



## "مقاله پژوهشی"

# اثر مقادیر مختلف یک مکمل ترکیبی شامل پروبیوتیک، پری بیوتیک و آنزیم بر عملکرد تولیدی، متابولیت‌های خونی، پروفایل هورمونی و وضعیت آنتی‌اکسیدانی در مرغ‌های تخم‌گذار

مهدی خدایی مطلق<sup>۱</sup>، حسینعلی قاسمی<sup>۲</sup> و ابوالفضل صالحی‌زاده<sup>۳</sup>

۱- دانشیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه اراک، ایران، (نویسنده مسؤل: m-motlagh@araku.ac.ir)

۲- دانشیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه اراک، ایران

۳- دانشجوی دکتری گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه رازی، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۳/۲۰ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۸/۲۸

صفحه: ۱۲۸ تا ۱۳۷

### چکیده مبسوط

**مقدمه و هدف:** با توجه به این که آنزیم‌ها با افزایش در دسترس بودن مواد معدنی و قابلیت هضم پروتئین و اسیدهای آمینه، موجب بهبود قابلیت هضم جیره‌های غذایی می‌شوند، استفاده از آن‌ها به عنوان یک روش کارآمد برای افزایش سودآوری در صنعت طیور شناخته شده است. علاوه بر این، برخی از آنزیم‌ها قادر به هیدرولیز کردن کربوهیدرات‌های غیر نشاسته‌ای هستند که منجر به افزایش استفاده از انرژی خوراک و همچنین تأمین فسفر بیشتر با تجزیه اسید فائیتیک می‌شوند. هدف از این مطالعه بررسی اثرات مکمل ترکیبی شامل پروبیوتیک، پری بیوتیک و آنزیم (شامل پروتاز، فیٹاز، لیپاز و انواع کربوهیدرازها) بر عملکرد تولیدی، متابولیت‌های خونی، پروفایل هورمونی و وضعیت آنتی‌اکسیدانی در مرغ تخم‌گذار بود.

**مواد و روش‌ها:** آزمایش با استفاده از ۱۲۰ قطعه مرغ تخم‌گذار (سن ۵۲ هفتگی) در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تیمار، ۸ تکرار و ۵ قطعه مرغ در هر تکرار به مدت ۸ هفته انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل تیمار شاهد (بدون افزودنی) و تیمارهای حاوی مکمل آنزیمی در سطوح ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم مکمل ترکیبی در کیلوگرم خوراک بودند. تولید تخم‌مرغ، وزن تخم‌مرغ و مصرف خوراک روزانه ثبت شد. صفات کیفی تخم‌مرغ و فراسنجه‌های بیوشیمی خون در پایان آزمایش بررسی شد.

**یافته‌ها:** یافته‌های پژوهش نشان داد که تیمار دریافت کننده سطح ۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم مکمل ترکیبی، درصد تولید بیشتر، وزن توده تخم‌مرغ بالاتر و ضریب تبدیل غذایی پایین‌تری در مقایسه با تیمار فاقد مکمل (شاهد) داشت. درصد تخم‌مرغ‌های غیرطبیعی در همه تیمارهای دریافت کننده مکمل ترکیبی در مقایسه با تیمار شاهد کمتر بود ( $p < 0.05$ ). افزودن مکمل ترکیبی به جیره غذایی به طور خطی موجب افزایش مقادیر کلسترول، آلبومین، هورمون تری‌پروتیرونین، ظرفیت کل آنتی‌اکسیدانی و فعالیت سوپر اکسید دیسموتاز خون شد ( $p < 0.05$ ). در مقابل، غلظت‌های گلوکز، فسفر، اسید اوریک، آلکالین فسفاتاز، هورمون‌های TSH و T4، مالون‌دی‌الدهید و نیتریک اکسید، مشابه فعالیت آنزیم‌های گلوکاتایون پراکسیداز و کاتالاز خون تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت ( $p > 0.05$ ).

**نتیجه‌گیری:** استفاده از مکمل ترکیبی در جیره غذایی مرغ‌های تخم‌گذار، به ویژه در سطح ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، در مرحله دوم چرخه تخم‌گذاری تأثیر مثبتی بر عملکرد تولید و وضعیت سلامت دارد که ممکن است به افزایش وضعیت آنتی‌اکسیدانی و کاهش سطح تنش مرتبط باشد.

**واژه‌های کلیدی:** پاسخ فیزیولوژیکی، عملکرد، مرغ تخم‌گذار، مکمل ترکیبی، وضعیت سلامتی

### مقدمه

یکی از مهم‌ترین عوامل مؤثر بر عملکرد طیور، فلور میکروبی دستگاه گوارش آنها است که می‌تواند نقش مهمی بر فرآیندهای ایمنی، تغذیه‌ای، فیزیولوژیکی و در نتیجه عملکرد داشته باشد. پرندگان تا حدودی دارای مقاومت طبیعی در برابر تشکیل کلنی و یا آلودگی ناشی از میکروارگانیسم‌های بالقوه بیماری‌زا هستند. افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی در باکتری‌ها و احتمال وجود بقایای آنتی‌بیوتیکی در فرآورده‌های طیور موجب تلاش محققین برای یافتن راه‌های دیگری غیر از استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها در جیره طیور شده است. در مقابل، حذف مصرف آنتی‌بیوتیک در جیره طیور موجب کاهش عملکرد تولیدی و در مقابل افزایش تلفات در گله می‌گردد (۳). جوجه‌های گوشتی و مرغ‌های تخم‌گذار از ژنوتیپ‌های مختلفی برخوردار بوده و طول عمر تولیدی آنها از نظر تجاری متفاوت است و در شرایط مختلف با نیازهای خوراکی متفاوتی پرورش می‌یابند. بنابراین، ترکیب میکروبیوتای روده در این دو نژاد متفاوت هستند (۳۱). جمعیت میکروبی روده‌ی مرغ‌های تخم‌گذار تحت تاثیر عوامل متعددی مانند سن گله، سیستم تولیدی، بیماری، جیره خوراکی و آنتی‌بیوتیک‌ها قرار دارد

(۱۵). در میان افزودنی‌های گیاهی جایگزین آنتی‌بیوتیک‌ها در جیره طیور می‌توان پروبیوتیک‌ها، پری بیوتیک‌ها، اسیدهای آلی و حتی آنزیم‌ها نام برد. پروبیوتیک‌ها میکروب‌های غیربیماری‌زا هستند که در طبیعت و دستگاه گوارش طیور به طور طبیعی یافت می‌شوند و تأثیر مثبت بر فیزیولوژی میزبان دارند (۸). پروبیوتیک‌ها سنتز مواد مغذی و دسترسی زیستی آنها را بهتر می‌کنند و در نتیجه عملکرد رشد حیوانات مزرعه‌ای را افزایش می‌دهند (۲۹). استفاده از پروبیوتیک‌ها در جیره مرغ‌های تخم‌گذار باعث بهبود کیفیت تخم‌مرغ، افزایش نرخ تخم‌گذاری و همچنین کاهش هزینه‌های خوراک می‌شود (۳۰). مهدوی و همکاران (۱۹) پس از تغذیه پروبیوتیک به مرغ‌های تخم‌گذار هیچ تغییری در مصرف خوراک، تولید تخم‌مرغ و وزن تخم‌مرغ‌ها گزارش نکردند.

پری بیوتیک‌ها ترکیبات عمدتاً گیاهی غیرقابل هضمی هستند که مواد مغذی مورد نیاز تعداد محدودی از باکتری‌های دستگاه گوارش را فراهم می‌کنند. بیشتر پری بیوتیک‌ها دارای ترکیب کربوهیدراتی (الیگو و پلی ساکاریدها) هستند؛ از طرفی بسیاری از باکتری‌های مفید موجود در روده می‌توانند از این کربوهیدرات‌ها به عنوان منبع انرژی استفاده کنند (۴۶).

