



اثرات پری بیوتیک، پروبیوتیک و مخلوط آن‌ها بر عملکرد، پاسخ ایمنی و فلور میکروبی دستگاه گوارش جوجه‌های گوشتی

حسین ابراهیمی^۱، محمد هوشمند^۲، مختار خواجهی^۳ و اصغر نقی‌ها^۴

۱ و ۳- دانشجوی کارشناسی ارشد و استادیار، دانشگاه یاسوج
۲- استادیار، دانشگاه یاسوج، (نویسنده مسوول: hooshmand@yu.ac.ir)
تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۸/۱۳ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۳/۷

چکیده

به منظور بررسی اثرات پروبیوتیک، پری بیوتیک و مخلوط حاوی نسبت‌های مختلف از این دو افزودنی بر عملکرد، پاسخ ایمنی و فلور میکروبی روده کور، ۳۶۰ قطعه جوجه گوشتی یک روزه سویه کاب ۵۰۰ در قالب یک طرح کاملاً تصادفی در تیمارهای شش‌گانه (هر تیمار با ۴ تکرار) توزیع و با یکی از جیره‌های زیر تغذیه شدند: ۱- جیره پایه بدون افزودنی به‌عنوان شاهد (Ctrl)، ۲- جیره پایه + پری بیوتیک (Pre)، ۳- جیره پایه + پروبیوتیک (Pro)، ۴- جیره پایه + مخلوط پروبیوتیک و پری بیوتیک به نسبت ۱ به ۱ (M1)، ۵- جیره پایه + مخلوط پروبیوتیک و پری بیوتیک به نسبت ۲ به ۱ (M2)، ۶- جیره پایه + مخلوط پروبیوتیک و پری بیوتیک به نسبت ۱ به ۲ (M3). پروبیوتیک و پری بیوتیک بر اساس میزان توصیه شده شرکت سازنده به جیره‌ها افزوده شد. در طول دوره پرورش ۴۲ روزه، جوجه‌ها به ترتیب با جیره‌های آغازین (۲۱-۱ روزگی) و رشد (۴۲-۲۲ روزگی) تغذیه و عملکرد آن‌ها به صورت هفتگی اندازه‌گیری شد. به منظور بررسی جمعیت فلور میکروبی، در ۲۱ و ۴۲ روزگی، ۴ قطعه جوجه از هر تیمار آزمایشی کشتار و از محتویات روده کور تحت شرایط استریل نمونه برداری شد. هم‌چنین، پاسخ ایمنی جوجه‌ها در برابر گلبول قرمز گوسفند، در پایان دوره آزمایش با تعیین تیترا ایمنوگلوبولین‌های خون مورد ارزیابی قرار گرفت. داده‌های آزمایش با استفاده از برنامه نرم‌افزاری SAS مورد تجزیه و آنالیز آماری قرار گرفت. نتایج نشان داد در دوره آغازین، تیمارهای M1 و M3 در مقایسه با گروه شاهد افزایش وزن بیشتری داشتند ($P < 0.05$). افزودن مخلوط پروبیوتیک و پری بیوتیک با نسبت ۱ به ۱ باعث بهبود ضریب تبدیل خوراک دوره‌ی آغازین در مقایسه با گروه شاهد شد ($P < 0.05$). عملکرد جوجه‌ها در دوره‌ی پایانی و کل دوره (۴۲-۱ روزگی) تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت. در پایان دوره‌ی آزمایش، تیترا ایمنوگلوبولین کل در تمامی گروه‌های افزودنی و تیترا IgM در تمامی گروه‌ها (به استثنای گروه پری بیوتیک) در مقایسه با گروه شاهد افزایش معنی‌داری را نشان داد ($P < 0.05$). جمعیت باکتری لاکتوباسیلوس در ۲۱ روزگی، در گروه‌های Pre، M1 و M3 و در پایان دوره نیز در تمام گروه‌های دریافت کننده افزودنی (به استثنای گروه Pre) در مقایسه با گروه شاهد بیش‌تر بود ($P < 0.05$). تعداد باکتری اشرشیاکلی در دوره ۲۱ روزگی تحت تاثیر تیمارها قرار نگرفت اما در ۴۲ روزگی، جمعیت این باکتری در گروه‌های Pre و M3 نسبت به گروه شاهد به‌طور معنی‌داری کاهش یافت ($P < 0.05$).

واژه‌های کلیدی: پاسخ ایمنی، پری بیوتیک، پروبیوتیک، جوجه گوشتی، عملکرد، فلور میکروبی

مقدمه

(۹). پری بیوتیک‌ها، ترکیبات غیرقابل هضمی هستند که می‌توانند به‌طور انتخابی باعث تحریک رشد و یا فعالیت یک یا تعداد محدودی از باکتری‌های مفید دستگاه گوارش حیوان شده و در نتیجه، اثرات مطلوبی برجا می‌گذارند (۱۱). اثرات پروبیوتیک‌ها و پری بیوتیک‌ها بر عملکرد، توان ایمنی و فلور میکروبی جوجه‌های گوشتی در پژوهش‌های زیادی مورد بررسی قرار گرفته است. بدین منظور، نتایج پژوهش اخیر بزکرت و همکاران (۵) نشان داد جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با جیره حاوی پروبیوتیک در مقایسه با گروه شاهد، افزایش وزن بیشتری دارند. هم‌چنین، در پژوهش آنها، افزودن پری بیوتیک باعث افزایش وزن بیشتر و ضریب تبدیل غذایی بهتر شد. سلیم و همکاران (۲۳) و بای و همکاران (۲) گزارش کردند افزودن پروبیوتیک به جیره جوجه‌های گوشتی، باعث بهبود عملکرد (افزایش

مشکلات و نگرانی‌های مرتبط با به‌کارگیری پیوسته آنتی بیوتیک‌ها (احتمال ایجاد مقاومت در برابر باکتری‌های بیماری‌زا و نیز باقی ماندن آن‌ها در فرآورده‌های حیوانی) باعث شده تا استفاده از آنتی بیوتیک‌ها عامل محرک رشد در بسیاری از نقاط دنیا با محدودیت‌هایی مواجه شود. حذف آنتی بیوتیک‌ها می‌تواند بر سلامت طیور اثرات نامطلوب داشته و هزینه تولید را افزایش دهد (۲۳). این وضعیت، باعث شد محققین در پی یافتن جایگزین‌هایی طبیعی، سالم و مؤثر برای آنتی بیوتیک‌ها باشند. از مهم‌ترین جایگزین‌های پیشنهاد شده برای آنتی بیوتیک‌ها می‌توان پروبیوتیک‌ها و پری بیوتیک‌ها را نام برد (۱۰). پروبیوتیک‌ها مکمل‌های میکروبی زنده بوده که با بهبود تعادل میکروبی روده بر حیوان میزبان اثرات سودمند دارند

در ایران از پروبیوتیک‌ها و پری‌بیوتیک‌های تجاری مختلفی در تغذیه جوجه‌های گوشتی استفاده می‌شود، اما در مورد امکان استفاده از مخلوط این افزودنی‌ها به عنوان سین بیوتیک و این‌که با چه نسبتی مورد استفاده قرار گیرند تا بهترین کارایی را داشته باشند، اطلاعات زیادی وجود ندارد. لذا در این تحقیق، اثرات پری‌بیوتیک و پروبیوتیک به تنهایی و نیز اثر مخلوط حاوی نسبت‌های متفاوت از این دو افزودنی بر عملکرد، پاسخ ایمنی و جمعیت میکروبی دستگاه گوارش مورد مطالعه قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

پس از آماده‌سازی سالن پرورش، تعداد ۳۶۰ قطعه جوجه یک روزه از سویه تجاری کاب ۵۰۰ با میانگین وزن ۴۲ گرم از مجتمع طیور فارس واقع در شیراز خریداری و به محل آزمایش انتقال داده شدند. بی‌درنگ پس از ورود به سالن، جوجه‌ها در گروه‌های ۱۵ قطعه‌ای توزین و به‌صورت تصادفی بین واحدهای آزمایشی توزیع شدند. میانگین وزن اولیه جوجه‌ها در بین تیمارهای آزمایشی، اختلاف معنی‌داری نداشتند. در سه روز اول، از برنامه نوری دائم (۲۴ ساعت نور) و بعد از آن از برنامه ۲۳ ساعت نور و یک ساعت تاریکی استفاده شد. تمام شرایط پرورش (دما، تهویه و غیره) در طول دوره پرورش ۴۲ روزه برای تمامی گروه‌ها یکسان بوده و از هیچ گونه افزودنی غذایی دیگری از جمله آنتی‌بیوتیک استفاده نشد.

