



## "مقاله پژوهشی"

# ارزیابی اثرات باسیلوس کوآگولانز بر صفات عملکردی و فلور میکروبی دستگاه گوارش جوجه‌های گوشتی

سودابه پرهیزکار<sup>۱</sup>، مجتبی زاغری<sup>۲</sup> و مهدی زندی<sup>۳</sup>

۱- دانش‌آموخته دکتری پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران  
۲- استاد گروه علوم دامی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران، (نویسنده مسؤول: mzaghari@ut.ac.ir)  
۳- استاد گروه علوم دامی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران  
تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۲/۲۳ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۵/۲۵  
صفحه: ۱۹ تا ۲۷

## چکیده مبسوط

**مقدمه و هدف:** باسیلوس کوآگولانز سویه جدیدی از گروه پروبیوتیک‌هاست که علاوه بر اسپوردار بودن، موجب تحریک ترشح لاکتیک اسید در دستگاه گوارش می‌شود. این آزمایش به‌منظور مطالعه اثر باسیلوس کوآگولانز<sup>۱</sup> بر صفات عملکردی و فلور میکروبی دستگاه گوارش جوجه‌های گوشتی سویه راس ۳۰۸ انجام شد.

**مواد و روش‌ها:** به منظور مطالعه اثر مکمل پروبیوتیکی باسیلوس کوآگولانز در تغذیه جوجه‌های گوشتی، آزمایشی روی تعداد ۹۶۰ قطعه جوجه گوشتی نر سویه راس ۳۰۸ با میانگین وزن ۱۲±۴۰ گرم در قالب طرح کاملاً تصادفی و در چهار گروه آزمایشی انجام شد. هر گروه آزمایشی شامل ۱۲ تکرار ۲۰ تایی بود. دوره‌های تغذیه‌ای شامل دوره آغازین (۱۰-۱ روزگی)، دوره رشد (۲۵-۱۱ روزگی) و دوره پایانی (۴۲-۲۶ روزگی) بود. گروه‌های آزمایشی شامل (۱) جیره پایه بدون استفاده از باسیلوس کوآگولانز، (۲) جیره پایه با اضافه کردن مکمل پروبیوتیکی به میزان ۴۰۰ گرم در تن خوراک<sup>۲</sup> در دوره آغازین و رشد و ۲۰۰ گرم در تن خوراک<sup>۳</sup> در دوره پایانی، (۳) جیره پایه با اضافه کردن مکمل پروبیوتیکی به میزان ۴۰۰ گرم در تن خوراک در دوره آغازین، رشد و پایانی. صفات تولیدی شامل افزایش وزن بدن، خوراک مصرفی، ضریب تبدیل غذایی در پایان هر یک از دوره‌های آغازین، رشد و پایانی اندازه‌گیری شد. در روزهای هفتم و ۱۴۰ام، دو قطعه جوجه از هر تکرار با گاز دی‌اکسیدکربن کشتار شدند و روده کور آن‌ها جدا شد. این نمونه‌ها طی پروتکل‌های مشخص، برای شمارش کلستریدیوم پرفرجنس<sup>۴</sup>، ای‌کولای، المونلا، استرپتوکوکوس<sup>۵</sup> و لاکتوباسیلوس‌ها<sup>۶</sup> به آزمایشگاه ارسال شدند. همچنین دمای کلواک تمامی جوجه‌های باقیمانده در طرح آزمایشی در روز ۴۰ آزمایش اندازه‌گیری شد. میزان کل نیتروژن دفعی محتویات بستر و pH محتویات بستر در روز ۴۰ اندازه‌گیری شد.

**یافته‌ها:** مصرف باسیلوس کوآگولانز بر افزایش وزن جوجه‌ها تا ۴۲ روزگی تأثیر معنی‌داری نداشت ولی نسبت به گروه شاهد، گروه‌های دریافت‌کننده باسیلوس کوآگولانز افزایش وزن بالاتری را نشان دادند. در دوره آغازین و پایانی، مصرف باسیلوس کوآگولانز موجب کاهش مصرف خوراک شد ( $p \leq 0.05$ ). در ۴۲ روزگی، گروه‌های دریافت‌کننده باسیلوس کوآگولانز، ضریب تبدیل پایین‌تری را نسبت به گروه شاهد نشان دادند. افزودن باسیلوس کوآگولانز به جیره غذایی جوجه‌های گوشتی در ۴۰ روزگی اثر معنی‌داری بر افزایش جمعیت لاکتوباسیل‌ها داشت ( $p \leq 0.05$ ). از طرف دیگر، با مصرف باسیلوس کوآگولانز، کاهش در جمعیت باکتریایی کلستریدیوم‌ها، استرپتوکوک‌ها و اشرشیا کولی<sup>۷</sup> دیده شد ( $p \leq 0.05$ ). نتایج این آزمایش نشان می‌دهد که جوجه‌های گوشتی دریافت‌کننده باسیلوس کوآگولانز، میزان نیتروژن<sup>۸</sup> فرار مدفوع کمتری نسبت به گروه شاهد تولید کرده‌اند ( $p \leq 0.05$ ). همچنین، استفاده از این ترکیب باکتریایی در جیره جوجه‌های گوشتی سبب کاهش دمای کلواک جوجه‌ها نسبت به گروه شاهد شده است ( $p \leq 0.05$ ). افزودن این باکتری به جیره جوجه‌های گوشتی اثری بر pH بستر نداشت ( $p \geq 0.05$ ).

**نتیجه‌گیری:** نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که مکمل‌سازی جیره با باسیلوس کوآگولانز سبب افزایش وزن بدن و کاهش ضریب تبدیل غذایی و تعادل جمعیت میکروبی مفید دستگاه گوارش می‌شود.

**واژه‌های کلیدی:** باسیلوس کوآگولانز، جوجه گوشتی، عملکرد، فلور میکروبی، نیتروژن بستر

## مقدمه

عنوان "میکروارگانیزم‌های زنده‌ای که در صورت تجویز به مقدار کافی، برای میزبان مفید است" تعریف کرده‌اند (۱۰). پتانسیل دستکاری میکروبیوتا در طیور برای افزایش بیشتر در بهره‌وری، از اهمیت تجاری و علمی زیادی برخوردار است که منجر به استفاده از پروبیوتیک‌ها در صنعت طیور می‌شود (۷). میکروبیوتای موجود در دستگاه گوارش طیور، علاوه بر ایفای نقش مهم در حفاظت از پرنده در مقابل پاتوژن‌ها (۸) و توسعه سیستم ایمنی (۹)، نقش مهمی در تغذیه حیوان ایفا می‌کند. بیشترین غلظت و تراکم میکروبی در دستگاه گوارش مرغ، در روده کور یافت می‌شود و در نتیجه، اکثر مطالعات میکروبیوتای مرغ عمدتاً روی این جوامع میکروبی تمرکز دارند. یک مطالعه نشان داد که ۲۱٪ از تغییرات توده چربی شکم مرغ را می‌توان به ترکیب میکروبیوتای روده نسبت داد (۱۴). میکروبیوتا بر اساس تعریف وانگ و همکاران عبارت است از جمعیت میکروبی همزیست و جمعیت میکروبی بیماری‌زا (۴۰) که می‌تواند با میزبان تعامل داشته باشند و بر

آنتی‌بیوتیک‌ها به دلیل نوع عملکردشان در رشد و پیشگیری از بیماری‌ها، به طور گسترده‌ای در صنعت دامپروری استفاده می‌شوند. گزارش‌های مختلف نشان می‌دهند که تقریباً ۸۰٪ از کل آنتی‌بیوتیک‌ها در ایالات متحده آمریکا در بخش دامپروری مورد استفاده قرار گرفته است تا علاوه بر بهبود رشد حیوانات، از شیوع عوامل مختلف عفونی هم جلوگیری نماید (۱۷). علاوه بر این، داده‌های مربوط به فروش آنتی‌بیوتیک‌ها که از ۴۱ کشور جهان جمع‌آوری شده نشان می‌دهد که فروش جهانی این ترکیبات در سال ۲۰۱۷ معادل ۹۳۳۰۹ تن و در سال ۲۰۳۰، معادل ۱۰۴۰۷۹ تن برآورد می‌شود که با افزایش ۱۱/۵ درصدی روبرو خواهد بود (۲۹). با توجه به اینکه مقاومت ضد میکروبی به سلامت عمومی جهان مربوط می‌شود، تلاش مشترک و تعهد جامعه بین‌المللی را به امری ضروری تبدیل می‌کند. یکی از این راه کارها استفاده از ترکیبات پروبیوتیکی است. پروبیوتیک‌ها را به

