



"مقاله پژوهشی"

اثر مقادیر مختلف یک مکمل ترکیبی شامل پروبیوتیک، پری بیوتیک و آنزیم بر عملکرد تولیدی، متابولیت های خونی، پروفایل هورمونی و وضعیت آنتی اکسیدانی در مرغ های تخم گذار

مهدی خدایی مطلق^۱، حسینعلی قاسمی^۲ و ابوالفضل صالحی زاده^۳

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

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

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

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

صفحه: ۱۲۸ تا ۱۳۷

چکیده مبسوط

مقدمه و هدف: با توجه به این که آنزیم ها با افزایش در دسترس بودن مواد معدنی و قابلیت هضم پروتئین و اسیدهای آمینه، موجب بهبود قابلیت هضم جیره های غذایی می شوند، استفاده از آن ها به عنوان یک روش کارآمد برای افزایش سودآوری در صنعت طیور شناخته شده است. علاوه بر این، برخی از آنزیم ها قادر به هیدرولیز کردن کربوهیدرات های غیر نشاسته ای هستند که منجر به افزایش استفاده از انرژی خوراک و همچنین تأمین فسفر بیشتر با تجزیه اسید فائیتیک می شوند. هدف از این مطالعه بررسی اثرات مکمل ترکیبی شامل پروبیوتیک، پری بیوتیک و آنزیم (شامل پروتاز، فیتاز، لیپاز و انواع کربوهیدرازها) بر عملکرد تولیدی، متابولیت های خونی، پروفایل هورمونی و وضعیت آنتی اکسیدانی در مرغ تخم گذار بود.

مواد و روش ها: آزمایش با استفاده از ۱۲۰ قطعه مرغ تخم گذار (سن ۵۲ هفته) در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تیمار، ۸ تکرار و ۵ قطعه مرغ در هر تکرار به مدت ۸ هفته انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل تیمار شاهد (بدون افزودنی) و تیمارهای حاوی مکمل آنزیمی در سطوح ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی گرم مکمل ترکیبی در کیلوگرم خوراک بودند. تولید تخم مرغ، وزن تخم مرغ و مصرف خوراک روزانه ثبت شد. صفات کیفی تخم مرغ و فراسنجه های بیوشیمی خون در پایان آزمایش بررسی شد.

یافته ها: یافته های پژوهش نشان داد که تیمار دریافت کننده سطح ۵۰۰ میلی گرم در کیلوگرم مکمل ترکیبی، درصد تولید بیشتر، وزن توده تخم مرغ بالاتر و ضریب تبدیل غذایی پایین تری در مقایسه با تیمار فاقد مکمل (شاهد) داشت. درصد تخم مرغ های غیرطبیعی در همه تیمارهای دریافت کننده مکمل ترکیبی در مقایسه با تیمار شاهد کمتر بود ($p < 0.05$). افزودن مکمل ترکیبی به جیره غذایی به طور خطی موجب افزایش مقادیر کلسترول، آلبومین، هورمون تری پتیدوتیرونین، ظرفیت کل آنتی اکسیدانی و فعالیت سوپر اکسید دیسموتاز خون شد ($p < 0.05$). در مقابل، غلظت های گلوکز، فسفر، اسید اوریک، آلکالین فسفاتاز، هورمون های TSH و T4، مالون دی آلدئید و نیتریک اکسید، مشابه فعالیت آنزیم های گلوکونیداز و کاتالاز خون تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت ($p > 0.05$).

نتیجه گیری: استفاده از مکمل ترکیبی در جیره غذایی مرغ های تخم گذار، به ویژه در سطح ۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم، در مرحله دوم چرخه تخم گذاری تأثیر مثبتی بر عملکرد تولید و وضعیت سلامت دارد که ممکن است به افزایش وضعیت آنتی اکسیدانی و کاهش سطح تنش مرتبط باشد.

