


Research Paper

## Investigating the Impact of Bacteriophage and Acidifiers on The Growth Performance, Immune Response, Microbial Population, and Meat Quality of Broiler Chickens

Hassan Saleh<sup>1</sup>, Mohsen Kazemi<sup>2</sup> and Mohammad Taher Mirakzehi<sup>3</sup>

- 1- Associate Professor, Department of Animal science, Faculty of Agriculture, Higher Education Complex of Saravan, Saravan, Iran, (Corresponding author: Hsaleh.um@gmail.com)  
2- Associate Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture and Animal Science, University of Torbat-e Jam, Torbat-e Jam, Iran  
3- Assistant Professor, Department of Animal science, Faculty of Agriculture, Higher Education Complex of Saravan, Saravan, Iran

Received: 05 May, 2024

Revised: 28 September, 2024

Accepted: 30 October, 2024

### Extended Abstract

**Background:** In light of recent restrictions on antibiotic use in livestock and poultry feed, producers have shifted towards safer and healthier alternatives such as bacteriophages and acidifiers. This study aimed to explore the impact of these dietary changes on the growth performance, immune response, microbial population, and meat quality of broiler chickens.

**Methods:** The study involved 480 one-day-old male broilers of the Ross 308 strain. The experimental design included six treatments, eight replications, and 20 chickens per replication. The diets tested were a control diet (no additives), a control diet with 40 mg/kg of antibiotic, and diets with 0.5 and 1 g/kg of bacteriophage, and 3 g/kg of two different acidifiers (A and B). At the end of the experiment, two birds from each group were selected for blood tests, meat quality assessment, immune system evaluation, morphology, and gastrointestinal bacteria count. Meat quality was assessed through various parameters including color ( $L^*$  for lightness,  $a^*$  for redness, and  $b^*$  for yellowness), drip loss, water holding capacity, cooking loss percentage, pH, and oxidation. The immune response was evaluated by measuring total antibody titers against SRBC and the sensitivity response to phytohaemagglutinin. The ileal contents of the slaughtered birds were used to estimate the microbial population (*E. coli*, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* spp., *Salmonella enterica*, and *C. perfringens*). Intestinal morphology was examined by measuring the crypt depth and the villus height. The pH was also measured in the contents of the ileum and cecum. The data were analyzed using SAS software (2009) in a completely randomized design and the means were compared using Duncan's multi-range test.

**Results:** Chickens fed on a diet with 1 g bacteriophage per kg diet exhibited the greatest weight gain ( $p < 0.05$ ). Feed consumption and feed conversion ratio remained unaffected by the addition of bacteriophage and acidifiers ( $p > 0.05$ ). Chickens fed on acidifiers (A and B) had the smallest thigh muscle percentage. The highest thymus weight percentage was observed in the groups fed on bacteriophage, while the lowest was observed in the groups receiving acidifiers ( $p < 0.05$ ). However, carcass percentage, breast muscle percentage, relative weight of liver, abdominal cavity fat, spleen, and bursa were not affected by the experimental diets ( $p > 0.05$ ). The water holding capacity of breast meat in chickens fed on acidifiers and bacteriophage was higher than control and antibiotic groups. There was no statistically significant difference in drip loss, cooking loss, and meat pH (45 minutes and 24 hours later) between experimental treatments ( $p > 0.05$ ). On the other hand, the water retention capacity of breast meat of chickens fed with acidifiers and bacteriophage was higher than that of control and antibiotic chickens ( $p < 0.05$ ). The brightness index ( $L^*$ ) of the meat was affected by the experimental diets, with the highest level of  $L^*$  observed in the meat of the chickens fed with bacteriophage ( $p < 0.05$ ). The effect of experimental treatments on redness ( $a^*$ ) and yellowness ( $b^*$ ) of meat was not significant ( $p > 0.05$ ). Also, the lowest amount of meat oxidation (MDA) was observed in chickens consuming bacteriophage and acidifier A. The humoral immune response (Anti-SRBC titer) of broiler chickens was affected by the experimental diets, but in contrast, the number of red and white blood cells and the blood lymphocyte level were not affected by the experimental treatments. The addition of bacteriophage to the broiler diet improved the immune response and increased the levels of IgM, IgG, and total immunoglobulins in the blood serum ( $p < 0.05$ ). The villus height and crypt depth in both duodenum and jejunum were influenced by the experimental diets ( $p < 0.05$ ). The highest height



of duodenum and jejunum villi was observed in the group fed on 1 g bacteriophage/ kg diet and the lowest height of duodenum and jejunum was observed in groups fed with Acidifier A ( $p<0.05$ ). The highest crypt depth in the duodenum and jejunum was observed in the bacteriophage receiving groups and the lowest crypt depth was observed in the group fed with antibiotics ( $p<0.05$ ). Villus height/crypt depth index, pH of ileum and cecum contents were not affected by experimental diets. Lactobacillus, Bifidobacteria, Salmonella enteridis and Clostridium perfringens populations were influenced by experimental treatments ( $p<0.05$ ). The lowest population of the above bacteria was observed in chickens fed with antibiotics. In contrast, the highest number of lactobacillus and bifidobacteria was observed in the group fed on 1 g bacteriophage/kg diet and the highest amount of Salmonella enteridis was observed in the control group ( $p<0.05$ ). The population of E. coli bacteria and lactic acid producing bacteria (LAB) were not affected by the experimental groups.

**Conclusion:** The use of 1 g bacteriophage/kg diet not only enhanced the growth performance, immune response, and meat quality of broiler chickens, but also led to beneficial changes in intestinal morphology and bacterial population. These results suggest that bacteriophage could be a viable alternative to antibiotics in broiler diets.

**Keywords:** Acidifier, Bacteriophage, Broiler, Growth Promoter, Meat

**How to Cite This Article:** Saleh, H., Kazemi, M., & Mirakzahi, M. T. (2025). Investigating the Impact of Bacteriophage and Acidifiers on The Growth Performance, Immune Response, Microbial Population, and Meat Quality of Broiler Chickens. *Res Anim Prod*, 16(1), 25-37. DOI: 10.61186/rap.16.1.25



## مقاله پژوهشی

## بررسی اثرات باکتریوفاژ و اسیدی‌فایرها بر عملکرد رشد، پاسخ ایمنی، جمعیت میکروبی و کیفیت گوشت جوجه‌های گوشتی

حسن صالح<sup>۱</sup>، محسن کاظمی<sup>۲</sup> و محمد طاهر میرکزی<sup>۳</sup>

۱- دانشیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، مجتمع آموزش عالی سراوان، سراوان، ایران، (نویسنده مسوول: Hsaleh.um@gmail.com)

۲- دانشیار گروه علوم دامی، مجتمع آموزش عالی تربت‌جام، تربت‌جام، ایران  
۳- استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، مجتمع آموزش عالی سراوان، سراوان، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۸/۰۹

تاریخ ویرایش: ۱۴۰۲/۰۷/۰۷  
صفحه: ۲۵ تا ۳۷

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۲/۱۶

## چکیده مبسوط

**مقدمه و هدف:** با توجه به محدودیت‌های اخیر در استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها در تغذیه دام و طیور، تولیدکنندگان محصولات دامی به سمت استفاده از جایگزین‌کننده‌های کم‌خطرتر و سالم‌تری همچون باکتریوفاژها و یا اسیدی‌فایرها روی آورده‌اند. بنابراین هدف از انجام این مطالعه، بررسی اثر افزودن باکتریوفاژ و اسیدی‌فایرها به جیره بر عملکرد، سیستم ایمنی، جمعیت میکروبی و کیفیت گوشت جوجه‌های گوشتی بود.

**مواد و روش‌ها:** در این تحقیق از ۴۸۰ قطعه جوجه گوشتی نر یک‌روزه سویه راس ۳۰۸ در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۶ تیمار، ۸ تکرار و ۱۰ قطعه جوجه در هر تکرار، استفاده شد. جیره‌های آزمایشی شامل (۱) جیره شاهد (فاقد افزودنی)، (۲) جیره شاهد + ۴۰ میلی‌گرم آنتی‌بیوتیک اینروفلوکساسین ۱۰ درصد/کیلوگرم جیره، (۳) جیره شاهد + ۰/۵ گرم باکتریوفاژ/کیلوگرم جیره، (۴) جیره شاهد + ۱ گرم باکتریوفاژ/کیلوگرم جیره، (۵) جیره شاهد + ۳ گرم اسیدی‌فایر A/کیلوگرم جیره و (۶) جیره شاهد + ۳ گرم اسیدی‌فایر B/کیلوگرم جیره بودند. در پایان دوره آزمایشی، از هر تکرار دو پرند کشتار و نمونه‌های مربوطه جهت انجام آزمایشات خون، کیفیت گوشت، سیستم ایمنی، ریخت‌شناسی و شمارش باکتری‌های دستگاه گوارش گرفته شد. کیفیت گوشت از طریق شاخص‌های مختلفی از جمله رنگ ( $L^*$  برای روشنی،  $a^*$  برای قرمزی و  $b^*$  برای زردی)، آب از دست‌رفته در سردخانه (drip loss)، ظرفیت نگهداری آب، درصد کاهش پخت، pH و اکسیداسیون ارزیابی شد. پاسخ ایمنی با اندازه‌گیری تیتر آنتی‌بادی کل در برابر SRBC و پاسخ حساسیت به فیتوهماکلوآنتی‌ژن ارزیابی شد. محتویات روده پرندگان ذبح شده برای تخمین جمعیت میکروبی (*Salmonella enterica*، *Bifidobacterium* spp.، *Lactobacillus*، *E. coli*) و *C. perfringens*) استفاده شد. ریخت‌شناسی روده با اندازه‌گیری عمق کریپت و ارتفاع پرز مورد بررسی قرار گرفت. pH در محتویات ایلئوم و سکوم اندازه‌گیری شد. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS (۲۰۰۹) در قالب طرح کاملاً تصادفی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن مقایسه شدند.