تیمارها و طرح آزمایشی مورد استفاده

این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با شش تیمار و چهار تکرار انجام شد که در هر تکرار (پن) ۱۵ قطعه جوجه (مخلوط دو جنس) قرار داده شد. جیره‌های غذایی که معرف تیمارهای آزمایشی بودند عبارت بودند از: ۱- جیره پایه بدون هر گونه افزودنی (شاهد) (Ctrl)، ۲- جیره پایه+پری‌بیوتیک (Pre)، ۳- جیره پایه+پروبیوتیک (Pro)، ۴- جیره پایه+مخلوط پروبیوتیک و پری‌بیوتیک به نسبت ۱ به ۱ (M1)، ۵- جیره پایه+مخلوط پروبیوتیک و پری‌بیوتیک به نسبت ۲ به ۱ (M2) و ۶- جیره پایه+مخلوط پروبیوتیک و پری‌بیوتیک به نسبت ۱ به ۲ (M3). جوجه‌ها از ۱ تا ۲۱ روزگی با جیره دوره آغازین و از ۲۲ تا ۴۲ روزگی با جیره دوره پایانی تغذیه شدند. در طول دوره، جوجه‌ها دسترسی آزاد به آب و خوراک داشتند. جیره‌نویسی با استفاده از برنامه نرم‌افزار UFFDA و بر مبنای حداقل احتیاجات غذایی توصیه شده (۱۹۹۴) NRC^۲ (۲۱) تنظیم شد. اجزای تشکیل دهنده و ترکیب جیره‌های مورد استفاده در جدول ۱ ارائه شده است. پروبیوتیک و پری‌بیوتیک استفاده شده به ترتیب

وزن بدن و ضریب تبدیل غذایی) شد. در پژوهش یانگ و همکاران (۳۴)، استفاده از پروبیوتیک باعث افزایش معنی‌دار وزن بدن و افزایش وزن روزانه در مقایسه با گروه شاهد شد که این اثرات سودمند، مشابه اثرات آنتی‌بیوتیک مورد استفاده در آزمایش بود. یافته‌های کیم و همکاران (۱۶) نشان داد تغذیه جوجه‌ها با جیره‌های حاوی پری‌بیوتیک و آنتی‌بیوتیک، بهبود معنی‌دار عملکرد جوجه‌های گوشتی را به دنبال دارد.

به‌کارگیری پروبیوتیک‌ها و پری‌بیوتیک‌ها می‌تواند عملکرد سیستم ایمنی جوجه‌های گوشتی را به‌گونه‌ای مفید، تحت تاثیر قرار دهد (۳۸،۱۰). به‌عنوان مثال، یافته‌های سلیم و همکاران (۲۳) نشان‌دهنده اثرات سودمند پروبیوتیک بر پاسخ ایمنی جوجه‌ها می‌باشد. این محققین دریافتند که در جوجه‌های تغذیه شده با پروبیوتیک، تعداد گلبول‌های سفید، منوسایت‌ها و ایمنوگلوبولین‌های خون در مقایسه با گروه شاهد، افزایش نشان می‌دهند. در آزمایش یانگ و همکاران (۳۴) نیز غلظت ایمنوگلوبولین‌های خون (IgM, IgG, IgA) جوجه‌های تغذیه شده با پروبیوتیک در مقایسه با گروه شاهد افزایش معنی‌داری را نشان داد. هانگ و همکاران (۱۴) نیز گزارش کردند استفاده از الیگوکیتوزان^۱ که یک افزودنی پری‌بیوتیکی به‌شمار می‌رود، باعث افزایش غلظت ایمنوگلوبولین‌های خون و تکامل بهتر اندام‌های ایمنی (طحال، بورس فابریسیوس و تیموس) شد.

میکروارگانسیم‌های دستگاه گوارش در تغذیه و سلامت حیوان نقش بسیار مهمی را ایفا می‌نمایند. گزارش شده که پروبیوتیک‌ها و پری‌بیوتیک‌ها بر تعادل این میکروارگانسیم‌ها اثرات مطلوبی دارند (۱۰). یافته‌های اخیر (۲۳) نشان‌دهنده کاهش معنی‌دار جمعیت باکتری‌های ای‌کولای روده کور جوجه‌های تغذیه شده با پروبیوتیک، در مقایسه با گروه شاهد می‌باشد. یانگ و همکاران (۳۴) گزارش کردند افزودن پروبیوتیک به جیره باعث کاهش جمعیت باکتری‌های نامطلوب (ای‌کولای و سالمونلا) و افزایش جمعیت باکتری‌های سودمند (لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتر) روده کور جوجه‌های گوشتی شد. کیم و همکاران (۱۶) شاهد کاهش جمعیت کلستریدیوم و اشرشیاکولی و افزایش جمعیت لاکتوباسیلوس در جوجه‌های گوشتی دریافت‌کننده پری‌بیوتیک بودند.

مخلوط پروبیوتیک و پری‌بیوتیک، سین‌بیوتیک نامیده می‌شود. نشان داده شد که افزودن سین‌بیوتیک در مقایسه با هر یک از این دو افزودنی به تنهایی می‌تواند اثرات مفید بیشتری داشته باشد (۱۰).

شدند. بر اساس داده‌های شرکت سازنده، پری بیوتیک فرماکتو دارای ۱۲ درصد پروتئین خام، حداقل ۱/۱ درصد چربی خام، حداکثر دو درصد خاکستر و حداکثر ۴۵ درصد فیبر میسلیم است.

با نام‌های تجاری پریمالاک^۱ و فرماکتو^۲، محصول شرکت استارلب^۳ آمریکا بود که بر اساس توصیه شرکت توزیع کننده آن‌ها به جیره افزوده شدند. پریمالاک به میزان ۹۰۰ و ۲۲۵ و فرماکتو به میزان ۱۷۰۰ و ۹۰۰ گرم در تن خوراک به ترتیب به جیره‌های آغازین و پایانی اضافه

جدول ۱- ترکیب جیره‌های مورد استفاده در آزمایش

اجزای جیره (درصد)	آغازین (۱ تا ۲۱ روزگی)	پایانی (۲۲ تا ۴۲ روزگی)
ذرت	۵۸/۰۶	۶۵/۶
کنجاله سویا (۴۴ درصد پروتئین خام)	۳۳/۶۹	۲۷/۳۶
روغن سویا	۱/۷۵	۱/۸۶
پودر گوشت	۳	۲/۰۰
دی کلسیم فسفات	۱/۳۵	۱/۰۲
سنگ آهک	۱/۱۳	۱/۳۰
نمک	۰/۳۹	۰/۳۰
مکمل ویتامینی ^۱	۰/۲۵	۰/۲۵
مکمل معدنی ^۲	۰/۲۵	۰/۲۵
دی ال- متیونین	۰/۱۳	۰/۰۶
ترکیبات مواد مغذی (محاسبه شده)		
انرژی قابل متابولیسم (کیلوکالری / کیلوگرم)	۲۹۵۰	۳۰۰۰
پروتئین خام (درصد)	۲۱/۲۰	۱۸/۷۵
کلسیم (درصد)	۰/۹۲	۰/۸۵
فسفر قابل دسترس (درصد)	۰/۴۱	۰/۳۳
سدیم (درصد)	۰/۱۸	۰/۱۴
لیزین (درصد)	۱/۰۱	۰/۹۴
آرژنین (درصد)	۱/۱۷	۱/۰۳
متیونین (درصد)	۰/۴۶	۰/۳۶
ترئونین (درصد)	۰/۷۴	۰/۷۰