1- Bacillus Coagulans  
5- Streptococci

2-  $1 \times 10^{12}$  cfu/g feed  
6- Lactobacillus

3-  $0.5 \times 10^{12}$  cfu/g feed  
7- Escherichia Coli

4- Clostridium perfringens  
8- Total Litter Nitrogen

متابولیسم، ایمنی و حتی رفتار موجود زنده تأثیر بگذارند (۴۵). یک میکروبیوتای طبیعی و پایدار در حفظ عملکرد بهینه دستگاه گوارش، سلامت حیوانات، رفاه و عملکرد تولید، نقش اساسی دارد (۶). شواهد علمی نشان می‌دهد که میکروبیوتای روده می‌تواند بر روند تولید طیور تأثیر بگذارد (۷۸). جمعیت میکروبی دستگاه گوارش به تنظیم ذخیره چربی کمک می‌کند که به نظر می‌رسد در طیور، مستقل از ژنتیک میزبان عمل می‌کند (۹). علاوه بر این، جمعیت میکروبی دستگاه گوارش می‌تواند ساخت مواد مغذی مفید مانند ویتامین‌ها (۱۱،۱۲) و بازده استفاده از انرژی جیره را بهبود بخشد و در نتیجه عملکرد رشد را بهبود دهد. بین میکروبیوتای دستگاه گوارش و عملکرد عصبی غدد روده ارتباط بسیار نزدیکی وجود دارد (۱۴). فراهم کردن شرایط تغذیه باکتری‌های روده برای سلامت روده میزبان مفید است، اما فراوانی جمعیت میکروبی مستقر در روده می‌تواند منجر به رقابت مواد مغذی بین میزبان و میکروب‌ها در روده کوچک شود (۸،۳۰). میکروفلور روده به عنوان یک مانع موثر در برابر میکروارگانیسم‌های فرصت‌طلب و بیماری‌زا عمل می‌کند و این "مقاومت میکروبی" یکی از مهمترین عملکردهای آن است (۲). متابولیسم باکتری می‌تواند منجر به اثرات سودمند شود، از جمله تولید ویتامین‌ها، تعدیل سیستم ایمنی، افزایش هضم و جذب خوراک، مهار گونه‌های مضر و حذف مواد سرطان‌زا و سایر سموم (۱۵). علاوه بر این، متابولیسم باکتری منجر به تولید اسیدهای چرب زنجیره کوتاه<sup>۱</sup> می‌شود که مخاط روده بزرگ به آن وابسته است. لازم به ذکر است که میکروفلور ساکن در روده حاوی پاتوژن‌هایی مانند مخمرها و کلستری‌دیاها است که اگر اجازه رشد بیش از حد به آنها داده شود، می‌توانند عملکرد طبیعی روده را مختل کنند (۸). انواع مختلفی از پروبیوتیک‌ها در بخش مواد غذایی، مراقبت‌های پزشکی و دامپروری مانند لاکتوباسیلوس، بیفیدوباکتریوم، باسیلوس سوبتیلیس و غیره مورد استفاده قرار می‌گیرند. کشف باسیلوس کوآگولانز به سال ۱۹۱۵ بر می‌گردد، زمانی که برای اولین بار در شیر کنسرو شده در ایستگاه آزمایشات کشاورزی آیووا یافت شد. لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتریوم از متداول‌ترین فراورده‌های پروبیوتیکی هستند (۷). با این حال، اکثر این سویه‌ها در برابر دمای شدید و همچنین اسید معده، آنزیم‌های گوارشی و نمک‌های صفاوی مقاوم نیستند (۲۲). بسیاری از سویه‌های باسیلوس در حال حاضر به عنوان مکمل‌های غذایی پروبیوتیک استفاده می‌شود (۱۶). یکی از دلایل این است که پروبیوتیک‌های اسپوردار در برابر شرایط نامساعد محیطی بسیار مقاوم هستند (۲۶). این نوع از میکروب‌ها، تحمل شرایط اسیدی معده و پایداری بهتر را در فرآیند گرما و ذخیره‌سازی در دمای پایین را دارند. باکتری باسیلوس کوآگولانز، گرم مثبت، بی‌هوازی اختیاری، غیر بیماری‌زا، اسپورساز و تولیدکننده اسید لاکتیک می‌باشد. دمای بهینه رشد برای این باکتری بین ۳۵ تا ۵۰ درجه سانتیگراد و pH بهینه رشد ۵/۵ تا ۶/۵ است (۳۸). اسپور این باکتری‌ها می‌تواند در محیط کم اکسیژن دستگاه گوارش قرار بگیرند و به آرامی به روده برسند تا نقش باکتری‌های اسید

### مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر در مزرعه آموزشی-پژوهشی گروه علوم دامی دانشگاه تهران به مدت شش هفته انجام گرفت. در این آزمایش تعداد ۹۶۰ قطعه جوجه گوشتی نر سویه راس ۳۰۸ در چهار گروه آزمایشی مورد بررسی قرار گرفتند. قبل از ورود پرندوها، آشیانه پرورشی به درستی و طبق دستورالعمل اعلامی شستشو و ضدعفونی شد. پس از مشخص کردن واحدهای آزمایشی، پرندوها بر اساس میانگین وزن و به طور تصادفی در چهار گروه آزمایشی قرار گرفتند. هر گروه آزمایشی شامل ۱۲ تکرار ۲۰ تایی بود. قبل از ورود جوجه‌ها،

لاکتیک را در دستگاه گوارش ایفا کنند. مشخص شده است که میزان بقای اسپورهای باسیلوس کوآگولانز در محیط هضم شبیه‌سازی شده حدود ۹۲٪ است (۴۵). پس از جوانه زدن، باسیلوس کوآگولانز می‌تواند باکتریوسینی به نام کوآگولین تولید کند که در برابر طیف وسیعی از میکروب‌های روده فعالیت ضد باکتریایی دارد (۲۴). فاکتورهای ذکر شده، مزایای باسیلوس کوآگولانز را نسبت به لاکتوباسیل‌ها نشان می‌دهد. شایان ذکر است که باسیلوس کوآگولانز توانایی چسبیدن به اپی تلیوم روده را ندارد مگر اینکه مصرف طولانی مدت آن حفظ شود. باسیلوس کوآگولانز طی چهار تا پنج روز پس از مصرف به طور کامل از بین می‌رود (۲۸). با توجه به این ویژگی، ممکن است پرند به تجویز طولانی مدت این افزودنی میکروبی برای ایفای نقش یک پروبیوتیک نیاز داشته باشد. به عنوان مثال، نشان داده شده است که اسپورهای باسیلوس کوآگولانز، هنگامی که روزانه به مدت ۳۰ روز تجویز شود، می‌تواند بر میکروبیوتای روده موش‌ها تأثیر بگذارد (۲۶). باسیلوس کوآگولانز به طور گسترده در تغذیه طیور استفاده شده است. شایان ذکر است که باسیلوس کوآگولانز دارای یک اثر محرک رشد بر جوجه‌های گوشتی است (۳۶) که این تأثیر را از طریق بهبود تعادل میکروبیوتای روده و بهبود ضریب تبدیل غذایی انجام می‌دهد. علاوه بر این، فعالیت پروتئاز<sup>۲</sup> و آمیلاز<sup>۳</sup> را در دستگاه گوارش افزایش می‌دهد. باسیلوس کوآگولانز می‌تواند به طور قابل توجهی وزن نهایی، افزایش وزن روزانه و افزایش وزن نسبی میگو را بهبود بخشد. علاوه بر این، یک رژیم غذایی مکمل با باسیلوس کوآگولانز اثرات مشابهی بر ماهی کپور علف خوار داشت (۴۴). پروبیوتیک‌ها می‌توانند سوخت و ساز پروتئین‌ها، ویتامین‌ها و اسیدهای چرب زنجیره کوتاه را تقویت کنند (۳۶). این متابولیت‌ها اثرات مثبت زیادی بر متابولیسم انرژی دارند. سیستم گوارشی ارتباط نزدیکی با سیستم ایمنی دارد. پروبیوتیک خوراکی با مخاط گوارش و بافت لنفوئیدی مرتبط با روده که در آن بیش از ۷۰ درصد سلول‌های ایمنی در آن قرار دارند، تعامل دارند (۳۱). در این مقاله به عملکرد پروبیوتیک حاوی باسیلوس کوآگولانز بر روی عملکرد جوجه گوشتی نژاد راس ۳۰۸ و تأثیر این باکتری بر روی جمعیت باکتری‌های مفید و مضر روده کور و همچنین نقش این باکتری در مقدار نیتروژن دفعی محتویات بستر پرداخته شده است.