واژه های کلیدی: پاسخ فیزیولوژیکی، عملکرد، مرغ تخم گذار، مکمل ترکیبی، وضعیت سلامتی

مقدمه

یکی از مهم ترین عوامل مؤثر بر عملکرد طیور، فلور میکروبی دستگاه گوارش آنها است که می تواند نقش مهمی بر فرآیندهای ایمنی، تغذیه ای، فیزیولوژیکی و در نتیجه عملکرد داشته باشد. پرندگان تا حدودی دارای مقاومت طبیعی در برابر تشکیل کلنی و یا آلودگی ناشی از میکروارگانیسم های بالقوه بیماری زا هستند. افزایش مقاومت آنتی بیوتیکی در باکتری ها و احتمال وجود بقایای آنتی بیوتیکی در فرآورده های طیور موجب تلاش محققین برای یافتن راه های دیگری غیر از استفاده از آنتی بیوتیک ها در جیره طیور شده است. در مقابل، حذف مصرف آنتی بیوتیک در جیره طیور موجب کاهش عملکرد تولیدی و در مقابل افزایش تلفات در گله می گردد (۳). جوجه های گوشتی و مرغ های تخم گذار از ژنوتیپ های مختلفی برخوردار بوده و طول عمر تولیدی آنها از نظر تجاری متفاوت است و در شرایط مختلف با نیازهای خوراکی متفاوتی پرورش می یابند. بنابراین، ترکیب میکروبیوتای روده در این دو نژاد متفاوت هستند (۳۱). جمعیت میکروبی روده ای مرغ های تخم گذار تحت تأثیر عوامل متعددی مانند سن گله، سیستم تولیدی، بیماری، جیره خوراکی و آنتی بیوتیک ها قرار دارد

(۱۵). در میان افزودنی های گیاهی جایگزین آنتی بیوتیک ها در جیره طیور می توان پروبیوتیک ها، پری بیوتیک ها، اسیدهای آلی و حتی آنزیم ها نام برد. پروبیوتیک ها میکروب های غیربیماری زا هستند که در طبیعت و دستگاه گوارش طیور به طور طبیعی یافت می شوند و تأثیر مثبت بر فیزیولوژی میزبان دارند (۸). پروبیوتیک ها سنتز مواد مغذی و دسترسی زیستی آنها را بهتر می کنند و در نتیجه عملکرد رشد حیوانات مزرعه ای را افزایش می دهند (۲۹). استفاده از پروبیوتیک ها در جیره مرغ های تخم گذار باعث بهبود کیفیت تخم مرغ، افزایش نرخ تخم گذاری و همچنین کاهش هزینه های خوراک می شود (۳۰). مهدوی و همکاران (۱۹) پس از تغذیه پروبیوتیک به مرغ های تخم گذار هیچ تغییری در مصرف خوراک، تولید تخم مرغ و وزن تخم مرغ ها گزارش نکردند.

پری بیوتیک ها ترکیبات عمدتاً گیاهی غیرقابل هضمی هستند که مواد مغذی مورد نیاز تعداد محدودی از باکتری های دستگاه گوارش را فراهم می کنند. بیشتر پری بیوتیک ها دارای ترکیب کربوهیدراتی (الیگو و پلی ساکاریدها) هستند؛ از طرفی بسیاری از باکتری های مفید موجود در روده می توانند از این کربوهیدرات ها به عنوان منبع انرژی استفاده کنند (۴۶).

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

پارامترهای عملکردی و تولیدی

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

پارامترهای کیفی تخم مرغ

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

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

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

مواد و روش‌ها

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

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

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

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

۱- در هر کیلوگرم شامل ۸/۸۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین A، ۲۵۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین D₃، ۶/۶ میلی‌گرم ویتامین E، ۲/۵ میلی‌گرم ویتامین K₃، ۱/۵ میلی‌گرم ویتامین B₁، ۴/۴ میلی‌گرم ویتامین B₂، ۲۰ میلی‌گرم ویتامین B₃، ۸ میلی‌گرم ویتامین B₅، ۲/۵ میلی‌گرم ویتامین B₆، ۱/۱ میلی‌گرم ویتامین B₉، ۰/۰۸ میلی‌گرم ویتامین B₁₂، ۰/۱۵ میلی‌گرم بیوتین، ۴۰۰ میلی‌گرم کولین کلراید، ۶۰ میلی‌گرم منگنز، ۳۰ میلی‌گرم آهن، ۶۶ میلی‌گرم روی، ۶ میلی‌گرم مس، ۰/۸ میلی‌گرم ید و ۰/۲ میلی‌گرم سلنیوم بود.

