه ایمنی موضعی هم‌زمان با تشکیل ایمنی هومورال، در مجاری فوقانی تنفسی ایجاد شده و عمدتاً از نوع ایمونوگلوبولین A به‌همراه مقداری ایمونوگلوبولین G می‌باشد و غدد هاردین که عمده‌ترین سلول‌های تولیدکننده‌ی ایمونوگلوبولین A در جوجه‌ها هستند در این ایمنی نقش دارند (۱۰). محققین در مطالعه‌ای اثر استفاده پروبیوتیک‌های حاوی لاکتوباسیلوس بر پاسخ ایمنی هومورال در مرغان تخم‌گذار بررسی کردند، نتایج نشان داد که پروبیوتیک‌ها تأثیر معنی‌داری بر تیتراژ آنتی‌بادی علیه

جدول ۳- اثرات مصرف باکتری‌های اسیدلاکتیکی بومی، آنتی‌بیوتیک محرک رشد و پروبیوتیک تجاری بر درصد وزن نسبی اندام‌های داخلی و اجزای لاشه (نسبت به وزن زنده) در جوجه‌های گوشتی

Table 3. Consumption effects of native lactic acid bacteria, growth-promoter antibiotics and commercial probiotics on the percentage of relative weight of internal organs and carcass components (relative to live weight) in broilers

SEM	p-value	تیمارهای آزمایشی					شاهد	اندام داخلی و اجزای لاشه
		لاکتوباسیلوس روتری Plr ₃ ^۱	لاکتوباسیلوس روتری Plr ₂ ^۱	پروبیوتیک پایوپول	آنتی‌بیوتیک اویلاماسین			
۰/۱۱	۰/۰۸	۲/۰۲	۲/۱۴	۲/۲۸	۲/۴۰	۲/۳۹	کبد	
۰/۰۵۶	۰/۰۱	۱/۳۷ ^b	۱/۲۶ ^b	۱/۲۸ ^b	۱/۴۵ ^a	۱/۴۸ ^a	سنگدان	
۰/۱۴	۰/۰۰۱	۰/۲۹ ^b	۰/۲۸ ^b	۰/۳۲ ^b	۰/۳۲ ^b	۰/۴۰ ^a	پیش‌مده	
۰/۰۰۹	۰/۵۳	۰/۱۰	۰/۱۱	۰/۱۲	۰/۱۰	۰/۱۱	طحال	
۰/۰۱۱	۰/۷۳	۰/۲۲	۰/۲۳	۰/۲۳	۰/۲۲	۰/۲۴	پانکراس	
۰/۲۴	۰/۰۸	۰/۴۰	۰/۴۲	۰/۴۱	۰/۴۳	۰/۴۹	قلب	
۰/۰۰۵	۰/۸۰	۰/۰۵۱	۰/۰۵۵	۰/۰۵۱	۰/۰۵۷	۰/۰۵۹	بورس	
۰/۰۳۹	۰/۵۹	۰/۳۵	۰/۳۵	۰/۳۹	۰/۳۳	۰/۳۸	تیموس	
۰/۸۳	۰/۵۹	۶۳/۸۲	۶۳/۸۰	۶۴/۱۰	۶۳/۲۳	۶۲/۳۵	لاشه	
۰/۱۵	۰/۸۲	۳۰/۴۵	۳۰/۳۱	۳۰/۴۰	۲۹/۸۵	۳۰/۳۷	ران	
۰/۷۴	۰/۵۶	۳۹/۴۷	۳۸/۸۷	۳۹/۵۶	۳۸/۸۲	۳۸/۳۷	سینه	
۰/۱۶	۰/۸۹	۸/۳۵	۸/۳۲	۸/۲۰	۸/۱۶	۸/۳۷	بال	
۰/۱۲	۰/۷۱	۱/۳۱	۱/۴۵	۱/۴۳	۱/۴۶	۱/۲۶	چربی بطنی	
۰/۰۴۲	۰/۵۹	۱/۳۱	۱/۲۸	۱/۳۰	۱/۳۰	۱/۲۶	سینه به ران	

میانگین‌های هر ردیف با حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند (p<0.05).