**یافته‌ها:** جوجه‌های تغذیه شده با جیره ۱ گرم باکتریوفاژ به‌ازای هر کیلوگرم جیره، بیشترین افزایش وزن را نشان دادند ( $p < 0/05$ ). مصرف خوراک و ضریب تبدیل خوراک تحت تأثیر افزودن باکتریوفاژ و اسیدی‌فایرها قرار نگرفت ( $p > 0/05$ ). جوجه‌های تغذیه شده با اسیدفایر (A و B) کمترین درصد عضله ران را داشتند. بیشترین درصد وزن تیموس در گروه‌های تغذیه شده با باکتریوفاژ و کمترین آن در گروه دریافت‌کننده اسیدفایر مشاهده شد ( $p < 0/05$ ). اما درصد لاشه، درصد ماهیچه سینه، وزن نسبی کبد، چربی حفره شکمی، طحال و بورس تحت تأثیر جیره‌های آزمایشی قرار نگرفت ( $p > 0/05$ ). ظرفیت نگهداری آب گوشت سینه در جوجه‌های تغذیه شده با اسیدفایر و باکتریوفاژ بیشتر از گروه شاهد و آنتی‌بیوتیک بود. بین تیمارهای آزمایشی از نظر آب از دست رفته در سردخانه (Drip loss)، درصد افت پخت و pH گوشت (۴۵ دقیقه و ۲۴ ساعت بعد) از نظر آماری تفاوت معنی‌داری وجود نداشت ( $p > 0/05$ ). از طرفی ظرفیت نگهداری آب در گوشت سینه جوجه‌های تغذیه شده با اسیدی‌فایر و باکتریوفاژ بیشتر از جوجه‌های شاهد و آنتی‌بیوتیک بود ( $p < 0/05$ ). شاخص روشنایی ( $L^*$ ) گوشت تحت تأثیر جیره‌های آزمایشی قرار گرفت و بیشترین سطح  $L^*$  در گوشت جوجه‌های تغذیه شده با باکتریوفاژ مشاهده شد. اثر تیمارهای آزمایشی بر قرمزی ( $a^*$ ) و زردی ( $b^*$ ) گوشت معنی‌دار نبود ( $p > 0/05$ ). کمترین میزان اکسیداسیون گوشت (MDA) در جوجه‌های مصرف‌کننده باکتریوفاژ و اسیدی‌فایر A مشاهده شد. پاسخ ایمنی هومورال (تیتر Anti-SRBC) جوجه‌های گوشتی تحت تأثیر جیره‌های آزمایشی قرار گرفت، اما تعداد قرمز و گلبول‌های سفید و سطح لنفوسیت خون تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفتند. افزودن باکتریوفاژ به جیره جوجه‌های گوشتی باعث بهبود پاسخ ایمنی و افزایش سطح IgM، IgG و کل ایمونوگلوبولین‌ها در سرم خون شد ( $p < 0/05$ ). ارتفاع پرز و عمق کریپت در هر دودنوم و ژئوزنوم تحت تأثیر جیره‌های آزمایشی قرار گرفت ( $p < 0/05$ ). بیشترین ارتفاع پرز دوازدهه و ژئوزنوم در گروه تغذیه شده با ۱ گرم باکتریوفاژ در گروه تغذیه شده با اسیدی‌فایر A مشاهده شد ( $p < 0/05$ ). بیشترین عمق کریپت در دودنوم و ژئوزنوم در گروه دریافت‌کننده باکتریوفاژ و کمترین عمق کریپت در گروه تغذیه شده با آنتی‌بیوتیک مشاهده شد ( $p < 0/05$ ). شاخص ارتفاع پرز/عمق کریپت، pH ایلئوم و محتویات سکوم تحت تأثیر جیره‌های آزمایشی قرار نگرفت. جمعیت‌های لاکتوباسیلوس، بیفیدوباکتیریا، سالمونلا انتری‌دیس و کلستریدیوم پرفرنجنس تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفتند ( $p < 0/05$ ). کمترین جمعیت باکتری در جوجه‌های تغذیه شده با آنتی‌بیوتیک مشاهده شد. در مقابل، بیشترین تعداد لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتیریا در گروه تغذیه شده با ۱ گرم باکتریوفاژ در کیلوگرم ماده خشک جیره و بیشترین میزان سالمونلا انتری‌دیس در گروه شاهد مشاهده شد ( $p < 0/05$ ). جمعیت باکتری *E. coli* و باکتری‌های تولیدکننده اسید لاکتیک (LAB) تحت تأثیر گروه‌های تجربی قرار نگرفتند.

**نتیجه‌گیری:** افزودن ۱ گرم باکتریوفاژ در کیلوگرم جیره، علاوه بر بهبود عملکرد رشد، ارتقای سیستم ایمنی و بهبود کیفیت گوشت باعث ایجاد تغییرات مناسب در ریخت‌شناسی روده و استقرار جمعیت باکتری‌های مفید در روده جوجه‌های گوشتی شد. علاوه بر این، از باکتریوفاژها می‌توان به‌عنوان یک جایگزین‌کننده مفید و مؤثر در جیره جوجه‌های گوشتی بجای آنتی‌بیوتیک‌ها استفاده نمود.

واژه‌های کلیدی: اسیدی‌فایر، باکتریوفاژ، جوجه گوشتی، گوشت، محرک رشد

## مقدمه

میر ناشی از این عوامل بیماری‌زا، منجر به خسارات مالی هنگفتی در صنعت طیور شده است. برخی از آنتی‌بیوتیک‌های محرک رشد، قادر به کنترل این عوامل بیماری‌زا می‌باشند، اما استفاده از آن‌ها در جیره طیور به‌دلیل افزایش باکتری‌های

عفونت‌های بیماری‌زای ناشی از باکتری‌ها، ویروس‌ها، انگل‌ها و یا قارچ‌ها، صنعت دام و طیور را در معرض تهدیدات جدی قرار داده است. کاهش عملکرد رشد و افزایش مرگ و

به‌دنبال عفونت اجباری با این سویه باکتری مشاهده شد (Johnson *et al.*, 2008).

مطالعات مستقلی در خصوص استفاده از باکتریوفاژها و اسیدی‌فایرها در جیره طیور انجام شده است، ولی تاکنون مقایسه‌ای بین این دو افزودنی در جیره طیور انجام نشده است. بنابراین، هدف از انجام این پژوهش، بررسی و مقایسه یک نوع باکتریوفاژ و دو نوع اسیدی‌فایر تجاری بر عملکرد رشد، سیستم ایمنی، جمعیت میکروبی و کیفیت گوشت جوجه‌های گوشتی نژاد راس بود.

### مواد و روش‌ها

در این پژوهش از محصول باکتریوفاژ (ProBe-Bac) تولید شده توسط شرکت Pathway Intermediates (سئول، کره جنوبی)، استفاده شد، به طوری که این محصول مخلوطی از فاژها می‌باشد که علیه سالمونلاهای مختلف هدف‌گذاری شده بود. اسیدی‌فایرهای مورد استفاده در این پژوهش، دو محصول متفاوت تجاری مورد استفاده در صنعت طیور می‌باشند. اسیدی‌فایر A (A-CID) از شرکت سپهر ماکیان فرتاک (مشهد، ایران) تهیه شد که حاوی اسیدهای فرمیک، پروپیونیک، استیک، سیتریک و نمک‌های آن‌ها بود. همچنین اسیدی‌فایر B (Novibac® CF60) از شرکت Innovad (اسن، بلژیک) تهیه شد که حاوی اسیدهای فرمیک و پروپیونیک و نیز نمک آن‌ها بود.

در این تحقیق از ۴۸۰ قطعه جوجه گوشتی نر یک‌روزه سویه راس ۳۰۸ در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۶ تیمار، ۸ تکرار و ۱۰ قطعه جوجه در هر تکرار، استفاده شد. جیره‌های آزمایشی شامل (۱) جیره شاهد (فاقد افزودنی)، (۲) جیره شاهد + ۴۰ میلی‌گرم آنتی‌بیوتیک اینروفلوکساسین ۱۰ درصد/کیلوگرم ماده خشک جیره، (۳) جیره شاهد + ۰/۵ گرم باکتریوفاژ/کیلوگرم جیره، (۴) جیره شاهد + ۱ گرم باکتریوفاژ/کیلوگرم جیره، (۵) جیره شاهد + ۳ گرم اسیدی‌فایر A/کیلوگرم ماده خشک و (۶) جیره شاهد + ۳ میلی‌گرم اسیدی‌فایر B/کیلوگرم ماده خشک جیره بودند. جوجه‌ها براساس وزن اولیه یکسان در بین ۴۸ قفس مجزا و به‌صورت کاملاً تصادفی تقسیم شدند. پرندگان در طی ۴۲ روز اول دوره آزمایشی به آب و جیره‌های آزمایشی دسترسی آزاد داشتند. جیره‌های آزمایشی برای تأمین مواد مغذی پیشنهاد شده در دستورالعمل راهنمای سویه تجاری راس ۳۰۸ تنظیم شد (جدول ۱).

توزین پرندگان و باقیمانده خوراک در هر واحد آزمایشی در انتهای هر مرحله از پرورش انجام و شاخص‌های عملکردی شامل خوراک مصرفی، افزایش وزن بدن و ضریب تبدیل غذایی با انجام تصحیحات لازم بر اساس تلفات برای کل دوره پرورش محاسبه شدند. در پایان دوره آزمایشی از هر تکرار دو پرنده کشتار و نمونه‌های لازم جهت انجام آزمایشات خون، کیفیت گوشت، سیستم ایمنی، ریخت‌شناسی و باکترهای دستگاه گوارش گرفته شد. از جوجه‌های ذبح شده، گوشت سینه جدا و برای انجام آزمایشات مربوط به بررسی کیفیت گوشت به آزمایشگاه انتقال داده شد.

مقاوم، سلامت انسان را در معرض خطر قرار داده است. گسترش مقاومت به انواع مختلف آنتی‌بیوتیک‌ها، باعث شده است که روش‌های درمانی غیر مرسوم در پیشگیری از عفونت‌های باکتریایی طیور، مورد بررسی قرار گیرد. در سال‌های اخیر، تلاش برای استفاده از جایگزین‌کننده‌های غیرآنتی‌بیوتیکی محرک رشد همچون پری‌بیوتیک‌ها (Park *et al.*, 2017)، پروبیوتیک‌ها (Chang *et al.*, 2020)، اسیدی‌فایرها (Gao *et al.*, 2021; Vinolya *et al.*, 2021) و باکتریوفاژها (Lee *et al.*, 2016; Upadhaya *et al.*, 2021) برای بهبود عملکرد حیوانات و سلامت مصرف‌کنندگان محصولات دام و طیور، افزایش یافته است.

اسیدهای آلی (اسیدی‌فایرها) از جمله مهم‌ترین جایگزین‌کننده‌های ضد میکروبی هستند که در حال حاضر توسط برخی از محققین به‌عنوان جایگزینی برای آنتی‌بیوتیک‌ها، پیشنهاد شده است. ترکیبی از اسیدهای آلی مختلف ممکن است بهترین گزینه جایگزین برای آنتی‌بیوتیک‌ها در خوراک دام و طیور باشد (Upadhaya *et al.*, 2021). این مواد نقش مهمی در سلامت روده حیوانات مختلف داشته و همچنین قابلیت هضم مواد مغذی را بهبود می‌بخشند. اسیدهای آلی، اجزای طبیعی موجود در برخی از خوراک‌ها بوده که در اثر متابولیسم حیوانات نیز تولید می‌شوند و اغلب جهت اسیدی کردن خوراک مورد استفاده قرار می‌گیرند. اثرات مثبت استفاده از برخی اسیدهای آلی همچون اسید فوماریک، اسید فرمیک، اسید لاکتیک، اسید سیتریک و نمک‌های آن‌ها بر عملکرد و بهبود سلامت طیور گزارش شده است (Yang *et al.*, 2018). عدم آلودگی جیره، عدم وجود بدون بقایا در لاشه، جذب سریع در بدن، شرکت در متابولیسم پایه بدن از طریق چرخه کربس، از مهم‌ترین ویژگی‌هایی آن‌ها محسوب می‌گردد (Elhassan *et al.*, 2021). علی‌رغم مزایای استفاده از اسیدی‌فایرها در جیره طیور، افزودن بیش از ۳ درصد در جیره به دلیل اسیدیته بالا، منجر به از بین رفتن برخی از ویتامین‌های موجود در خوراک می‌شوند. همچنین، رقیق‌تر شدن جیره و نیز افزایش رطوبت آن، از دیگر معایب استفاده از اسیدی‌فایرها می‌باشد.