۲- تعادل الکترولیتی جیره بر حسب میلی‌اکی‌والان در کیلوگرم جیره (DEB) = (Na⁺, mEq/kg + K⁺, mEq/kg) - CL⁻, mEq/kg

شدند. فعالیت آنزیم‌های گلوکاتایون پراکسیداز، سوپر اکسید دیسموتاز و کاتالاز توسط روش کالری‌متری (آنزیمی) تعیین شد (۴). با استفاده از یک دستگاه الایزا ریدر (Tecan Co., Grodingen, Austria)، محتوای ظرفیت کل آنتی‌اکسیدانی مالون‌دی‌آلدئید (Cayman Chemical Co., Ann Arbor, MI, USA) در سرم خون و همچنین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گلوکاتایون پراکسیداز، سوپر اکسید دیسموتاز و کاتالاز (Cayman Chemical Co., Ann Arbor, MI, USA) در خون کامل اندازه‌گیری شد. نیتریک اکسید سرم (NO) با روش توصیف شده توسط شریفی و همکاران (۲۰۱۶) اندازه‌گیری شد (۳۹). غلظت سرمی کورتیزول، تری‌یدوتیرونین (T₃) و تیروکسین (T₄) با استفاده از روش RIA با کیت‌های تجاری (کیت‌های پارس آزمون، شرکت پارس آزمون، تهران، ایران) و دستگاه گاما کانتر اتوماتیک (BioSource International, Camarillo, CA, USA) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

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

نتایج و بحث

عملکرد تولیدی و کیفیت تخم‌مرغ

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

شاخص شکل توسط دستگاه کولیس و از تقسیم عرض تخم‌مرغ بر طول آن به دست آمد که به صورت درصد بیان گردید. شاخص رنگ زرده با استفاده از شاخص سنجش رنگ^۱ که دارای ۱۵ طیف رنگ استاندارد (از رنگ زرد روشن تا قرمز نارنجی) است، اندازه‌گیری شد. جهت تعیین وزن پوسته، پوسته‌ها را به مدت ۴۸ ساعت در هوای آزاد کاملاً خشک کرده، سپس میانگین وزن پوسته‌های خشک شده برای هر واحد آزمایشی تعیین شد. برای تعیین ضخامت پوسته تخم‌مرغ، ضخامت پوسته از سه مقطع سر، ته و وسط تخم‌مرغ به وسیله دستگاه کولیس مخصوص با دقت ۰/۰۰۱ میلی‌متر اندازه‌گیری و میانگین ضخامت این چند ناحیه به عنوان ضخامت پوسته تخم‌مرغ تعیین شد.

پارامترهای خونی اندازه‌گیری شده

پس از گذشت ۸ هفته از شروع آزمایش خون‌گیری از سیاهرگ بال انجام گرفت. خون‌گیری در پایان آزمایش چهار ساعت پس از مصرف وعده خوراک صبح، از پرندوها توسط سرنگ انجام شد. به منظور جداسازی سرم، نمونه‌ها در ۲۵۰۰ دور به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند. نمونه‌های سرم در ویال‌های ۱/۵ میلی‌لیتری ریخته و تا روز انتقال به آزمایشگاه در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. آنالیز نمونه‌های سرم برای گلوکز، کلسترول، تری‌گلیسرید، پروتئین، آلبومین، اسید اوریک، آسپارات آمینو ترانسفراز^۲، آلانین آمینوترانسفراز^۳ و آلکالین فسفاتاز انجام شد. غلظت این متابولیت‌ها و آنزیم‌های خونی با استفاده از دستگاه اندازه‌گیری کننده بیوشیمیایی اتوماتیک (Technicon Ra 1000) و کیت‌های تجاری (کیت‌های پارس آزمون، شرکت پارس آزمون، تهران، ایران) بر اساس روش پیشنهادی اندازه‌گیری

ولی برخی دیگر از محققین، زمانی که از مکملی حاوی ساکارومایسیس سرویزیه، باسیلوس سوبتیلیس و باسیلوس لیسنی فورمیس و پری بیوتیک مانان-الیگوساکارید استفاده نمودند، تفاوت آماری معنی داری در وزن تخم مرغ مشاهده نکردند (۲۱).