می‌باشد. برای بررسی تاثیر این مکمل بر عملکرد تولیدی و فراسنجه‌های فیزیولوژیکی مرغ‌های تخم‌گذار، مرغ‌ها به سه گروه مختلف به شرح ذیل تقسیم شدند: گروه اول: شاهد (بدون افزودنی)، تیمار یک: ۲۵۰ میلی‌گرم مکمل ترکیبی در کیلوگرم خوراک و تیمار دو: ۵۰۰ میلی‌گرم مکمل ترکیبی در کیلوگرم خوراک. آزمایش با استفاده از ۱۲۰ قطعه مرغ تخم‌گذار سویه بونز سفید در فاز دوم تخم‌گذاری (سن ۵۲ تا ۶۰ هفتگی) در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تیمار، ۸ تکرار و ۵ قطعه مرغ در هر تکرار به مدت ۸ هفته انجام شد. آبخوری به صورت ناودانی و مصرف آب به صورت آزاد بود. خوراک به میزان ۱۱۵ گرم به ازای هر قطعه مرغ به طور روزانه در اختیار مرغ‌ها قرار داده شد و در پایان هر هفته باقی‌مانده خوراک جمع‌آوری و توزین شد. دمای سالن در دامنه ۲۱-۱۸ درجه سانتی‌گراد، تنظیم گردید. روشنایی سالن با کمک لامپ‌های ۶۰ واتی تنگستن به صورت ۱۶ ساعت نور و ۸ ساعت تاریکی تامین شد. به مدت ۱۵ روز قبل از شروع آزمایش از همه قفس‌ها رکوردبرداری انجام شد و سپس تعداد ۱۲۰ قطعه مرغ تخم‌گذار از بین ۲۰۰۰ قطعه مرغ موجود در سالن بر اساس وزن و تولید یکسان انتخاب شدند. این مرغ‌ها به شیوه‌ای بین قفس‌ها پخش شدند که تقریباً میانگین وزنی و تولیدی آنها توزیع یکنواخت داشت.

#### پارامترهای عملکردی و تولیدی

صفات تولیدی مورد بررسی در این آزمایش عبارت بودند از: میزان خوراک مصرفی، ضریب تبدیل غذایی، درصد تولید تخم مرغ، توده تخم مرغ، میانگین وزن تخم‌مرغ و درصد تخم مرغ‌های غیر طبیعی. مقدار خوراک مصرفی هر واحد آزمایشی، هر هفته یک بار از کسر مقدار خوراک باقی‌مانده از مقدار دان داده شده به دست آمد. درصد تولید برحسب روز مرغ محاسبه شد. با ضرب کردن درصد تولید در میانگین وزن تخم مرغ، تولید توده‌ای تخم‌مرغ به دست آمد. ضریب تبدیل خوراک از طریق تقسیم مقدار خوراک مصرفی به تولید توده‌ای تخم مرغ محاسبه شد. روزانه تعداد تخم مرغ بدون پوسته و شکسته ثبت گردید و سپس درصد تخم‌مرغ‌های غیر طبیعی از تقسیم تعداد تخم‌مرغ‌های بدون پوسته و شکسته بر تعداد کل تخم‌مرغ‌ها محاسبه شد.

#### پارامترهای کیفی تخم‌مرغ

در پایان دوره تخم‌مرغ‌ها به مدت سه روز جمع‌آوری شدند و از هر واحد آزمایشی ۲ عدد تخم مرغ به صورت تصادفی انتخاب شده و تحت آزمایشات کیفی قرار گرفتند. صفات کیفی مورد بررسی در این آزمایش عبارت بودند از: شاخص شکل تخم مرغ، شاخص رنگ زرده، وزن و ضخامت پوسته تخم‌مرغ و وزن مخصوص تخم‌مرغ.

مطالعات زیادی در مورد تاثیر افزودنی‌های پری‌بیوتیکی بر عملکرد تولیدی پرندگان انجام شده است. در آزمایشی استفاده از پری‌بیوتیک اینولین و فروکتوالیگوساکارید در جیره مرغ‌های تخم‌گذار باعث افزایش وزن و تولید تخم‌مرغ و بهبود ضریب تبدیل خوراکی شد، ولی تاثیر قابل توجهی بر صفات کیفی تخم مرغ نداشت (۸). در آزمایش دیگری که از آب پنیر به عنوان پری‌بیوتیک در جیره خوراکی مرغ‌ها استفاده شد، افزایش تولید تخم مرغ، وزن و بهبود ضریب تبدیل خوراکی گزارش گردید (۲). آنزیم‌های خارجی به منظور افزایش دسترسی مواد مغذی به جیره غذایی طیور اضافه شده و باعث بهبود بهره‌وری خوراک و کاهش هزینه دان می‌شوند. به طور کلی می‌توان گفت که آنزیم‌های مورد استفاده در جیره باعث کاهش ویسکوزیته، افزایش قابلیت هضم، افزایش ارزش مواد مغذی، افزایش مصرف خوراک، کاهش اندازه دستگاه گوارش، کاهش مصرف آب و همچنین کاهش دفع نیترژن و فسفر و آلودگی محیط زیست می‌شوند (۴۲). در یک مطالعه اخیر در مرغ‌های تخم‌گذار (۱)، استفاده از مکمل مولتی‌آنزیم حاوی کربوهیدرات‌های مختلف، موجب افزایش میزان تولید و وزن توده تخم‌مرغ و در نتیجه بهبود ضریب تبدیل غذایی شد.

امروزه پس از سال‌ها تحقیق و بررسی، جهت بهبود عملکرد دام و طیور ترکیبات جدیدی از مکمل‌های تجاری تولید شده است که حاوی مخلوطی از ترکیبات مفید نظیر پروبیوتیک‌ها، پری‌بیوتیک‌ها و آنزیم‌ها هستند. مطالعات در مورد تاثیر این نوع مکمل‌های ترکیبی (که شامل طیف گسترده‌ای از پروبیوتیک، پری‌بیوتیک و آنزیم‌های مختلف تجاری هستند) بر عملکرد تولیدی و فراسنجه‌های فیزیولوژیکی در مرغ‌های تخم‌گذار در طول دوره تولید محدود است. بنابراین هدف از آزمایش حاضر بررسی اثر یک مکمل ترکیبی شامل پروبیوتیک، پری‌بیوتیک و آنزیم بر عملکرد و برخی فراسنجه‌های خونی، وضعیت آنتی‌اکسیدانی و پروفایل هورمونی در مرغ تخم‌گذار بود.

#### مواد و روش‌ها

این آزمایش با همکاری گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه اراک و شرکت فرداد کیان فرتاک انجام شد. مکمل ترکیبی با نام تجاری رایابولد از سه بخش تشکیل شده است: (۱) پروبیوتیک، شامل باکتری‌های لاکتوباسیلوس پلانترام، لاکتوکوکوس لاکتیس، باسیلوس سوبتیلیس و باسیلوس لکینوفرمیس است. (۲) بخش پری‌بیوتیک که شامل پری‌بیوتیک‌های غیرقابل هضم مانند اینولین و مانان‌الیگوساکارید و پری‌بیوتیک‌های قابل هضم مثل فروکتوالیگوساکارید است. (۳) بخش آنزیمی شامل آمیلاز، پروتئیناز، فیتاز، لیپاز، سلولاز، گلوکوناز، زایلاناز و پکتیناز

جدول ۱- اجزا و ترکیب مواد مغذی جیره پایه برای مرغ‌های تخم‌گذار (۵۲ تا ۶۰ هفتگی)

Table 1. Ingredients and nutrient composition of basal diet for laying hens (weeks 52 to 60)

اجزای جیره (گرم / کیلوگرم)	
۵۷۸/۸	ذرت
۲۸۹/۳	کنجاله سویا
۱۴/۰	روغن سویا
۱۲/۸	دی کلسیم فسفات
۹۵/۲	پودر صدف
۱/۷	نمک
۱/۱	بیکربنات سدیم
۵/۰	مکمل ویتامینی و معدنی <sup>۱</sup>
۱/۳	دی ال - متیونین
۰/۵	ال - لایزین
۰/۳	ال - ترئونین
	ترکیبات (محاسبه شده)
۲۷۰۰	انرژی قابل متابولیسم (kcal/kg)
۱۷۶/۰	پروتئین خام (g/kg)
۴۰/۰	کلسیم (g/kg)
۳/۴	فسفر قابل دسترس (g/kg)
۷/۵	لیزین قابل هضم (g/kg)
۶/۳	متیونین + سیستین قابل هضم (g/kg)
۵/۶	ترئونین قابل هضم (g/kg)
۱/۶	سدیم (g/kg)
۲۵۰	تعادل الکترولیتی (mEq/kg)