از فاژهای ضد سالمونلا انتریتیدیس به‌عنوان جایگزین مناسبی برای آنتی‌بیوتیک‌ها در خوراک جوجه‌های گوشتی استفاده شده است (Lee *et al.*, 2016). اثر مثبت استفاده از فاژها در مبارزه با عفونت‌های ناشی از سویه‌های سالمونلا گالیناروم در طیور تخم‌گذار نیز گزارش شده است (Yang *et al.*, 2018). بهبود راندمان خوراک، وزن کبد و کاهش عوامل بیماری‌زا در جوجه‌های گوشتی (Wang *et al.*, 2013) و نیز افزایش تولید و کیفیت تخم‌مرغ در طیور تخم‌گذار (Gao *et al.*, 2021) نیز در اثر استفاده از فاژها گزارش شده است. افزودن کوتاه‌مدت فاژها به جیره طیور در ممانعت از کلونیزاسیون سویه‌های سالمونلا انتریتیدیس مؤثر بوده است (Kim *et al.*, 2013). طیف وسیعی از فعالیت ضدباکتریایی علیه سالمونلا انتریتیدیس در جوجه‌های گوشتی گزارش شد که در آن کاهش قابل توجهی در تعداد باکتری‌های سالمونلا

(MDA) در هر گرم عضله با استفاده از روش توصیف شده توسط آن و همکاران (Ahn *et al.*, 1999) تعیین شد. به منظور تعیین عیار پادتن کل علیه گلبول قرمز گوسفند (SRBC) به سیاهرگ زیربالی ۲ قطعه پرنده از هر تکرار در ۳۵ روزگی، ۰/۵ میلی‌لیتر از سوسپانسیون گلبول قرمز گوسفند ۵ درصد تزریق شد. هفت روز بعد در ۴۲ روزگی از سیاهرگ زیربالی جوجه‌ها خون‌گیری به عمل آمد. سپس عیار ایمونوگلوبولین G، M و تام بر علیه SRBC تعیین شد (Zamanizadeh *et al.*, 2021). به منظور بررسی سیستم ایمنی سلولی ابتدا از هر تکرار در سن ۳۴ روزگی یک جوجه مشخص و با کولیس مندرج، ضخامت پرده وسط پای انگشتان چپ اندازه‌گیری گردید. و سپس به مقدار ۰/۱ میلی‌لیتر فیتوهموگلوٹین به آن تزریق شد و بین انگشتان پای راست ۰/۱ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی تزریق گردید. به منظور بررسی میزان تکثیر سلول‌های T در سیستم ایمنی، ۱۲ و ۲۴ ساعت بعد از تزریق فیتوهموگلوٹین ضخامت بین انگشتان پای چپ به وسیله کولیس اندازه‌گیری شد و اعداد ثبت گردیدند. میزان افزایش ضخامت پوست در هر پرنده از اختلاف ضخامت قبل و بعد تزریق به دست آمد (Zamanizadeh *et al.*, 2021).

از پرندگان ذبح شده، پس از باز کردن لاشه، ایلئوم با قیچی استریل از بخش‌های دیگر روده جدا شد و حدود دو گرم از محتویات این بخش داخل میکروتیوب‌های استریل انتقال داده شد. یک گرم نمونه ایلئوم هر پرنده در لوله آزمایش حاوی نه میلی‌لیتر بافر نمکی فسفات (PBS) انتقال داده شد و به مدت سه دقیقه ورتکس شد، سپس رقیق‌سازی تا  $10^{-8}$  تکرار شد. برای زمان کشت نمونه‌ها، ۲۰۰ میکرولیتر از هر یک از سری‌های رقت  $10^{-8}$ ،  $10^{-7}$ ،  $10^{-6}$ ،  $10^{-5}$ ،  $10^{-4}$ ،  $10^{-3}$  و  $10^{-2}$  روی پلیت‌های حاوی محیط کشت باکتری مورد نظر ریخته شد و در سطح محیط کشت پخش شد. سپس محیط‌های کشت اشرشیا اکلائی (EMB) به انکوباتور منتقل شدند و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوباسیون شدند. محیط کشت (MRS) برای باکتری‌های اسید لاکتیکی و لاکتوباسیلوس، محیط کشت بیفیدو باکتریوم آگار برای باکتری‌های بیفیدو باکتری‌ها، محیط کشت (SIA) برای کلستریدیوم پرفرجنس و محیط کشت (SSA) برای سالمونلا انتریدیس به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و در شرایط بی‌هوازی، درون جار بی‌هوازی قرار داده شد. پس از انکوباسیون، تعداد کلنی‌ها شمارش شد. کلنی‌های مربوط به هر پلیت در فاکتور رقت (معکوس ضرب رقت) ضرب و به عنوان شمار CFU در یک گرم نمونه در نظر گرفته شد و در نهایت، داده‌های CFU به شکل  $\log_{10}$  گزارش شدند.

از پرندگان کشتار شده برای ارزیابی ریخت‌شناسی روده استفاده شد. نمونه‌های بافتی به طول تقریباً ۳ سانتی‌متر از ناحیه میانی پروگزیمال ژژنوم و ایلئوم به دقت بدون ترشحات روده برداشته و با سرم فیزیولوژی شستشو داده شدند. نمونه‌ها در محلول سالین فرمالین ۱۰ درصد تثبیت شدند. بعد از پایداری کامل، به ترتیب مراحل آگیری، شفاف‌سازی، پارافین‌دهی و قالب‌گیری انجام شد و در ادامه با استفاده از دستگاه میکروتوم (Erma, Japan)، برش‌هایی به ضخامت ۵ میکرومتر از نمونه‌ها

رنگ گوشت {L\* (روشنایی)، a\* (قرمزی) و b\* (زردی)}، آب از دست رفته در سردخانه (Drip loss) و pH بر اساس روش جین و همکاران (Jin *et al.*, 2018) اندازه‌گیری شد. در روز بعد از کشتار، آزمون رنگ‌سنجی نمونه‌های گوشت خام مرغ توسط دستگاه کرومتر Minolta CR410 (اوزاکا، ژاپن) انجام شد و شاخص‌های رنگی شامل L\* (روشنایی)، a\* (قرمزی) و b\* (زردی) برای نمونه‌های مختلف با میانگین‌گیری از سه قرائت مختلف برای هر نمونه، تعیین شد. میزان pH نمونه ماهیچه سینه در حدود ۴۵ دقیقه و ۲۴ ساعت پس از کشتار توسط pH متر (Testo، Testo 205، آلمان) اندازه‌گیری شد. به منظور اندازه‌گیری آب از دست رفته در سردخانه (Drip loss)، قطعه‌ای از ماهیچه (به ضخامت ۲ سانتی‌متر، عرض ۳ سانتی‌متر و طول ۵ سانتی‌متر) از عضله سینه جدا و به‌عنوان وزن اولیه اندازه‌گیری شد و در داخل کیسه زیپ‌دار در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد ذخیره شد. بعد از ۲۴ ساعت مجدداً توزین شد و آب از دست رفته بر اساس فرمول زیر محاسبه شد:

= درصد آب از دست رفته در سردخانه

وزن ابتدایی / (وزن نهایی - وزن ابتدایی)

ظرفیت نگهداری آب (WHC) و درصد افت و خروج آب در زمان پخت (Cooking loss) با توجه به روش‌های توصیف شده توسط گائو و همکاران (Gao *et al.*, 2021) تعیین شدند. مقدار ۲۰ گرم از نمونه گوشت به لوله‌های آزمایشی حاوی ۳۰ میلی‌لیتر NaCl (۰/۶ مولار) انتقال داده شد و به مدت سه دقیقه با شیکر، هم‌زده شد. سپس لوله‌های آزمایشی به مدت ۱۵ دقیقه در یخچال با دمای  $4 \pm 1$  درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. در ادامه مجدداً لوله‌ها توسط دست‌هم‌زده شدند و با ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۲۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند. حجم سوپرناتانت اندازه‌گیری شد و ظرفیت نگهداری آب بر حسب درصد با استفاده از معادله زیر محاسبه شد:

= ظرفیت نگهداری آب (درصد)

حجم NaCl قبل سانتریفیوژ / (حجم NaCl بعد سانتریفیوژ - حجم NaCl قبل سانتریفیوژ)

برای اندازه‌گیری بازده پخت (Cooking loss)، نمونه‌ها با استفاده از ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ گرم توزین شدند و سپس داخل آون با دمای ۱۶۳ درجه سانتی‌گراد بر روی توری چرب شده قرار داده شدند. فرآیند پخت تا زمان رسیدن دمای مرکز گوشت به ۷۷ درجه سانتی‌گراد ادامه یافت. سپس توزین مجدد نمونه‌ها انجام شد. درصد بازده پخت هر نمونه نیز از رابطه زیر تعیین شد.

= (درصد) بازده پخت

$100 \times$  (وزن قطعات خام / وزن قطعات پخته شده)

برای بررسی اکسیداسیون گوشت از عضله سینه پرنده ذبح شده نمونه‌ای جدا شد (نیمه راست نمونه). دو بار با چرخ گوشت، چرخ و به مدت یک هفته در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. پنج گرم از هر نمونه گوشت ذخیره شده، به داخل لوله آزمایش انتقال و پس از اضافه کردن ۱۵ میلی‌لیتر آب مقطر به آن، با دور ۱۱۳۰ در دقیقه به مدت ۱ دقیقه سانتریفیوژ شد. نمونه هموزن (۵ میلی‌لیتر) به یک لوله آزمایش دیگر منتقل شد و اکسیداسیون لیپید با استفاده از تست ۲-تیوباریتوریک اسید (TBARS) تعیین شد و به صورت میکروگرم مالون دی‌آلدئید

داده‌های آزمایشی با استفاده از نرم‌افزار SAS (۲۰۰۹) و در قالب طرح کاملاً تصادفی مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. برای مقایسه میانگین‌ها، از آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ استفاده شد. مدل آماری طرح به صورت زیر بود:

$$Y_{ij} = \mu + X_{ij} + e_{ij}$$

در این رابطه،  $Y_{ij}$  مقدار هر مشاهده،  $\mu$  میانگین جامعه،  $X_{ij}$  اثر تیمار و  $e_{ij}$  خطای آزمایش می‌باشد

جدا و بعد از پارافین‌زدایی، با هماتوکسیلین آئوزین رنگ‌آمیزی شدند. عمق کریپت و ارتفاع پرز بر روی مقاطع رنگ‌آمیزی شده با استفاده از میکروسکوپ نوری (Carl Zeiss، Promenade، آلمان) مجهز به دوربین دیجیتال (Olympus؛ U-TVIX) با بزرگ‌نمایی ۱۰× تعیین شد.

## مدل آماری

جدول ۱- اجزا و ترکیب شیمیایی جیره‌های آزمایشی مورد استفاده در تغذیه جوجه‌های گوشتی

Table 1. Ingredients and chemical composition of experimental diets fed on broiler chickens

پایانی (۲۴-۴۲ روزگی) Finisher (24-42 day)	رشد (۱۱-۲۳ روزگی) Grower (11-23 day)	آغازین (۱-۱۰ روزگی) Starter (1-10 day)	اقلام خوراکی (درصد) Ingredients (%)
60.0	56.4	54.2	ذانه ذرت (۸۸ درصد پروتئین) (Corn grain)
28.5	31	32.4	کنجاله سویا (۴۴ درصد پروتئین خام) (Soybean meal (48% protein)
1.56	2.90	3.17	کنجاله گلوتن ذرت (۶۰ درصد) (Corn gluten meal)
5.35	4.20	3.00	روغن آفتابگردان (Sunflower oil)
1.30	2.00	3.65	پودر گوشت (۵۴/۴ درصد پروتئین) (Meat meal)
1.05	1.05	0.74	سنگ آهک (Limestone)
1.20	1.35	1.60	کلسیم مونو فسفات (Monocalcium phosphate)
0.30	0.30	0.30	نمک (Salt)
0.28	0.32	0.40	ال- لیزین هیدرو کلراید (L-lysine hydrochloride)
0.16	0.17	0.21	دی ال - متیونین (DL-Methionine)
0.00	0.01	0.03	ال- ترئونین (L-Threonine)
0.30	0.30	0.30	مکمل معدنی و ویتامینی (Mineral supplement Vitaminand)
ترکیب شیمیایی (Chemical composition)			
3200	3100	3000	انرژی قابل متابولیسم (کیلو کالری/کیلوگرم ماده خشک) Metabolisable energy (Kcal/Kg DM)
19.5	21.5	23.0	پروتئین خام (درصد) (Crude Protein (%))
7.99	6.81	5.66	چربی خام (درصد) (Ether extract (%))
0.79	0.88	0.95	کلسیم (درصد) (Calcium (%))
0.39	0.43	0.48	فسفر قابل دسترس (درصد) (Available phosphorus (%))
1.17	1.30	1.42	لیزین (درصد) (Lysine (%))
0.49	0.54	0.60	متیونین (درصد) (Methionine (%))
0.80	0.88	0.99	متیونین+سیستین (درصد) (Methionine + Cystine (%))

مکمل ویتامینی معدنی در هر کیلو گرم جیره تامین کننده: ۱۰۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین A، ۱۲۱ واحد بین‌المللی ویتامین E، ۲۳۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین D<sub>3</sub>، ۲ میلی‌گرم ویتامین K، ۴ میلی‌گرم ویتامین B<sub>6</sub>، ۰/۰۲ میلی‌گرم ویتامین B<sub>12</sub>، ۸۴۰ میلی‌گرم کولین کلراید، ۴ میلی‌گرم ریوفلاوین، ۱ میلی‌گرم اسید فولیک، ۰/۰۳ میلی‌گرم بیوتین، ۳ میلی‌گرم ید، ۴ میلی‌گرم مس، ۶۰ میلی‌گرم منگنز، ۰/۱ میلی‌گرم سلنیم، ۰/۱۲۵ میلی‌گرم اتوکسی کین و ۵۰ میلی‌گرم آهن بود.  
Each kg of vitamin-mineral contained 10000 IU vitamin A; 121 IU vitamin E, 2300 IU vitamin D<sub>3</sub>, 2 mg vitamin B<sub>6</sub>, 0.02 mg vitamin B<sub>12</sub>, 840 mg choline chloride, 4 mg riboflavin, 1 mg folic acid, 0.03 mg; biotin, 3 mg iodine, 4 mg copper, 60 mg manganese, 0.1 mg selenite, 0.125 mg ethoxyquin, and 50 mg iron.