علت احتمالی این اختلاف در بین نتایج این مطالعات، ممکن است تفاوت در سن مرغ ها و میزان تراکم باکتری در ماده افزودنی باشد. افزایش وزن تخم مرغ ناشی از استفاده از افزودنی در جیره غذایی ممکن است ناشی از اثرات غالب شدن آنها بر باکتری های مضر دستگاه گوارش و یا اثرات تحریکی بر باکتری های مفید که ظرفیت جذب را افزایش می دهند، باشد (۸). طبق گزارش ها استفاده از فروکتو اولیگوساکاریدها در جیره غذایی جوجه های گوشتی باعث بهبود فعالیت پروتئاز و آمیلاز در محتویات روده باریک می شوند که با هضم و جذب بهتر مواد غذایی همراه است (۴۴). افزایش تعداد میکروارگانیسم های مفید در روده با استفاده از پری بیوتیک فروکتو اولیگوساکارید، فراهمی مواد مغذی برای جذب را زیاد کرده و باعث شده که عملکرد بهتری را به همراه آورند (۴۶).

تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت (به ترتیب $p=0/009$ ، $p=0/005$ و $p=0/011$)، به گونه ای که بالاترین درصد تولید و وزن توده ای تخم مرغ و کمترین ضریب تبدیل غذایی در تیمار ۵۰۰ پی پی ام مکمل مشاهده شد. همچنین درصد تخم مرغ های غیر طبیعی هم به صورت خطی و هم درجه دوم تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت ($p=0/035$) و افزودن مکمل ترکیبی در هر دو سطح، سبب کاهش درصد تخم مرغ های غیر طبیعی شد. در بین شاخص های کیفی تخم مرغ، افزایش خطی ضخامت پوسته تخم مرغ ($p=0/045$) و تمایل به افزایش خطی وزن تخم مرغ ($p=0/091$) با افزایش سطح مکمل به ترکیب جیره غذایی مشاهده شد.

در این آزمایش، درصد تولید و وزن توده ای تخم مرغ و درصد تخم مرغ های غیر طبیعی تحت تاثیر استفاده از مکمل ترکیبی قرار گرفت (جدول ۲). نتایج مشابهی برای وزن تخم مرغ زمانی که در جیره غذایی مرغ های تخم گذار که از ساکارومایسیس سرویزیه استفاده شده بود، گزارش شده است (۴۵). در مطالعه ای مشابه که در مرغ های تخم گذار انجام شد، افزودن لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس به جیره غذایی با افزایش درصد تولید و کاهش ضریب تبدیل غذایی همراه بود (۱۰).

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

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

a-c: میانگین های دارای حروف نامشابه در هر ردیف دارای تفاوت معنی دار با هم هستند ($p<0/05$).

SEM: میانگین خطای استاندارد

روده، فرآیند هضم و جذب در مجرای گوارشی را مختل نموده و گوارش پذیری مواد مغذی را کاهش دهد (۴۱، ۲۸). گنجاندن آنزیم های خوراکی تجزیه کننده NSP در جیره، ساختارهای فیبری و کربوهیدرات های محلول جیره را تحت تاثیر قرارداده و ویسکوزیته محتویات روده را کاهش می دهد؛ این فعل و انفعالات در نهایت از طریق کاهش جمعیت میکروب های بیماریزای دستگاه گوارش و بهبود ساختار مورفولوژیک در روده باریک بهبود قابلیت هضم مواد مغذی را در پی خواهد داشت (۲۴). به نظر می رسد که مواد موجود در مکمل ترکیبی به خصوص پروبیوتیک ها می توانند به طور موثری از طریق اتصال با گیرنده های دیواره روده و پدیده حذف رقابتی جلوی استقرار عوامل بیماریزا در دستگاه گوارش را گرفته و از بروز آلودگی جلوگیری می کنند. همچنین این مکمل حاوی آنزیم های آمیلاز، پروتئیناز، فیتاز، لیپاز، سلولاز، گلوکوناز، زایلاناز و پکتیناز می باشد که می توانند در کنار سلامت ایجاد شده در دستگاه گوارش به واسطه وجود پروبیوتیک ها و پریوتیک ها، بهبود هضم و جذب مواد مغذی را فراهم آورند.