۱- در هر کیلوگرم شامل ۸/۸۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین A، ۲۵۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین D<sub>3</sub>، ۶/۶ میلی‌گرم ویتامین E، ۲/۵ میلی‌گرم ویتامین K<sub>3</sub>، ۱/۵ میلی‌گرم ویتامین B<sub>1</sub>، ۴/۴ میلی‌گرم ویتامین B<sub>2</sub>، ۲۰ میلی‌گرم ویتامین B<sub>3</sub>، ۸ میلی‌گرم ویتامین B<sub>5</sub>، ۲/۵ میلی‌گرم ویتامین B<sub>6</sub>، ۱/۱ میلی‌گرم ویتامین B<sub>9</sub>، ۰/۸ میلی‌گرم ویتامین B<sub>12</sub>، ۰/۱۵ میلی‌گرم بیوتین، ۴۰۰ میلی‌گرم کولین کلراید، ۶۰ میلی‌گرم منگنز، ۳۰ میلی‌گرم آهن، ۶۶ میلی‌گرم روی، ۶ میلی‌گرم مس، ۰/۸ میلی‌گرم ید و ۰/۲ میلی‌گرم سلنیوم بود.  
 ۲- تعادل الکترولیتی جیره بر حسب میلی‌اکی‌والان در کیلوگرم جیره (DEB) = (Na<sup>+</sup>, mEq/kg + K<sup>+</sup>, mEq/kg) - CL<sup>-</sup>, mEq/kg (DEB)

شدند. فعالیت آنزیم‌های گلوکاتایون پراکسیداز، سوپر اکسید دیسموتاز و کاتالاز توسط روش کالری متری (آنزیمی) تعیین شد (۴). با استفاده از یک دستگاه الیزا ریدر ( Tecan Co., Grodingen, Austria)، محتوای ظرفیت کل آنتی‌اکسیدانی مالون‌دی‌آلدئید (MI, USA) در سرم خون و همچنین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گلوکاتایون پراکسیداز، سوپر اکسید دیسموتاز و کاتالاز (Cayman Chemical Co., Ann Arbor, MI, USA) در خون کامل اندازه‌گیری شد. نیتریک اکسید سرم (NO) با روش توصیف شده توسط شریفی و همکاران (۲۰۱۶) اندازه‌گیری شد (۳۹). غلظت سرمی کورتیزول، تری‌یدوتیرونین (T<sub>3</sub>) و تیروکسین (T<sub>4</sub>) با استفاده از روش RIA با کیت‌های تجاری (کیت‌های پارس آزمون، شرکت پارس آزمون، تهران، ایران) و دستگاه گاما کانترا اتوماتیک (BioSource International, Camarillo, CA, CA) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

#### تجزیه و تحلیل داده‌ها

داده‌های حاصل از این آزمایش با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS و رویه GLM تجزیه و تحلیل شد. به منظور مقایسه میانگین از آزمون چند دامنه‌ای دانکن و در سطح ۵ درصد انجام پذیرفت.

#### نتایج و بحث

##### عملکرد تولیدی و کیفیت تخم‌مرغ

نتایج مربوط به عملکرد تولیدی و پارامترهای کیفی تخم‌مرغ در جدول ۲ نشان داده شده است. درصد تولید، وزن توده‌ای تخم‌مرغ و ضریب تبدیل غذایی به‌طور خطی تحت

شاخص شکل توسط دستگاه کولیس و از تقسیم عرض تخم‌مرغ بر طول آن به دست آمد که به صورت درصد بیان گردید. شاخص رنگ زرده با استفاده از شاخص سنجش رنگ که دارای ۱۵ طیف رنگ استاندارد (از رنگ زرد روشن تا قرمز نارنجی) است، اندازه‌گیری شد. جهت تعیین وزن پوسته، پوسته‌ها را به مدت ۴۸ ساعت در هوای آزاد کاملاً خشک کرده، سپس میانگین وزن پوسته‌های خشک شده برای هر واحد آزمایشی تعیین شد. برای تعیین ضخامت پوسته تخم‌مرغ، ضخامت پوسته از سه مقطع سر، ته و وسط تخم‌مرغ به وسیله دستگاه کولیس مخصوص با دقت ۰/۰۰۱ میلی‌متر اندازه‌گیری و میانگین ضخامت این چند ناحیه به عنوان ضخامت پوسته تخم‌مرغ تعیین شد.

##### پارامترهای خونی اندازه‌گیری شده

پس از گذشت ۸ هفته از شروع آزمایش خون‌گیری از سیاهرگ بال انجام گرفت. خون‌گیری در پایان آزمایش چهار ساعت پس از مصرف وعده خوراک صبح، از پرنده‌ها توسط سرنگ انجام شد. به منظور جداسازی سرم، نمونه‌ها در ۲۵۰۰ دور به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند. نمونه‌های سرم در ویال‌های ۱/۵ میلی‌لیتری ریخته و تا روز انتقال به آزمایشگاه در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. آنالیز نمونه‌های سرم برای گلوکز، کلسترول، تری‌گلیسرید، پروتئین، آلبومین، اسید اوریک، اسپاراتات آمینو ترانسفراز<sup>۱</sup>، آلانین آمینوترانسفراز<sup>۲</sup> و آلکالین فسفاتاز انجام شد. غلظت این متابولیت‌ها و آنزیم‌های خونی با استفاده از دستگاه اندازه‌گیری کننده بیوشیمیایی اتوماتیک (Technicon Ra 1000) و کیت‌های تجاری (کیت‌های پارس آزمون، شرکت پارس آزمون، تهران، ایران) بر اساس روش پیشنهادی اندازه‌گیری

1- Yolk colour fan

2- Aspartate aminotransferase

3- Alanin aminotransferase

ولی برخی دیگر از محققین، زمانی که از مکملی حاوی ساکارومایسیس سرویزیه، باسیلوس سوبتیلیس و باسیلوس لیشنی فورمیس و پری‌بیوتیک مانان‌الیگوساکارید استفاده نمودند، تفاوت آماری معنی‌داری در وزن تخم‌مرغ مشاهده نکردند (۲۱).

علت احتمالی این اختلاف در بین نتایج این مطالعات، ممکن است تفاوت در سن مرغ‌ها و میزان تراکم باکتری در ماده افزودنی باشد. افزایش وزن تخم‌مرغ ناشی از استفاده از افزودنی در جیره غذایی ممکن است ناشی از اثرات غالب شدن آنها بر باکتری‌های مضر دستگاه گوارش و یا اثرات تحریکی بر باکتری‌های مفید که ظرفیت جذب را افزایش می‌دهند، باشد (۸). طبق گزارش‌ها استفاده از فروکتوآلیگوساکاریدها در جیره غذایی جوجه‌های گوشتی باعث بهبود فعالیت پروتئاز و آمیلاز در محتویات روده باریک می‌شوند که با هضم و جذب بهتر مواد غذایی همراه است (۴۴). افزایش تعداد میکروارگانیسم‌های مفید در روده با استفاده از پری‌بیوتیک فروکتوآلیگوساکارید، فراهمی مواد مغذی برای جذب را زیاد کرده و باعث شده که عملکرد بهتری را به همراه آورند (۴۶).

تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت (به ترتیب  $p=0/009$ ،  $p=0/005$  و  $p=0/011$ )، به گونه‌ای که بالاترین درصد تولید و وزن توده‌ای تخم‌مرغ و کمترین ضریب تبدیل غذایی در تیمار ۵۰۰ پی‌پی‌ام مکمل مشاهده شد. همچنین درصد تخم‌مرغ‌های غیر طبیعی هم به صورت خطی و هم درجه دوم تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت ( $p=0/035$ ) و افزودن مکمل ترکیبی در هر دو سطح، سبب کاهش درصد تخم‌مرغ‌های غیر طبیعی شد. در بین شاخص‌های کیفی تخم‌مرغ، افزایش خطی ضخامت پوسته تخم‌مرغ ( $p=0/045$ ) و تمایل به افزایش خطی وزن تخم‌مرغ ( $p=0/091$ ) با افزایش سطح مکمل به ترکیب جیره غذایی مشاهده شد.

در این آزمایش، درصد تولید و وزن توده‌ای تخم‌مرغ و درصد تخم‌مرغ‌های غیر طبیعی تحت تأثیر استفاده از مکمل ترکیبی قرار گرفت (جدول ۲). نتایج مشابهی برای وزن تخم‌مرغ زمانی که در جیره غذایی مرغ‌های تخم‌گذار که از ساکارومایسیس سرویزیه استفاده شده بود، گزارش شده است (۴۵). در مطالعه‌ی مشابه که در مرغ‌های تخم‌گذار انجام شد، افزودن لاکتوباسیلوس/اسیدیفیلوس به جیره غذایی با افزایش درصد تولید و کاهش ضریب تبدیل غذایی همراه بود (۱۰).