در تن خوراک در دوره پایانی، ۳) جیره پایه با دز ۴۰۰ گرم در تن خوراک پروبیوتیک در دوره آغازین و ۲۰۰ گرم در تن خوراک پروبیوتیک در دوره‌های رشد و پایانی، ۴) جیره پایه با دز ۲۰۰ گرم در تن خوراک پروبیوتیک در دوره‌های آغازین، رشد و پایانی. جیره‌های غذایی بر اساس توصیه کاتالوگ سویه راس ۳۰۸ سال ۲۰۱۹ تنظیم شدند و از نظر سطح انرژی و پروتئین یکسان بودند. اجزا و ترکیبات جیره‌های غذایی در جدول ۱ ذکر شده است.

کف بستر با تراشه چوب به ضخامت ۱۰ سانتی‌متر پوشانیده شد. آب مصرفی و دان مورد نیاز بر اساس توصیه کاتالوگ سویه راس ۳۰۸ به صورت آزاد در اختیار پرندوها قرار گرفت. دوره‌های تغذیه‌ای شامل دوره آغازین (۱-۱۰ روز)، دوره رشد (۱۱-۲۵ روز) و دوره پایانی (۲۶-۴۲ روز) در نظر گرفته شد. گروه‌های آزمایشی شامل ۱) جیره پایه بدون استفاده از باسیلوس کواگولانز، ۲) جیره پایه با دز ۴۰۰ گرم در تن خوراک، پروبیوتیک برای دوره‌های آغازین و رشد و ۲۰۰ گرم

جدول ۱- ترکیبات غذایی و آنالیز مواد مغذی جیره‌های آزمایشی

Table 1. Feed ingredients and chemical composition of experimental diets

پایانی	رشد	آغازین	اجزاء خوراک
۶۲/۲۱	۵۷/۱۶	۵۳/۹۷	ذرت
۳	۳	۳	گلوتن ذرت
۲۸/۱۹	۳۳/۵۲	۳۷/۲۲	کنجاله سویا (۴۴٪)
۳/۹۳	۳/۳۱	۲/۳۷	روغن ذرت
۰/۸۳	۱/۰۲	۱/۲۴	دی کلسیم فسفات
۱	۱/۰۷	۱/۱۴	کربنات کلسیم
۰/۳	۰/۳	۰/۳	نمک
۰/۱	۰/۱	۰/۱	جوش شیرین
۰/۰۲۵	۰/۰۲۵	۰/۰۲۵	مکمل ویتامینی <sup>۱</sup>
۰/۰۲۵	۰/۰۲۵	۰/۰۲۵	مکمل معدنی <sup>۲</sup>
۰/۲۲	۰/۲۴	۰/۲۹	دی ال متیونین
۰/۱۶	۰/۱۷	۰/۲۲	ال لیزین
۰/۰۰۳	۰/۰۵	۰/۰۹	ال ترئونین
۰/۰۰۵	۰/۰۰۵	۰/۰۰۵	فیتاز ۱۰۰۰۰
۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	جمع
آنالیز ترکیبات شیمیایی			
۳۱۵۰	۳۱۰۰	۳۰۰۰	انرژی قابل متابولیسم (Kcal/kg)
۱۹/۲	۲۱/۵	۲۳	پروتئین خام (درصد)
۰/۷۸	۰/۸۷	۰/۹۶	کلسیم (درصد)
۰/۳۹	۰/۴۸	۰/۴۸	فسفر قابل دسترس (درصد)
۰/۱۶	۰/۱۶	۰/۱۶	سدیم (درصد)
۰/۵۱	۰/۵۶	۰/۶۲	متیونین قابل هضم (درصد)
۱/۰۲	۱/۱۶	۱/۲۷	لیزین قابل هضم (درصد)
۰/۸	۰/۸۹	۰/۹۵	متیونین + سیستئین قابل هضم (درصد)
۰/۶۴	۰/۷۶	۰/۷۷	ترئونین قابل هضم (درصد)
۲۵۰	۲۴۸	۲۴۶	تبادل الکترولیتی جیره

۱- ترکیبات مکمل ویتامینی در ۲٫۵ کیلوگرم: ۱۲ میلیون واحد بین المللی ویتامین A، ۵ میلیون واحد بین المللی ویتامین D، ۸۰ هزار واحد بین المللی ویتامین E، ویتامین K3: ۳۳۰۰ میلی گرم، ویتامین B1: ۳۲۰۰ میلی گرم، ویتامین B2: ۸۶۰۰ میلی گرم، ویتامین B3: ۶۵۰۰ میلی گرم، ویتامین B5: ۲۰۰۰۰ میلی گرم، ویتامین B6: ۴۳۰۰ میلی گرم، ویتامین B9: ۲۲۰۰ میلی گرم، ویتامین B12: ۱۷ میلی گرم، ویتامین H2: ۲۲۰ میلی گرم، آنتی اکسیدان: ۵۰۰ میلی گرم.

۲- ترکیبات مکمل معدنی در ۲/۵ کیلوگرم، کولین: ۴۰۰ هزار میلی گرم، ۲۰۰۰۰ میلی گرم آهن، ۱۲۰ هزار میلی گرم منگنز، ۱۱۰ هزار میلی گرم روی، ۱۶۰۰۰ میلی گرم مس، ۳۰۰ میلی گرم سلنیوم و ۱۲۵۰ میلی گرم ید.

## صفات عملکردی

در طول انجام آزمایش میزان افزایش وزن بدن و خوراک مصرفی اندازه‌گیری و ضریب تبدیل غذایی در پایان هر دوره اندازه‌گیری و گزارش شد.

## نمونه‌برداری از روده کور و شمارش جمعیت باکتریایی

طی دوره آزمایش، در روزهای هفتم و نهم آزمایش از هر تکرار دو قطعه جوجه به صورت تصادفی انتخاب و پس از کشتار با استفاده از گاز دی‌اکسیدکربن، ناحیه روده کور آن‌ها برداشته شد. نمونه‌های روده کور پرندگان کشتار شده، برای مطالعه جمعیت میکروبی روده کور، در شرایط استریل و کنترل شده دمایی به آزمایشگاه منتقل شدند. قبل از نمونه‌برداری، ابتدا سطح شکمی پرند با الکل ۷۰ درصد ضدعفونی شده و حفره شکمی در شرایط استریل، در کنار شعله، با استفاده از اسکالپل استریل، باز شد. سپس ناحیه روده کور آنها برداشته

شد و در فلاسک‌های مجهز به گاز نیتروژن به آزمایشگاه منتقل شد. در آزمایشگاه به هر یک گرم از نمونه محتویات روده کور، نه میلی لیتر سرم فیزیولوژی استریل اضافه شد تا سوسپانسیون ۱۰:۱ آن به دست آید. به همین ترتیب، رقت‌های بر مبنای ۱۰ از نمونه‌ی اولیه تهیه شد. از هر رقت تهیه شده، ۵۰ میکرولیتر برداشته و به صورت سطحی در محیط‌های کشت، کشت داده شد. به منظور شمارش باکتری اسید لاکتیک از محیط کشت ام‌آراس<sup>۱</sup>، برای شمارش استرپتوکوک و کلوستریدیوم از محیط کشت بلاد آگار<sup>۲</sup> و برای شمارش اشریشیا کولی از محیط کشت مک کانگی<sup>۳</sup> استفاده شد (۲۰). پس از کشت، انکوباسیون نمونه‌ها برای شمارش لاکتوباسیل‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد و به مدت ۴۸ ساعت و برای شمارش استرپتوکوک، کلوستریدیوم و اشریشیاکلی در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد و به مدت ۲۴

ساعت انجام شد. تعداد واحدهای تشکیل‌دهنده پرگنه‌های میکروبی (CFU) به صورت لگاریتمی ( $\log_{10}$ ) به ازاء هر گرم محتویات روده کور بیان شد.