۱- مکمل ویتامینی مورد استفاده در هر کیلوگرم جیره، مقادیر زیر را تأمین می‌نمود: ویتامین A: ۱۸۰۰۰ واحد بین‌المللی، ویتامین D₃: ۴۰۰۰ واحد بین‌المللی، ویتامین E: ۷۲ میلی‌گرم، ویتامین K₃: ۴ میلی‌گرم، ویتامین B₁: ۲/۵۵ میلی‌گرم، ویتامین B₂: ۱۳/۲ میلی‌گرم، ویتامین B₆: ۵/۸۸ میلی‌گرم، ویتامین B_{۱۲}: ۰/۰۳ میلی‌گرم، ویتامین B_{۱۲}: ۰/۰۳ میلی‌گرم، پانتوتنات کلسیم: ۱۹/۶ میلی‌گرم، نیاسین: ۵۹/۴ میلی‌گرم، کلرید کولین: ۱ گرم. ۲- مکمل معدنی مورد استفاده در هر کیلوگرم جیره، مقادیر زیر را تأمین می‌کند: منگنز: ۱۹۸/۴ میلی‌گرم، روی: ۱۶۹/۴ میلی‌گرم، آهن: ۱۰۰ میلی‌گرم، مس: ۲۰ میلی‌گرم، ید: ۱/۹۸۵ میلی‌گرم و سلنیوم: ۰/۴ میلی‌گرم.

اتیلن‌دی‌آمین تترا استیک اسید منتقل شد. برای جداسازی گلبول قرمز، نمونه خون سه بار با محلول بافر سالین فسفات شستشو شد (۶). سپس یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون سه درصد گلبول قرمز گوسفند در بافر سالین فسفات به سیاهرگ بال جوجه‌ها تزریق شد. تزریق در دو نوبت، در ۲۸ و ۳۵ روزگی و روی یک قطعه جوجه از هر تکرار انجام شد. هفت روز پس از آخرین تزریق SRBC، خون‌گیری انجام و سرم خون با استفاده از سانتریفیوژ (دور ۳۰۰۰ g و به مدت ده دقیقه) جدا شد. برای اندازه‌گیری تیترا آنتی‌بادی کل، آنتی‌بادی‌های مقاوم به ۲- مرکاپتو اتانول (ایمونوگلوبولین Y) و آنتی‌بادی‌های حساس به ۲- مرکاپتو اتانول (ایمونوگلوبولین M) از روش شیما و همکاران (۶) استفاده شد.

وزن اندام‌های لنفاوی

در روز ۴۲ دوره‌ی پرورش، از هر تکرار یک قطعه جوجه کشتار و بلافاصله، دستگاه گوارش خارج شد. طحال

جوجه‌های هر واحد آزمایشی در پایان هر هفته به صورت گروهی وزن‌کشی شدند. میزان افزایش وزن با استفاده از اختلاف وزن جوجه‌ها در آغاز و پایان هر هفته محاسبه شد. خوراک مصرفی هم به صورت هفتگی اندازه‌گیری شد. در طول دوره پرورش، جوجه‌های حذف یا تلف شده ثبت و ضریب تبدیل غذایی برای آن تصحیح شد (۲۳). یادآوری می‌شود میزان مرگ و میر در طول دوره‌ی پرورش، طبیعی و ناچیز بوده (۸ قطعه از ۳۶۰ قطعه) و لذا این صفت مورد تجزیه و بررسی آماری قرار نگرفت.

تیترا ایمونوگلوبولین علیه گلبول قرمز گوسفند

برای بررسی کارایی سیستم ایمنی از روش هم‌گلو تاسیون^۴ استفاده شد. در این روش با تزریق گلبول قرمز گوسفند (SRBC)^۵ به عنوان آنتی‌ژن، پاسخ ایمنی اندازه‌گیری می‌شود. در ابتدا از یک رأس گوسفند، نمونه خون جمع‌آوری و به داخل فالکون حاوی ماده ضد انعقاد

1- Premalac
4- Hemagglutination

2- Fermacto
5- Sheep Red Blood Cell

3- Star-Lab
6- Hermle, Germany

شاهد و افزودنی‌ها اختلاف معنی‌داری وجود نداشت، اما تیمار M_1 دارای بالاترین (۱۸۰۲ گرم) و تیمار Pre دارای کم‌ترین (۱۶۳۷ گرم) میزان افزایش وزن بودند که همین وضعیت باعث ایجاد اختلاف معنی‌دار بین این دو گروه شد ($P < 0/05$).

نتایج مربوط به مصرف خوراک نشان داد در طول دوره آزمایش، اختلاف معنی‌داری بین گروه شاهد و افزودنی‌ها مشاهده نشد اما در دوره آغازین، گروه M_1 در مقایسه با گروه Pre خوراک بیش‌تری مصرف نمود ($P < 0/05$). از نظر ضریب تبدیل غذایی، در دوره آغازین پرورش، بهترین ضریب تبدیل غذایی (۱/۷۶) در تیمار تغذیه شده با جیره حاوی مخلوط پروبیوتیک و پری‌بیوتیک با نسبت ۱ به ۱ مشاهده شد که نسبت به گروه شاهد (۱/۹۶) بهبود معنی‌داری را نشان داد ($P < 0/05$). تیمارهای آزمایشی بر ضریب تبدیل دوره پایانی و هم‌چنین کل دوره، اثر معنی‌داری نداشتند. در مورد اثرات پری‌بیوتیک و پروبیوتیک بر عملکرد جوجه‌های گوشتی نتایج متفاوتی گزارش شده‌اند. اگر چه برخی از محققان (۳۴،۸) اثرات مثبت این افزودنی‌ها را بر عملکرد جوجه‌های گوشتی، گزارش کرده‌اند اما محققین دیگر (۱۷،۳) اثر مثبتی مشاهده نکردند. قبلاً گزارش شده بود که استفاده از مخلوط پروبیوتیک و پری‌بیوتیک (سین‌بیوتیک) می‌تواند در مقایسه با هر یک به تنهایی اثرات مفید بیش‌تری بر عملکرد جوجه‌های گوشتی داشته باشد (۱۰). سهیل و همکاران (۲۸) گزارش دادند بهبود افزایش وزن جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با سین‌بیوتیک، نتیجه اثر هم‌کوشی (سین‌ژیستی) پری‌بیوتیک و پروبیوتیک می‌باشد که می‌توانند باعث تحریک رشد باکتری‌های مفید، بهبود عملکرد روده و افزایش مقاومت در برابر بیماری‌ها گردند. افزایش قابل توجه در میزان اسیدهای چرب کوتاه زنجیره، کتون‌ها، دی‌سولفیدکربن و متیل استات که پس از استفاده از سین‌بیوتیک‌ها رخ می‌دهد، نشان‌دهنده اثرات سودمند غذاهای سین‌بیوتیکی بر سلامت حیوان می‌باشد (۲۷). لازم به یادآوری است، اثرات مثبت سین‌بیوتیک‌ها بر عملکرد جوجه‌های گوشتی در برخی آزمایشات (۱۸) مشاهده نشده است. پروبیوتیک‌ها با ساز و کارهای مختلفی اثرات خود را اعمال می‌نمایند. تصور می‌شود پروبیوتیک‌ها با تأثیر بر فلور طبیعی و بهبود فرآیند جذب در روده، عملکرد را بهبود می‌دهند (۲۹،۹) پروبیوتیک و پری‌بیوتیک، ارتفاع پرزهای روده را تحت تأثیر قرار داده که این اثر به بهبود عملکرد منجر می‌شود (۳۵،۱). در نتیجه تخمیر انجام شده از طریق باکتری‌های پروبیوتیک، چندین اسید چرب کوتاه

و بورس فابریوس به‌دقت جدا و با ترازویی^۱ با دقت ۰/۰۰۱ گرم توزین شدند. وزن نسبی این اندام‌ها (نسبت به وزن زنده ۴۲ روزگی) مورد بررسی و مقایسه آماری قرار گرفت.