جدول ۲- اثرات مکمل ترکیبی شامل پروبیوتیک، پری‌بیوتیک و آنزیم بر عملکرد تولیدی و صفات کیفی تخم‌مرغ در مرغ‌های تخمگذار  
Table 2. Effect of a blended supplement including probiotics, prebiotics and enzymes on productive performance and egg quality traits in laying hens

p-value	SEM	مکمل ترکیبی (میلی‌گرم در کیلوگرم)			فراسنجه‌ها
		۵۰۰	۲۵۰	۰ (شاهد)	
درجه ۲	خطی				تولید تخم مرغ (%)
۰/۵۶۱	۰/۰۰۹	۱/۱۶۷	۸۵/۳۳ <sup>a</sup>	۸۳/۹۸ <sup>ab</sup>	۸۱/۳۸ <sup>b</sup>
۰/۸۷۰	۰/۱۶۴	۰/۳۴۶	۶۲/۱۶	۶۱/۸۴	۶۱/۱۱
۰/۴۳۲	۰/۰۰۵	۰/۷۸۶	۵۳/۰۳ <sup>a</sup>	۵۱/۹۳ <sup>b</sup>	۴۹/۷۳ <sup>c</sup>
۰/۶۷۵	۰/۴۲۲	۰/۵۱۴	۱۰۸/۷	۱۰۹/۱	۱۰۸/۴
۰/۷۵۵	۰/۰۱۱	۰/۰۴۸	۲/۰۵ <sup>b</sup>	۲/۱۱ <sup>ab</sup>	۲/۱۸ <sup>a</sup>
۰/۰۳۲	۰/۰۳۵	۰/۸۰۹	۶/۰۳ <sup>b</sup>	۵/۵۷ <sup>b</sup>	۷/۷۸ <sup>a</sup>
۰/۲۰۴	۰/۰۴۵	۰/۴۵۲	۳۳/۰ <sup>a</sup>	۳۲/۶ <sup>ab</sup>	۳۱/۵ <sup>b</sup>
۰/۳۴۵	۰/۰۹۱	۰/۳۰۱	۹/۸۸	۹/۵۳	۹/۲۰
۰/۸۲۳	۰/۱۹۸	۰/۱۹۲	۷/۴۰	۷/۳۲	۷/۲۲

a-c میانگین‌های دارای حروف نامشابه در هر ردیف دارای تفاوت معنی‌دار با هم هستند ( $p<0/05$ ). SEM: میانگین خطای استاندارد

روده، فرآیند هضم و جذب در مجرای گوارشی را مختل نموده و گوارش‌پذیری مواد مغذی را کاهش دهد (۴۱، ۲۸). گنجاندن آنزیم‌های خوراکی تجزیه‌کننده NSP در جیره، ساختارهای فیبری و کربوهیدرات‌های محلول جیره را تحت تأثیر قرارداده و ویسکوزیته محتویات روده را کاهش می‌دهد؛ این فعل و انفعالات در نهایت از طریق کاهش جمعیت میکروبیوم‌های بیماری‌زای دستگاه گوارش و بهبود ساختار مورفولوژیک در روده باریک بهبود قابلیت هضم مواد مغذی را در پی خواهد داشت (۲۴). به نظر می‌رسد که مواد موجود در مکمل ترکیبی به‌خصوص پروبیوتیک‌ها می‌توانند به طور موثری از طریق اتصال با گیرنده‌های دیواره روده و پدیده حذف رقابتی جلوی استقرار عوامل بیماری‌زا در دستگاه گوارش را گرفته و از بروز آلودگی جلوگیری می‌کنند. همچنین این مکمل حاوی آنزیم‌های آمیلاز، پروتئیناز، فیتاز، لیپاز، سلولاز، گلوکوناز، زایلاناز و پکتیناز می‌باشد که می‌توانند در کنار سلامت ایجاد شده در دستگاه گوارش به واسطه وجود پروبیوتیک‌ها و پریوتیک‌ها، بهبود هضم و جذب مواد مغذی را فراهم آورند.

باکتری‌های مفید دستگاه گوارش خصوصاً باکتری‌های تولیدکننده اسید لاکتیک با تولید اسیدهای آلی، pH دستگاه گوارش را کاهش می‌دهند و محیط را برای سالمونلاها و کلی‌باسیل‌هایی نامناسب می‌کنند که pH مطلوب برای فعالیت آنها قلیایی است و در نتیجه امکان تکثیر و ابقا آنها در دستگاه گوارش را کاهش می‌دهند (۲۷). بهبود شرایط برای میکروارگانیسم‌های مفید روده، افزایش بازدهی هضم و جذب مواد غذایی را به دنبال دارد که در نهایت می‌تواند به صورت افزایش وزن تخم‌مرغ مشخص گردد (۳۲). با توجه به اینکه بخشی از مکمل ترکیبی شامل مولتی آنزیم حاوی آنزیم‌های تجزیه‌کننده پلی‌ساکاریدهای غیر نشاسته‌ای (NSP) بود، بنابراین به نظر می‌رسد بخشی از اثرات مفید مکمل ترکیبی در این مطالعه ناشی از حضور این آنزیم‌ها باشد. یافته‌های چندین مطالعه دیگر (۲۲، ۹، ۷)، اثرات مثبت آنزیم‌های تجزیه‌کننده NSP را نیز در جیره‌های طیور بر عملکرد تولیدی نشان می‌دهد. گزارش‌ها نشان می‌دهند که بخش محلول در آب NSP جیره ممکن است با افزایش ویسکوزیته محتویات

خون با افزایش سطوح مکمل ترکیب در جیره غذایی مشاهده شد.

غلظت سرمی متابولیت‌ها، آنزیم‌ها و هورمون‌ها به وضعیت متابولیسی حیوان اشاره دارند (۷). دو دسته اصلی از پروتئین‌های کل در خون، آلبومین و گلوبولین هستند. آلبومین، فراوان‌ترین پروتئین در گردش خون است. از کارکردهای مهم فیزیولوژیکی آلبومین می‌توان به حفظ فشار اسمزی و pH خون، عمل به عنوان یک ترکیب حد واسط در متابولیسم لیپیدها، ایجاد مقاومت به تنش اکسیداتیو (۳۵) و اتصال به طیف وسیعی از ترکیبات مانند آب، کاتیون‌ها، اسیدهای چرب، هورمون‌ها و داروها (۱۶) اشاره نمود. بنابراین، انتظار می‌رود که بین سطح آلبومین سرم و وضعیت سلامتی رابطه‌ای مستقیم وجود داشته باشد. در این مطالعه، جیره‌ی حاوی ۵۰۰ میلی‌گرم مکمل ترکیبی در کیلوگرم خوراک، به طور معنی‌داری غلظت آلبومین سرم را افزایش داد، که نشان‌دهنده اثرات مثبت احتمالی این مکمل خوراکی در این سطح از جیره بر سلامت مرغ‌های تخم‌گذار است. مشخص شده است که کمپلکس فیتات و کربوهیدرات‌های غیر نشاسته‌ای موجود در جیره، در استفاده از مواد مغذی و کارکرد درست سیستم ایمنی میزبان اختلال ایجاد می‌کند (۱۷، ۱۱).

بنابراین، منطقی است که فرض کنیم افزودن مکمل ترکیبی به علت دارا بودن آنزیم‌های فیتاز و کربوهیدراز، باعث بهبود تجزیه فیتات و کربوهیدرات‌های غیرنشاسته‌ای شده که به نوبه خود موجب بهبود معنی‌دار در وضعیت سلامت مرغ‌های تخم‌گذار از طریق افزایش غلظت آلبومین سرم خون گردید. کلسترول جزء اصلی ساختمان غشاهای سلولی و پیش‌سازی برای هورمون‌های استروئیدی و اسیدهای صفاوی است. کلسترول در سلول‌های بدن سنتز شده و از طریق مواد غذایی نیز جذب بدن می‌شود. کلسترول در پلاسما توسط لیپوپروتئین‌ها که مجموعه‌ای از لیپیدها و آپولیپوپروتئین‌ها هستند حمل می‌شود. اگرچه استفاده از پروبیوتیک‌ها و پری بیوتیک‌ها در تغذیه طیور در اکثر آزمایشات موجب کاهش غلظت کلسترول خون گردید (۲۰)، اما در آزمایش حاضر افزایش در غلظت کلسترول خون در پرند‌های تغذیه شده با ۵۰۰ میلی‌گرم مکمل ترکیبی در کیلوگرم جیره مشاهده شد. این افزایش غلظت کلسترول با افزودن مکمل ترکیبی به خصوص در سطح بالای استفاده در جیره غذایی می‌تواند مرتبط با افزایش جذب چربی‌ها و کلسترول در دستگاه گوارش باشد. ویلنز و همکاران (۴۳) گزارش کردند که جیره‌های غذایی جوجه‌های گوشتی با ترکیبی از آنزیم‌ها (زایلاناز، آمیلاز و پروتاز) در سن ۲۲ تا ۴۲ روزگی، قابلیت هضم چربی و نشاسته را بهبود بخشید. بنابراین به نظر می‌رسد وجود آنزیم‌های کربوهیدراز در این مکمل در بهبود هضم چربی و کلسترول و در نتیجه افزایش غلظت کلسترول سرم خون موثر باشد.