#### اندازه‌گیری محتوای نیتروژن بستر، pH مواد دفعی و دمای کلوآک

در روز ۳۹ دوره پرورش روی بستر تمامی تکرارها، نایلون‌هایی به صورت جداگانه پهن شد و به مدت ۲۴ ساعت، مواد دفعی روی این نایلون‌ها جمع‌آوری شد. این نمونه‌ها در ظروف شماره‌گذاری شده جمع‌آوری و بلافاصله به آزمایشگاه منتقل شد تا میزان کل نیتروژن دفعی و pH آن بر اساس تفکیک هر گروه آزمایشی اندازه‌گیری شود.

همچنین، در روز ۴۰ دوره پرورش دمای کلوآک تمامی جوجه‌ها با دماسنج اندازه‌گیری شد و میانگین دمای کلوآک به تفکیک هر گروه آزمایشی محاسبه و آنالیز شد.

#### تجزیه و تحلیل آماری

داده‌های حاصل از این آزمایش‌ها در قالب رویه GLM نرم‌افزار آماری SAS تجزیه و تحلیل شدند. مدل آماری زیر برای تجزیه داده‌ها مورد استفاده قرار گرفت. همچنین برای مقایسات میانگین از آزمون چند دامنه‌ای دانکن (HSD) استفاده شد و مقایسه‌هایی که  $p$ -Value آن‌ها کوچکتر از ۰/۰۵ بود به عنوان مقایسات معنی‌دار در نظر گرفته شدند.

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

که در آن  $\mu$ ، میانگین جمعیت،  $A_j$ ، اثر تیمار (سطوح مختلف باسیلوس کوآگولانز)،  $e_{ij}$  اثر خطای آزمایشی،  $X_{ij}$  مشاهده تکرار  $i$  ام، سطح  $j$ ام سطح مصرف و دوره پرورش است.

#### نتایج و بحث

##### اثر جیره‌های آزمایشی بر خوراک مصرفی و عملکرد جوجه‌های گوشتی

نتایج اثر باسیلوس کوآگولانز بر وزن بدن، میزان مصرف خوراک و ضریب تبدیل خوراک در جدول شماره ۲ آورده شده است. نتایج این آزمایش نشان می‌دهد که افزودن باسیلوس کوآگولانز به جیره جوجه‌های گوشتی سبب کاهش میزان

مصرف خوراک در روزهای ۱۰ و ۴۲ آزمایش شده است. بر این اساس در روز ۱۰ پس از شروع آزمایش، تیمارهایی که پروبیوتیک مصرف کرده بودند کمترین میزان مصرف خوراک را نسبت به گروه شاهد داشته‌اند ( $p \leq 0/05$ ). همچنین در روز ۴۲ نشان داده شده است که تیمارهای ۳ و ۴ کاهش در میزان مصرف خوراک را نسبت به گروه شاهد نشان داده‌اند ( $p \leq 0/05$ ). پژوهش‌های مختلف نشان داده‌اند که استفاده از باسیلوس کوآگولانز می‌تواند به دلیل ایجاد تعادل در جمعیت میکروبی دستگاه گوارش موجب بهبود مصرف خوراک در جوجه‌های گوشتی شود (۲۲). به عبارت بهتر، این باکتری‌های پروبیوتیکی برای هضم بهینه غذا مفیدند و به یکپارچگی بافت روده کمک می‌کنند. باکتری باسیلوس کوآگولانز می‌تواند بازدهی جذب مواد مغذی را در روده افزایش دهد. نتایج تحقیقات یان و همکاران نشان داد که استفاده از گونه‌های میکروبی پروبیوتیکی به دلیل سوخت و ساز ترکیبات پروتئینی، ویتامین‌ها و اسیدهای چرب، موجب ایجاد اثرات مثبت بر سوخت و ساز انرژی و در نتیجه مصرف خوراک می‌شود (۴۱).

اطلاعات ارائه شده در خصوص ضریب تبدیل خوراک در ۴۲ روزگی نشان می‌دهد که ضریب تبدیل خوراک در گروه آزمایشی ۳ نسبت به گروه‌های شاهد و گروه آزمایشی ۴ کاهش پیدا کرده است ( $p \leq 0/05$ )، درحالی‌که با گروه آزمایشی ۲ تفاوت معنی‌داری نشان نداده است ( $p \geq 0/05$ ). چنین اثر مفیدی احتمالاً به دلیل تراوش آنزیم‌های درون‌زا است که قابلیت هضم مواد مغذی را بهبود می‌بخشد (۳۵). علاوه بر این، باسیلوس کوآگولانز برخی از آنزیم‌های برون‌زا و عوامل محرک رشد تولید می‌کند که می‌تواند حرکات دودی روده و قابلیت هضم خوراک را افزایش دهد (۴۴، ۴۵). باسیلوس کوآگولانز قادر است که آنزیم آلفا گالاکتوزیداز تولید کند که به شدت در برابر هیدرولیز توسط پروتئاز مقاومت می‌کند (۴۵). علاوه بر این، مشخص شده است که باسیلوس کوآگولانز می‌تواند التهاب دستگاه گوارش را کاهش دهد و در نتیجه باعث افزایش ناحیه جذبی پرزها و افزایش جذب مواد مغذی شود (۴۵).

جدول ۲- اثر افزودن باسیلوس کوآگولانز بر روی وزن بدن، خوراک مصرفی و ضریب تبدیل غذایی جوجه‌های گوشتی  
Table 2. Effect of *Bacillus coagulans* on body weight, feed intake and feed conversion ratio in broiler chickens (Mean  $\pm$  SEM)

SEM	سطح معنی‌داری	گروه‌های آزمایشی				صفات مورد مطالعه
		۴	۳	۲	۱	
۳/۱۲	۰/۶۶	۲۴۹/۰۰	۲۴۷/۵۰	۲۴۴/۴۰	۲۴۹/۷۰	وزن بدن ۱۰ روزگی (گرم)
۱۱/۴	۰/۰۸	۱۰۷۹/۹۰	۱۰۸۶/۶۰	۱۱۱۰/۹۰	۱۰۶۸/۷۰	وزن بدن ۲۴ روزگی (گرم)
۳۱/۳۲	۰/۶۱	۲۶۰۰/۰۰	۲۶۱۵/۰۰	۲۶۳۶/۷۰	۲۵۷۸/۳۰	وزن بدن ۴۲ روزگی (گرم)
۳/۳۷	۰/۰۴	۲۰۲/۵۹ <sup>b</sup>	۲۰۵/۱۰ <sup>b</sup>	۲۰۵/۶۰ <sup>b</sup>	۲۱۹/۸۰ <sup>a</sup>	خوراک مصرفی ۱۰ روزگی (گرم)
۹/۰۷	۰/۰۶	۱۲۷۶/۶۶	۱۲۸۸/۷۰	۱۲۸۷/۷۰	۱۳۱۲/۷۰	خوراک مصرفی ۲۴ روزگی (گرم)
۴۶/۴۲	۰/۰۲	۳۸۵۴/۰۵ <sup>b</sup>	۳۷۹۵/۰۰ <sup>b</sup>	۳۹۰۱/۱۰ <sup>ab</sup>	۴۰۰۴/۲۰ <sup>a</sup>	خوراک مصرفی ۴۲ روزگی (گرم)
۰/۰۱۲	۰/۱۳	۱/۸۱	۰/۸۴	۰/۸۳	۰/۸۷	ضریب تبدیل غذایی (۱۰ روزگی)
۰/۰۱	۰/۰۸	۱/۱۸ $\pm$ ۰/۰۱	۱/۱۸ $\pm$ ۰/۰۱	۱/۱۶ $\pm$ ۰/۰۱	۱/۲۱ $\pm$ ۰/۰۱	ضریب تبدیل غذایی (۲۴ روزگی)
۰/۰۱	۰/۰۱	۱/۴۸ <sup>a</sup>	۱/۴۵ <sup>c</sup>	۱/۴۷ <sup>bc</sup>	۱/۵۴ <sup>a</sup>	ضریب تبدیل غذایی (۴۲ روزگی)

تیمارها: (۱) شاهد، (۲) جیره پایه با اضافه کردن مکمل پروبیوتیکی به میزان ۴۰۰ گرم در تن خوراک در دوره آغازین و رشد و ۲۰۰ گرم در تن خوراک در دوره پایانی، (۳) جیره پایه با اضافه کردن مکمل پروبیوتیکی به میزان ۴۰۰ گرم در تن خوراک در دوره آغازین و ۲۰۰ گرم در تن خوراک در دوره رشد و پایانی، (۴) جیره پایه با اضافه کردن مکمل پروبیوتیکی به میزان ۲۰۰ گرم در تن خوراک در دوره‌های آغازین، رشد و پایانی. حروف غیر مشابه در هر ردیف، نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها است.