فلور میکروبی دستگاه گوارش

به‌منظور شمارش جمعیت باکتری‌های مورد بررسی، در زمان کشتار (۲۱ و ۴۲ روزگی)، از محتویات روده کور تحت شرایط استریل نمونه‌برداری صورت گرفت. ظروف حاوی نمونه در یخ نگهداری شده و سریعاً به آزمایشگاه میکروبی‌شناسی گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی منتقل شدند. برای کشت اشرشیاکولی از محیط کشت EMB^۲ و برای کشت لاکتوباسیلوس از محیط کشت MRS^۳ در شرایط بی‌هوازی استفاده شد (۳۴).

برای کشت باکتری‌ها، رقت‌های سریالی بر پایه ۱۰^{-۱} در بافر فسفات استریل تهیه شد. در مرحله بعد، ۱۰۰ میکرولیتر از هر رقت در دو تکرار در داخل محیط‌های کشت EMB و MRS منتقل و کشت سفره‌ای داده شد. محیط‌های کشت EMB در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در شرایط هوازی و MRS در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در شرایط غیرهوازی به‌مدت ۴۸ ساعت گرم خانه‌گذاری شدند. برای شمارش پرگنه‌ها از دستگاه شمارش‌گر پرگنه^۴ استفاده شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS (۲۴) انجام گرفت. میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن (۷) در سطح ۵ درصد مورد مقایسه قرار گرفتند.

نتایج و بحث

عملکرد

اثر تیمارهای مختلف آزمایشی بر عملکرد جوجه‌ها (افزایش وزن بدن، مصرف خوراک و ضریب تبدیل غذایی) در دوره‌های مختلف پرورش در جدول ۲ نشان داده شد. بررسی‌های آماری نشان داد که در دوره آغازین جوجه‌های تغذیه شده با جیره حاوی مخلوط پروبیوتیک و پری‌بیوتیک با نسبت ۱ به ۱ (گروه M_1) و مخلوط پروبیوتیک و پری‌بیوتیک با نسبت ۱ به ۲ (گروه M_3) در مقایسه با گروه شاهد و گروه Pre افزایش وزن بیش‌تری دارند ($P < 0/05$). در این دوره، بالاترین میزان افزایش وزن (۵۳۷ گرم) در گروه M_1 مشاهده شد که نسبت به سایر گروه‌ها، بالاتر بود ($P < 0/05$). در دوره پایانی پرورش، از نظر افزایش وزن اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی مشاهده نشد، هرچند که افزایش وزن تیمار M_1 در مقایسه با سایر تیمارها از نظر عددی بیش‌تر بود. در مورد افزایش وزن کل دوره (۱-۴۲ روزگی)، بین گروه

زنجیره تولید می‌شود. اعتقاد بر این است که این اسیدها سودمند دارند (۳۳).

جدول ۲- اثر تیمارهای آزمایشی بر عملکرد جوجه‌های گوشتی در دوره‌های مختلف پرورش

SEM	تیمار آزمایشی						پارامتر
	M3	M2	M1	Pro	Pre	Ctrl	
	افزایش وزن بدن (گرم)						
	۴۹۳ ^d	۴۶۱ ^{dc}	۵۳۷ ^a	۴۶۹ ^{bc}	۴۵۱ ^c	۴۴۵ ^c	۱-۲۱ روزگی
	۱۲۰۶	۱۲۱۷	۱۲۶۶	۱۲۰۸	۱۱۸۶	۱۲۰۶	۲۲-۴۲ روزگی
	۱۶۹۸ ^{ab}	۱۶۷۷ ^{ab}	۱۸۰۲ ^a	۱۶۷۷ ^{ab}	۱۶۳۷ ^d	۱۶۵۱ ^{ab}	۱-۴۲ روزگی
	مصرف خوراک (گرم)						
	۹۱۰ ^{ab}	۸۷۷ ^{ab}	۹۴۶ ^a	۸۸۲ ^{ab}	۸۴۲ ^d	۸۷۱ ^{ab}	۱-۲۱ روزگی
	۲۷۱۲	۲۷۵۷	۲۸۰۳	۲۶۸۹	۲۷۴۴	۲۶۹۷	۲۲-۴۲ روزگی
	۳۶۲۲	۳۶۳۴	۳۷۴۹	۳۷۵۰	۳۵۸۶	۳۵۶۸	۱-۴۲ روزگی
	ضریب تبدیل غذایی						
	۱/۸۵ ^{ab}	۱/۹۱ ^{ab}	۱/۷۶ ^b	۱/۸۸ ^{ab}	۱/۸۷ ^{ab}	۱/۹۶ ^a	۱-۲۱ روزگی
	۲/۸۱	۲/۲۹	۲/۲۲	۲/۲۲	۲/۳۲	۲/۲۴	۲۲-۴۲ روزگی
	۲/۵۵	۲/۱۳	۲/۰۸	۲/۱۳	۲/۱۹	۲/۱۶	۱-۴۲ روزگی

۱- Ctrl: جیره پایه بدون افزودنی (شاهد)، Pre: جیره پایه به علاوه پری‌بیوتیک، Pro: جیره پایه به علاوه پروبیوتیک، M1: جیره پایه به علاوه مخلوط پروبیوتیک و پری‌بیوتیک با نسبت ۱ به ۱، M2: جیره پایه به علاوه مخلوط پروبیوتیک و پری‌بیوتیک با نسبت ۱ به ۲، M3: جیره پایه به علاوه مخلوط پروبیوتیک و پری‌بیوتیک با نسبت ۱ به ۲. در هر ردیف میانگین‌هایی که دارای حروف متفاوت می‌باشند، اختلاف معنی‌دار دارند ($P < 0.05$).

بستگی داشته باشد. محیط پرورش، شیوه مدیریت، تغذیه، نوع و میزان افزودنی، ویژگی‌های پرنده (سن، گونه، مرحله تولید) و روش استفاده (به‌عنوان مثال از طریق آب یا غذا) می‌تواند بر پاسخ جوجه‌های گوشتی به افزودنی‌ها تأثیر گذارد (۳۵). چون عوامل بسیاری که در بالا مورد اشاره قرار گرفتند همگی می‌توانند عکس‌العمل جوجه‌ها به این افزودنی‌ها را تحت تأثیر قرار دهند و تفاوت‌هایی از نظر این عوامل در تحقیق حاضر با سایر محققین وجود داشت (مثلاً از نظر سویه مورد استفاده، نوع افزودنی استفاده شده، ترکیبات جیره و غیره) بنابراین می‌توان تفاوت نتایج را به این عوامل نسبت داد.

پاسخ ایمنی

اثر تیمارهای آزمایشی بر غلظت ایمنوگلوبولین‌های خون و وزن نسبی بورس فابریسیوس و طحال در جدول ۳ نشان داده شده است. نتایج آزمایش نشان داد که تیترا ایمنوگلوبولین کل در تمام گروه‌های افزودنی در مقایسه با گروه شاهد به‌طور معنی‌داری بالاتر بود ($P < 0.05$). همچنین در بین گروه‌های افزودنی، تیترا ایمنوگلوبولین کل در گروه M₃ در مقایسه با گروه Pre افزایش معنی‌داری را نشان داد ($P < 0.05$). افزایش معنی‌دار تیترا ایمنوگلوبولین M در تمامی تیمارهای افزودنی (به استثنای پری‌بیوتیک) در مقایسه با گروه شاهد قابل مشاهده می‌باشد ($P < 0.05$). از نظر تیترا ایمنوگلوبولین Y اختلاف معنی‌داری بین گروه شاهد و افزودنی‌ها مشاهده نشد ($P > 0.05$).

