



## تاثیر ایزوله‌های لاکتوباسیلوس روتری و لاکتوباسیلوس سالیواریوس جدا شده از دستگاه گوارش طیور بومی شمال ایران بر عملکرد، لیپیدهای سرمی و پارامترهای ایمنی جوجه‌های گوشتی

مریم رویان<sup>۱</sup>، مریم هاشمی<sup>۲</sup> و رامین صیقلانی<sup>۳</sup>

۱- منطقه شمال کشور، پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی ایران (ABRII)، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی (AREEO)، رشت، ایران،

(نویسنده مسئول: m.royan@abrii.ac.ir)

۲- پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی ایران (ABRII)، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی (AREEO)، کرج، ایران

۳- منطقه شمال کشور، پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی ایران (ABRII)، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی (AREEO)، رشت، ایران

تاریخ دریافت: ۹۷/۷/۱۴ تاریخ پذیرش: ۹۸/۲/۳۰

صفحه: ۱۸ تا ۲۶

### چکیده

هدف از این مطالعه بررسی اثرات استفاده از سه سویه لاکتوباسیلوس روتری (*L. reuteri* ABRIG17 (MF686477))، *L. reuteri* ABRIG3 (MF686463) و *L. reuteri* ABRIG23 (MF686483) جداسازی شده از بخش‌های دئودنوم و ژئوژنوم مجرای گوارش مرغ‌های بومی گیلان و یک سویه لاکتوباسیلوس سالیواریوس (*L. salivarius* NABRII58 (MH595986)) جداسازی شده از دستگاه گوارش اردک بومی مازنداران بر عملکرد، لیپیدهای سرمی و پارامترهای ایمنی جوجه‌های گوشتی بود. سویه‌های مذکور طی یک رویه غربالگری به‌منظور یافتن باکتری‌های با پتانسیل پروبیوتیکی از میان ۳۸۳ باکتری اسید لاکتیکی گرم مثبت و کاتالاز منفی جداسازی شدند. در آزمایش از ۵۰۰ قطعه جوجه گوشتی نر یک روزه نژاد راس ۳۰۸ در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با ۵ تیمار، ۵ تکرار و ۲۰ قطعه پرنده در هر تکرار استفاده شد. تیمارهای آزمایش عبارتند بودند از: ۱- جیره پایه به عنوان گروه شاهد (تیمار C)، ۲- جیره پایه + ۱ گرم در کیلوگرم از پودر مخلوط حاوی باکتری *L. reuteri* ABRIG3 (MF686463) (تیمار LR1)، ۳- جیره پایه + ۱ گرم در کیلوگرم از باکتری *L. reuteri* ABRIG23 (MF686483) (تیمار LR2)، ۴- جیره پایه + ۱ گرم در کیلوگرم از باکتری *L. reuteri* ABRIG17 (MF686477) (تیمار LR3) و ۵- جیره پایه + ۱ گرم در کیلوگرم از باکتری *L. salivarius* (MH595986) (تیمار LS). مصرف سویه‌های باکتریایی در تیمارهای LR1 و LS منجر به بهبود افزایش وزن پایان دوره شدند ( $p < 0.05$ ). به‌علاوه مصرف سویه باکتریایی در تیمار LR1 منجر به افزایش وزن روزانه کل دوره شد ( $p < 0.05$ ). هر سه سویه لاکتوباسیلوس روتری مورد استفاده یعنی تیمارهای LR1، LR2 و LR3 باعث کاهش معنی‌دار در چربی حفره بطنی شدند ( $p < 0.05$ ). در تیمار LR3 افزایش درصد لاشه مشاهده شد ( $p < 0.05$ ). سنجش ایمونوگلوبولین‌های سرم خون جوجه‌های گوشتی پس از دو مرحله تزریق گلوبول‌های قرمز گوسفند نشان داد که تیمار LR3 دارای بالاترین سطح ایمونوگلوبولین کل پس از دومین تزریق نسبت به تیمار شاهد بود ( $p < 0.05$ ) و سطح IgG در تیمار LR1 پس از اولین تزریق نسبت به گروه شاهد افزایش یافت ( $p < 0.05$ ). پس از تزریق دوم، میزان IgG چهار تیمار آزمایشی مورد مطالعه بالاتر از تیمار شاهد بود ( $p < 0.05$ )، اما از نظر IgM تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی و تیمار شاهد مشاهده نشد. غلظت کل کلسترول سرم تیمار LR2 به طور معنی‌داری ( $p < 0.05$ ) پایین‌تر از سایر تیمارها بود. تفاوت معنی‌داری از نظر تری‌گلیسیرید بین تیمار کنترل و سه تیمار LR1، LR2 و LS وجود نداشت و تنها سطح تری‌گلیسیرید LR3 بالاتر از سایرین بود ( $p < 0.05$ ). سطح HDL یا کلسترول خوب در تیمار LS بالاتر از تیمار کنترل بود ( $p < 0.05$ ). از نظر سطح LDL سرم تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی و شاهد وجود نداشت. مطالعه حاضر مشخص نمود که امکان جداسازی باکتری‌های با قابلیت پروبیوتیکی از جمعیت میکروبی طیور بومی وجود داشته و باکتری‌های جداسازی شده قادر به بهبود صفات تولیدی و ایمنی جوجه‌های گوشتی می‌باشند. نکته قابل توجه اثر مطلوب سویه لاکتوباسیلوس سالیواریوس جداسازی شده از مجرای گوارش اردک بومی بر افزایش وزن و ایمونوگلوبولین‌های سرم خون جوجه‌های گوشتی پیشنهاد می‌نماید باکتری‌های اختصاصی مجرای گوارش یک گونه از طیور می‌تواند به عنوان پروبیوتیک در دیگر گونه‌های طیور مورد استفاده قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: باکتری‌های اسید لاکتیکی، پروبیوتیک، جوجه گوشتی، سیستم ایمنی، عملکرد