جدول ۳ و ۴ اثر تغذیه مکمل حاوی باسیلوس کوآگولانز را به ترتیب بر باکتری‌های مفید و مضر روده کور جوجه‌های گوشتی در روزهای ۷ و ۴۰ دوره پرورشی نشان می‌دهد. بر اساس اطلاعات ارائه شده در جدول شماره ۳، افزودن پروبیوتیک حاوی باسیلوس کوآگولانز به جیره غذایی جوجه‌های گوشتی اثر معنی‌داری بر افزایش جمعیت

لاکتوباسیلی دستگاه گوارش در روز ۴۰ پرورش در تیمار ۳ داشته است. بر این اساس، گروه آزمایشی ۳ نسبت به سایر گروه‌های آزمایشی بیشترین تعداد باکتری‌های لاکتوباسیلوس را در روده کور داشته است ( $p \geq 0.05$ ). مطالعات مختلف نشان می‌دهد که باسیلوس کوآگولانز توانایی افزایش تولید جمعیت لاکتوباسیلی را در محیط روده دارد.

جدول ۳- اثر باسیلوس کوآگولانز بر جمعیت لاکتوباسیلی روده کور (سی اف یو/ گرم مواد هضمی)

Table 3. Effect of Bacillus Coagulans on lactobacillus population (CFU/g digesta) of the broiler's cecum content (Mean  $\pm$  SME)

SEM	سطح معنی‌داری	گروه‌های آزمایشی				جمعیت لاکتوباسیلی <sup>۱</sup>
		۴	۳	۲	۱	
۶/۰۹	۰/۰۶	۳۱/۷۲	۳۶/۳۶	۱۶/۹۲	۲۶/۸۰	لاکتوباسیلوس (۷ روزگی)
۱۰/۲۳	۰/۰۰۱	۴۸/۰۲ <sup>c</sup>	۱۲۳/۹۶ <sup>a</sup>	۵۹/۵۸ <sup>bc</sup>	۸۲/۰۸ <sup>b</sup>	لاکتوباسیلوس (۴۰ روزگی)

تیمارها: (۱) شاهد، (۲) جیره پایه با اضافه کردن مکمل پروبیوتیکی به میزان ۴۰۰ گرم در تن خوراک در دوره آغازین و رشد و ۲۰۰ گرم در تن خوراک در دوره پایانی، (۳) جیره پایه با اضافه کردن مکمل پروبیوتیکی به میزان ۴۰۰ گرم در تن خوراک در دوره آغازین و ۲۰۰ گرم در تن خوراک در دوره رشد و پایانی و (۴) جیره پایه با اضافه کردن مکمل پروبیوتیکی به میزان ۲۰۰ گرم در تن خوراک در دوره‌های آغازین، رشد و پایانی. حروف غیر مشابه در هر ردیف، نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها است.

از طرف دیگر با بررسی اثر پروبیوتیک حاوی باسیلوس کوآگولانز بر جمعیت باکتریایی مضر دستگاه گوارش جوجه‌های گوشتی این نتیجه به دست می‌آید که این پروبیوتیک سبب کاهش قابل ملاحظه برخی از باکتری‌های مضر دستگاه گوارش شده است. جمعیت باکتریایی استرپتوکوکوس در روز هفتم آزمایش در گروه آزمایشی ۱ بیشترین میزان بود که نسبت به گروه‌های آزمایشی ۳ و ۴ از

نظر آماری معنی‌دار بود. اما بین گروه ۳ و ۴ از نظر آماری تفاوت معنی‌داری از نظر جمعیت باکتری‌های استرپتوکوکوس وجود نداشت. همچنین در رابطه با اثر پروبیوتیک باسیلوس کوآگولانز بر تعداد باکتری‌های استرپتوکوکوس در روز ۴۰، از نظر آماری بین گروه‌های مختلف تفاوت معنی‌دار مشاهده نشد ( $p \leq 0.05$ ).

جدول ۴ - تاثیر باسیلوس کوآگولانز بر جمعیت باکتریایی مضر روده کور در روزهای ۷ و ۴۰ آزمایش (سی اف یو/ گرم مواد هضمی)

Table 4. Effect of Bacillus Coagulans on non-beneficial microbial populations (CFU/g digesta) of the broiler's cecum content on days 7 and 40 of the experiment (Mean  $\pm$  SME)

SEM	سطح معنی‌داری	گروه‌های آزمایشی				جمعیت باکتریایی غیر مفید
		۴	۳	۲	۱	
۱۷۸/۵۶	۰/۰۰۱	۲۰۵۲ <sup>b</sup>	۳۳۳۴/۰۰ <sup>b</sup>	۲۶۷۶/۰۰ <sup>b</sup>	۵۰۰۹ <sup>a</sup>	کلستریدیوم پرفرگنس <sup>۲</sup> (۷ روزگی)
۴/۲۵	۰/۰۰۹	۱۹/۸۳	۹/۸۳	۲۰/۸۲	۲۵/۵۹	اشرشیا کولی (۷ روزگی)
۱۶/۷۵	۰/۰۰۳	۱۲۳/۶۴ <sup>b</sup>	۱۲۱۰۰ <sup>a</sup>	۱۵۳۰۹۲ <sup>ab</sup>	۱۸۸/۰۰ <sup>a</sup>	استرپتوکوکوس (۷ روزگی)
۲۱۷/۴۶	۰/۰۰۱	۵۴۰/۰۰ <sup>c</sup>	۱۸۴۹/۰۰ <sup>b</sup>	۹۴۱/۰۰ <sup>bc</sup>	۲۹۷۷/۰۰ <sup>a</sup>	کلستریدیوم پرفرگنس (۴۰ روزگی)
۴۵/۴۸	۰/۰۰۱	۱۲۵/۵۰ <sup>b</sup>	۱۵۶/۶۰ <sup>b</sup>	۲۹۷/۶۰ <sup>b</sup>	۸۹۱/۰۰ <sup>a</sup>	اشرشیا کولی (۴۰ روزگی)
۳/۶۱	۰/۰۳۲	۱۷/۸۵	۸/۲۵	۱۵/۲۹	۱۵/۶۶	استرپتوکوکوس (۴۰ روزگی)

تیمارها: (۱) شاهد، (۲) جیره پایه با اضافه کردن مکمل پروبیوتیکی به میزان ۴۰۰ گرم در تن خوراک در دوره آغازین و رشد و ۲۰۰ گرم در تن خوراک در دوره پایانی، (۳) جیره پایه با اضافه کردن مکمل پروبیوتیکی به میزان ۴۰۰ گرم در تن خوراک در دوره آغازین و ۲۰۰ گرم در تن خوراک در دوره رشد و پایانی و (۴) جیره پایه با اضافه کردن مکمل پروبیوتیکی به میزان ۲۰۰ گرم در تن خوراک در دوره‌های آغازین، رشد و پایانی. حروف غیر مشابه در هر ردیف، نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها است.