گزارش شده است که افزودن پری‌بیوتیک می‌تواند به برخی تغییرات مثبت در آنزیم‌های گوارشی، ریخت‌شناسی دستگاه گوارش و سیستم ایمنی بدن منجر می‌شود (۳۵). هم‌چنین، پری‌بیوتیک‌ها می‌توانند راندمان استفاده از انرژی و پروتئین جیره را تحت تأثیر قرار داده (۳۶) و با افزایش ارتفاع پرزهای روده و تغییر ساختار مخاط، عملکرد را بهبود بخشند (۳۷). بهبود کارایی هضم و جذب غذا ممکن است به‌علت افزایش جمعیت باکتری‌های مفید، تأمین مواد مغذی، تحریک عروق و توسعه پرزهای روده‌ای باشد (۱۲،۴). کاهش ضخامت سلول‌های اپیتلیوم می‌تواند باعث تسهیل و افزایش فرآیند جذب در روده شده و نیازهای متابولیکی دستگاه گوارش را کاهش دهد. کاهش ضخامت سلول‌های اپیتلیال روده ممکن است به علت مهار تولید پلی آمین‌های میکروبی و تولید اسیدهای چرب فرار باشد که باعث افزایش در ترن‌آور الکترولیتی و فعالیت سلولی روده شده و در نتیجه انرژی مصرفی می‌تواند برای فرآیندهای تولیدی حیوان از جمله تولید گوشت مورد استفاده قرار گیرد (۴).

پری‌بیوتیک‌ها می‌توانند یک سوسترا برای رشد فلور روده به‌کار رفته و تکثیر فلور روده را به‌سمت باکتری‌های مفید سوق داده و از استقرار باکتری‌های بیماری‌زا ممانعت نمایند (۱۰).

همان‌طور که قبلاً بیان شد، استفاده از پروبیوتیک‌ها، پری‌بیوتیک‌ها و سین‌بیوتیک‌ها در تغذیه جوجه‌های گوشتی با نتایج متفاوتی همراه بوده است. بی‌ثباتی مشاهده شده در نتایج تحقیقات می‌تواند به دلایل مختلفی

گوشتی باشد (۳۴،۲۳). نتایج آزمایش حاضر نیز نشان داد افزودن پری‌بیوتیک، پروبیوتیک و یا مخلوط این دو افزودنی باعث افزایش تیترا‌ایمنوگلوبولین‌ها می‌شود که می‌تواند نشان‌دهنده اثرات مطلوب این افزودنی‌ها بر توان ایمنی جوجه‌ها باشد. در این تحقیق، افزودنی‌ها بر وزن نسبی بورس فابرسیوس و طحال تأثیر معنی‌داری نداشتند ($P > 0.05$) که این نتایج در توافق با نتایج تاکاهاشی و همکاران (۳۰) و آواد و همکاران (۱) می‌باشد.

برای ارزیابی سیستم ایمنی طیور از معیارهای مختلفی استفاده می‌شود که از مهم‌ترین آن‌ها می‌توان تیترا‌ایمنوگلوبولین‌ها و وزن اندام‌های لنفاوی را نام برد (۳۴). تیترا‌ایمنوگلوبولین‌های خون نشان‌دهنده آنتی‌بادی‌هایی است که در برابر عفونت‌های مختلف مقابله نموده و نقش بسیار مهم آنها در پاسخ ایمنی پرنده به خوبی شناخته شده است. افزایش ایمنوگلوبولین‌های خون می‌تواند نشان‌دهنده پاسخ ایمنی بهتر جوجه‌های

جدول ۳- اثر تیمارهای آزمایشی بر غلظت ایمنوگلوبولین‌های خون (لگاریتم بر پایه ۲) و وزن نسبی اندام‌های ایمنی در پایان دوره پرورش (۴۲ روزگی)

SEM	تیمار آزمایشی					پارامتر
	M3	M2	M1	Pro	Ctrl	
	ایمنوگلوبولین‌های خون					
۰/۷۳	۵/۰۰ ^a	۴/۲۵ ^a	۴/۷۵ ^a	۵/۵۰ ^a	۳/۲۵ ^{ab}	IgM
۰/۴۶	۲/۷۵	۲/۰۰	۱/۵۰	۱/۷۵	۲/۰۰	IgY
۰/۶۲	۷/۷۵ ^a	۶/۲۵ ^{ab}	۶/۲۵ ^{ab}	۷/۲۵ ^{ab}	۵/۲۵ ^b	کل
	وزن اندام‌های ایمنی (درصد وزن بدن)					
۰/۰۱۹	۰/۱۶	۰/۱۳	۰/۱۲	۰/۱۶	۰/۱۷	طحال
۰/۰۲۴	۰/۱۰	۰/۱۲	۰/۱۱	۰/۱۵	۰/۱۱	بورس فابرسیوس

۱- Ctrl: جیره پایه بدون افزودنی (شاهد)، Pre: جیره پایه به علاوه پری‌بیوتیک، Pro: جیره پایه به علاوه پروبیوتیک، M1: جیره پایه به علاوه مخلوط پروبیوتیک و پری‌بیوتیک با نسبت ۱ به ۱، M2: جیره پایه به علاوه مخلوط پروبیوتیک و پری‌بیوتیک با نسبت ۲ به ۱، M3: جیره پایه به علاوه مخلوط پروبیوتیک و پری‌بیوتیک با نسبت ۱ به ۲.۲ در هر ردیف میانگین‌هایی که دارای حروف متفاوت می‌باشند، اختلاف معنی‌دار دارند ($P < 0.05$).

پاسخ ایمنی می‌شود. ۲- اعمال اثرات مستقیم تحریکی بر سیستم ایمنی از طریق گروه‌های فعال و ۳- رقابت با باکتری‌های بیماری‌زا برای مواد مغذی که نتیجه‌ی آن، افزایش مقاومت حیوان در برابر عوامل بیماری‌زا و محافظت دستگاه گوارش می‌باشد.

پری‌بیوتیک‌ها می‌توانند تکثیر باکتری‌های خاص بیماری‌زا را مهار نموده، اما به این باکتری‌های بیماری‌زا اجازه داده می‌شود تا مانند یک آنتی‌ژن تخفیف حدت یافته، سلول‌های ایمنی را تحریک نمایند (۳۵). هم‌چنین، پری‌بیوتیک‌ها بر سیستم ایمنی میزبان اثرات مطلوب غیرمستقیم دارند. آن‌ها باعث تحریک رشد باکتری‌های تولیدکننده اسید لاکتیک می‌شوند. این باکتری‌ها می‌توانند سیستم ایمنی را با تولید ترکیبات محرک ایمنی تحت تأثیر قرار دهند. پری‌بیوتیک‌ها اثرات سودمند خود را از طریق افزایش تولید عوامل مرتبط با ایمنی از قبیل سیتوکین‌ها و ایمنوگلوبولین‌ها (به‌خصوص ایمنوگلوبولین A) و نیز افزایش بیگانه‌خواری ماکروفاژها اعمال می‌نمایند (۲۶).

فلور میکروبی روده کور

اثر تیمارهای آزمایشی بر جمعیت باکتری‌های روده کور در سن ۲۱ و ۴۲ روزگی در جدول ۴ نشان داده شد.