۱- Plr₂: گروه مصرف‌کننده جیره پایه همراه با یک گرم در کیلوگرم از پودر باکتری لاکتوباسیلوس روتری ABRIN35 (MG547731)

۲- Plr₃: گروه مصرف‌کننده جیره پایه همراه با یک گرم در کیلوگرم از پودر باکتری لاکتوباسیلوس روتری ABRIN131 (MG547727)

جدول ۴- اثرات مصرف باکتری‌های اسید لاکتیکی بومی، آنتی‌بیوتیک محرک رشد و پروبیوتیک تجاری بر ایمونوگلوبولین‌های سرم جوجه‌های گوشتی پس از دو مرحله تزریق SRBC (گلوبول قرمز خون گوسفند)

Table 4. Consumption effects of native lactic acid bacteria, growth-promoter antibiotics and commercial probiotics on broiler serum immunoglobulins after two stages of SRBC injection (sheep red blood cells)

تیمارهای آزمایشی						
SEM	p-value	لاکتوباسیلوس روتری P1r3 ^۲	لاکتوباسیلوس روتری P1r2 ^۱	پروبیوتیک بایوپول	آنتی‌بیوتیک اویلامایسین	شاهد
۰/۲۷	۰/۰۲	۱/۷۵ ^{bc}	۲/۶۲ ^a	۲/۰۰ ^{abc}	۲/۱۳ ^{ab}	۱/۲۵ ^c
۰/۲۹	۰/۰۰۲	۵/۱۲ ^b	۴/۵ ^b	۶/۲۵ ^a	۴/۱۳ ^b	۴/۲۵ ^b
۰/۴۰	۰/۰۰۰۶	۶/۷۸ ^b	۷/۱۳ ^{ab}	۸/۲۵ ^a	۶/۲۵ ^{bc}	۵/۵۰ ^c
۰/۳۰	۰/۲۱	۱/۵۱۰	۲/۲۵	۲/۳۷	۲/۲۵	۱/۷۵
۰/۳۷	۰/۰۰۹	۵/۵۰ ^{ab}	۶/۲۵ ^a	۶/۳۷ ^a	۴/۷۵ ^b	۴/۸۷ ^b
۰/۳۱	۰/۰۰۰۱	۷/۰۰ ^b	۸/۵۰ ^a	۸/۷۵ ^a	۷/۰۰ ^b	۶/۶۳ ^d

میانگین‌های هر ردیف با حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند (p<0.05).

۱- P1r2: گروه مصرف کننده جیره پایه همراه با یک گرم در کیلوگرم از پودر باکتری لاکتوباسیلوس روتری (ABRIIN35 (MG547731)

۲- P1r3: گروه مصرف کننده جیره پایه همراه با یک گرم در کیلوگرم از پودر باکتری لاکتوباسیلوس روتری (ABRINI31 (MG547727)

لاکتوباسیلوس روتری بومی (P1r2, P1r3) تفاوت معنی‌داری مشاهده نشده است (p>۰/۰۵)، اما میزان HDL در تیمار آنتی‌بیوتیک به‌طور معنی‌داری کاهش یافته است (p<۰/۰۵). میزان LDL سرم در تیمارهای آزمایشی نسبت به گروه کنترل تفاوت معنی‌داری مشاهده نشده است (p>۰/۰۵).

نتایج تأثیر تیمارهای آزمایشی بر فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون جوجه‌های گوشتی در سن ۴۲ روزگی در جدول شماره ۶ ارائه شده است. بر اساس نتایج به دست آمده از نظرمیزان گلوکز، کلسترول، تری‌گلیسرید و VLDL سرم اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای مختلف آزمایشی با گروه کنترل مشاهده نشد (p>۰/۰۵). داده‌های به‌دست آمده مربوط به مقدار HDL سرم در تیمارهای بایوپول و ایزوله‌های

جدول ۵- اثرات مصرف باکتری‌های اسید لاکتیکی بومی، آنتی‌بیوتیک محرک رشد و پروبیوتیک تجاری بر تیترا آنتی‌بادی علیه بیماری نیوکاسل در روزهای ۲۸ و ۴۱

Table 5. Consumption effects of native lactic acid bacteria, growth-promoter antibiotics and commercial probiotics on antibody titer against Newcastle disease at day 28 and 41

تیمارهای آزمایشی						
SEM	p-value	لاکتوباسیلوس روتری P1r3 ^۲	لاکتوباسیلوس روتری P1r2 ^۱	پروبیوتیک تجاری بایوپول	آنتی‌بیوتیک اویلامایسین	شاهد
۰/۵۳	۰/۸۲	۴/۸۴	۴/۸۷	۴/۵۰	۴/۲۵	۴/۲۵
۰/۵۱	۰/۷۳	۴/۶۲	۵/۰۰	۴/۶۲	۴/۱۲	۴/۱۲

میانگین‌های هر ردیف با حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند (p<0.05).