بر این اساس گروه‌های تیماری که دوزهای مختلف باسیلوس کوآگولانز را دریافت کرده بودند پایین‌ترین میزان باکتری کلستریدیوم پرفرگنس در روز هفتم را نسبت به گروه شاهد داشتند که این تفاوت از نظر آماری معنی‌دار بود. همچنین، این روند در روز ۴۰ دوره آزمایشی تکرار شده است، به گونه‌ای که گروه ۴ کمترین میزان حضور این باکتری‌ها در روده کور را نسبت به گروه شاهد نشان داده است. در خصوص اثر پروبیوتیک حاوی باسیلوس کوآگولانز بر تعداد باکتری‌های اشرشیا کولای روده کور در روز هفتم دوره پرورشی، علی‌رغم اینکه گروه ۳ کمترین میزان باکتری ای کولای را نسبت سایر گروه‌های آزمایشی نشان داد، اما بین گروه‌های دریافت‌کننده پروبیوتیک از نظر آماری تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. درحالی که در روز ۴۰ گروه‌های دریافت‌کننده

پروبیوتیک میزان کمتری باکتری اشرشیا کولای در روده کور جوجه‌های گوشتی نسبت به گروه شاهد داشتند. هیچ تفاوتی بین گروه‌های دریافت‌کننده پروبیوتیک از نظر تعداد باکتری‌های اشرشیا کولای در روده کور وجود نداشت. نتایج آزمایشات مختلف نشان می‌دهند که باسیلوس کوآگولانز توانایی افزایش جمعیت باکتری‌های مفید و کاهش جمعیت باکتریایی مضر را در دستگاه گوارش طیور دارد (۵۲). پروبیوتیک‌ها با افزایش رشد باکتری‌های مفید و رقابت با باکتری‌های بیماری‌زا در روده، نقش مهمی در تثبیت جمعیت میکروبی روده ایفا می‌کنند.

مکانیسم‌های متعددی که توسط آن باکتری‌های پروبیوتیکی کلونیزاسیون روده را مهار می‌کنند شناخته شده‌اند که می‌توان به افزایش نسبت باکتری‌های اسید لاکتیک به

مدفوع، pH بستر و دمای کلوک جوجه‌های گوشتی در جدول ۵ آورده شده است. نتایج این آزمایش نشان می‌دهد که جوجه‌های گوشتی دریافت کننده پروبیوتیک میزان نیتروژن فرار مدفوع کمتری نسبت به گروه شاهد تولید کرده‌اند ( $p \geq 0.05$ ). اما بین گروه‌های دریافت کننده پروبیوتیک از نظر آماری تفاوت معنی‌داری مشاهده نشده است. همچنین، استفاده از این پروبیوتیک در جیره جوجه‌های گوشتی سبب کاهش دمای کلوک جوجه‌های نسبت به گروه شاهد شده است. جدول شماره ۵ نشان می‌دهد که افزودن پروبیوتیک تکنوسپور به جیره جوجه‌های گوشتی اثری بر pH بستر نداشته است ( $p \geq 0.05$ ).

باکتری‌های بیماری‌زا، رقابت برای مکان‌های اتصال و مواد مغذی و تولید پپتیدهای ضد میکروبی اشاره کرد. بسیاری از گونه‌های باسیلوس مانند باسیلوس سرئوس و باسیلوس سوبتیلیس ترکیبات باکتریوسین و مواد مشابه باکتریوسین تولید می‌کنند که با تحقیقات ژنگ و همکاران مطابقت دارد (۴۳). علاوه بر این، اسید لاکتیک تولید شده توسط انواع سویه‌های باسیلوس از جمله باسیلوس کوآگولانز، باعث افت شدید pH روده می‌شود. کاهش غلظت مشاهده شده در ای کولای در روده کور جوجه‌ها در تحقیقات مختلف و در این آزمایش ممکن است به دلیل اثرات باکتریوسین و اسید لاکتیک تولید شده توسط باسیلوس کوآگولانز باشد (۴۲). اثر پروبیوتیک حاوی باسیلوس کوآگولانز بر کل نیتروژن فرار

جدول ۵ - اثر باسیلوس کوآگولانز بر میزان نیتروژن فرار بستر، دمای کلوک و pH محتویات بستر  
Table 5. Effect of Bacillus Coagulans on fecal volatile nitrogen, cloacal temperature and pH litter of the broilers  
(Mean  $\pm$  SME)

SEM	سطح معنی داری	گروه های آزمایشی				پارامترها
		۴	۳	۲	۱	
۰/۵۱۵	۰/۰۱	۴۱/۸۵ <sup>b</sup>	۴۲/۹۸ <sup>b</sup>	۴۳/۰۹ <sup>b</sup>	۴۴/۸۷ <sup>a</sup>	کل نیتروژن بستر <sup>۱</sup> (%)
۰/۰۲	۰/۱۶	۶/۰۶	۶/۰۴	۶/۰۶	۵/۹۹	pH بستر <sup>۲</sup>
۰/۱۸	۰/۰۱	۴۰/۰۴ <sup>b</sup>	۴۰/۰۰ <sup>b</sup>	۳۹/۹۱ <sup>b</sup>	۴۱/۰۰ <sup>a</sup>	دمای کلوک (درجه سانتیگراد) <sup>۳</sup>

تیمارها: (۱) شاهد (۲) جیره پایه با اضافه کردن مکمل پروبیوتیکی به میزان ۴۰۰ گرم در تن خوراک در دوره آغازین و رشد و ۲۰۰ گرم در تن خوراک در دوره پایانی، (۳) جیره پایه با اضافه کردن مکمل پروبیوتیکی به میزان ۴۰۰ گرم در تن خوراک در دوره آغازین و ۲۰۰ گرم در تن خوراک در دوره رشد و پایانی و (۴) جیره پایه با اضافه کردن مکمل پروبیوتیکی به میزان ۲۰۰ گرم در تن خوراک در دوره‌های آغازین، رشد و پایانی.  
حروف غیر مشابه در هر ردیف، نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها است.

فرکت و همکاران هم مورد تاکید قرار گرفت (۱۵). بر این اساس، جمهوری کره ممنوعیت کامل محرک‌های رشد آنتی بیوتیکی در خوراک دام را اجرا کرد که در جولای ۲۰۱۱ اجرایی شد. تحقیقات مختلف نشان داده است که تولید گاز آمونیاک در جوجه‌ها در پاسخ به افزودن مخلوطی از ارگانیسم‌های پروبیوتیکی (لاکتوباسیلوس، باسیلوس و اسپرژیلوس) به جیره آنها تا ۲۱ درصد کاهش یافت (۱۵). نتایج تایید می‌کند که افزودن باسیلوس کوآگولانز به جیره غذایی جوجه‌های گوشتی می‌تواند در تولید کمتر آمونیاک موثر باشد. با توجه به این یافته‌ها، روند دمای کلوک می‌تواند نشان‌دهنده این باشد که به دلیل استفاده از افزودنی میکروبی در جیره‌های غذایی، میزان التهاب بدن در این گروه‌ها کاهش یافته است. محققان دریافتند که استفاده از لاکتوباسیل‌ها در جیره غذایی جوجه‌های گوشتی، موجب کاهش تجمع سالمونلا اینتریتیتیس در روده می‌شود. در نتیجه ضایعات بافتی و التهاب را به حداقل می‌رساند. کاهش دمای کلوک یکی از شاخص‌های کاهش التهاب است (۱۶). نتایج به دست آمده از این آزمایش نشان می‌دهد که استفاده از باسیلوس کوآگولانز در جیره غذایی جوجه‌های گوشتی، می‌تواند موجب بهبود عملکرد شود و جمعیت باکتریایی روده کور را به نفع باکتری‌های مفید تغییر دهد. همچنین کاهش نیتروژن دفعی در محتویات بستر می‌تواند نشان‌دهنده افزایش ضریب هضم و جذب مواد مغذی خوراک باشد.