اثرات مثبت پری‌بیوتیک‌ها و پروبیوتیک‌ها بر سیستم ایمنی طیور قبلاً از سوی محققین دیگری (۳۵،۳۴،۱۹) گزارش شده است. ساز و کارهای عمل دقیق پروبیوتیک‌ها در جهت افزایش عملکرد سیستم ایمنی بدن تا حد زیادی ناشناخته باقی‌مانده است. پروبیوتیک‌ها از طریق تأثیر بر سلول‌های بیگانه‌خوار با فعال‌سازی ایمنی ذاتی در ارتباط می‌باشند (۱۳). تغذیه با پروبیوتیک‌ها می‌تواند باعث افزایش فعالیت تکثیری و عملکردی سلول‌های B تولیدکننده آنتی‌بادی و در نتیجه افزایش ایمنی جوجه‌ها گردد (۲۲). گزارش شده که پری‌بیوتیک‌ها می‌توانند با ساز و کارهای مختلفی از جمله افزایش سلول‌های ماکروفاژ و در نتیجه بهبود توانایی بیگانه‌خواری در بخش‌های روده‌ای (۳۱)، افزایش تعداد هتروفیل‌ها و بازوفیل‌ها (۲۲)، افزایش گاماگلوبولین‌ها (۲۵)، افزایش لوکوسیت‌ها و لنفوسیت‌ها در موکوس روده (۹) و بهبود عملکرد بافت لمفوئیدی روده (۳۰) عملکرد سیستم ایمنی جوجه‌های گوشتی را بهبود دهند.

هانگ و همکاران (۱۴)، دلایل احتمالی بهبود مشاهده شده در پاسخ ایمنی جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با پری‌بیوتیک را به شرح زیر بیان کردند: ۱- پری بیوتیک عمل آنتی‌ژن را داشته و با اتصال به باکتری‌ها باعث شروع

جدول ۴- اثر تیمارهای آزمایشی بر جمعیت باکتری‌های روده کور (لگاریتم واحد تشکیل‌دهنده پرگنه^۱ گرم نمونه) در سن ۲۱ و ۴۲ روزگی

SEM	تیمار آزمایشی						پارامتر
	M3	M2	M1	Pro	Pre	Ctrl	
۰/۰۹	۹/۷۳ ^a	۸/۵۲ ^{cd}	۹/۰۲ ^{bc}	۸/۶۲ ^{cd}	۹/۳۱ ^{ab}	۸/۴۴ ^d	لاکتو باسیلوس
۰/۷۷	۹/۴۸ ^a	۹/۱۸ ^a	۹/۱۷ ^a	۹/۰۴ ^a	۸/۰۶ ^{ab}	۷/۴۶ ^b	۲۱ روزگی ۴۲ روزگی اشرشیاکولی
۰/۴۰	۷/۹۲	۷/۵۲	۷/۴۵	۶/۹۵	۷/۶۴	۶/۹۶	۲۱ روزگی
۰/۳۵	۶/۲۰ ^{bc}	۷/۹۲ ^a	۷/۳۸ ^a	۶/۹۱ ^{ab}	۵/۷۶ ^c	۷/۵۴ ^a	۴۲ روزگی

۱- Ctrl: جیره پایه بدون افزودنی (شاهد)، Pre: جیره پایه به علاوه پری‌بیوتیک، Pro: جیره پایه به علاوه پروبیوتیک، M1: جیره پایه به علاوه مخلوط پروبیوتیک و پری‌بیوتیک با نسبت ۱ به ۱، M2: جیره پایه به علاوه مخلوط پروبیوتیک و پری‌بیوتیک با نسبت ۱ به ۱، M3: جیره پایه به علاوه مخلوط پروبیوتیک و پری‌بیوتیک با نسبت ۱ به ۲. در هر ردیف میانگین‌هایی که دارای حروف متفاوت می‌باشند، اختلاف معنی‌دار دارند ($P < 0.05$).

کربوهیدرات‌ها مقدار زیادی لاکتات تولید می‌کنند. این گونه‌ها می‌توانند شرایط اسیدی شدید را که اغلب برای سایر باکتری‌ها کشنده می‌باشد، تحمل کرده و زنده بمانند (۲۵). پروبیوتیک‌ها ممکن است فلور طبیعی روده میزبان را به روش‌های مختلف، از جمله پاسخ‌های ایمنی سلولی مخاطی، تسهیل تولید آنتی‌بادی‌ها، بهبود یکپارچگی موانع سلول‌های اپیتلیال، کاهش مرگ و میر سلول‌های اپیتلیال، تقویت پیام‌های گیرنده‌های شناسایی باکتری‌ها در روده و ساز و کارهای دیگر تحت تأثیر قرار دهند (۲۰).

ژانگ و همکاران (۳۸) گزارش کردند افزودن پروبیوتیک حاوی کلسترییدیوم بوتیریکوم به جیره غذایی جوجه‌ها موجب افزایش جمعیت باکتری‌های اسید لاکتیک در روده کور شد. این محققین اظهار داشتند که جیره غذایی حاوی پروبیوتیک باعث افزایش تولید اسید استیک، اسید بوتیریک، اسید والریک و کل اسیدهای چرب با زنجیره‌ی کوتاه در روده کور جوجه‌ها می‌شود. این وضعیت باعث کاهش اسیدیته محتویات روده کور و مهار رشد باکتری‌های بیماری‌زا شده و رشد باکتری‌های مفید را تحریک می‌نماید. برخی پروبیوتیک‌ها دامنه وسیعی از فعالیت‌های آنزیمی از خود نشان داده که این آنزیم‌ها موجب اختلال در فعالیت باکتری‌های گرم منفی شده و احتمالاً در سنتز پروتئین اختلال ایجاد می‌نمایند (۳۲).

فابر و همکاران (۸) با افزودن پری‌بیوتیک (گالاکتومانان الیگوساکارید- آرابینوزایلان) به جیره، کاهش تعداد باکتری سالمونلا تیفی‌موریوم در ایلئوم و روده کور و افزایش جمعیت گونه‌های لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتریوم در روده کور جوجه‌های گوشتی را مشاهده نمودند. بیفیدوباکترها و لاکتوباسیل‌ها بر سلامت حیوان اثرات مطلوبی دارند (۳۵). برخی از الیگوساکاریدها، به‌ویژه مانان‌الیگوساکاریدها، ممکن است به‌طور مستقیم از اتصال

نتایج نشان داد تعداد پرگنه‌های باکتری لاکتوباسیلوس در ۲۱ و ۴۲ روزگی دوره پرورش تحت تأثیر افزودنی‌ها قرار گرفت. در ۲۱ روزگی، تعداد این باکتری‌ها، در تیمارهای Pre، M1 و M3 نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌داری داشت ($P < 0.05$). در پایان دوره پرورش (۴۲ روزگی) نیز جمعیت باکتری لاکتوباسیلوس در تمام تیمارهای آزمایشی (به‌جز تیمار Pre)، در مقایسه با گروه شاهد به‌طور معنی‌داری بیشتر بود ($P < 0.05$). جمعیت باکتری اشرشیاکولی در ۲۱ روزگی بین گروه‌های آزمایشی اختلاف معنی‌داری را نشان نداد اما در ۴۲ روزگی، جمعیت این باکتری در تیمارهای Pre و M3 نسبت به گروه شاهد به‌طور معنی‌داری کاهش یافت ($P < 0.05$).