باکتری های مفید دستگاه گوارش خصوصاً باکتری های تولیدکننده اسید لاکتیک با تولید اسیدهای آلی، pH دستگاه گوارش را کاهش می دهند و محیط را برای سالمونلاها و کلی باسیل های نامناسب می کنند که pH مطلوب برای فعالیت آنها قلیایی است و در نتیجه امکان تکثیر و ابقا آنها در دستگاه گوارش را کاهش می دهند (۲۷). بهبود شرایط برای میکروارگانیسم های مفید روده، افزایش بازدهی هضم و جذب مواد غذایی را به دنبال دارد که در نهایت می تواند به صورت افزایش وزن تخم مرغ مشخص گردد (۳۲). با توجه به اینکه بخشی از مکمل ترکیبی شامل مولتی آنزیم حاوی آنزیم های تجزیه کننده پلی ساکاریدهای غیر نشاسته ای (NSP) بود، بنابراین به نظر می رسد بخشی از اثرات مفید مکمل ترکیبی در این مطالعه ناشی از حضور این آنزیم ها باشد. یافته های چندین مطالعه دیگر (۲۲، ۹، ۷)، اثرات مثبت آنزیم های تجزیه کننده NSP را نیز در جیره های طیور بر عملکرد تولیدی نشان می دهد. گزارش ها نشان می دهند که بخش محلول در آب NSP جیره ممکن است با افزایش ویسکوزیته محتویات

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

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

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

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

پارامترهای بیوشیمی خون

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

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

فراسنجه های خونی	مکمل ترکیبی (میلی گرم در کیلوگرم)	SEM	p-value	
			خطی	درجه ۲
گلوز (mg/dL)	۱۸۸/۶	۱۹۶/۴	۹/۷۸	۰/۳۲۱
کلسیم (mg/dL)	۲۴/۹۶	۲۵/۸۸	۰/۸۸۲	۰/۴۷۸
فسفر (mg/dL)	۶/۲۲	۷/۰۱	۰/۶۷۸	۰/۲۴۹
تری گلیسرید (mg/dL)	۸۴۶/۴	۹۲۳/۴	۳۲/۱۲	۰/۰۷۸
کلسترول (mg/dL)	۱۵۳/۸۰ ^c	۱۹۲/۲۰ ^{ab}	۱۴/۳۳	۰/۹۲۴
پروتئین تام (g/dL)	۵/۷۸ ^d	۶/۱۵ ^d	۰/۳۵۴	۰/۴۵۸
آلبومین (g/dL)	۲/۴۸ ^d	۲/۸۰ ^{ab}	۰/۲۹۳	۰/۶۷۸
اسید اوریک (mg/dL)	۶/۵۳	۶/۶۶	۰/۴۱۹	۰/۵۸۰
آلاتین آمینوترانسفراز (IU/L)	۲۳/۱۶	۲۰/۰۵	۲/۹۸۱	۰/۶۷۵
آسپارات آمینو ترانسفراز (IU/L)	۲۰۵/۲	۱۹۸/۰	۱۰/۲۶	۰/۸۲۸
آلکالین فسفاتاز (IU/L)	۱۳۸۳/۶	۱۲۵۶/۴	۹۷/۱۷	۰/۷۹۶

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

پرو فایل هورمونی خون

با توجه به جدول ۴، مقادیر هورمون های TSH و T₄ تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت ($p > 0.05$). در مقابل، افزایش خطی هورمون T₃ ($p = 0.014$) و تمایل به کاهش خطی هورمون کورتیزول ($p = 0.087$) در سرم خون با افزایش سطح مکمل ترکیبی در جیره غذایی مشاهده شد. غده تیروئید مسئول ترشح هورمون های T₃ و T₄ است که سازوکارهایی را برای کنترل مسیرهای متابولیکی متعدد از جمله هموستاز کلسیم و فسفر فراهم می کند (۲۵). از آنجایی که هورمون T₃ از طریق فرآیندهای آنابولیک و کاتابولیک بر سرعت رشد و میزان تولید تاثیر می گذارد (۳۸)، سطوح افزایش یافته T₃ منعکس کننده افزایش تولید تخم مرغ است (۱۳) که با یافته های ما در گروه دریافت کننده ۵۰۰ پی پی ام مکمل ترکیبی مطابقت دارد. با توجه به نتایج آزمایش حاضر به نظر می رسد تمایل به کاهش ترشح هورمون کورتیزول در تیمارهای حاوی مکمل ترکیبی به خصوص در سطح بالای مورد استفاده (۵۰۰ پی پی ام) می تواند دلالت بر این موضوع داشته باشد که ترکیبات موجود در این مکمل به خصوص پروبیوتیک ها و پری بیوتیک ها می توانند نقش ضد