نتایج ارائه شده در جدول شماره ۵ نشان می‌دهد که با مصرف باسیلوس کوآگولانز میزان نیتروژن دفعی در بستر کاهش معنی‌داری را نشان می‌دهد. بر اساس گزارش موسسه گوشت آمریکا تولید گوشت طیور در سال ۲۰۱۱ در مقایسه با سال ۲۰۱۰، در حدود ۰/۰۲ درصد افزایش داشته است، در حالی که مصرف آنتی بیوتیک‌ها در همین زمان حدود دو درصد افزایش یافته است. این به آن معنی است که میانگین مقدار آنتی بیوتیک مصرف شده برای تولید یک کیلوگرم افزایش یافته است. استفاده از آنتی بیوتیک‌ها در رژیم غذایی جوجه‌های گوشتی که معمولاً حاوی غلظت بالایی از مواد معدنی هستند اثرات مضر بر باکتری‌های دستگاه گوارش می‌گذارد. در نتیجه، مواد مغذی استفاده نشده، از طریق ادرار و مدفوع دفع می‌شوند که تحت تجزیه میکروبی بی‌هوازی قرار می‌گیرند و ترکیبات بدبویی مانند آمین‌ها و گوگردهای فرار، فنل‌ها، ایندول‌ها و اسیدهای چرب فرار تولید می‌کنند. این نتایج با نتایج گیلی و همکاران، ۲۰۰۰ مطابقت دارد (۱۸). وانگ و همکاران (۴۰) گزارش کردند که غلظت بالای آمونیاک و ترکیبات حاوی گوگرد منجر به عملکرد ضعیف، تغییرات بافتی در سیستم تنفسی و افزایش حساسیت به مرگ و میر در جوجه‌های گوشتی می‌شود. قرار گرفتن در معرض سطوح بالای ترکیبات بدبو نه تنها بر سلامت و عملکرد حیوانات تأثیر منفی می‌گذارد، بلکه می‌تواند بر سلامت کارگران نیز تأثیر بگذارد و باعث ایجاد مشکلات زیست‌محیطی مانند اسیدی شدن و نیتریفیکاسیون باران شود که در تحقیقات

## منابع

- Adhikari, P., A. Kiess, R. Adhikari and R. Jha. 2020. An approach to alternative strategies to control avian coccidiosis and necrotic enteritis. *Journal Applied Poultry Research*, 29: 515-534.
- Ahmed, S.T., M.M. Islam, H.S. Mun, H.J. Sim, Y.J. Kim and C.J. Yang. 2014. Effects of *Bacillus amyloliquefaciens* as a probiotic strain on growth performance, cecal microflora, and fecal noxious gas emissions of broiler chickens. *Poultry science*, 93: 1963-1971.
- Alagawany, M., M.E. Abd El-Hack, M.R. Farag, S. Sachan, K. Karthik and K. Dhama. 2018. The use of probiotics as eco-friendly alternatives for antibiotics in poultry nutrition. *Environment Science Polutry Research*, 25: 10611-10618.
- Alizadeh, M., P. Munyaka, A. Yitbarek, H. Echeverry and J.C. Rodriguez-Lecompte. 2017. Maternal antibody decay and antibody-mediated immune responses in chicken pullets fed prebiotics and synbiotics. *Poultry Science*, 96: 58-64.
- Awad, W.A., K. Ghareeb and J. Böhm. 2010. Effect of addition of a probiotic micro-organism to broiler diet on intestinal mucosal architecture and electrophysiological parameters: Addition of probiotic micro-organism to broiler diet. *Journal Animal Physiology Animal Nutrition*, 94: 486-494.
- 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
- Baron, M. 2009. A patented strain of *Bacillus coagulans* increased immune response to viral challenge. *Postgraduate Medicine*, 121: 114-118.
- Bengmark, S. 1998. Ecological control of the gastrointestinal tract. The role of probiotic flora. *Gut*, 42: 2-7.
- Broom, L.J. and M.H. Kogut. 2018. Gut immunity: Its development and reasons and opportunities for modulation in monogastric production animals. *Animal Health Research Review*, 19: 46-52.
- Casula, G. and S.M. Cutting. 2002. *Bacillus* probiotics: spore germination in the gastrointestinal tract. *Applied and Environmental Microbiology*, 68: 2344-2352.
- Cavazzoni, V. 1998. Performance of broiler chickens supplemented with *Bacillus coagulans* as probiotic. *British Poultry Science*, 39: 526-529.
- Cengiz, Ö., B.H. Köksal, O. Tatlı, O. Sevim, U. Ahsan, A.G. Üner, P.A. Ulutas, D. Beyaz, S. Büyükyörük and A. Yakan. 2015. Effect of dietary probiotic and high stocking density on the performance, carcass yield, gut microflora, and stress indicators of broilers. *Poultry Science*, 94: 2395-2403.
- Cervantes, H. 2015. Antibiotic-free poultry production. Is it sustainable? *Journal Applied Poultry Research*, 24: 91-97.
- Diaz Carrasco, J.M., N.A. Casanova and M.E. Fernández Miyakawa. 2019. Microbiota, Gut Health and Chicken Productivity: What Is the Connection? *Microorganisms*, 7: 374.
- Ferket, P.R., E. van Heugten, T.A.T.G. van Kempen and R. Angel. 2002. Nutritional strategies to reduce environmental emissions from non-ruminants. *Journal Animal Science*, 80: 168-182 .
- Frei, R., M. Akdis and L. Mahony. Prebiotics, probiotics, synbiotics and the immune system. 2015. *Current Opinion Gastroenterol*, 31: 153-158.
- Gadde, U.D., W.H. Kim, S.T. Oh and H.S. Lillehoj. 2017. Alternatives to antibiotics for maximizing growth performance and feed efficiency in poultry. *Animal Health Research*, 18: 26-45.
- Gilley, G.E., D.P. Spare, R.K. Koelsch, D.D. Schulte, P.S. Miller and A.M. Parkhurst. 2000. Phototrophic anaerobic lagoons as affected by copper and zinc in swine diets. *Transactions of the ASAE*, 1853-1859.
- Gheorghe, A., C. Tabuc, M. Habeanu, M. Dumitru and N.A. Lefter. 2018. Effect of dietary supplementation with probiotic mixture based on *Lactobacillus* strains on performance, gastrointestinal development and ileal microflora in broilers. *Journal Biotechnology*, 280: S41.
- Govender, M., Y.E. Choonara, P. Kumar, L.C. DuToit, S. VanVuuren and V.A. Illay. 2014. Review of the Advancements in Probiotic Delivery: Conventional vs. Non-conventional Formulations for Intestinal Flora Supplementation. *Poultry Science*, 15: 29-43.
- Guban, J., D.R. Korver, G.E. Allison and G.W. Tannock. 2006. Relationship of dietary antimicrobial drug administration with broiler performance, decreased population levels of *Lactobacillus salivarius*, and reduced bile salt deconjugation in the ileum of broiler chickens. *Poultry Science*, 85: 2186-2194.
- He, T., S. Long, S. Mahfuz, D. Wu, X. Wang, X. Wei and X. Piao. 2019. Effects of probiotics as antibiotics substitutes on growth performance, serum biochemical parameters, intestinal morphology, and barrier function of broilers. *Animals*, 9: 985.
- Jadhav, K., S. Katoch, V.K. Sharma and B.G. Mane. 2015. Probiotics in broiler poultry feeds: A review. *Journal Animal Nutrition and Physiology*, 1: 4-16.
- Jha, R., J.M. Fouhse, U.P. Tiwari, L. Li and B.P. Willing. 2019. Dietary fiber and intestinal health of monogastric animals. *Veterinary Science*, 6: 48.
- Ji, F. and S.W. Kim. 2002. Reducing odor in swine production effect of enzymes and probiotics on ammonia production. *Journal Animal Science*, 80: 282.