آن‌ها در تغذیه حیوانات، باعث افزایش تمایل به استفاده از فاژها در تغذیه طیور شده‌است (Cieplak *et al.*, 2018). بدون شک کاهش سالمونلوز انسانی ناشی از مصرف گوشت طیور هم برای مصرف‌کنندگان و هم برای تولیدکنندگان محصولات دامی مطلوب به نظر می‌رسد. از طرفی از بین بردن سالمونلا تنها از طریق اضافه کردن مواد افزودنی به خوراک، مؤثر نمی‌باشد و نیازمند به‌کارگیری روش‌های متفاوت تغذیه‌ای و مدیریتی نیز می‌باشد. با این حال، کاهش تعداد سالمونلا در روده و لاشه‌های طیور می‌تواند به بهبود ایمنی و سلامت غذایی مصرف‌کنندگان کمک شایان توجهی کند (Liebana *et al.*, 2002). اثرات متناقضی در ازای مکمل کردن باکتریوفاژها در جیره بر عملکرد طیور گوشتی گزارش شده است. اثربخشی کم باکتریوفاژها بر مصرف خوراک و افزایش وزن روزانه (Kim *et al.*, 2013; Upadhaya *et al.*, 2021; Wang *et al.*, 2013) و یا گاهاً افزایش وزن در جوجه‌ها (Kim *et al.*, 2014) و نیز افزایش

## نتایج و بحث

اثر افزودن آنتی‌بیوتیک، باکتریوفاژ و اسیدی‌فایرها بر عملکرد جوجه‌های گوشتی در پایان دوره، در جدول ۲ نشان داده شده‌است. میانگین افزایش وزن روزانه جوجه‌ها تحت تأثیر جیره‌های آزمایشی قرار گرفت، به طوری که جوجه‌های تغذیه شده با جیره حاوی ۱ گرم در کیلوگرم باکتریوفاژ، دارای بیشترین میزان وزن (۲۸۳۵ گرم)، بودند ( $p < 0.05$ ). هم‌چنین کمترین میزان افزایش وزن روزانه نیز در گروه حاوی اسیدی‌فایر B به میزان ۲۷۳۰ گرم، مشاهده شد. جیره‌های آزمایشی تأثیر معنی‌داری بر مصرف خوراک روزانه و ضریب تبدیل خوراک نداشتند. استفاده از باکتریوفاژها و اسیدی‌فایرها در جیره جوجه‌های گوشتی به دلیل پتانسیل آن‌ها در بهبود عملکرد، سیستم ایمنی، جمعیت میکروبی و کیفیت گوشت، اخیراً مورد مطالعه قرار گرفته است. بروز عوامل بیماری‌زای باکتریایی مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌ها و اعمال ممنوعیت بکارگیری

تعداد ذرات فاز به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (Bae *et al.*, 2021). کاهش مصرف خوراک در جوجه‌های تحت چالش، به هضم و جذب کمتر از روده‌های ملتهب شده آن‌ها نسبت داده شد (Abudabos *et al.*, 2020).

برخی گزارش‌ها اثربخشی مکمل‌های اسیدی‌فایر را بر عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی نشان می‌دهند. در مطالعاتی، افزایش وزن روزانه و کاهش ضریب تبدیل خوراک در اثر مکمل کردن اسیدهای استیک، سیتریک و لاکتیک به جیره گزارش شده است (Mahdavi Sadati *et al.*, 2023; SA AF *et al.*, 2008). با این حال، (Giannenas *et al.*, 2014) هیچ‌گونه بهبود قابل توجهی در عملکرد رشد جوجه‌های تغذیه شده با جیره‌های حاوی بنزوتیک اسید گزارش نشده است. آزمایش حاضر نشان داد که، عملکرد گروه‌های دریافت‌کننده اسیدی‌فایر تفاوت معنی‌داری با گروه‌های شاهد و آنتی‌بیوتیک نداشت. دلایل متعددی برای اثرات مثبت اسیدی‌فایرها بر عملکرد طیور همچون کاهش pH خوراک و دستگاه گوارش، اثر ضد میکروبی مستقیم و کاهش اسیدیته ماهیچه‌ها ذکر شده است (Gao *et al.*, 2021). گزارش شده است که اسیدی‌فایرها می‌توانند باعث تعدیل جمعیت میکروبی روده شده و متعاقباً منجر به افزایش ارتفاع پرز در روده و در نهایت باعث بهبود جذب مواد مغذی گردند (Khan & Iqbal, 2016)، که همسو با نتایج آزمایش ما نمی‌باشد. با وجود اثرات مثبت گزارش شده برای اسیدی‌فایرها، عملکرد جوجه‌های گوشتی در مطالعه فعلی تحت تأثیر افزودن اسیدی‌فایرها به جیره، قرار نگرفت.

وزن در جوجه‌های تحت چالش کلستریدیوم پرفرنجنس (Miller *et al.*, 2010) و چالش با سالمونلا تیفی موریوم (Toro *et al.*, 2005) گزارش شده است. افزایش وزن روزانه جوجه‌ها در جیره‌های تغذیه شده با باکتریوفاز ممکن است به دلیل اثر مهاری بر باکتری‌های مضر در دستگاه گوارش جوجه‌های گوشتی باشد (Lim *et al.*, 2011). این یافته‌ها با آنچه در این آزمایش در مورد کاهش اثر شیشیا کلی، سالمونلا انتریتیدیس و کلستریدیوم پرفرنجنس مشاهده شد، مطابقت دارد. در این خصوص نیز عنوان شده است که استفاده مداوم و طولانی مدت از فازها در جیره طیور گوشتی به‌طور قابل توجهی در کاهش تعداد عوامل بیماری‌های سالمونلای ساکن در دستگاه گوارش، مؤثر می‌باشد (Sklar & Joerger, 2001). برخی از محققین (Fiorentin *et al.*, 2005) گزارش کردند که تجویز خوراکی یکبار باکتریوفاز باعث کاهش سالمونلا انتریتیدیس می‌شود.

مصرف خوراک و افزایش وزن در جوجه‌هایی تحت چالش با کلستریدیوم پرفرنجنس به‌طور قابل توجهی کاهش و ضریب تبدیل خوراک آن‌ها افزایش نشان داد، اما با افزودن باکتریوفاز به جیره، وزن بدن و راندمان خوراک در جوجه‌های آلوده نسبت به گروه شاهد بهبود یافت (Bae *et al.*, 2021). یکپارچگی مخاط روده بر میزان کارایی خوراک و عملکرد رشد در جوجه‌های گوشتی مؤثر می‌باشد (Gadde *et al.*, 2017). درجه آسیب مخاطی در جوجه‌های آلوده به کلستریدیوم پرفرنجنس که با جیره‌های حاوی باکتریوفاز تغذیه شده بودند، با افزایش

جدول ۲- تأثیر تیمارهای آزمایشی بر عملکرد جوجه‌های گوشتی در پایان دوره پرورش

Table 2. The dietary effect of experimental treatments on the performance of broiler chickens at the end of the husbandry period

تیمارهای آزمایشی <sup>۱</sup> Expeimental diets <sup>1</sup>	وزن نهایی (گرم) Final Weight (g)	مصرف خوراک (گرم) Feed intake (g)	ضریب تبدیل خوراک Feed conversion ratio
شاهد Control	2751.00 <sup>bc</sup>	4578.00	1.67
آنتی‌بیوتیک Antibiotic	2814.00 <sup>ab</sup>	4578.00	1.63
باکتریوفاز ۱ Bacteriophage 1	2751.00 <sup>b</sup>	4578.00	1.64
باکتریوفاز ۲ Bacteriophage 2	2835.00 <sup>a</sup>	4536.00	1.61
اسیدفایر A Acidifier A	2780.40 <sup>b</sup>	4578.00	1.65
اسیدفایر B Acidifier B	2730.04 <sup>c</sup>	4536.00	1.66
سطح معنی‌داری P-Value	0.022	0.095	0.131
خطای استاندارد میانگین SEM	44.98	83.16	0.02

<sup>۱</sup> تیمارهای آزمایشی: شاهد: فاقد افزودنی؛ آنتی‌بیوتیک: شاهد + ۴۰ میلی‌گرم آنتی‌بیوتیک اینترفلوکساسین ۱۰ درصد/ کیلوگرم جیره؛ باکتریوفاز ۱: شاهد + ۰.۵/گرم باکتریوفاز ProBe-Bac / کیلوگرم جیره؛ باکتریوفاز ۲: شاهد + ۰.۵/گرم باکتریوفاز ProBe-Bac / کیلوگرم جیره؛ اسیدفایر A: شاهد + ۳ گرم در کیلوگرم اسیدی‌فایر ACID؛ اسیدفایر B: شاهد + ۳ گرم در کیلوگرم اسیدی‌فایر Novibac@ CF60

a-c وجود حروف متفاوت در هر ستون بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار در بین میانگین‌ها می‌باشد ( $p < 0.05$ ).

<sup>۱</sup> Expeimental diets: Control: Without supplemented; Antibiotic: Control+40 mg/kg of antibiotic; Bacteriophage 1: Control+0.5 g/kg Bacteriophage ProBe-Bac; Bacteriophage 2: Control+0.5 g/kg Bacteriophage ProBe-Bac; Acidifier A: 3 g/kg Acidifier ACID; Acidifier B: 3 g/kg Acidifier Novibac@ CF60

<sup>a-c</sup> Means in each column with different superscripts are significantly different ( $p < 0.05$ ). SEM: Standard Error of the Mean

درصد عضله ران برخوردار (به ترتیب ۲۰/۳۸ و ۲۰/۴۱ درصد) بودند. بیشترین درصد وزن تیموس در گروه‌های آزمایشی حاوی باکتریوفاز و کمترین میزان در گروه‌های حاوی اسیدی‌فایر مشاهده شد ( $p < 0.05$ ). درصد لاشه، درصد عضله سینه، وزن

اثر مکمل کردن آنتی‌بیوتیک، باکتریوفاز و اسیدی‌فایرها در جیره جوجه‌های گوشتی بر خصوصیات لاشه، در جدول ۳ ارائه شده است. درصد عضله ران و تیموس در جوجه‌های گوشتی تحت تأثیر جیره‌های آزمایشی قرار گرفتند ( $p < 0.05$ ). جوجه‌های تغذیه شده با اسیدی‌فایرها (A و B) از کمترین

شد. همچنین استفاده از مقدار بیشتر باکتریوفاز در جیره از لحاظ عددی باعث افزایش درصد ماهیچه‌ها و وزن نسبی برخی از اندام‌ها شد. برخلاف نتایج ما، افزودن ۰/۰۵ درصد باکتریوفاز در مقابل ۰/۰۱ درصد به جیره، باعث افزایش وزن نسبی در جوجه‌های گوشتی شد (Upadhaya et al., 2021).