در آزمایش حاضر وزن و ضخامت پوسته تخم‌مرغ تحت تأثیر استفاده از مواد افزودنی در جیره غذایی قرار گرفت که با برخی از مطالعات مطابقت دارد (۳۰، ۷، ۱). به نظر می‌رسد که در گروه‌های دریافت‌کننده‌ی مکمل ترکیبی، میزان جذب ویتامین‌ها و مواد معدنی به ویژه کلسیم و منیزیم افزایش می‌یابد که به نوبه خود باعث افزایش وزن و ضخامت پوسته می‌شود (۳۴). علاوه بر این، ثابت شده است که برخی از گونه‌های میکروبی نظیر *لاکتوباسیلوس/اسپوروتز* باعث جذب بیشتر کلسیم و افزایش غلظت آن در خون می‌شوند که با افزایش ضخامت پوسته تخم‌مرغ همراه است (۳۰). ضخامت مناسب پوسته می‌تواند به عنوان مانعی مکانیکی برای حفظ مواد با ارزش تخم‌مرغ عمل کند (۱۴). کیفیت پایین پوسته تخم‌مرغ یکی از مسائل مهمی می‌باشد که توجه تولیدکنندگان را به خود معطوف کرده است. حدود ۱۰ درصد از تخم‌مرغ‌های تولیدی به خاطر مشکلات پوسته (تخم‌مرغ بدون پوسته، پوسته ترک‌دار و یا پوسته نازک) حذف می‌شوند و به نظر می‌رسد هر عاملی که بتواند باعث بهبود وزن و کیفیت پوسته شود، در جلوگیری از این ضرر و زیان منشا تأثیر باشد (۳۶). با توجه به نتایج آزمایش حاضر به نظر می‌رسد استفاده از افزودنی‌های پروبیوتیکی و آنزیمی، بتواند راهکاری مناسب برای افزایش کیفیت پوسته باشد. از آنجایی که ذخیره کافی مواد معدنی در پوسته، یک فاکتور مهم و تأثیرگذار در مقاومت پوسته است، اثربخشی مکمل ترکیبی در بهبود مقاومت پوسته ممکن است با به‌کارگیری مواد معدنی مخصوصاً کلسیم مرتبط باشد. آنزیم‌های آمیلاز و کربوهیدرازهای متفاوت به شکل افزودنی در جیره نیز می‌تواند سبب هیدرولیز کربوهیدرات‌های غیرنشاسته‌ای و آزادسازی مونوساکاریدهایی نظیر زایلوز، آرابینوز و الیگوساکاریدهای آرابینوزایلان گردند که خود ممکن است با ایجاد تغییرات مفید در pH و جمعیت میکروارگانیسم‌های روده‌ای، باعث افزایش حلالیت و جذب بیشتر کلسیم از روده شوند (۱۸، ۱۶).

#### پارامترهای بیوشیمی خون

نتایج مربوط به فراسنج‌های بیوشیمیایی سرم خون مرغ‌های تخم‌گذار در گروه‌های آزمایشی مختلف در جدول ۳ آورده شده است. بر اساس نتایج حاصل از این آزمایش، میزان گلوکز، فسفر، اسید اوریک و آلکالین فسفاتاز خون تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت ( $p > 0.05$ ). در مقابل، میزان کلسترول و آلبومین به طور خطی تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت (به ترتیب  $p = 0.002$  و  $p = 0.010$ ) و بالاترین مقدار کلسترول و آلبومین در سرم خون در تیمار ۵۰۰ پی‌پی‌ام مکمل مشاهده شد. همچنین تمایل به افزایش خطی مقادیر کلسیم ( $p = 0.071$ ) و پروتئین خام ( $p = 0.091$ ) و تمایل به کاهش خطی فعالیت آنزیم‌های آلانین آمینوترانسفراز ( $p = 0.094$ ) و آسپاراتات آمینوترانسفراز ( $p = 0.062$ ) در سرم

جدول ۳- اثرات مکمل ترکیبی شامل پروبیوتیک، پری‌بیوتیک و آنزیم بر فراسنجه‌های بیوشیمی خون در مرغ‌های تخم‌گذار  
Table 3. Effect of a blended supplement including probiotics, prebiotics and enzymes on blood biochemical parameters in laying hens

p-value	SEM	مکمل ترکیبی (میلی‌گرم در کیلوگرم)			فراسنجه‌های خونی
		۵۰۰	۲۵۰	۰ (شاهد)	
خطی درجه ۲					
۰/۳۲۱	۹/۷۸	۱۸۶/۴	۱۹۶/۴	۱۸۸/۶	گلوکز (mg/dL)
۰/۴۷۸	۰/۸۸۲	۲۷/۲۲	۲۵/۸۸	۲۴/۹۶	کلسیم (mg/dL)
۰/۳۴۹	۰/۶۷۸	۶/۵۸	۷/۰۱	۶/۲۲	فسفر (mg/dL)
۰/۰۷۸	۳۲/۱۲	۸۷۵/۶	۹۲۳/۴	۸۴۶/۴	تری‌گلیسرید (mg/dL)
۰/۹۲۴	۱۴/۳۳	۲۲۱/۲ <sup>a</sup>	۱۹۲/۲ <sup>ab</sup>	۱۵۳/۸ <sup>c</sup>	کلسترول (mg/dL)
۰/۴۵۸	۰/۳۵۴	۷/۰۶ <sup>a</sup>	۶/۱۵ <sup>b</sup>	۵/۷۸ <sup>d</sup>	پروتئین تام (g/dL)
۰/۶۷۸	۰/۲۹۳	۳/۱۸ <sup>a</sup>	۲/۱۸ <sup>ab</sup>	۲/۴۸ <sup>b</sup>	آلبومین (g/dL)
۰/۵۸۰	۰/۴۱۹	۷/۲۸	۶/۶۶	۶/۵۳	اسید اوریک (mg/dL)
۰/۶۷۵	۲/۹۸۱	۱۸/۲۱	۲۰/۰۵	۲۳/۱۶	آلاتین آمینوترانسفراز (IU/L)
۰/۸۲۸	۱۰/۲۶	۱۸۱/۴	۱۹۸/۰	۲۰۵/۲	آسپارات آمینو ترانسفراز (IU/L)
۰/۷۹۶	۹۷/۱۷	۱۱۷۸/۱	۱۲۵۶/۴	۱۳۸۳/۶	الکالین فسفاتاز (IU/L)

a-c: میانگین‌های دارای حروف نامشابه در هر ردیف دارای تفاوت معنی‌دار با هم هستند ( $p < 0.05$ ).  
SEM: میانگین خطای استاندارد

### پروفایل هورمونی خون

تنش برای پرندۀ داشته باشند (۴۰) و در شرایط پرورش تجاری که انواع تنش‌های محیطی نقش منفی در تولید و وضعیت سلامت پرندۀ دارد استفاده از این مکمل می‌تواند در این زمینه مفید واقع شود. از اثرات مفید پروبیوتیک‌ها و پری بیوتیک‌های غذایی در طیور می‌توان به تعدیل سیستم ایمنی، شرکت در واکنش‌های ضد التهابی، حذف و از بین بردن عوامل بیماری‌زا در دستگاه گوارش و کاهش آلودگی باکتریایی در فرآورده‌های تولیدی اشاره نمود (۳۷، ۲۶). بنابراین اثرات متقابل مفید بین میکروبیوتای روده، اپیتلیوم و سیستم ایمنی از طریق استفاده از مکمل‌های پروبیوتیکی و پری‌بیوتیکی مقاومت در برابر شرایط تنش و بیماری ایجاد می‌کند (۵). همچنین در یک مطالعه اخیر در جوجه‌های گوشتی، افزودن مکمل آنزیمی ترکیبی شامل انواع کربوهیدرازها و پروتئاز موجب بهبود پاسخ ایمنی از طریق افزایش تولید آنتی‌بادی و فعالیت فاگوسیتوزی گردید (۶)، که این موضوع هم می‌تواند تا حدودی نقش مثبت آنزیم‌های موجود در مکمل ترکیبی در کاهش تنش را نیز توجیه کند.