۱- گروه مصرف کننده جیره پایه همراه با یک گرم در کیلوگرم از پودر باکتری لاکتوباسیلوس روتری (ABRIIN35 (MG547731)

۲- گروه مصرف کننده جیره پایه همراه با یک گرم در کیلوگرم از پودر باکتری لاکتوباسیلوس روتری (ABRINI31 (MG547727)

موجب کاهش غلظت کلسترول و تری‌گلیسرید سرم خون می‌گردد و این چنین استدلال کردند که پروبیوتیک‌ها با باند شدن با اسیدهای صفراوی و برداشتن کلسترول و افزایش سنتز اسیدهای صفراوی جدید توسط کبد منجر به کاهش کلسترول خون می‌شوند.

پروبیوتیک‌ها از طرق مختلف با کمک آنزیم‌های هیدرولازی نمک‌های صفراوی و غیر مزدوج کردن اسیدهای صفراوی در روده و دفع آن از مدفوع، یا استفاده از کلسترول در دیواره یا غشای سلولی، تبدیل کلسترول به کاپروستانول، جلوگیری از سنتز کبدی کلسترول از اسیدهای چرب کوتاه زنجیر (مثل پروپیونات)، یا گردش مجدد کلسترول از پلاسما به کبد باعث کاهش سطح کلسترول پلاسما می‌شوند (۲۱). پروبیوتیک‌ها از طرق مختلف با کمک آنزیم‌های هیدرولازی نمک‌های صفراوی و غیر مزدوج کردن اسیدهای صفراوی در روده و دفع آن از مدفوع، زنجیر (مثل پروپیونات)، یا گردش مجدد کلسترول از پلاسما به کبد باعث کاهش سطح کلسترول پلاسما می‌شوند (۲۱).

گتاچو (۱۴)، بیان نمود که افزودن پروبیوتیک و آنتی‌بیوتیک در جیره‌ی طیور، اثر معنی‌داری بر غلظت کلسترول خون و تری‌گلیسرید خون نداشته‌است. در گزارش دیگری آمده است که پروبیوتیک‌ها با تخمیر کربوهیدرات‌های غیرقابل هضم و تولید اسید چرب کوتاه زنجیر، سنتز کلسترول را کاهش داده و از این طریق سبب کاهش کلسترول در بدن می‌گردند (۱۳).

هم‌چنین موافق نتایج این تحقیق، گزارش شده است که افزودن ترکیب مکمل پروبیوتیک و پری‌بیوتیک در جیره‌ی بلدرچین ژاپنی هیچ اثر معنی‌داری بر شاخص‌های خونی از جمله کلسترول و تری‌گلیسرید نداشت (۴۲). مقدم و همکاران (۳۰) عدم تأثیر پروبیوتیک پروتکسین را بر کلسترول، تری‌گلیسرید، LDL و HDL خون جوجه‌های گوشتی، در ۴۲ روزگی نشان دادند. دراز و همکاران (۹)، گزارش کردند که افزودن پروبیوتیک‌ها تأثیری بر غلظت تری‌گلیسرید، کلسترول و HDL نداشت. بر اساس تحقیقات خانی و همکاران (۲۶)، استفاده از پروبیوتیک‌ها در جیره خوراکی طیور

جدول ۶- اثرات مصرف باکتری‌های اسید لاکتیکی بومی، آنتی‌بیوتیک محرک رشد و پروبیوتیک تجاری بر فراسنجه‌های خونی (mg/dl) جوجه‌ی گوشتی
Table 6. Consumption effects of native lactic acid bacteria, growth-promoter antibiotics and commercial probiotics on blood parameters in broiler (mg/dl)