نسبی کبد، چربی حفره بطنی، طحال و بورس تحت تأثیر جیره‌های آزمایشی قرار نگرفتند. در مطالعه‌ای گزارش شد که افزودن سطوح مختلف اسیدی‌فایر، تأثیری بر وزن لاشه و وزن اغلب اندام‌های بدن نداشت (Johnson et al., 2008). اما در مطالعه فعلی، کاهش وزن نسبی ران و تیموس در اثر افزودن اسیدی‌فایرها به جیره مشاهده

جدول ۳- تأثیر تیمارهای آزمایشی بر خصوصیات لاشه جوجه‌های گوشتی در سن ۴۲ روزگی

Table 3. The dietary effect of experimental treatments on carcass characteristics of broiler chickens at 42 days of age

تیمارهای آزمایشی <sup>۱</sup> Experimental diets <sup>۱</sup>	لاشه <sup>*</sup> Carcass (%)	سینه <sup>**</sup> Breast (%)	ران <sup>**</sup> Thigh (%)	کبد <sup>*</sup> Liver (%)	چربی حفره بطنی <sup>**</sup> Abdominal fat (%) pad	طحال <sup>*</sup> Spleen	بورس فابریسیوس <sup>*</sup> Bursa of Fabricius	غده تیموس <sup>*</sup> Thymus gland
شاهد Control	70.00	27.2	21.1 <sup>a</sup>	2.15	0.94	0.092	0.14	0.34 <sup>ab</sup>
آنتی‌بیوتیک Antibiotic	71.00	27.2	21.1 <sup>a</sup>	2.14	0.94	0.091	0.14	0.34 <sup>ab</sup>
باکتریوفاز ۱ Bacteriophage 1	70.00	27.2	21.1 <sup>a</sup>	2.16	0.94	0.093	0.14	0.36 <sup>a</sup>
باکتریوفاز ۲ Bacteriophage 2	72.00	27.4	21.1 <sup>a</sup>	2.16	0.92	0.093	0.14	0.36 <sup>a</sup>
اسیدفایر A Acidifier A	70.50	27.20	20.38 <sup>b</sup>	2.15	0.93	0.092	0.14	0.33 <sup>b</sup>
اسیدفایر B Acidifier B	70.40	27.15	21.40 <sup>b</sup>	2.16	0.92	0.091	0.14	0.32 <sup>b</sup>
سطح معنی‌داری P-Value	0.332	0.281	0.043	0.594	0.115	0.482	0.323	0.030
خطای استاندارد میانگین SEM	0.031	0.340	0.21	0.099	0.051	0.001	0.001	0.004

<sup>۱a-c</sup> تیمارهای آزمایشی: شاهد: فاقد افزودنی؛ آنتی‌بیوتیک: شاهد + ۴۰ میلی‌گرم آنتی‌بیوتیک اینروفلوکساسین ۱۰ درصد / کیلوگرم جیره؛ باکتریوفاز ۱: شاهد + ۰/۵ گرم باکتریوفاز ProBe-Bac / کیلوگرم جیره؛ باکتریوفاز ۲: شاهد + ۰/۵ گرم باکتریوفاز ProBe-Bac / کیلوگرم جیره؛ اسیدفایر A: شاهد + ۳ گرم در کیلوگرم اسیدی‌فایر ACID؛ اسیدفایر B: شاهد + ۳ گرم در کیلوگرم اسیدی‌فایر Novibac® CF60

<sup>a-c</sup> وجود حروف متفاوت در هر ستون بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار در بین میانگین‌ها می‌باشد ( $p < 0.05$ ). \* درصدی از وزن زنده، \*\* درصدی از وزن لاشه  
<sup>۱</sup> Experimental diets: Control: Without supplemented; Antibiotic: Control+40 mg/kg of antibiotic; Bacteriophage 1: Control+0.5 g/kg Bacteriophage ProBe-Bac; Bacteriophage 2: Control+0.5 g/kg Bacteriophage ProBe-Bac; Acidifier A: 3 g/kg Acidifier ACID; Acidifier B: 3 g/kg Acidifier Novibac® CF60

<sup>a-c</sup> Means in each column with different superscripts are significantly different ( $p < 0.05$ ). \*Percentage of live weight, \*\*Percentage of carcass weight.  
SEM: Standard Error of the Mean

سطوح افزایشی باکتریوفاز در جیره جوجه‌های گوشتی گزارش شده است (Upadhaya et al., 2021). بهبود کیفیت گوشت در اثر استفاده از اسیدی‌فایرها در جیره طیور گوشتی، توسط گائو و همکاران گزارش شده است (Gao et al., 2021) که با نتایج این تحقیق در تناقض می‌باشد. فلچر و همکاران (Fletcher et al., 2000)، یک همبستگی بالایی بین رنگ گوشت و pH آن گزارش کردند. در این مطالعه، تفاوت آماری معنی‌داری برای pH گوشت (۴۵ دقیقه و ۲۴ ساعت پس از کشتار) در بین گروه‌های آموزشی مشاهده نشد. بر خلاف نتایج فعلی، اوپادایا و همکاران (Upadhaya et al., 2021) و وانگ و همکاران (Wang et al., 2013) گزارش کردند که تغییر رنگ گوشت به دلیل تغییرات pH نبوده و استفاده از باکتریوفاز نیز تأثیری بر میزان رنگ گوشت ندارد. لازم به ذکر است که عواملی مانند میزان میوگلوبین، جهت‌گیری فیبر عضلانی و فضای بین رشته‌های عضلانی به همراه pH نیز بر رنگ گوشت تأثیر می‌گذارد (Johnson et al., 2008). عامل مهم دیگری که در ارتقای کیفیت گوشت مؤثر می‌باشد، بهبود ظرفیت آنتی‌اکسدانی بدن است (Saleh et al., 2018; Saleh et al., 2017; Wang et al., 2020). در مطالعه فعلی، کمترین مقدار MDA گوشت سینه که بیانگر اکسیداسیون ثانویه است، در جوجه‌های تغذیه شده با اسیدی‌فایر A و سطوح بالای باکتریوفاز، مشاهده شد.

تأثیر افزودن آنتی‌بیوتیک، باکتریوفاز و اسیدی‌فایرها به جیره بر کیفیت گوشت عضله سینه جوجه‌های گوشتی در جدول ۴ نشان داده شده است. هیچ تفاوت آماری معنی‌داری برای میزان آب از دست رفته در سردخانه (Drip loss)، افت و خروج آب ناشی از پخت (Cooking loss) و نیز pH گوشت (۴۵ دقیقه و ۲۴ ساعت بعد) در بین تیمارهای آزمایشی مشاهده نشد ( $p > 0.05$ ) ولی در مقابل ظرفیت نگهداری آب گوشت سینه جوجه‌های تغذیه شده با اسیدی‌فایرها و باکتریوفاز نسبت به جوجه‌های گروه شاهد و آنتی‌بیوتیک بیشتر بود ( $p < 0.05$ ). شاخص روشنایی (L\*) گوشت، تحت تأثیر جیره‌های آزمایشی قرار گرفت، به طوری که بالاترین میزان L\* در گوشت جوجه‌های تغذیه شده با باکتریوفاز مشاهده شد ( $p < 0.05$ ). در مقابل، اثر تیمارهای آزمایشی بر قرمزی (a\*) و زردی (b\*) گوشت معنی‌دار نبود. همچنین کمترین میزان اکسیداسیون گوشت (MDA) در جوجه‌های مصرف کننده باکتریوفاز و اسیدی‌فایر A مشاهده شد.

یکی از مهم‌ترین عوامل تأثیرگذار در خرید فرآورده‌های گوشتی طیور توسط مصرف کنندگان، رنگ گوشت می‌باشد. گنجاندن مکمل باکتریوفاز در جیره بویژه سطح بالای آن، باعث افزایش روشنایی (L\*) گوشت در مقایسه با سایر گروه‌ها شد. همسو با نتایج فعلی، یک افزایش در روشنی گوشت در اثر استفاده از

## جدول ۴- تأثیر تیمارهای آزمایشی بر کیفیت گوشت عضله سینه جوجه‌های گوشتی

Table 4. The dietary effect of experimental treatments on the meat quality of broiler

مالون دی‌آلدئید Malondialdehyde (MDA)	رنگ گوشت سینه Breast muscle color			۲۴ pH	۴۵ pH	افت پخت (درصد) Cooking loss (%)	ظرفیت نگهداری Water holding capacity	آب از دست رفته در ۲۴ ساعت، درصد Drip loss (%)	تیمارهای آزمایشی <sup>۱</sup> Expeimental diets <sup>۱</sup>
	b*	a*	L*	pH 24 h	pH 45 min				
0.17 <sup>a</sup>	10.2	12.9	56.3 <sup>b</sup>	5.76	6.35	20.2	51.4 <sup>b</sup>	3.94	شاهد Control
0.17 <sup>a</sup>	10.4	12.8	56.3 <sup>b</sup>	5.76	6.34	20.1	51.4 <sup>b</sup>	3.91	آنتی بیوتیک Antibiotic
0.16 <sup>b</sup>	11.2	12.7	56.8 <sup>a</sup>	5.66	6.34	20.0	55.5 <sup>a</sup>	3.99	باکتریوفاج ۱ Bacteriophage 1
0.16 <sup>b</sup>	11.3	12.9	56.9 <sup>a</sup>	5.63	6.28	19.9	55.6 <sup>a</sup>	4.01	باکتریوفاج ۲ Bacteriophage 2
0.16 <sup>b</sup>	10.9	12.8	56.3 <sup>b</sup>	5.78	6.36	20.1	55.4 <sup>a</sup>	3.93	اسیدفایر A Acidifier A
0.16 <sup>ab</sup>	11.1	13	56.2 <sup>b</sup>	5.72	6.34	20.3	55.4 <sup>a</sup>	3.83	اسیدفایر B Acidifier B
0.01	0.23	0.50	0.03	0.38	0.25	0.19	0.02	0.29	سطح معنی‌داری P-Value
0.002	0.44	0.59	1.01	0.43	0.49	0.209	0.75	0.12	خطای استاندارد میانگین SEM

<sup>۱</sup> تیمارهای آزمایشی: شاهد: فاقد افزودنی؛ آنتی‌بیوتیک: شاهد + ۴۰ میلی‌گرم آنتی‌بیوتیک اینروفلوکساسین ۱۰ درصد/ کیلوگرم جیره؛ باکتریوفاج ۱: شاهد+۵/۰ گرم باکتریوفاج ProBe-Bac / کیلوگرم جیره؛ باکتریوفاج ۲: شاهد + ۵/۰ گرم باکتریوفاج ProBe-Bac / کیلوگرم جیره؛ اسیدفایر A: شاهد + ۳ گرم در کیلوگرم اسیدی‌فایر ACID؛ اسیدفایر B: شاهد + ۳ گرم در کیلوگرم اسیدی‌فایر Novibac® CF60

a-c وجود حروف متفاوت در هر ستون بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار در بین میانگین‌ها می‌باشد ( $p < 0.05$ ).

<sup>۱</sup> Expeimental diets: Control: Without supplemented; Antibiotic: Control+40 mg/kg of antibiotic; Bacteriophage 1: Control+0.5 g/kg Bacteriophage ProBe-Bac; Bacteriophage 2: Control+0.5 g/kg Bacteriophage ProBe-Bac; Acidifier A: 3 g/kg Acidifier ACID; Acidifier B: 3 g/kg Acidifier Novibac® CF60

<sup>a-c</sup> Means in each column with different superscripts are significantly different ( $p < 0.05$ ). SEM: Standard Error of the Mean

نگرفتند. همسو با نتایج ما، افزودن باکتریوفاج به جیره جوجه‌های گوشتی سبب بهبود پاسخ ایمنی و افزایش میزان ایمونوگلوبولین‌های M (IgM) و کل در سرم خون شد ( $p < 0.05$ ). در مطالعه فعلی، افزودن اسیدی‌فایر B به جیره سبب کاهش ایمونوگلوبولین‌های G (IgG) در سرم خون جوجه‌ها شد ( $P < 0.05$ ).