با توجه به جدول ۴، مقادیر هورمون‌های TSH و T<sub>4</sub> تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت ( $p > 0.05$ ). در مقابل، افزایش خطی هورمون T<sub>3</sub> ( $p = 0.014$ ) و تمایل به کاهش خطی هورمون کورتیزول ( $p = 0.087$ ) در سرم خون با افزایش سطح مکمل ترکیبی در جیره غذایی مشاهده شد. غده تیروئید مسئول ترشح هورمون‌های T<sub>3</sub> و T<sub>4</sub> است که سازوکارهایی را برای کنترل مسیرهای متابولیکی متعدد از جمله هموستاز کلسیم و فسفر فراهم می‌کند (۲۵). از آنجایی که هورمون T<sub>3</sub> از طریق فرآیندهای آنابولیک و کاتابولیک بر سرعت رشد و میزان تولید تاثیر می‌گذارد (۳۸)، سطوح افزایش یافته T<sub>3</sub> منعکس کننده افزایش تولید تخم‌مرغ است (۱۳) که با یافته‌های ما در گروه دریافت‌کننده ۵۰۰ پی‌پی‌ام مکمل ترکیبی مطابقت دارد. با توجه به نتایج آزمایش حاضر به نظر می‌رسد تمایل به کاهش ترشح هورمون کورتیزول در تیمارهای حاوی مکمل ترکیبی به خصوص در سطح بالای مورد استفاده (۵۰۰ پی‌پی‌ام) می‌تواند دلالت بر این موضوع داشته باشد که ترکیبات موجود در این مکمل به خصوص پروبیوتیک‌ها و پری‌بیوتیک‌ها می‌توانند نقش ضد

جدول ۴- اثرات مکمل ترکیبی شامل پروبیوتیک، پری‌بیوتیک و آنزیم بر غلظت هورمون‌های تیروئیدی و کورتیزول خون در مرغ‌های تخم‌گذار

Table 4. Effect of a blended supplement including probiotics, prebiotics and enzymes on blood concentrations of thyroid hormones and cortisol in laying hens

p-value	SEM	مکمل ترکیبی (میلی‌گرم در کیلوگرم)			فراسنجه‌های خونی
		۵۰۰	۲۵۰	۰ (شاهد)	
خطی درجه ۲					
۰/۶۵۵	۰/۲۱۰	۱/۳۸	۱/۳۲	۱/۰۸	TSH (ng/dL)
۰/۷۸۲	۰/۰۱۴	۲/۱۷ <sup>a</sup>	۱/۷۳ <sup>ab</sup>	۱/۳۲ <sup>b</sup>	T <sub>3</sub> (ng/dL)
۰/۱۴۴	۰/۲۳۵	۵/۵۵	۵/۶۵	۴/۹۶	T <sub>4</sub> (ng/dL)
۰/۸۴۳	۰/۰۸۷	۱/۷۴	۱/۹۴	۲/۲۲	کورتیزول (ng/dL)

a-b: میانگین‌های دارای حروف نامشابه در هر ردیف دارای تفاوت معنی‌دار با هم هستند ( $p < 0.05$ ).  
SEM: میانگین خطای استاندارد

### وضعیت آنتی‌اکسیدانی

مکمل ترکیبی در جیره غذایی به طور خطی موجب افزایش میزان ظرفیت کل آنتی‌اکسیدانی ( $p = 0.008$ ) و فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز ( $p = 0.024$ ) در سرم خون گردید.

همان طور که جدول ۵ نشان می‌دهد، غلظت‌های مالون‌دی‌آلدهید و نیتریک اکسید سرم خون، مشابه فعالیت آنزیم‌های گلوتاتیون پراکسیداز و کاتالاز تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت ( $p > 0.05$ ). در مقابل، افزایش مقدار

جدول ۵- اثرات مکمل ترکیبی شامل پروبیوتیک، پری بیوتیک و آنزیم بر وضعیت آنتی اکسیدانی خون در مرغ‌های تخم‌گذار  
Table 5. Effect of a blended supplement including probiotics, prebiotics and enzymes on blood antioxidant status in laying hens

p-value		SEM	مکمل ترکیبی (میلی‌گرم در کیلوگرم)			فراسنجه‌های خونی
خطی	درجه ۲		۵۰۰	۲۵۰	۰ (شاهد)	
۰/۹۰۲	۰/۰۰۸	۰/۳۲۴	۳/۳۴ <sup>ab</sup>	۳/۳۶ <sup>ab</sup>	۲/۹۸ <sup>b</sup>	ظرفیت آنتی اکسیدانی کل (U/mL)
۰/۷۶۵	۰/۲۲۱	۰/۲۱۹	۱/۷۳	۱/۹۴	۲/۱۰	مالون دی آلدئید (nmol/mL)
۰/۸۴۵	۰/۱۴۳	۱۲۰/۲۲	۱۵۰۶/۱	۱۳۹۷/۴	۱۲۴۵/۲	گلوکاتینون پر اکسیداز (U/mL)
۰/۵۶۲	۰/۰۲۴	۸/۱۶۵	۱۱۲/۹ <sup>a</sup>	۹۵/۳۰ <sup>ab</sup>	۸۹/۵۴ <sup>D</sup>	سوپر اکسید دیسموتاز (U/mL)
۰/۱۰۲	۰/۱۹۴	۰/۱۸۵	۲/۱۵	۲/۳۲	۱/۸۲	کاتالاز (U/mL)
۰/۷۳۳	۰/۳۴۵	۱/۲۲۵	۲۲/۱۴	۲۰/۵۵	۱۹/۷۶	نیتریک اکساید (μmol/L)

ab: میانگین‌های دارای حروف نامشابه در هر ردیف دارای تفاوت معنی‌دار با هم هستند (p<۰/۰۵).  
SEM: میانگین خطای استاندارد

جوجه‌های گوشتی در شرایط تنش حرارتی شد (۲۳). همچنین در یک مطالعه به تازگی (۶) با استفاده از یک مکمل مولتی آنزیم در جیره غذایی، نسبت ظرفیت کل آنتی‌اکسیدانی به مالون‌دی‌آلدئید (تعادل آنتی‌اکسیدانی) در جوجه‌های گوشتی بهبود یافت.

### نتیجه‌گیری کلی

در مجموع مکمل ترکیبی به خصوص در سطح ۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خوراک بر صفات تولید تخم مرغ، وزن توده تخم‌مرغ و کاهش شگستگی تخم مرغ اثر مثبت داشت و سبب بهبود عملکرد تولیدی شد. همچنین براساس یافته‌های این مطالعه پیشنهاد می‌شود که به کار بردن ۰/۰۵ درصد (۵۰۰ گرم در تن خوراک) مکمل ترکیبی در جیره مرغ‌های تخم‌گذار می‌تواند اثرات سودمندی را بر وضعیت سلامتی مرغ‌های تخم‌گذار از طریق بهبود وضعیت آنتی اکسیدانی و کاهش سطح تنش داشته باشد.

### تشکر و قدردانی

نگارندگان مقاله از شرکت فرداد کیان فرتاک بخاطر حمایت از پژوهش حاضر و تهیه و تولید مکمل ترکیبی تشکر و قدردانی می‌نمایند.

آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی شامل گلوکاتینون پراکسیداز، سوپر اکسید دیسموتاز و کاتالاز در تنظیم مستقیم گونه‌های فعال اکسیژن<sup>۱</sup> (ROS) نقش دارند. همچنین سطوح ظرفیت کل آنتی‌اکسیدانی، نیتریک اکسید و مالون‌دی‌آلدئید، ممکن است به عنوان نشانگر وضعیت اکسیدان-آنتی‌اکسیدان در حیوانات استفاده شوند (۳۳). افزایش میزان ظرفیت کل آنتی‌اکسیدانی و فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز به واسطه استفاده از مکملی که ترکیبی از پروبیوتیک، پری بیوتیک و آنزیم‌های مختلف بود، به خصوص در سطح بالای استفاده از آن، نشان می‌دهد که این مکمل ترکیبی می‌تواند نقش حفاظتی در مقابل تنش اکسیداتیو داشته باشد. گزارش شده است که اگر مواد معدنی آنتی‌اکسیدانی به عنوان کوفاکتور (روی، مس و منگنز به عنوان کوفاکتورهای سوپر اکسید دیسموتاز، آهن به عنوان بخشی از کاتالاز و سلنیوم به عنوان یک کوفاکتور گلوکاتینون پراکسیداز) در یک سطح مناسب در دسترس باشند، سیستم آنتی‌اکسیدانی بدن با کارآمدی بالایی عمل می‌کند (۱۲). بنابراین به نظر می‌رسد اجزای تشکیل دهنده مکمل مورد استفاده در آزمایش حاضر از طریق بهبود زیست‌فراهمی این عناصر بتوانند به تقویت دفاع آنتی‌اکسیدانی بدن کمک کنند. در یک مطالعه استفاده از مکمل سین‌بیوتیک که مخلوطی از انواع سویه‌های مفید میکروبی و پری بیوتیک فروکتولیگوساکارید بود، موجب بهبود وضعیت آنتی اکسیدانی

### منابع

1. Abbasi Arabshahi, H., H.A. Ghasemi, I. Hajkhodadadi and A.H. Khalatabadi Farahani. 2021. Effects of multicarbohydrase and butyrate glycerides on productive performance, nutrient digestibility, gut morphology, and ileal microbiota in late-phase laying hens fed corn- or wheat-based diets. *Poultry Science*, 100: 101066.
2. Aghaei, A.S., M. Tabatabaei, M. Chaji and M. Nazari. 2010. Effect of dried whey (probiotics) and prebiotics in laying hens performance and intestinal flora. *Animal Veterinary Advances*, 9(15): 1996-2000.
3. Ahiwe, E.U., T.T. Tedeschi Dos Santos, H. Graham and P.A. Iji. 2021. Can probiotic or prebiotic yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) serve as alternatives to in-feed antibiotics for healthy or disease-challenged broiler chickens? a review. *Journal Applied Poultry Research*, 30: 100164.
4. Akhavan-Salamat, H. and H.A. Ghasemi. 2016. Alleviation of chronic heat stress in broilers by dietary supplementation of betaine and turmeric rhizome powder: dynamics of performance, leukocyte profile, humoral immunity, and antioxidant status. *Tropical Animal Health and Production*, 48: 181-188.
5. Al-Khalafah, H.S. 2018. Benefits of probiotics and/or prebiotics for antibiotic-reduced poultry. *Poultry Science*, 97: 3807-3815.
6. Attia, Y.A., H. Al-Khalafah, H.S. Abd El-Hamid, M.A. Al-Harhi and A.A. El-shafey. 2020. Effect of different levels of multienzymes on immune response, blood hematology and biochemistry,

- antioxidants status and organs histology of broiler chicks fed standard and low-density diets. *Frontiers in Veterinary Science*, 6: 510.
7. Ayanwale, B.A., M. Kpe and V.A. Ayanwale. 2006. The effect of supplementing *Saccharomyces cerevisiae* in the diets on egg laying and egg quality characteristics of pullets. *International Journal of Poultry Science*, 5(8): 759-763.
  8. Chen, Y.C., C. Nakthong and T.C. Chen. 2005. Improvement of laying hen performance by dietary prebiotic chicory oligofructose and inulin. *International Journal of Poultry Science*, 4(2): 103-108.
  9. Dunne, C., L. O'Mahony, L. Murphy, S. O'Halloran, M. Feeney, S. Flynn, G. Fitzgerald, C. Daly, B. Kiely, G. Sullivan, F. Shanahan and J.K. Collins. 1999. Probiotics; from myth to reality- Demonstration of functionality in animal models of disease and in human clinical trials. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 76: 279-292.
  10. Gallazzi, D., A. Giardini, M.G. Mangiagalli, S. Marelli, V. Ferrazzi, C. Orsi and L.G. Cavalchini. 2008. Effects of *Lactobacillus acidophilus* D2/CSL on laying hen performance. *Italian Journal of Animal Science*, 7: 27-37.
  11. Ghahri, H., D. Rostami, M.A. Zandiyeh and R. Hooshmand Abbasi. 2012. The effects of phytase on performance, serum mineral levels, enzyme activities and immune function of broilers fed nutritionally marginal diets. *Middle-East Journal of Scientific Research*, 11(11): 1481-1490.
  12. Ghasemi, H.A., I. Hajkhodadadi, M. Hafizi, S. Fakharzadeh, M. Abbasi, S. Kalanaky and M.H. Nazaran. 2022. Effect of advanced chelate compounds-based mineral supplement in laying hen diet on the performance, egg quality, yolk mineral content, fatty acid composition, and oxidative status. *Food Chemistry*, 366: 130636.
  13. Harlap, S.Y., M.A. Derkho, N.A. Fomina, S.S. Shakirova and I.A. Grigoryants. 2021. Dynamics of correlations between thyroid hormones and biochemical parameters of the laying hens blood in the age aspect. in IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 677: 022106.
  14. Hunton, P. 2005. Research on eggshell structure and quality: An historical overview. *Brazilian Journal of Poultry Science*, 7(2): 67-71.
  15. Kers, J.G., F.C. Velkers, E.A.J. Fischer, G.D.A. Hermes, J.A. Stegeman and H. Smidt. 2018. Host and environmental factors affecting the intestinal microbiota in chickens. *Front. Microbiology*, 9: 235.
  16. Li, D.D., X.M. Ding, K.Y. Zhang, S.P. Bai, J.P. Wang, Q.F. Zeng, Z.W. Su and L. Kang. 2017. Effects of dietary xylooligosaccharides on the performance, egg quality, nutrient digestibility and plasma parameters of laying hens. *Animal Feed Science and Technology*, 225: 20-26.
  17. Liu, N., Y.J. Ru, A.J. Cowieson, F.D. Li and X.C. Cheng. 2008. Effects of phytase and phytase on the performance and immune function of broilers fed nutritionally marginal diets. *Poultry Science*, 87(6): 1105-1111.
  18. Luise, D., V. Motta, C. Boudry, C. Salvarani, F. Correa, M. Mazzoni, P. Bosi and P. Trevisi. 2020. The supplementation of a corn/barley-based diet with bacterial xylanase did not prevent diarrhoea of ETEC susceptible piglets, but favoured the persistence of *Lactobacillus reuteri* in the gut. *Livestock Science*, 240: 104161.
  19. Mahdavi, A.H., H.R. Rahmani and J. Pourreza. 2005. Effect of probiotic supplements on egg quality and laying hen's performance. *International Journal of Poultry Science*, 4: 488-492.
  20. Markowiak, P. and K. Ślizewska. 2018. The role of probiotics, prebiotics and synbiotics in animal nutrition. *Gut Pathogens*, 10: 18.
  21. Martinez, B.F., A.A. Contreras and E.A. Gonzalez. 2010. Use of *Saccharomyces cerevisiae* Cell Walls in Diets for Two Genetic Strains of Laying Hens Reared in Floor and Cages. *International Journal of Poultry Science*, 9(2): 105-108.
  22. Mirzaie, S., M. Zaghari, S. Aminzadeh, M. Shivazad and G.G. Mateos. 2012. Effects of wheat inclusion and xylanase supplementation of the diet on productive performance, nutrient retention, and endogenous intestinal enzyme activity of laying hens. *Poultry Science*, 91: 413-425.
  23. Mohammed, A.A., S. Jiang, J.A. Jacobs and H.W. Cheng. 2019. Effect of a synbiotic supplement on cecal microbial ecology, antioxidant status, and immune response of broiler chickens reared under heat stress. *Poultry Science*, 98: 4408-4415.
  24. Moss, A.F., A. Khoddami, P.V. Chrystal, J.O.B. Sorbara, A.J. Cowieson, P.H. Selle and S.Y. Liu. 2020. Starch digestibility and energy utilisation of maize- and wheat-based diets is superior to sorghum-based diets in broiler chickens offered diets supplemented with phytase and xylanase. *Animal Feed Science and Technology*, 264: 114475.
  25. Nari, N. and H.A. Ghasemi. 2020. Growth performance, nutrient digestibility, bone mineralization, and hormone profile in broilers fed with phosphorus-deficient diets supplemented with butyric acid and *Saccharomyces boulardii*. *Poultry Science*, 99: 926-935.
  26. Nooreh, Z., K. Taherpour, M. Akbari Gharaei, H. Shirzadi and H.A. Ghasemi. 2021. Effects of a dietary direct-fed microbial and *Ferulago angulata* extract on growth performance, intestinal microflora, and immune function of broiler chickens infected with *Campylobacter jejuni*. *Poultry Science*, 100: 100942.
  27. Numi, E., L. Nuotio and C. Schncitz. 1992. The competitive exclusion concept: Development and future. *International Journal of Food Microbiology*, 15(3-4): 237240.