SEM	p-value	تیمارهای آزمایشی				شاهد	فراسنجه‌های خونی (mg/dl)
		لاکتوباسیلوس روتری P1r3	لاکتوباسیلوس روتری P1r2	پروبیوتیک بایوپول	آنتی‌بیوتیک آویلامایسین		
۱۳/۴۵	۰/۶۳	۱۴۴/۳	۱۴۷/۳	۱۵۵/۴	۱۴۴/۲	۱۲۶/۰	گلوکز
۶/۵۶	۰/۰۸	۱۵۳/۲۹	۱۵۴/۱۹	۱۵۵/۶۳	۱۳۳/۳۰	۱۵۷/۸۶	کلسترول
۰/۰۹	۰/۳۲	۵۹/۸۲	۵۴/۳۶	۵۵/۶۴	۵۸/۷۷	۴۳/۵۸	تری‌گلیسرید
۰/۴۱	۰/۳۲	۱۱/۹۶	۱۰/۸۷	۱۱/۱۳	۱۱/۷۵	۱۱/۶۸	VLDL
۴/۷۸	۰/۰۱	۶۷/۶۹ ^a	۷۴/۴۳ ^a	۷۵/۳۴ ^a	۵۲/۸۷ ^b	۷۲/۸۵ ^a	HDL
۷/۵۷	۰/۹۹	۷۰/۷۳	۶۷/۷۸	۶۹/۱۶	۶۸/۶۷	۷۳/۲۱	LDL

میانگین‌های هر ردیف با حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی دار می‌باشند (p<0.05).

۱- P1r2: گروه مصرف کننده جیره پایه همراه با یک گرم در کیلوگرم از پودر باکتری لاکتوباسیلوس روتری (ABRIIN35 (MG547731)

۲- P1r3: گروه مصرف کننده جیره پایه همراه با یک گرم در کیلوگرم از پودر باکتری لاکتوباسیلوس روتری (ABRINI31 (MG547727)

نتیجه‌گیری کلی

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که استفاده از ایزوله‌های لاکتوباسیلوس روتری جداسازی شده از محتویات دستگاه گوارش مرغ‌های بومی، مشابه پروبیوتیک تجاری و آنتی‌بیوتیک محرک رشد، می‌تواند اثر سودمندی بر بهبود عملکرد، سیستم ایمنی و شاخص‌های بیوشیمیایی خون داشته باشند. بر این اساس ایزوله‌های لاکتوباسیلوس روتری جداسازی شده از دستگاه گوارش طیور بومی خصوصاً ایزوله لاکتوباسیلوس روتری ((*L. reuteri* ABRIIN35 (P1r2)) کاندیدهای مناسبی جهت استفاده در ترکیب مکمل پروبیوتیکی مورد استفاده در تغذیه‌ی طیور می‌باشند.

تقدیر و تشکر

از مدیران و کارشناسان پژوهشکده بیو تکنولوژی جانوری کشور در رشت، و آقای مهندس محمدی میر عامل شرکت رامسر طیور بابت حمایت‌های مالی، تامین اقلام مورد نیاز پژوهشی و فنی این تحقیق صمیمانه قدردانی و تشکر می‌نمایم.

در مطالعه حاضر میزان گلوکز، کلسترول، HDL، LDL، تری‌گلیسرید و VLDL، تری‌گلیسرید و کلسترول سرم تحت تأثیر تیمارهای پروبیوتیکی قرار نگرفت که ممکن است به دز مصرف پروبیوتیک مرتبط باشد. دلیل احتمالی دیگر می‌تواند باکتری‌های موجود در محصول پروبیوتیکی باشد که هیچ تأثیری بر متابولیسم چربی خوراکی نداشته؛ چرا که اغلب این سویه‌های باکتریایی از کربوهیدرات‌ها به عنوان سوسترا استفاده می‌کنند. این امر باعث شده است که در تیمارهای آزمایشی و شاهد مقدار چربی جذب شده و متابولیسم آن‌ها تفاوت معنی‌داری نداشته باشد. این تأثیر در مورد سایر متابولیت‌های چربی خون نیز صدق می‌کند. از آنجایی که HDL، LDL، VLDL در کبد سنتز شده و با توجه به این‌که پروبیوتیک‌ها به‌طور مستقیم با کبد در ارتباط نیستند، بنابراین تنها ممکن است از طریق تأثیر بر تولید یا ممانعت از تولید القاء کننده‌ها و مهارکننده‌های تولید شده در مخاط روده بتوانند بر تولیدات کبد تأثیر بگذارند. به عبارت دیگر می‌توان این‌طور استنباط کرد که پروبیوتیک‌های مورد استفاده فعالیت‌های آنزیمی روده را به نحوی که باعث تحریک فعالیت کبد در جهت ساخت این ترکیبات باشد، متأثر نکرد (۱).