تأثیر جیره‌های آنتی‌بیوتیک، باکتریوفاج و اسیدی‌فایرها بر پاسخ‌های ایمنی و همورال، شمار گلبول‌های قرمز و سفید خون جوجه‌های گوشتی در جدول ۵ نشان داده شده‌است. تنها پاسخ سیستم ایمنی همورال (Anti-SRBC titer) مربوط به جوجه‌های گوشتی تحت تأثیر جیره‌های آزمایشی قرار گرفت ولی در مقابل پاسخ ایمنی سلولی، شمار گلبول‌های قرمز و سفید و نیز میزان لنفوسیت خون تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار

## جدول ۵- تأثیر تیمارهای آزمایشی بر پاسخ‌های ایمنی و همورال، شمار گلبول‌های قرمز و سفید خون جوجه‌های گوشتی

Table 5. The dietary effect of experimental treatments on immune and humoral responses, red blood cells and white blood cells of broiler chickens

لنفوسیت Lymphocyte (%)	کیلول سفید WBC (μl)	کیلول قرمز RBC (μl)	پاسخ ایمنی سلولی Swelling response (mm)		تیتراژ آنتی‌بادی علیه کیلول قرمز خون گوسفند Anti-SRBC titer (Log <sub>2</sub> )			تیمارهای آزمایشی <sup>۱</sup> Expeimental diets <sup>۱</sup>
			24	12	Ig T	Ig G	Ig M	
45.2	321	2.21	3.16	3.14	7.97 <sup>b</sup>	2.40 <sup>a</sup>	5.57 <sup>b</sup>	شاهد Control
44.3	320	2.20	3.12	3.11	7.99 <sup>b</sup>	2.38 <sup>a</sup>	5.53 <sup>b</sup>	آنتی بیوتیک Antibiotic
49.3	324	2.21	3.15	3.13	8.23 <sup>a</sup>	2.51 <sup>a</sup>	5.73 <sup>a</sup>	باکتریوفاج ۱ Bacteriophage 1
56.2	328	2.24	3.15	3.15	8.30 <sup>a</sup>	2.52 <sup>a</sup>	5.78 <sup>a</sup>	باکتریوفاج ۲ Bacteriophage 2
51.1	319	2.21	3.14	3.16	8.07 <sup>b</sup>	2.40 <sup>a</sup>	5.67 <sup>ab</sup>	اسیدفایر A Acidifier A
50.3	326	2.23	3.13	3.14	۷۷۷ <sup>c</sup>	2.23 <sup>b</sup>	5.55 <sup>b</sup>	اسیدفایر B Acidifier B
0.28	0.39	0.52	0.66	0.52	0.01	0.03	0.04	سطح معنی‌داری P-Value
8.56	19.2	0.26	0.23	0.29	0.54	0.23	0.43	خطای استاندارد میانگین SEM

<sup>۱</sup> تیمارهای آزمایشی: شاهد: فاقد افزودنی؛ آنتی‌بیوتیک: شاهد + ۴۰ میلی‌گرم آنتی‌بیوتیک اینروفلوکساسین ۱۰ درصد/ کیلوگرم جیره؛ باکتریوفاج ۱: شاهد+۵/۰ گرم باکتریوفاج ProBe-Bac / کیلوگرم جیره؛ باکتریوفاج ۲: شاهد + ۵/۰ گرم باکتریوفاج ProBe-Bac / کیلوگرم جیره؛ اسیدفایر A: شاهد + ۳ گرم در کیلوگرم اسیدی‌فایر ACID؛ اسیدفایر B: شاهد + ۳ گرم در کیلوگرم اسیدی‌فایر Novibac® CF60

a-c وجود حروف متفاوت در هر ستون بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار در بین میانگین‌ها می‌باشد ( $p < 0.05$ ).

<sup>۱</sup> Expeimental diets: Control: Without supplemented; Antibiotic: Control+40 mg/kg of antibiotic; Bacteriophage 1: Control+0.5 g/kg Bacteriophage ProBe-Bac; Bacteriophage 2: Control+0.5 g/kg Bacteriophage ProBe-Bac; Acidifier A: 3 g/kg Acidifier ACID; Acidifier B: 3 g/kg Acidifier Novibac® CF60

<sup>a-c</sup> Means in each column with different superscripts are significantly different ( $P < 0.05$ ). SEM: Standard Error of the Mean

بیشترین مقدار ارتفاع پرز دئودنوم (۳۷۹ میکرومتر) و ژئوژنوم (۳۴۸) در گروه تغذیه شده با ۱۰۰۰ گرم باکتریوفاج/۱۰۰۰ کیلوگرم ماده خشک خوراک و کمترین میزان ارتفاع پرز دئودنوم (۳۶۱ میکرومتر) و ژئوژنوم (۳۲۷) در گروه‌های تغذیه شده با

اثر افزودن آنتی‌بیوتیک، اسیدی‌فایرها و باکتریوفاج بر ریخت‌شناسی دئودنوم و ژئوژنوم و pH روده در جدول ۶ ارائه شده‌است. ارتفاع پرز و عمق کریپت در هر دو بخش دئودنوم و ژئوژنوم تحت تأثیر جیره‌های آزمایشی قرار گرفت ( $p < 0.05$ ).

مختلف روده برخوردار بودند. همسو با نتایج ما، گزارش مشابهی نیز در خوکچه‌هایی تغذیه شده با باکتریوفاژ، منتشر شده است (Lee et al., 2016).

در مطالعه فعلی، بررسی افزودن اسیدی‌فایرها به جیره نشان داد که آن‌ها تأثیری بر ریخت‌شناسی روده ندارند. در گزارش مشابهی نیز عنوان شده است که استفاده از اسیدهای آلی در جیره، تأثیری بر ریخت‌شناسی روده باریک (دوازدهه) خوک‌ها ندارد (Xu et al., 2018). همچنین گزارش شده است که باکتریوفاژها بر علیه باکتری‌های اشریشیاکلی، سالمونلا و کلستریدیوم پرفرجنس مؤثر هستند. در پژوهش فعلی از باکتریوفاژ ProBe-Bac استفاده شد که مجموعه‌ای از فاژهای مختلف بر علیه گونه‌های سالمونلا را در خود جای داده است. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که جمعیت باکتری‌های لاکتوباسیلوس، بیفیدوباکتری‌ها و باکتری‌های اسید لاکتیک در روده در اثر افزودن باکتریوفاژ به جیره، افزایش یافت. گزارش شده است که اسید لاکتیک تولید شده در محیط روده، بر توزیع و تعداد سلول‌های لنفوئیدی واقع در روده باریک نیز تأثیرگذار می‌باشد، به طوری که این عملکرد باعث ایجاد تعادل در ترکیب میکروفلور روده می‌شود و می‌تواند باعث یکپارچگی مخاط روده شود (van der Wielen et al., 2000).

اسیدی‌فایر A مشاهده شد ( $p < 0.05$ ). بیشترین میزان عمق کریپت در دئودنوم (۱۱۶ میکرومتر) و ژئونوم (۱۰۷) نیز در گروه‌های دریافت‌کننده باکتریوفاژ و کمترین عمق کریپت در گروه تغذیه شده با آنتی‌بیوتیک مشاهده شد. شاخص ارتفاع پرز/عمق کریپت، pH و محتویات ایلئومی و سکومی تحت تأثیر جیره‌های آزمایشی قرار نگرفتند.

از طریق بررسی ریخت‌شناسی و وضعیت روده می‌توان سلامت و یکپارچگی روده را ارزیابی نمود (Mirakzahi et al., 2022; Paiva et al., 2014; Zamanizadeh et al., 2021). پرزهای بلندتر سطح جذب روده را افزایش می‌دهند و عمق کریپت کوتاه‌تر نشان‌دهنده گردش بافت کمتر می‌باشد که منجر به تقاضای کمتر جهت رشد بافت می‌شود (Sokale et al., 2019). ارتفاع پرزهای روده، عمق کریپت و نسبت آن‌ها نه تنها بر عملکرد هضم و جذب روده تأثیر می‌گذارد، بلکه با تکثیر باکتری‌های مضر نیز ارتباط تنگاتنگی دارد (Zhang et al., 2019). گزارش شده است که افزایش ارتفاع پرزهای روده‌ای، باعث کاهش باکتری‌های بیماری‌زا در روده باریک جوجه‌های گوشتی می‌شود (Clavijo & Flórez, 2018). در تحقیق فعلی، جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با جیره‌های حاوی دوز بالای باکتریوفاژ از ارتفاع پرز بالاتری در قسمت‌های

جدول ۶- تأثیر تیمارهای آزمایشی بر خصوصیات ریخت‌شناسی و pH روده

Table 6. The dietary effect of experimental treatments on the morphological characteristics and pH of the intestine

pH سکوم pH cecum	pH ایلئوم pH ileum	ژئونوم (Jejunum)			دئودنوم (Duodenum)			تیمارهای آزمایشی <sup>۱</sup> Expeimental diets <sup>۱</sup>
		ارتفاع/عمق پرز VH/CP ratio	عمق کریپت Crypt depth (μm)	ارتفاع پرز Villus height (μm)	ارتفاع/عمق پرز VH/CP ratio	عمق کریپت Crypt depth (μm)	ارتفاع پرز Villus height (μm)	
5.52	7.59	3.24	103 <sup>ab</sup>	333 <sup>b</sup>	3.33	109 <sup>b</sup>	363 <sup>b</sup>	شاهد Control
5.51	7.55	3.35	101 <sup>ab</sup>	339 <sup>b</sup>	3.37	108 <sup>b</sup>	364 <sup>b</sup>	آنتی‌بیوتیک Antibiotic
5.50	7.50	3.22	104 <sup>ab</sup>	333 <sup>b</sup>	3.39	111 <sup>ab</sup>	376 <sup>a</sup>	باکتریوفاژ ۱ Bacteriophage 1
5.50	7.39	3.26	107 <sup>a</sup>	348 <sup>a</sup>	3.24	116 <sup>a</sup>	379 <sup>a</sup>	باکتریوفاژ ۲ Bacteriophage 2
5.49	7.55	3.19	103 <sup>ab</sup>	327 <sup>b</sup>	3.24	114 <sup>ab</sup>	361 <sup>b</sup>	اسیدفایر A Acidifier A
5.53	7.49	3.20	103 <sup>ab</sup>	329 <sup>b</sup>	3.38	108 <sup>b</sup>	362 <sup>b</sup>	اسیدفایر B Acidifier B
0.28	0.38	0.51	0.01	0.02	0.35	0.01	0.03	سطح معنی‌داری P-Value
0.329	0.62	0.34	7.38	21.3	0.35	7.89	21.2	خطای استاندارد میانگین SEM

<sup>۱</sup> تیمارهای آزمایشی: شاهد: فاقد افزودنی؛ آنتی‌بیوتیک: شاهد + ۴۰ میلی‌گرم آنتی‌بیوتیک اینروفلوکساسین ۱۰ درصد/کیلوگرم جیره؛ باکتریوفاژ ۱: شاهد+۰/۵/گرم باکتریوفاژ ProBe-Bac / کیلوگرم جیره؛ باکتریوفاژ ۲: شاهد +۰/۵/گرم باکتریوفاژ ProBe-Bac / کیلوگرم جیره؛ اسیدفایر A: شاهد + ۳ گرم در کیلوگرم اسیدی‌فایر ACID؛ اسیدفایر B: شاهد + ۳ گرم در کیلوگرم اسیدی‌فایر Novibac® CF60

<sup>a-c</sup> وجود حروف متفاوت در هر ستون بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار در بین میانگین‌ها می‌باشد ( $p < 0.05$ ).