تنش برای پرند داشته باشند (۴۰) و در شرایط پرورش تجاری که انواع تنش های محیطی نقش منفی در تولید و وضعیت سلامت پرند دارد استفاده از این مکمل می تواند در این زمینه مفید واقع شود. از اثرات مفید پروبیوتیک ها و پری بیوتیک های غذایی در طیور می توان به تعدیل سیستم ایمنی، شرکت در واکنش های ضد التهابی، حذف و از بین بردن عوامل بیماری زا در دستگاه گوارش و کاهش آلودگی باکتریایی در فرآورده های تولیدی اشاره نمود (۳۷، ۲۶). بنابراین اثرات متقابل مفید بین میکروبیوتای روده، اپیتلیوم و سیستم ایمنی از طریق استفاده از مکمل های پروبیوتیکی و پری بیوتیکی مقاومت در برابر شرایط تنش و بیماری ایجاد می کند (۵). همچنین در یک مطالعه اخیر در جوجه های گوشتی، افزودن مکمل آنزیمی ترکیبی شامل انواع کربوهیدرازها و پروتئاز موجب بهبود پاسخ ایمنی از طریق افزایش تولید آنتی بادی و فعالیت فاگوسیتوزی گردید (۶)، که این موضوع هم می تواند تا حدودی نقش مثبت آنزیم های موجود در مکمل ترکیبی در کاهش تنش را نیز توجیه کند.

جدول ۴- اثرات مکمل ترکیبی شامل پروبیوتیک، پری بیوتیک و آنزیم بر غلظت هورمون های تیروئیدی و کورتیزول خون در مرغ های تخمگذار

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

فراسنجه های خونی	مکمل ترکیبی (میلی گرم در کیلوگرم)	SEM	p-value	
			خطی	درجه ۲
TSH (ng/dL)	۱/۰۸	۱/۳۲	۰/۱۳۰	۰/۶۵۵
T ₃ (ng/dL)	۱/۳۲ ^b	۱/۷۳ ^{ab}	۰/۲۸۷	۰/۷۸۲
T ₄ (ng/dL)	۴/۹۶	۵/۶۵	۰/۳۰۸	۰/۱۴۴
کورتیزول (ng/dL)	۲/۲۲	۱/۹۴	۰/۱۹۵	۰/۸۴۳

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

وضعیت آنتی اکسیدانی

همان طور که جدول ۵ نشان می دهد، غلظت های مالون دی آلدئید و نیتریک اکسید سرم خون، مشابه فعالیت آنزیم های گلوتاتیون پراکسیداز و کاتالاز تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت ($p > 0.05$). در مقابل، افزایش مقدار

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

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

p-value		SEM	مکمل ترکیبی (میلی گرم در کیلوگرم)			فراسنجه‌های خونی
درجه ۲	خطی		۵۰۰	۲۵۰	۰ (شاهد)	
۰/۹۰۲	۰/۰۰۸	۰/۳۲۴	۳/۷۴ ^{cd}	۳/۳۶ ^{cd}	۳/۹۸ ^d	ظرفیت آنتی اکسیدانی کل (U/mL)
۰/۷۶۵	۰/۲۲۱	۰/۲۱۹	۱/۷۳	۱/۹۴	۲/۱۰	مالون دی آلدئید (nmol/mL)
۰/۸۴۵	۰/۱۴۳	۱۲۰/۲۲	۱۵۰۶/۱	۱۳۹۷/۴	۱۲۴۵/۲	گلوتاتیون پر اکسیداز (U/mL)
۰/۵۶۲	۰/۰۲۴	۸/۱۶۵	۱۱۲/۹ ^a	۹۵/۳ ^{ab}	۸۹/۵۴ ^D	سوپر اکسید دیسموتاز (U/mL)
۰/۱۰۲	۰/۱۹۴	۰/۱۸۵	۲/۱۵	۲/۳۲	۱/۸۲	کاتالاز (U/mL)
۰/۷۳۳	۰/۳۴۵	۱/۲۲۵	۲۲/۱۴	۲۰/۵۵	۱۹/۷۶	نیتریک اکساید (μmol/L)

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

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

نتیجه‌گیری کلی

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

تشکر و قدردانی

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

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

منابع

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

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

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

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

Mahdi Khodaei-Motlagh¹, Hosein Ali Ghasemi² and Abolfazl Salehi Zadeh³

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

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

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

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

Extended Abstract

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

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

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

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

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