منابع

1. Afsharmanesh, M., B. Sadaghi and F.G. Silversides. 2011. Influence of supplementation of prebiotic, probiotic, and antibiotic to wet-fed wheat-based diets on growth, ileal nutrient digestibility, blood parameters, and gastrointestinal characteristics of broiler chickens. *Comparative Clinical Pathology*, 22: 245-251.
2. Al-Shawi, S.G., D.S. Dang, A.Y. Yousif, Z.K. Al-Younis, T.A. Najm and S.K. Matarneh. 2020. The potential use of probiotics to improve animal health, efficiency, and meat quality: A review. *Agriculture*, 10(452):1-14.
3. Awad, W.A., K. Ghareeb, S. Abdel-Raheem and J. Böhm. 2009. Effects of dietary inclusion of probiotic and synbiotic on growth performance, organ weights, and intestinal histomorphology of broiler chickens. *Poultry Science*, 88(1): 49-56.
4. Aziz Mousavi, S.M.A., H. Mahmoodzadeh Hosseini and S.A. Mirhosseini. 2018. A review of dietary probiotics in poultry. *Journal of Applied Biotechnology Reports*, 5(2): 48-54.
5. Balevi, T.U., S. Ucan, B. Coskun, K. Kurtoglu and S. Cetingul. 2009. Effect of dietary probiotic on performance and humoral immune response in layer hens. *Archiva Zootechnica*, 12(2): 14-23.
6. Bhogoju, S. and S. Nahashon. 2022. Recent advances in probiotic application in animal health and nutrition: A review. *Agriculture*, 12(304): 2-16.