<sup>۱</sup>Expeimental diets: Control: Without supplemented; Antibiotic: Control+40 mg/kg of antibiotic; Bacteriophage 1: Control+0.5 g/kg Bacteriophage ProBe-Bac; Bacteriophage 2: Control+0.5 g/kg Bacteriophage ProBe-Bac; Acidifier A:3 g/kg Acidifier ACID; Acidifier B:3 g/kg Acidifier Novibac® CF60. SEM: Standard Error of the Mean

باکتریوفاژ/۱۰۰۰ کیلوگرم خوراک و بیشترین میزان سالمونلا آنتریدیس نیز در گروه شاهد مشاهده شد ( $p < 0.05$ ). جمعیت باکتری‌های اشریشیاکلی و باکتری‌های تولیدکننده اسید لاکتیک (LAB) تحت تأثیر گروه‌های آزمایشی قرار نگرفتند. نوع و ترکیب باکتری‌های دستگاه گوارش پرنده عامل مهمی در بهبود عملکرد طیور و سلامت گله محسوب می‌گردند و میزان فعالیت و تکثیر باکتری‌های بیماری‌زا، می‌تواند سلامت گله را تحت تأثیر قرار دهد (Marković et al., 2009).

اثر افزودن جیره‌ای آنتی‌بیوتیک، باکتریوفاژ و اسیدی‌فایرها بر جمعیت میکروبی ایلئوم جوجه‌های گوشتی در جدول ۷ آورده شده است. جمعیت لاکتوباسیلوس، بیفیدوباکتری‌ها، سالمونلا آنتریدیس و کلستریدیوم پرفرجنس تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفتند ( $p < 0.05$ ). کمترین میزان جمعیت مربوط به باکتری‌های فوق در جوجه‌های تغذیه شده با آنتی‌بیوتیک مشاهده شد. در مقابل، بیشترین تعداد لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتری‌ها در گروه تغذیه شده با ۱۰۰۰ گرم

pH دستگاه گوارش تحت تأثیر استفاده از اسیدی‌فایرها در جیره قرار نمی‌گیرد (Giannenas *et al.*, 2014; Palamidi *et al.*, 2016). چن و همکاران (Chen *et al.*, 2020) بیان داشتند که یکی از مکانیسم‌های اصلی و مؤثر در کاهش جمعیت انتروباکترها در ایلئوم و سکوم جوجه‌های گوشتی، تولید اسیدهای چرب فرار توسط لاکتوباسیلوس جانسونی بوده که در نهایت می‌تواند منجر به کاهش pH روده شود.

در آزمایش فعلی به‌نظر می‌رسد افزایش قابل توجه لاکتوباسیلوس‌ها و افزایش عددی بیفیدوباکترها و باکتری‌های تولیدکننده اسید لاکتیک در گروه‌های دریافت‌کننده باکتریوفاژ و تا حدود کمتر در اسیدی‌فایرها، مهم‌ترین عامل در کاهش گونه‌های سالمونلا انتریتیدیس، اشیشیالکی و کلسترییدیوم پرفرنجنس در جوجه‌های گوشتی باشد. بوتای و همکاران (Butaye *et al.*, 2003) با بیان این واقعیت که جمعیت لاکتوباسیلوس‌ها در پرندگان تغذیه‌شده با آنتی‌بیوتیک‌ها کاهش می‌یابد، نگرانی‌های بالقوه‌ای را مطرح کردند. این نگرانی نیز در آزمایش حاضر برای گروه‌های دریافت‌کننده آنتی‌بیوتیکی نیز وجود دارد. در مطالعات قبلی مشخص شد که تکثیر گونه‌های تولیدکننده اسید لاکتیک، مضرات رقابتی را در برابر باکتری‌های مضر همچون سالمونلا تیفوئوریوم، استافیلوکوکوس و اشیشیالکی در روده باریک جوجه‌ها افزایش می‌دهد (Olnood *et al.*, 2015).

کنترل عوامل بیماری‌زا از جمله کلسترییدیوم، سالمونلا و اشیشیالکی در طیور، باکتریوفاژهای طراحی شده بر علیه این عوامل، ممکن است به‌عنوان یک جایگزین‌کننده طبیعی، غیرسمی، اقتصادی و مفید در نظر گرفته شوند (Upadhaya *et al.*, 2021). وانگ و همکاران (Wang *et al.*, 2013) گزارش کردند که باکتریوفاژها می‌توانند باعث افزایش جمعیت لاکتوباسیلوس‌ها و کاهش جمعیت اشیشیالکی و سالمونلا در مدفوع پرندها شوند. همسو با نتایج ما، کاهش کلونیزاسیون سالمونلا و اشیشیالکی در سکوم در اثر مکمل کردن جیره با باکتریوفاژها گزارش شده است (Atterbury *et al.*, 2007). همچنین گونسالوز و همکاران (Gonçalves *et al.*, 2014) گزارش کردند که استفاده از باکتریوفاژهای لیتیک در جیره طیور می‌تواند باعث کاهش جمعیت باکتری‌های سالمونلا انتریتیدیس در سکوم شود.

اسیدی‌فایرها از طریق مانع از رشد باکتری‌های بیماری‌زا (مانند اشیشیالکی و سالمونلا)، بر pH روده تأثیر می‌گذارند (Gao *et al.*, 2021). همچنین اسیدی‌فایرها مانع از تکثیر باکتری‌های اشیشیالکی و سالمونلا در pH کمتر از ۵ شده، ولی در عین حال آن‌هایی که مقاوم به اسید هستند، می‌توانند زنده بمانند. کاهش pH جیره می‌تواند منجر به کاهش pH دستگاه گوارش پرندگان شده و در نتیجه محیطی مطلوب را برای عدم رشد میکروب‌های مضر فراهم کند (Kim *et al.*, 2014). همسو با نتایج ما، چندین پژوهشگر گزارش کردند که

جدول ۷- تأثیر تیمارهای آزمایشی بر جمعیت میکروبی (log<sub>10</sub> cfu/g) ایلئوم

Table 7. The dietary effect of experimental treatments on the ileal microbiota (log<sub>10</sub> cfu/g)

کلسترییدیوم پرفرنجنس <i>Clostridium</i> spp.	سالمونلا انتریتیدیس <i>Salmonella enterica</i>	بیفیدوباکتریوم <i>Bifidobacterium</i> spp.	لاکتوباسیلوس <i>Lactobacillus</i>	باکتری‌های اسید لاکتیک <i>Lactic acid bacteria</i>	اشیشیالکی <i>Escherichia coli</i>	تیمارهای آزمایشی <sup>۱</sup> Expeimental diets <sup>۱</sup>
4.22 <sup>a</sup>	5.52 <sup>a</sup>	3.92 <sup>ab</sup>	7.07 <sup>b</sup>	7.77	5.28	شاهد Control
3.66 <sup>c</sup>	4.01 <sup>c</sup>	3.222 <sup>c</sup>	6.53 <sup>c</sup>	7.35	5.06	آنتی‌بیوتیک Antibiotic
3.92 <sup>ab</sup>	4.31 <sup>b</sup>	4.11 <sup>a</sup>	7.16 <sup>ab</sup>	7.96	5.09	باکتریوفاژ ۱ Bacteriophage 1
3.73 <sup>c</sup>	4.12 <sup>c</sup>	4.10 <sup>a</sup>	7.29 <sup>a</sup>	7.95	5.08	باکتریوفاژ ۲ Bacteriophage 2
4.11 <sup>ab</sup>	4.48 <sup>b</sup>	4.05 <sup>a</sup>	7.05 <sup>b</sup>	7.71	5.29	اسیدفایر A Acidifier A
4.09 <sup>ab</sup>	4.32 <sup>b</sup>	4.06 <sup>a</sup>	7.12 <sup>ab</sup>	7.81	5.24	اسیدفایر B Acidifier B
0.001	0.001	0.001	0.02	0.38	0.21	سطح معنی‌داری P-Value
0.117	0.109	0.128	0.62	0.64	0.34	خطای استاندارد میانگین SEM

<sup>۱</sup> تیمارهای آزمایشی: شاهد: فاقد افزودنی؛ آنتی‌بیوتیک: شاهد + ۴۰ میلی‌گرم آنتی‌بیوتیک اینروفلوکساسین ۱۰ درصد / کیلوگرم جیره؛ باکتریوفاژ ۱: شاهد + ۵/۰ گرم باکتریوفاژ ProBe-Bac / کیلوگرم جیره؛ باکتریوفاژ ۲: شاهد + ۵/۰ گرم باکتریوفاژ ProBe-Bac / کیلوگرم جیره؛ اسیدفایر A: شاهد + ۳ گرم در کیلوگرم اسیدی‌فایر ACID؛ اسیدفایر B: شاهد + ۳ گرم در کیلوگرم اسیدی‌فایر Novibac® CF60

<sup>a-c</sup> وجود حروف متفاوت در هر ستون بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار در بین میانگین‌ها می‌باشد ( $p < 0.05$ ).

<sup>۱</sup> Expeimental diets: Control: Without supplemented; Antibiotic: Control+40 mg/kg of antibiotic; Bacteriophage 1: Control+0.5 g/kg Bacteriophage ProBe-Bac; Bacteriophage 2: Control+0.5 g/kg Bacteriophage ProBe-Bac; Acidifier A: 3 g/kg Acidifier ACID; Acidifier B: 3 g/kg Acidifier Novibac® CF60

<sup>a-c</sup> Means in each column with different superscripts are significantly different ( $p < 0.05$ ). SEM: Standard Error of the Mean

شد. علاوه بر این، از باکتریوفاژها می‌توان به‌عنوان یک جایگزین‌کننده مفید و مؤثر در جیره جوجه‌های گوشتی بجای آنتی‌بیوتیک‌ها استفاده نمود.

به‌طور کلی، افزودن ۱ گرم باکتریوفاژ در کیلوگرم جیره، علاوه بر بهبود عملکرد رشد، ارتقای سیستم ایمنی و بهبود کیفیت گوشت باعث ایجاد تغییرات مناسب در ریخت‌شناسی روده و استقرار جمعیت باکتری‌های مفید در روده جوجه‌های گوشتی

## References

- Abudabos, A. M., Aljumaah, M. R., Abdullatif, A., & Suliman, G. M. (2020). Feed supplementation with some natural products on Salmonella-infected broilers' performance and intestinal injury during the starter period. *Italian Journal of Animal Science*, 19(1), 1304-1309.
- Ahn, D., Olson, D., Jo, C., Love, J., & Jin, S. (1999). Volatiles production and lipid oxidation in irradiated cooked sausage as related to packaging and storage. *Journal of Food Science*, 64(2), 226-229.