26. Kazemi, S.A., H. Ahmadi and M.A.Karimi Torshizi. 2019. Evaluating two multistrain probiotics on growth performance, intestinal morphology, lipid oxidation and ileal microflora in chickens. *Journal Animal Physiology Animimal Nutrition*, 103: 1399-1407.
27. LeBlanc, J.G., F. Chain, R. Martín, L.G. Bermúdez-Humarán, S. Courau and P. Langella. 2017. Beneficial effects on host energy metabolism of short-chain fatty acids and vitamins produced by commensal and probiotic bacteria. *Microbial Cell Factories*, 16: 79-89.
28. Maathuis, A.J.H., D. Keller and S. Farmer. 2010. Survival and metabolic activity of the GannedenBC30 strain of *Bacillus coagulans* in a dynamic in vitro model of the stomach and small intestine. *Beneficial Microbes*, 1: 31-36.
29. Mingmongkolchai, S. and W. Panbangred. 2018. *Bacillus* probiotics: An alternative to antibiotics for livestock production. *Journal Applied Microbiology*, 124: 1334-1346.
30. Mountzouris, K.C., P. Tsitrsikos, I. Palamidi, A. Arvaniti, M. Mohnl, G. Schatzmayr and K. Fegeros. 2010. Effects of probiotic inclusion levels in broiler nutrition on growth performance, nutrient digestibility, plasma immunoglobulins, and cecal microflora composition. *Poultry Science*, 89: 58-67.
31. Olnood, C.G., S.S.M Beski, M. Choct and P.A. Iji. 2015. Novel probiotics: Their effects on growth performance, gut development, microbial community and activity of broiler chickens. *Animal Nutrition*, 1: 184-191.
32. Pender, C.M., S. Kim, T.D. Potter, M.M. Ritzi, M. Young and R.A. Dalloul. 2017. Inovo supplementation of probiotics and its effects on performance and immune-related gene expression in broiler chicks. *Poultry Science*, 96: 1052-1062.
33. Pieniz, S., R. Andreazza, T. Anghinoni, F. Camargo and A. Brandelli. 2014. Probiotic potential, antimicrobial and antioxidant activities of *Enterococcus durans* strain LAB18s. *Food Control journal*, 37: 251-256.
34. Rhayat, L., V. Jacquier, K.S. Brinch, P. Nielsen, A. Nelson, P.A. Geraert and E. Devillard. 2017. *Bacillus subtilis* strain specificity affects performance improvement in broilers. *Poultry Science*, 96: 2274-2280.
35. Roth, N., A. Käsbohrer, S. Mayrhofer, U. Zitz, C. Hofacre and K.J. Domig. 2019. The application of antibiotics in broiler production and the resulting antibiotic resistance in *Escherichia coli*. A global overview. *Poultry Science*, 98: 1791-1804.
36. Sarao, L.K. and M. Arora. 2015. Probiotics, prebiotics, and microencapsulation: A review. *Crit. Rev. Food Science*, 57: 344-371.
37. Shang, Y., S. Kumar, B. Oakley and W.K. Kim. 2018. Chicken gut microbiota: importance and detection technology. *Front. Veterinary Science*, 5: 254.
38. Shinde, T., R. Vemuri, M.D. Shastri, A.P. Perera, S. Tristram, R. Stanley and R. Eri. 2019. Probiotic *Bacillus coagulans* MTCC 5856 spores exhibit excellent in-vitro functional efficacy in simulated gastric survival, mucosal adhesion and immunomodulation. *Journal Functional Foods*, 52: 100-108.
39. Shokryazdan, P., C.C. Sieo, R. Kalavathy, J.B. Liang, N.B. Alitheen, M. Faseleh Jahromi and Y.W. Ho. 2014. Probiotic potential of *Lactobacillus* strains with antimicrobial activity against some human pathogenic strains. *Biomedicine Research*, 2014: 1-16.
40. Wang, Y. and Q. Gu. 2010. Effect of probiotic on growth performance and digestive enzyme activity of Arbor Acres broilers. *Veterinary Science*, 89: 163-167.
41. Yadav, S. and R. Jha. 2019. Strategies to modulate the intestinal microbiota and their effects on nutrient utilization, performance, and health of poultry. *Journal Animal Science Biotechnology*, 10: 2.
42. Zhen, W., Y. Shao, X. Gong, Y. Wu, Y. Geng, Z. Wang and Y. Guo. 2018. Effect of dietary *Bacillus coagulans* supplementation on growth performance and immune responses of broiler chickens challenged by *Salmonella enteritidis*. *Poultry Science*, 97: 2654-2666.
43. Zheng, M., R. Zhang, X. Tian, X. Zhou, X. Pan and A. Wong. 2017. Assessing the Risk of Probiotic Dietary Supplements in the Context of Antibiotic Resistance. *Front. Microbiology*, 8: 908.
44. Zorriehzahra, M.J., S.T. Delshad, M. Adel, R. Tiwari, K. Karthik, K. Dhama and C.C. Lazado, 2016. Probiotics as beneficial microbes in aquaculture: An update on their multiple modes of action: A review. *Vet. Q.*, 36: 228-24.
45. Zhou, X., Y. Wang, Q. Gu and W. Li. 2010. Effect of dietary probiotic, *Bacillus coagulans*, on growth performance, chemical composition, and meat quality of Guangxi Yellow chicken. *Poultry Science*, 89: 588-593.



## Evaluation of the Effects of *Bacillus Coagulans* on Functional Traits and Microbial Flora of the Gastrointestinal Tract of Broilers

Sudabeh Parhizkar<sup>1</sup>, Mojtaba Zaghari<sup>2</sup> and Mehdi Zhendi<sup>3</sup>

1- Ph.D. Graduated of Tehran University of Agriculture and Natural Resources, Karaj, Iran

2- Professor, Department of Animal Science, University of Tehran, Karaj, Iran,

(Corresponding author: mzaghari@ut.ac.ir)

3- Professor of Department of Animal Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran

Received: 14 March, 2022 Accepted: 1 August, 2022

### Extended Abstract

**Introduction and Objective:** *Bacillus coagulans* is a new strain of the probiotics group that in addition to being spore-forming, stimulates the secretion of lactic acid in the digestive system. This experiment is performed to assess the effect of *Bacillus Coagulans* on the functional traits and microbial flora of the gastrointestinal tract of Ross 308 broilers.

**Material and Methods:** In order to assess the effect of *Bacillus coagulans* probiotic supplement on the feeding of broiler chicks, an experiment is conducted on 960 chicks including 12 replications of 20 chicks. The nutritional periods consist of starter (1-10 days), grower (11-25 days) and finisher (26-42 days). To implement the experiment, the experiment was conducted on Ross 308 male chicks with average weight of  $40 \pm 0.12$  gram and in a completely randomized manner in four treatment groups. Experimental groups are 1) basal diet without consuming *Bacillus coagulans*, 2) basal diet with adding probiotic supplement at the rate of 400 g/ton feed in starter and grower periods and 200 g/ton feed in finisher period, 3) basal diet adding probiotic supplement at the rate of 400 g/ton feed in starter and 200 g/ton feed in grower and finisher period and 4) basal diet adding probiotic supplement at the rate of 200 g/ton feed in starter, grower and finisher periods. Production traits consisting of body weight gain, feed intake and feed conversion ratio are measured at the end of each period of starter, grower and finisher. On days 7 and 40, two chicks from each replicate are slaughtered using carbon dioxide gas and the cecum was isolated. The samples sent to the laboratory under specific protocols to count *Clostridium perfringens*, *E. coli*, *Salmonella*, *Streptococcus* and *Lactobacillus*. Furthermore, the cloaca temperature of all the remaining chickens of the experiment project is measured on the day 40 of experiment. Total excreted nitrogen and pH of litter contents are measured on the day 40.

**Results:** Consumption of *Bacillus coagulans* had no meaningful effect on weight gain of chickens up to 42 days of age, but compared to the control group, the groups that consumed *Bacillus coagulans* showed higher weight gain. In the starter and final period, consumption of *Bacillus coagulans* led to the reduction of feed intake ( $p \leq 0.05$ ). At day 42, groups that consume *Bacillus coagulans* had lower conversion rates than control group. Adding *Bacillus coagulans* to the diet of broilers at day 40 had a meaningful effect on increasing the population of *Lactobacilli*<sup>1</sup> ( $p \geq 0.05$ ). On the other hand, consumption of *Bacillus coagulans* reduced the bacterial population of *Clostridium*, *Streptococcus* and *Escherichia coli* ( $p \geq 0.05$ ). The results of this experiment show that broilers receiving *Bacillus coagulans* produced lower rate of nitrogen fecal escape than control group ( $p \geq 0.05$ ). Additionally, the use of this bacterial compound in the diet of broilers reduced the cloaca temperature of chickens compared to the control group ( $p \geq 0.05$ ). Adding this bacterium to the diet of broilers had no effect on pH litter ( $p > 0.05$ ).

**Conclusion:** The achieved results of this research indicated that dietary supplementation with *Bacillus coagulans* led to increase body weight gain and decrease FCR, balances the beneficial microbial population of the gastrointestinal tract, reduces gastrointestinal inflammation and improves digestibility.

**Keywords:** *Bacillus coagulans*, Broiler chick, Litter nitrogen, Microbial flora, Performance