7. Blajman, J.E., L.S. Frizzo, M.V. Zbrun, D.M. Astesana, M.L. Fusari, L.P. Soto, M.R. Rosmini and M.L. Signorini. 2014. Probiotics and broiler growth performance: a meta-analysis of randomized controlled trials. *British Poultry Science*, 55: 483-494.
8. Buclaw, M. 2016. The use of inulin in poultry feeding: a review. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition (Berlin)*, Dec, 100(6): 1015-1022.
9. Chapman, C.M., G.R. Gibson and I. Rowland. 2011. Health benefits of probiotics: are mixtures more effective than single strains? *European Journal of Nutrition*, 50: 1-17.
10. Denli, M. and R. Demirel. 2018. Replacement of antibiotics in poultry diets. *CAB reviews*, 13(35): 1-9.
11. Deraz, S.F., A.E. Elkomy and A.A. Khalil. 2019. Assessment of probiotic-supplementation on growth performance, lipid peroxidation, antioxidant capacity, and cecal microflora in broiler chickens. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 9(1): 30-39.
12. 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.
13. Faseleh Jahromi, M., Y. Wesam Altaher, P. Shokryazdan, R. Ebrahimi, M. Ebrahimi, Z. Idrus, V. Tufarelli and J.B. Liang. 2015. Dietary supplementation of a mixture of *Lactobacillus* strains enhances performance of broiler chickens raised under heat stress conditions. *International Journal of Biometeorology*, 60: 1099-1110.
14. Getachew, T. 2016. A review on effects of probiotic supplementation in poultry performance and cholesterol levels of egg and meat. *Journal of world's poultry research*, 6(1): 31-36.
15. Ghaniei, A. and N. Mohammadzadeh. 2012. Detection of Newcastle disease virus antibodies in serum of broiler chickens of Iran. *Journal of Animal and Poultry Sciences*, 1: 24-28.
16. Habibi, S., S. Khojasteh and M. Jafari. 2013. The effect of Bactocell® and Protexin® probiotics on performance and carcass characteristics of broiler chickens. *Journal of Novel Applied Sciences*, 2: 565-570.
17. Haghighi, H.R., J. Gong, L. Carlton, M. Gyles, A. Hayes, B. Sanei, P. Parvizi, H. Gisavi, J.R. Chambers, and S. Sharif. 2005. Modulation of Antibody-Mediated Immune Response by Probiotics in Chickens. *American Society for Microbiology*, 12(12): 1387-1392.
18. Hajati, H., A. Hassanabadi and A. Teimouri Yansari. 2014. The Effect of Dietary Supplementation of Probiotic and Probiotic on performance, humoral immunity responses and egg hatchability in broiler breeders. *Poultry Science Journal*, 2(1): 1-13.
19. Hati, S., B.K. Mishra, M. Patel, J.B. Prajapati, N.J. Bhagora, F.P. Savaliya, M. Pathan, P.B. Jani and D.J. Ghodasara. 2021. Indigenous *Lactobacillus* strains improve growth performance and high density cholesterol levels in broilers. *Indian Journal of Experimental Biology*, 59: 556-563.
20. Hayek, S.A., R. Gywali and S.A. Ibrahim. 2013. Microbial pathogens and strategies for combating them. *Antimicrobial Natural Products science, technology and education*, 912: 910- 921.
21. Homayouni, A., L. Payahoo, and A. Azizi. 2012. Effects of Probiotics on Lipid Profile: A Review. *American Journal of Food Technology*, 7: 251-265.
22. Hussein, E.O.S., Sh.H. Ahmed, A.M. Abudabos, M.R. Aljumaah, M.M. Alkhlulaifi, M.A. Nassan, G.M. Suliman, M.A.E. Naiel and A.A. Swelum. 2020. Effect of antibiotic, phytobiotic and probiotic supplementation on growth, blood indices and intestine health in broiler chicks challenged with *Clostridium perfringens*. *Animals*, 10(507): 1-18.
23. Jabbari, N., A. Fattah and F. Shirmohammad. 2016. The effects of Protexin® probiotic and aquablend avian antibody on performance and immune system of broiler chickens. *Iranian Journal of Applied Animal Sciences*, 6: 951-956 (In Persian).
24. Jha, R., R. Das, S. Oak, and P. Mishra. 2020. Probiotics (Direct-Fed Microbials) in poultry nutrition and their effects on nutrient utilization, growth and laying performance, and gut health: A systematic review. *Animals*, 10(1863): 1-18.
25. Khaksefidi, A. and T. Ghoorchi. 2006. Effects of probiotic on performance and immunocompetence in broiler chicks. *Poultry Science*, 43: 296-300.
26. Khani, M.M., S.M. Hosseini and H. Farhangfar. 2008. Effect of supplemented *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei* diet or water on broilers performance. Pages 740-744 in 1st Mediterranean Summit of WPSA, Thessaloniki.
27. Kumar, A. and D. Kumar. 2015. Characterization of *Lactobacillus* isolated from dairy samples for probiotic properties. *Anaerobes*, 33: 117 -123.
28. Liu, J.R., B. Yu, F.H. Liu, K.J. Cheng and X. Zhao. 2005. Expression of rumen microbial fibrolytic enzyme genes in probiotic *Lactobacillus reuteri*, *Applied Environmental Microbiology*, 71: 6769-6775.
29. Melegy, T., N.F. Khaled, R. El-Bana and H. Abdellatif. 2011. Effect of dietary supplementation of *bacillus subtilis* PB6 (CLOSTAT) on performance, immunity, gut health and carcass traits in broilers. *Journal of American Science*, 7(12): 891-898.
30. Moghaddam, A.R., K. Torshizi and M.A. Rahimi. 2010. Effect of hatchery probiotic administration methods on performance, and immune response in broiler chickens. *Journal of Veterinary Research*, 65(2): 91-96 (In Persian).
31. Mu, Q., V.J. Tavella and X.M. Luo. 2018. Role of *Lactobacillus reuteri* in Human Health and Diseases. *Frontiers in Microbiology*, 9: 757.
32. Musa, H.H., S.L. Wu and C.H. Zhu. 2009. The potential benefits of probiotics in animal production and health. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 8: 313-321.