28. Olukosi, O.A., G. González-Ortiz, H. Whitfield and M.R. Bedford. 2020. Comparative aspects of phytase and xylanase effects on performance, mineral digestibility, and ileal phytate degradation in broilers and turkeys. *Poultry Science*, 99: 1528-1539.
29. Oyetayo, V.O. and F.L. Oyetayo. 2005. Potential of probiotics as biotherapeutic agents targeting the innate immune system. *African Journal of Biotechnology*, 4: 123-127.
30. Panda, A.K., S.S.R. Rao, M.V.L.N. Raju and S.S. Sharma. 2008. Effect of probiotic (*Lactobacillus sporogenes*) feeding on egg production and quality, yolk cholesterol and humoral immune response of White Leghorn layer breeders. *Science of Food and Agriculture*, 88(1): 43-47.
31. Pandit, R.J., A.T. Hinsu, N.V. Patel, P.G. Koringa, S.J. Jakhesara, J.R. Thakkar, T.M. Shah, G. Limon, A. Psifidi, J. Guitian, D.A. Hume, F.M. Tomley, D.N. Rank, M. Raman, K.G. Tirumurugaan, D.P. Blake and C.G. Joshi. 2018. Microbial diversity and community composition of caecal microbiota in commercial and indigenous Indian chickens determined using 16s rDNA amplicon sequencing. *Microbiome*, 6: 115.
32. Pelicano, E.R.L., P.A. Souza, H.B.A. Souza, F.R. Leonel, N.M.B.L. Zeola and M.M. Boiago. 2004. Productive traits of broiler chickens fed diets containing different growth promoters. *Brazilian Journal of Poultry Science*, 6(3): 177-182.
33. Pereira, A.C.D.S., A.P. Dionísio, N.J. Wurlitzer, R.E. Alves, E.S. De Brito, A.M.D.O.E. Silva, I.M. Brasil and J. Mancini Filho. 2014. Effect of antioxidant potential of tropical fruit juices on antioxidant enzyme profiles and lipid peroxidation in rats. *Food Chemistry*, 157: 179-185.
34. Roberfroid, M.B. 2000. Prebiotics and probiotics: are they functional foods. *American Journal of Clinical Nutrition*, 71(6): 1682S-1687S.
35. Roche, M., P. Rondeau, N.R. Singh, E. Tarnus and E. Bourdon. 2008. The antioxidant properties of serum albumin. *FEBS Letters*, 582(13): 1783-1787.
36. Roland, D.A.S. 1988. Research note: Eggshell problems: estimates of incidence and economic impact. *Poultry Science*, 67(12): 1801-1803.
37. Rostami, F., K. Taherpour, H.A. Ghasemi, M. Akbari Gharaei and H. Shirzadi. 2022. Efficacy of *Scrophularia striata* hydroalcoholic extract and mannan-oligosaccharide on productive performance, intestinal bacterial community, and immunity in broiler chickens after infection with *Campylobacter jejuni*. *Animal Feed Science Technology*, 285: 115217.
38. Scanes, C.G. 2009. Perspectives on the endocrinology of poultry growth and metabolism. *General and Comparative Endocrinology*, 163: 24-32.
39. Sharifi, M.R., F. Khajali and H. Hassanpour. 2016. Antioxidant supplementation of low-protein diets reduced susceptibility to pulmonary hypertension in broiler chickens raised at high altitude. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 100: 69-76.
40. Sohail, M.U., A. Ijaz, M.S. Yousaf, K. Ashraf, H. Zaneb, M. Aleem and H. Rehman. 2010. Alleviation of cyclic heat stress in broilers by dietary supplementation of mannan-oligosaccharide and lactobacillus-based probiotic: Dynamics of cortisol, thyroid hormones, cholesterol, C-reactive protein, and humoral immunity. *Poultry Science*, 89: 1934-1938.
41. Taylor, A.E., M.R. Bedford, S.C. Pace and H.M. Miller. 2018. The effects of phytase and xylanase supplementation on performance and egg quality in laying hens. *British Poultry Science*, 59(5): 554-561.
42. Wang, L., F. Liu, Y. Luo, L. Zhu and G. Li. 2015. Effect of acute heat stress on adrenocorticotrophic hormone, cortisol, interleukin-2, interleukin-12 and apoptosis gene expression in rats. *Biomedical Reports*, 3: 425-429.
43. Wealleans, A.L., M.C. Walsh, L.F. Romero and V. Ravindran. 2017. Comparative effects of two multi-enzyme combinations and a *Bacillus* probiotic on growth performance, digestibility of energy and nutrients, disappearance of non-starch polysaccharides, and gut microflora in broiler chickens. *Poultry Science*, 96: 4287-4297.
44. Xu, Z.R., C.H. Hu, M.S. Xia, X.A. Zhan and M.Q. Wang. 2003. Effects of dietary fructooligosaccharide on digestive enzyme activities, intestinal microflora and morphology of male broilers. *Poultry Science*, 82: 1030-1036.
45. Yalçın, S., S. Yalçın, K. Çakin, Ö. Eltan and L. Dağaçan. 2010. Effects of dietary yeast autolysate (*Saccharomyces cerevisiae*) on performance, egg traits, egg cholesterol content, egg yolk fatty acid composition and humoral immune response of laying hens. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90: 1695-1701.
46. Yusrizal, X. and T.C. Chen. 2003. Effect of adding chicory fructans in feed on broiler growth performance, serum cholesterol and intestine length. *International Journal of Poultry Science*, 2(3): 214-219.

## Effect of Different Levels of a Blended Supplement Including Probiotics, Prebiotics and Enzymes on Productive Performance, Blood Metabolites, Hormonal Profile and Antioxidant Status of Laying Hens

Mahdi Khodaei-Motlagh<sup>1</sup>, Hosein Ali Ghasemi<sup>2</sup> and Abolfazl Salehi Zadeh<sup>3</sup>

1- Associate professor, Department of Animal Science , Faculty of Agriculture and Natural Resource, Arak University, Iran, (Corresponding author: m-motlagh@araku.ac.ir)

2-Associate professor, Department of Animal Science , Faculty of Agriculture and Natural Resource, Arak University, Iran

3- Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Razi University, Iran

Received: 10 June, 2022 Accepted: 19 November, 2022

### Extended Abstract

**Introduction and Objective:** Because enzymes enhance the digestibility of feeds by increasing the availability of minerals and the digestibility of protein and amino acids, the utilization of enzymes is known as an effective method for increasing profitability in the poultry industry. In addition, certain enzymes are able to hydrolyze non-starch carbohydrates, resulting in an increase in feed energy utilization and the release of additional phosphorus through the degradation of phytic acid. The purpose of this study was to investigate the effects of a blended supplement consisting of probiotics, prebiotics, and enzymes (containing protease, phytase, lipase, and different carbohydrase) on productive performance, blood metabolites, hormone profile, and antioxidant status of laying hens.

**Material and Methods:** For an 8-week trial, 120 laying hens (52 weeks of age) were used in a completely randomized design with three treatments, eight replications, and five hens per replication. The experimental treatments included the control treatment (no additives) and treatments with complex enzyme supplements at 250 and 500 mg per kg of feed. Egg production, egg weight and feed intake were recorded daily. Egg quality traits and blood biochemical parameters were evaluated at the end of experiment.

**Results:** The results showed that the treatment receiving 500 mg/kg of blended supplement had a greater egg production, greater egg mass, and while feed conversion ratio compared with the non-supplemented treatment (control treatment). The percentage of abnormal eggs was lower in all of the treatments that received the blended supplement compared to the control. A linear increase was observed in the blood levels of cholesterol, albumin, triiodothyronine, total antioxidant capacity, and superoxide dismutase activity after the inclusion of the supplement in the diet. In contrast, the concentrations of glucose, phosphorus, uric acid, alkaline phosphatase, TSH and T4 hormones, malondialdehyde, and nitric oxide, as well as the activity of blood glutathione peroxidase and catalase enzymes, were not affected by the experimental treatments ( $p>0.05$ ).

**Conclusion:** In conclusion, including the blended supplement in the diet of laying hens, particularly at the level of 500 mg/kg, during the second phase of the laying cycle has a positive effect on both production performance and health status, which may be attributed to an increase in antioxidant status and a decrease in stress levels.

**Keywords:** Blended supplement, Health status, Laying hens, Performance, Physiological response