ممانعت از عوامل بیماری‌زا از راه میکروفلور روده‌ای، حذف رقابتی^۲ نامیده می‌شود. این مکانیسم با رقابت برای سوبستراها، رقابت برای جایگاه‌های اتصال و تولید ترکیبات ضد میکروبی مرتبط است (۳۵). نتایج چندین آزمایش نشان داده‌اند مکانیسم حذف رقابتی باعث حفاظت جوجه‌ها در برابر عفونت‌هایی از جمله سالمونلا و ای‌کولای می‌گردد (۳۵، ۲۳، ۱۰). یانگ و همکاران (۳۴) نشان دادند افزودن پروبیوتیک (کلسترییدیوم بوتیریکوم) به جیره جوجه‌های گوشتی، باعث کاهش معنی‌دار تعداد باکتری‌های اشرشیاکولی، سالمونلا و کلسترییدیوم و افزایش جمعیت لاکتوباسیلوس‌ها، بیفیدوباکترها و کلسترییدیوم بوتیریکوم روده کور شد. کلسوم و همکاران (۱۵) گزارش کردند که پروبیوتیک لاکتوباسیلوس فرمنتوم می‌تواند با تولید ترکیبات ضدباکتری، رشد عوامل بیماری‌زا مانند سالمونلا تیفی‌موریوم و اشرشیاکولی را در بلدرچین مهار کند. به‌دلیل این اثرات سودمند بر فلور روده انتظار می‌رود عملکرد بهبود یابد.

گونه‌های لاکتوباسیلوس احتمالاً با استفاده از

جمعیت باکتری لاکتوباسیلوس و کاهش اشرشیاکلی روده کور شد.

باکتری‌های بیماری‌زا به سلول‌های اپیتلیال روده کوچک جلوگیری نموده و تکثیر این باکتری‌ها در دستگاه گوارش را مهار نمایند (۱۰).

تشکر و قدردانی

این پژوهش با حمایت مالی دانشگاه یاسوج انجام گرفت که بدین وسیله از مسوولین محترم دانشگاه تقدیر و تشکر به عمل می‌آید. هم‌چنین، از مدیریت محترم شرکت پیشگامان تغذیه به جهت تأمین پروبیوتیک و پری‌بیوتیک مورد نیاز پژوهش، صمیمانه سپاس‌گزاری به عمل می‌آید.

نتایج این تحقیق نشان داد عملکرد جوجه‌ها فقط در دوره آغازین پرورش، تحت تأثیر مخلوط پری‌بیوتیک و پروبیوتیک (به‌ویژه نسبت ۱ به ۱) قرار گرفت. افزودنی‌ها بر پاسخ ایمنی و جمعیت میکروفلور روده کور اثرات سودمند بیشتری داشتند، به گونه‌ای که استفاده از پری‌بیوتیک و پروبیوتیک به تنهایی و یا به صورت مخلوط باعث بهبود پاسخ ایمنی جوجه‌ها، افزایش

منابع

1. Awad, W.A., K. Ghareeb, S. Abdel-Raheem and J. Böhm. 2009. Effects of dietary inclusion of probiotic and synbiotic on growth performance, organ weights, and intestinal histomorphology of broiler chickens. *Poultry Science*, 88: 49-55.
2. Bai, S.P., A.M. Wu, X.M. Ding, Y. Lei, J. Bai, K.Y. Zhang and J.S. Chio. 2013. Effects of probiotic-supplemented diets on growth performance and intestinal immune characteristics of broiler chickens. *Poultry Science*, 92: 663-670.
3. Baurhoo, B., F. Goldflus and X. Zhao. 2009. Purified cell wall of *Saccharomyces cerevisiae* increases protection against intestinal pathogens in broiler chickens. *International Journal of Poultry Science*, 8: 133-137.
4. Bedford, M. 2000. Removal of antibiotic growth promoters from poultry diets: Implications and strategies to minimize subsequent problems. *World's Poultry Science Journal*, 56: 347-365.
5. Bozkurt, M., N. Aysul, K. Kucukyilmaz, S. Aypak, G. Ege, A. U. Catli, H. Ak it, F. Coven, K. Seyrek, and M. Cinar. 2014. Efficacy of in-feed preparations of an anticoccidial, multienzyme, prebiotic, probiotic and herbal essential oil mixture in healthy and *Eimeria* spp.-infected broilers. *Poultry Science*, 93: 389-399.
6. Cheema, M.A., M.A. Qureshi and G.B. Havenstein. 2003. A comparison of the immune response of a 2001 commercial broiler with a 1957 random bred broiler strain when fed representative 1957 and 2001 broiler diets. *Poultry Science*, 82: 1519-1529.
7. Duncan, D.B. 1955. Multiple range tests and multiple F test. *Biometrics*, 11:1-42.
8. Faber, T.A., R.N. Dilger, M. Iakiviak, A.C. Hopkins, N.P. Price and Jr, G.C. Fahey. 2012. Ingestion of a novel galactoglucomannan oligosaccharide-arabinoxylan (GGMO-AX) complex affected growth performance and fermentative and immunological characteristics of broiler chicks challenged with *Salmonella typhimurium*. *Poultry Science*, 91: 2241-2254.
9. Fuller, R. 1989. "Probiotics in man and animals. *Journal of Applied Bacteriology*, 66: 365-378.
10. Gaggia, F., P. Mattarelli and B. Biavati. 2010. Probiotics and prebiotics in animal feeding for safe food production. *International Journal of Food Microbiology*, 141: 15-28.
11. Gibson, G.R. and M.B. Roberfroid. 1995. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *Journal of Nutrition*, 125: 1401-1412.
12. Gilmore, M.S. and J.J. Ferretti. 2003. The thin line between gut commensal and pathogen. *Science*, 299: 1999-2002.
13. Higgins, S.E., G.F. Erf, J.P. Higgins, S.N. Henderson, A.D. Wolfenden, G. Gaona-Ramirez and B.M. Hargis. 2007. Effect of probiotic treatment in broiler chickens on intestinal macrophage numbers and phagocytosis of *salmonella enteritidis* by abdominal exudate cells. *Poultry Science*, 86: 2315-2321.
14. Huang, R.L., Z.Y. Deng, C. Yang, Y.L. Yin, M.Y. Xie, G.Y. Wu, T.J. Li, L.L. Li, Z.R. Tang, P. Kang, Z.P. Hou, D. Deng, H. Xiang, X. Feng Kong and Y.M. Guo. 2007. Dietary oligochitosan supplementation enhances immune status of broilers. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87: 153-159.
15. Kalsum, U., H. Soetanto Achmanu and O. Sjojfan. 2012. Influence of a probiotic containing *Lactobacillus fermentum* on the laying performance and egg quality of Japanese quails. *International Journal of Poultry Science*, 11: 311-315.
16. Kim, G.B., Y.M. Seo, C.H. Kim and I.K. Paik. 2011. Effect of dietary prebiotic supplementation on the performance, intestinal microflora and immune response of broilers. *Poultry Science*, 90: 75-82.
17. Lee, K.W., S.H. Lee, H.S. Lillehoj, G.X. Li, S.I. Jang, U.S. Babu, M.S. Park, D.K. Kim, E.P. Lillehoj, A.P. Neumann, T.G. Rehberger and G.R. Siragusa. 2010. Effects of direct-fed microbials on growth performance, gut morphometry, and immune characteristics in broiler chickens. *Poultry Science*, 89: 203-216.
18. Midilli, M., M. Alp, N. Kocabaghl, O.H. Muglali, N. Turan, H. ilmaz and S. Cakir. 2008. Effects of dietary probiotic and prebiotic supplementation on growth the performance and serum IgG cocentration of broilers. *Journal of Animal Science*, 38: 21-27.