- Atterbury, R. J., Van Bergen, M., Ortiz, F., Lovell, M., Harris, J., De Boer, A., Wagenaar, J., Allen, V., & Barrow, P. (2007). Bacteriophage therapy to reduce *Salmonella* colonization of broiler chickens. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(14), 4543-4549.
- Bae, D., Lee, J.-W., Chae, J.-P., Kim, J.-W., Eun, J.-S., Lee, K.-W., & Seo, K.-H. (2021). Characterization of a novel bacteriophage  $\phi$ CJ22 and its prophylactic and inhibitory effects on necrotic enteritis and *Clostridium perfringens* in broilers. *Poultry Science*, 100(1), 302-313.
- Butaye, P., Devriese, L. A., & Haesebrouck, F. (2003). Antimicrobial growth promoters used in animal feed: effects of less well known antibiotics on gram-positive bacteria. *Clinical Microbiology Reviews*, 16(2), 175-188.
- Chang, C. H., Teng, P. Y., Lee, T. T., & Yu, B. (2020). Effects of multi-strain probiotic supplementation on intestinal microbiota, tight junctions, and inflammation in young broiler chickens challenged with *Salmonella enterica* subsp. *enterica*. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 33(11), 1797-1808.
- Chen, C., Li, J., Zhang, H., Xie, Y., Xiong, L., Liu, H., & Wang, F. (2020). Effects of a probiotic on the growth performance, intestinal flora, and immune function of chicks infected with *Salmonella pullorum*. *Poultry Science*, 99(11), 5316-5323.
- Cieplak, T., Soffer, N., Sulakvelidze, A., & Nielsen, D. S. (2018). A bacteriophage cocktail targeting *Escherichia coli* reduces *E. coli* in simulated gut conditions, while preserving a non-targeted representative commensal normal microbiota. *Gut Microbes*, 9(5), 391-399.
- Clavijo, V., & Flórez, M. J. V. (2018). The gastrointestinal microbiome and its association with the control of pathogens in broiler chicken production: A review. *Poultry Science*, 97(3), 1006-1021.
- Elhassan, M., Ali, A., Kehlet, A., Ali, O., & Harrington, D. (2021). The Response of Broiler Chicks to Dietary Supplementation with a Probiotic, Acidifiers Blend, and Their Combination. *Brazilian Journal of Poultry Science*, 23.
- Fiorentin, L., Vieira, N. D., & Barioni Jr, W. (2005). Oral treatment with bacteriophages reduces the concentration of *Salmonella* Enteritidis PT4 in caecal contents of broilers. *Avian Pathology*, 34(3), 258-263.
- Fletcher, D., Qiao, M., & Smith, D. (2000). The relationship of raw broiler breast meat color and pH to cooked meat color and pH. *Poultry Science*, 79(5), 784-788.
- Gadde, U., Kim, W., Oh, S., & Lillehoj, H. S. (2017). Alternatives to antibiotics for maximizing growth performance and feed efficiency in poultry: a review. *Animal Health Research Reviews*, 18(1), 26-45.
- Gao, C.-Q., Shi, H.-Q., Xie, W.-Y., Zhao, L.-H., Zhang, J.-Y., Ji, C., & Ma, Q.-G. (2021). Dietary supplementation with acidifiers improves the growth performance, meat quality and intestinal health of broiler chickens. *Animal Nutrition*, 7(3), 762-769.
- Giannenas, I., Papanophytou, C., Tsalie, E., Pappas, I., Triantafyllou, E., Tontis, D., & Kontopidis, G. (2014). Dietary supplementation of benzoic acid and essential oil compounds affects buffering capacity of the feeds, performance of turkey poults and their antioxidant status, pH in the digestive tract, intestinal microbiota and morphology. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 27(2), 225.
- Gonçalves, G. A. M., Donato, T. C., Baptista, A. A. S., de Oliveira Corrêa, I. M., Garcia, K. C. O. D., & Andreatti Filho, R. L. (2014). Bacteriophage-induced reduction in *Salmonella* Enteritidis counts in the crop of broiler chickens undergoing pre-slaughter feed withdrawal. *Poultry Science*, 93(1), 216-220.
- Johnson, R., Gyles, C., Huff, W., Ojha, S., Huff, G., Rath, N., & Donoghue, A. (2008). Bacteriophages for prophylaxis and therapy in cattle, poultry and pigs. *Animal Health Research Reviews*, 9(2), 201-215.
- Khan, S. H., & Iqbal, J. (2016). Recent advances in the role of organic acids in poultry nutrition. *Journal of Applied Animal Research*, 44(1), 359-369.
- Kim, K., Ingale, S., Kim, J., Lee, S., Lee, J., Kwon, I., & Chae, B. (2014). Bacteriophage and probiotics both enhance the performance of growing pigs but bacteriophage are more effective. *Animal Feed Science and Technology*, 196, 88-95.
- Kim, K., Lee, G., Jang, J., Kim, J., & Kim, Y. (2013). Evaluation of anti-SE bacteriophage as feed additives to prevent *Salmonella enteritidis* (SE) in broiler. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 26(3), 386.
- Lee, S., Hosseindoust, A., Goel, A., Choi, Y., Kwon, I. K., & Chae, B. (2016). Effects of dietary supplementation of bacteriophage with or without zinc oxide on the performance and gut development of weanling pigs. *Italian Journal of Animal Science*, 15(3), 412-418.
- Liebana, E., Crowley, C., Garcia-Migura, L., Breslin, M., Corry, J., Allen, V., & Davies, R. (2002). Use of molecular fingerprinting to assist the understanding of the epidemiology of *Salmonella* contamination within broiler production. *British Poultry Science*, 43(1), 38-46.
- Lim, T.-H., Lee, D.-H., Lee, Y.-N., Park, J.-K., Youn, H.-N., Kim, M.-S., Lee, H.-J., Yang, S.-Y., Cho, Y.-W., & Lee, J.-B. (2011). Efficacy of bacteriophage therapy on horizontal transmission of *Salmonella Gallinarum* on commercial layer chickens. *Avian Diseases*, 55(3), 435-438.
- Mahdavi Sadati, M. S., Rezaeipour, V., & Abdollahpour, R. (2023). The effects of wheat grain type (whole and ground) pre-and post-pellet on performance, carcass characteristics, nutrient digestibility and blood immunity and metabolites in broiler chickens received acidified drinking water. *Veterinary Research & Biological Products*, 36(3), 12-23.
- Marković, R., Šefer, D., Krstić, M., & Petrujković, B. (2009). Effect of different growth promoters on broiler performance and gut morphology. *Archivos de Medicina Veterinaria*, 41(2), 163-169.
- McGrath, S., Fitzgerald, G. F., & van Sinderen, D. (2004). The impact of bacteriophage genomics. *Current Opinion in Biotechnology*, 15(2), 94-99.
- Miller, R. W., Skinner, J., Sulakvelidze, A., Mathis, G. F., & Hofacre, C. L. (2010). Bacteriophage therapy for control of necrotic enteritis of broiler chickens experimentally infected with *Clostridium perfringens*. *Avian Diseases*, 54(1), 33-40.
- Mirakzehi, M., Agah, M., Baranzehi, T., & Saleh, H. (2022). The Effects of *Saccharomyces Cerevisiae* and Citric Acid on Productive Performance, Egg Quality Parameters, Small Intestina Morphology, and Immune-Related Gene Expression in Laying Japanese Quails. *Brazilian Journal of Poultry Science*, 24.
- Olnood, C. G., Beski, S. S., Choct, M., & Iji, P. A. (2015). Use of *Lactobacillus johnsonii* in broilers challenged with *Salmonella* sofia. *Animal Nutrition*, 1(3), 203-212.
- Paiva, D., Walk, C., & McElroy, A. (2014). Dietary calcium, phosphorus, and phytase effects on bird performance, intestinal morphology, mineral digestibility, and bone ash during a natural necrotic enteritis episode. *Poultry Science*, 93(11), 2752-2762.

- Palamidi, I., Paraskeuas, V., Theodorou, G., Breitsma, R., Schatzmayr, G., Theodoropoulos, G., Fegeros, K., & Mountzouris, K. C. (2016). Effects of dietary acidifier supplementation on broiler growth performance, digestive and immune function indices. *Animal Production Science*, 57(2), 271-281.
- Park, S., Perrotta, A., Hanning, I., Diaz-Sanchez, S., Pendleton, S., Alm, E., & Ricke, S. (2017). Pasture flock chicken cecal microbiome responses to prebiotics and plum fiber feed amendments. *Poultry Science*, 96(6), 1820-1830.
- SA AF, E.-S. M., El-Mednay, N., & Abdel-Azeem, F. (2008). Thyroid activity, some blood constituents, organs morphology and performance of broiler chicks fed supplemental organic acids. *International Journal of Poultry Science*, 7(3), 215-222.
- Saleh, H., Golian, A., Kermanshahi, H., & Mirakzahi, M. (2018). Antioxidant status and thigh meat quality of broiler chickens fed diet supplemented with  $\alpha$ -tocopherolacetate, pomegranate pomace and pomegranate pomace extract. *Italian Journal of Animal Science*, 17(2), 386-395.
- Saleh, H., Golian, A., Kermanshahi, H., & Mirakzahi, M. T. (2017). Effects of dietary  $\alpha$ -tocopherol acetate, pomegranate peel, and pomegranate peel extract on phenolic content, fatty acid composition, and meat quality of broiler chickens. *Journal of Applied Animal Research*, 45(1), 629-636.
- Sklar, I., & Joerger, R. (2001). Attempts to utilize bacteriophage to combat. In: Salmonella.
- Sokale, A., Menconi, A., Mathis, G., Lumpkins, B., Sims, M., Whelan, R., & Doranalli, K. (2019). Effect of *Bacillus subtilis* DSM 32315 on the intestinal structural integrity and growth performance of broiler chickens under necrotic enteritis challenge. *Poultry Science*, 98(11), 5392-5400.
- Toro, H., Price, S., McKee, S., Hoerr, F., Krehling, J., Perdue, M., & Bauermeister, L. (2005). Use of bacteriophages in combination with competitive exclusion to reduce Salmonella from infected chickens. *Avian Diseases*, 49(1), 118-124.
- Upadhaya, S. D., Ahn, J. M., Cho, J. H., Kim, J. Y., Kang, D. K., Kim, S. W., Kim, H. B., & Kim, I. H. (2021). Bacteriophage cocktail supplementation improves growth performance, gut microbiome and production traits in broiler chickens. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 12(1), 1-12.
- Van der Wielen, P. W., Biesterveld, S., Notermans, S., Hofstra, H., Urlings, B. A., & van Knapen, F. (2000). Role of volatile fatty acids in development of the cecal microflora in broiler chickens during growth. *Applied and Environmental Microbiology*, 66(6), 2536-2540.
- Vinolya, R. E., Balakrishnan, U., Yasir, B., & Chandrasekar, S. (2021). Effect of dietary supplementation of acidifiers and essential oils on growth performance and intestinal health of broiler. *Journal of Applied Poultry Research*, 30(3), 100179.
- Wang, J., Yan, L., Lee, J., & Kim, I. H. (2013). Evaluation of bacteriophage supplementation on growth performance, blood characteristics, relative organ weight, breast muscle characteristics and excreta microbial shedding in broilers. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 26(4), 573.
- Wang, Y., Li, L., Gou, Z., Chen, F., Fan, Q., Lin, X., Ye, J., Zhang, C., & Jiang, S. (2020). Effects of maternal and dietary vitamin A on growth performance, meat quality, antioxidant status, and immune function of offspring broilers. *Poultry Science*, 99(8), 3930-3940.
- Wernicki, A., Nowaczek, A., & Urban-Chmiel, R. (2017). Bacteriophage therapy to combat bacterial infections in poultry. *Virology Journal*, 14(1), 1-13.
- Xu, Y., Liu, L., Long, S., Pan, L., & Piao, X. (2018). Effect of organic acids and essential oils on performance, intestinal health and digestive enzyme activities of weaned pigs. *Animal Feed Science and Technology*, 235, 110-119.
- Yang, X., Xin, H., Yang, C., & Yang, X. (2018). Impact of essential oils and organic acids on the growth performance, digestive functions and immunity of broiler chickens. *Animal Nutrition*, 4(4), 388-393.
- Zamanizadeh, A., Mirakzahi, M. T., Agah, M. J., Saleh, H., & Baranzehi, T. (2021). A comparison of two probiotics *Aspergillus oryzae* and *Saccharomyces cerevisiae* on productive performance, egg quality, small intestinal morphology, and gene expression in laying Japanese quail. *Italian Journal of Animal Science*, 20(1), 232-242.
- Zhang, S., Shen, Y., Wu, S., Xiao, Y., He, Q., & Shi, S. (2019). The dietary combination of essential oils and organic acids reduces *Salmonella enteritidis* in challenged chicks. *Poultry Science*, 98(12), 6349-6355.