33. Nazifi, S. 1997. Poultry Hematology and Clinical Biochemistry. 1ed. Shiraz University Press, 173- 209 pp.
34. Olnood, C.G., S.S.M. Beski, M. Choct and P.A. Iji. 2015. Novel probiotics: their effects on growth performance, gut development, microbial community and activity of broiler chickens. *Animal Nutrition*, 1: 184-191.
35. Penha Filho, R.A.C., SJA. Díaz, F.S. Fernando, Y.F. Chang and R.L. Andreatti Filho. 2015. Berchieri Junior A. Immunomodulatory activity and control of Salmonella Enteritidis colonization in the intestinal tract of chickens by Lactobacillus based probiotic. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 167: 64-69.
36. Rahimi, S.H. and A. Khaksefidi. 2006. A comparison between the effects of a probiotic (Bioplus B) and an antibiotic (virginiamycin) on the performance of broiler chickens under heat stress condition. *Iranian Journal of Veterinary Research*, 7: 23-28 (In Persian).
37. Rahman, A.U., S. Khan, D. Khan, N. Chand, M. Hussain, S. Ahmad, S.M. Sohail, M. Ali, N. Ahmad, I. Ahmed, I.U. Haq and I. Ahmad. 2009. Probiotics as immune enhancer in broilers. *Sarhad Journal of Agriculture*. Vol. 25, No. 3.
38. Rajput, I.R., L.Y. Li, X. Xin, B.B. Wu, Z.L. Juan, Z.W. Cui, D.Y. Yu and W.F. Li. 2013. Effect of *Saccharomyces boulardii* and *Bacillus subtilis* B10 on intestinal ultrastructure modulation and mucosal immunity development mechanism in broiler chickens. *Poultry Science*, 92: 956-965.
39. Rook, G.A. 2010. Pages 70-79 and 160 in 99th Dahlem conference on infection, inflammation and chronic inflammatory disorders: Darwinian medicine and the "hygiene" or "old friends" hypothesis, *Clinical office of Immunology*.
40. Rowghani, E., M. Arab and A. Akbarian. 2007. Effect of probiotic and other feed additives on performance and immune response of broiler chicks. *Inter J. of Poult Sci*, 6: 261-265.
41. Royan, M., M. Hashemi, R. Seighalani, H. Alaie Kordghashlaghi. 2019. The probiotic and antagonistic properties of isolated Lactobacilli from the intestine of free-range chickens from southwest and northwest of Iran. *Journal of Food Hygiene*, 9(35): 25-39 (In Persian).
42. Sahin, T., I. Kaya, Y. Unal and D.A. Emali. 2008. Dietary supplementation of probiotic and prebiotic combination (combiotics) on performance, carcass quality and blood parameters in growing quail. *Journal of Animal Veterinary*, 7: 1370-1373.
43. Salim, H.M., H.K. Kang, N. Akter, D.W. Kim, J.H. Kim, M.J. Kim, J.C. Na, H.B. Jong, H.C. Choi, O.S. Suh and W.K. Kim. 2013. Supplementation of direct-fed microbials as an alternative to antibiotic on growth performance, immune response, cecal microbial population, and ileal morphology of broiler chickens. *Poultry Science*, 92: 2084-2090.
44. Salzman, N.H., K. Hung, C.L. Haribhai, C.B. Williams and N.A. Bos. 2010. Enteric defensins are essential regulators of intestinal microbial ecology. *National Immunology*, 11: 76-83.
45. 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 Sciences of Food and Agriculture*, 94: 341-348.
46. 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(5): e0175959.
47. Talarico, T.L., I.A. Casas, T.C. Chung and W.J. Dobrogosz. 1988. Production and isolation of reuterin, a growth inhibitor produced by *Lactobacillus reuteri*. *Antimicrobial Agents Chemotherm*, 32: 1854-1858.
48. Taranto, M.P., J.L. Vera, J. Hugenholtz, G.F. De Valdez and F. Sesma. 2003. *Lactobacillus reuteri* CRL1098 produces Cobalamin. *Journal of Bacteriology*, September: 5643-5647.
49. Untoo, M., M.T. Banday, I. Afzal, S. Adil, I.A. Baba and A. Khurshid. 2018. Review: Potential of probiotics in poultry production. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 6(3): 1293-1300.
50. 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.
51. 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*, 35: 183-189.
52. Yazhini, P., P. Visha, P. Selvaraj, P. Vasanthakumar and V. Chandran. 2018. Dietary encapsulated probiotic effect on broiler serum biochemical parameters. *Veterinary world*. 11(9): 1344-1348.
53. Yu, B., J.R. Liu, F.S. Hsiao, T.T. Lee and P.W.S. Chiou. 2008. The probiotic and adherence properties of *Lactobacillus reuteri* Pg4 expressing the rumen microbial β -Glucanase. *Asian-Australian Journal of Animal Sciences*, 9: 1324-1329.
54. Yu, B., J.R. Liu, M.Y. Chiou, Y.R. Hsu and P.W.S. Chiou. 2007. The effects of probiotic *Lactobacillus reuteri* Pg4 strain on intestinal characteristics and performance in broilers. *Asian-Australian Journal of Animal Sciences*, 8: 1243-1251.
55. Wang, S., Q. Peng, H.M. Jia, X.F. Zeng, J.L. Zhu, C.L. Hou, X.T. Liu, F.J. Yang and S.Y. Qiao. 2017. Prevention of *Escherichia coli* infection in broiler chickens with *Lactobacillus plantarum* B1. *Poultry science*, 96: 2576-2586.