19. Naseri Alavi, A., A. Zakeri, B. Kamrani and Y. Pourakbari. 2012. Effect of prebiotics, probiotics, acidfire, growth promoter antibiotics and synbiotic on humoral immunity of broiler. *Global Veterinaria*, 8: 612-617.
20. Ng, S.C., A.L. Hart, M.A. Kamm, A.J. Stagg and S.C. Knight. 2009. Mechanisms of action of probiotics: Recent advances. *Inflammatory Bowel Diseases*, 15: 300-310.
21. NRC. 1994. *Nutrient Requirements of Poultry*. National Academy Press, Washington, DC.
22. Panda, A.K., M.R. Reddy, S.V. RamaRao, M.V.L.N. Raju and N.K. Paraharaj. 2000. Growth, carcass characteristics, immune competence and response to *Escherchia coli* on broiler fed diets with various level of probiotic. *Archive fur Geflugelkunde*, 64: 152-156.
23. Salim, H.M., H.K. Kang, N. Akter, D.W. Kim, J.H. Kim, M.J. Kim, J.C. Na, H.B. Jong, H.C. Choi, O.S. Suh and W.K. Kim. 2013. Supplementation of direct-fed microbials as an alternative to antibiotic on growth performance, immune response, cecal microbial population and ileal morphology of broiler chickens. *Poultry Science*, 92: 2084-2090.
24. SAS. 2005. *User's Guide*. Version 9. SAS Institute, Cary, NC.
25. Shashidhara, R.G. and G. Devegowda. 2003. Effect of dietary mannan oligosaccharide on broiler breeder production traits and immunity. *Poultry Science*, 82: 1319-1325.
26. Silva, V.K., J. Della Torre da Silva, K.A.A. Torres, D E. De Faria Filho, F. Hirota Hada and V.M. Barbosa De Moraes. 2009. Humoral immune response of broilers fed diets containing yeast extract and prebiotics in the prestarter phase and raised at different temperatures. *Journal of Applied Poultry Research*, 18: 530-540.
27. Singh Sekhon, B. and S. Jairath. 2010. Prebiotics, probiotics and synbiotics: an overview. *Journal of Pharmaceutical Education and Research*, 2: 13-36.
28. Sohail, M.U., M.E. Hume, J.A. Byrd, D.J. Nisbet, A. Ijaz, A. Sohail, M.Z. Shabbir and H. Rehman. 2012. Effect of supplementation of prebiotic mannan-oligosaccharides and probiotic mixture on growth performance of broilers subjected to chronic heat stress. *Poultry Science*, 91: 2235-2240.
29. Sohail, M.U., Z.U. Rahman, A. Ijaz, M.S. Yousaf, K. Ashraf, T. Yaqub, H. Zenab, H. Anwar and H. Rehman. 2011. Single or combined effects of mannan-oligosaccharides and probiotics supplements on the total oxidants, total antioxidants, enzymatic antioxidants, liver enzymes and serum trace minerals in cyclic heat stressed broilers. *Poultry Science*, 90: 2573-2577.
30. Takahashi, S.E., A.A. Mendes, E.S.P.B. Saldanha, C.C. Pizzolante, K. Pelícia, R.R. Quinteiro, C.M. Komiyama, R.G. Garcia and I.C.L. Almeida Paz. 2005. Efficiency of prebiotics and probiotics on the performance, yield, meat quality, and presence of *Salmonella* spp in carcasses of free-range. *Brazilian Journal of Poultry Science*, 7: 151-157.
31. Tellez, G., G. Nava, J.L. Vicente, A.M. Donghue, W.E. Huff, J. Balog, D.J. Donoghue, L.M. Sutton, S. Higgins and B.M. Hargis. 2002. Evaluation of the effect of dietary *Aspergillus sp.* Meal prebiotic (*Fermacto*) on pullet performance, intestinal strength, tibial diameter and tibial strength: Hatch to 30 days of age. *Poultry Science*, 83: 60 (Abstract).
32. Vila, B., E. Esteve-Garcia and J. Brufau. 2010. Probiotic micro organisms: 100 years of innovation and efficacy; modes of action. *World's Poultry Science Journal*, 65: 369-380.
33. Wong, J.M.W., R. De Souza, C.W.C. Kendall, A. Emam and D.J.A. Jenkins. 2006. Colonic health: Fermentation and short chain fatty acids. *Journal of Clinical Gastroenterology*, 40: 235-243.
34. Yang, C.M., G.T. Cao, P.R. Ferket, T.T. Liu, L. Zhou, L. Zhang, Y.P. Xiao and A.G. Chen. 2012. Effects of probiotic, *Clostridium butyricum*, on growth performance, immune function, and cecal microflora in broiler chickens. *Poultry Science*, 91: 2121-2129.
35. Yang, Y., P.A. Iji and M. Choct. 2009. Dietary modulation of gut microflora in broiler chickens: a review of the role of six kinds of alternatives to in-feed antibiotics. *World's Poultry Science*, 65: 97-114.
36. Yang, Y., P.A. Iji, A. Kocher, E. Thomson, L.L. Mikkelsen and M. Choct. 2008. Effects of mannanoligosaccharide in broiler chicken diets on growth performance, energy utilisation, nutrient digestibility and intestinal microflora. *British Poultry Science*, 49: 186-194.
37. Yang, Y., P.A. Iji and M. Choct. 2007. Effects of different dietary levels of mannanoligosaccharide on growth performance and gut development of broiler chickens. *Asian-Australasian Journal of Animal Science*, 20: 1084-1091.
38. Zhang, B., X. Yang, Y. Guo and F. Long. 2011. Effects of dietary lipids and *Clostridium butyricum* on the performance and the digestive tract of broiler chickens. *Archive of Animal Nutrition*, 65: 329-339.

Single or Combined Effects of Prebiotic and Probiotic on Performance, Immunity Response and Gut Flora of Broiler Chickens

Hossein Ebrahimi¹, Mohammad Houshmand², Mokhtar Khajavi³ and Asghar Naghiha³

1 and 3- M.Sc. Student and Assistant Professor, Yasouj University
2- Assistant Professor, Yasouj University (Corresponding author: hooshmand@yu.ac.ir)
Received: November 4, 2013 Accepted: May 28, 2014

Abstract

In order to investigate the effects of probiotic, prebiotic and a mixture of these feed additives (at different ratio) on the performance, immunity response and cecal microflora of broiler chickens, in a complete random design, a total of 360 ond-day-old broiler chicks (Cobb 500) were randomly distributed among 6 experimental treatments with four replicates. Experimental treatments (diets) were: 1- a basal diet without any additive, as control (Ctrl) 2- basal diet added with prebiotic (Pre) 3- basal diet added with probiotic (Pro) 4- basal diet added with a mixture of probiotic and prebiotic at ratio of 1:1 (M1), 5- basal diet added with a mixture of probiotic and prebiotic at ratio of 2:1 (M2), 6- basal diet added with a mixture of probiotic and prebiotic at ratio of 1:2 (M3). Probiotic and prebiotic were added to diets in amounts as recommended by producer. During 42 d rearing period, birds were fed starter and grower diets from 1 to 21 and 22 to 42 days of age, respectively. Performance traits were measured weekly. On d 21 and 42, one bird from each replicate pen, was slaughtered and cecal content was collected, under sterile condition, to determine the *E. coli* and *Lactobacillus* count. In addition, immunity response to SRBC was measured at the end of the experiment. Data were subjected to one way analysis of variance, by SAS software. The results indicated that in the starter phase, birds fed diets M1 or M3 achieved more gain compared to the control group ($P<0.05$). At the same time, feeding with M1 diet resulted in a better FCR than the control group ($P<0.05$). Significant differences were not observed for performance traits in the finisher phase or whole period (1-42 d of age) of the experiment. All supplemented diets had more total antibody titer against SRBC compared to the control group, at the end of the experiment ($P<0.05$). Also, IgM titer was higher in all supplemented treatments (except for Pre) relative to the control group ($P<0.05$). On d 21, *lactobacillus* number was higher in Pre, M1 and M3 treatments than the control ($P<0.05$). Also, at the end of the experiment, all supplemented treatments (except for Pre) had higher count of *lactobacillus* compared to the control group ($P<0.05$). On d 21, *E. coli* count was significantly not influenced by experimental treatments, but significant reductions in *E. coli* content were observed for Pre and M1 treatments compared to the control group at 42 d of age ($P<0.05$).

Keywords: Broiler, Gut microflora, Immunity response, Prebiotics, Performance, Probiotics