The Effect of *Lactobacillus Reuteri* Isolated from Gastrointestinal Tract of Iranian Native Poultry on Growth Performance, Carcass Characteristics, Blood Parameters and Immune Response of Broiler Chickens

Robab Ahmadi¹, Majid Mottaghitlab², Maryam Royan³ and Ramin Seighalani⁴

1- Master's student, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Guilan, Rasht, Iran

2- Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Guilan, Rasht, Iran,
(Corresponding author: mmotaghi@guilan.ac.ir)

3- Assistant Professor, Northern Region, Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran (ABRII), Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Rasht, Iran

4- Expert, Northern Region, Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran (ABRII), Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Rasht, Iran

Received: 28 May, 2022 Accepted: 15 October, 2022

Extended Abstract

Introduction and Objective: In the recent years, many countries have banned or restricted the usage of antibiotics as growth-promoting, due to their undesirable effects on human and animal health. Using probiotics as an alternative to growth-promoting antibiotics play an important role in improving performance, health and increasing the quality of poultry products. *Lactobacilli* are the most popular probiotic bacteria that have beneficial effects on host's performance and health. In this study, the effect of two native strains of *Lactobacillus reuteri* isolated from the gastrointestinal tract of native chickens in north-western and south-western of Iran were investigated on performance, carcass characteristics, blood parameters and immune response of broilers.

Material and Methods: In this experiment, 300 Arbor-Acres[®] Plus⁺ male broiler chickens were divided in to 5 treatments, 4 replications (15 chickens per replication), in a completely randomized design. The experimental treatments include: 1- Basic diet as a control treatment, 2- Basic diet + Avilamycin antibiotic, 3- Basic diet + commercial probiotic (*Bio-Poul*[®]), 4- Basic diet + *Lactobacillus reuteri* isolate MG547731 (Plr₂), and 5- Basic diet + *Lactobacillus reuteri* isolate MG547727 (Plr₃).

Results: Under the condition of this experiment, commercial probiotics, antibiotic and either *Lactobacillus reuteri* (Plr₂) isolates, significantly improved daily weight gain in final period (p<0.05). Native isolates probiotics and commercial probiotics significantly (p<0.05) reduced the relative weight of gizzard and proventriculus, though no significant (p<0.05) differences were recorded for other carcass components in broiler chickens. After the first injection of SRBC, treatments include antibiotic and *Lactobacillus reuteri* (Plr₂) isolate caused a significant increase of IgM, and after the second injection, *Lactobacillus reuteri* (Plr₂) and commercial probiotic treatments, showed a significant (p<0.05) increase in immunoglobulin G and Total immunoglobulin. The antibody titer against Newcastle vaccine did not show a significant difference between treatments and the control group. There was no significant difference between serum glucose, cholesterol, triglyceride, VLDL and LDL between treatments and the control group. No significant difference was obtained in serum HDL level in probiotic treatments, while antibiotic treatment appeared with a significant decrease in HDL.

Conclusion: Addition of native *Lactobacillus reuteri* isolates to poultry diets can have beneficial effects similar to commercial probiotics, on performance, immune response and blood parameters of broilers.

Keywords: Antibiotic, Blood parameters, Broiler chicken, Immune response, *Lactobacillus*