### مقدمه

غذایی، منجر به افزایش تجمع چربی در حفره شکمی پرنده‌های اصلاح شده، شده است که صفاتی نامطلوب محسوب می‌شود (۹). برخی گزارشات تاییدکننده تأثیرات مثبت لاکتوباسیلوس‌ها بر متابولیسم چربی و کاهش چربی حفره بطنی جوجه‌های گوشتی هستند (۴۲، ۲۵، ۲۰). در مطالعه پیشین محققین حاضر، سویه‌های لاکتوباسیلوسی با پتانسیل پروبیوتیکی را از قسمت‌های مختلف مجرای گوارش طیور بومی ایران جداسازی و تعیین مشخصات کردند (۳۵) و در تحقیق حاضر اثرات چهار سویه‌ی لاکتوباسیلوسی شامل ۳ سویه‌ی *L. reuteri* جدا شده از دئودنوم و ژئوژنوم مرغ‌های بومی گیلان و یک سویه *L. salivarius* جدا شده از دستگاه

پروبیوتیک‌ها به‌عنوان مهم‌ترین جایگزین آنتی‌بیوتیک‌های محرک رشد، شامل میکروب‌های زنده‌ای هستند که با بهبود تعادل میکروبی مجرای گوارش منجر به ارتقاء سلامت میزبان می‌شوند (۱۹). لاکتوباسیلوس‌ها جزء فلور طبیعی مجرای گوارش جوجه‌های گوشتی بوده و از جمله سویه‌های رایج مورد استفاده در ترکیب مکمل‌های پروبیوتیکی هستند (۳۷، ۱۹). برای طراحی یک مکمل پروبیوتیکی جدید سویه‌های باکتریایی ترجیحاً باید جزء میکروفلور طبیعی مجرای گوارش همان گونه باشند (۲۰). روند اصلاح نژاد جوجه‌های گوشتی با هدف بهبود سرعت رشد و ضریب تبدیل

نگهداری شد. سپس هر یک از جدایه‌ها به منظور استفاده در تغذیه جوجه‌های گوشتی به میزان  $1 \times 10^{10}$  CFU/g در آرد ذرت به منظور مخلوط نمودن با خوراک روزانه رقیق شدند (۳۸).

### آزمایش با جوجه‌های گوشتی

تعداد ۵۰۰ قطعه جوجه گوشتی نر یک روزه سویه راس ۳۰۸ در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با ۵ تیمار، ۵ تکرار و ۲۰ قطعه پرند در هر تکرار توزیع شدند. میانگین وزن اولیه گروه‌های آزمایشی در زمان شروع آزمایش ۴۲ گرم بود و جوجه‌ها به طور تصادفی به تکرارها اختصاص یافتند. تیمارهای این آزمایش عبارتند بودند از ۱- جیره پایه به عنوان شاهد (تیمار C)، ۲- جیره پایه + ۱ گرم در کیلوگرم از پودر مخلوط حاوی باکتری (*L. reuteri* ABRIG3 (MF686463) (تیمار LR1)، ۳- جیره پایه + ۱ گرم در کیلوگرم از باکتری (*L. reuteri* ABRIG23 (MF686483) (تیمار LR2)، ۴- جیره پایه + ۱ گرم در کیلوگرم از باکتری (*L. reuteri* ABRIG17 (MF686477) (تیمار LR3) و ۵- جیره پایه + ۱ گرم در کیلوگرم از باکتری (*L. salivarius* NABRII58 (MH595986) (تیمار LS). جیره پایه، یک جیره تجاری فاقد آنتی‌بیوتیک و فرموله شده بر پایه ذرت و کنجاله سویا برای دوره آغازین (روز ۱-۱۰)، رشد (روز ۲۱-۱۱) و پایانی (روز ۴۲-۲۱) بود. جیره به فرم پودری بوده و دو بار در روز (صبح و عصر) ظروف دانخوری پر می‌شدند و در طول شبانه روز جوجه‌ها دسترسی آزاد به آب و غذا داشتند. این آزمایش به مدت ۴۲ روز انجام شد و جوجه‌ها طبق برنامه واکسیناسیون مرسوم جوجه گوشتی واکسینه شدند. افزایش وزن، مصرف خوراک و ضریب تبدیل غذایی جوجه‌های گوشتی برای دوره آغازین (۱۰ روزگی)، رشد (۲۴ روزگی)، پایانی (۴۲ روزگی) و کل دوره پرورش محاسبه و همه ارقام براساس میزان تلفات هر گروه تصحیح شد.

### تزریق گلبول‌های قرمز گوسفند (SRBC)

برای تهیه سوسپانسیون قابل تزریق SRBC، خون دفیبرینه گوسفند به مدت ۱۰ دقیقه در ۲۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شد. مایع بالایی دور ریخته شد و به همان میزان سرم فیزیولوژی (محلول کلرید سدیم ۰/۹ درصد) به آن اضافه شد و طی سه مرحله پس از سانتریفوژ مجدد، محلول بالایی دور ریخته شد. گلبول‌های قرمز شسته شده با محلول کلرید سدیم رقیق شد و محلول ۵ درصد گلبول قرمز شسته شده آماده برای تزریق به دست آمده تا زمان استفاده در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در یخچال نگهداری شد (۲۶). طی روزهای ۲۲ و ۳۵ از دوره پرورش، به ۲ جوجه از هر تکرار، ۰/۱ سی‌سی گلبول قرمز گوسفندی ۵ درصد از طریق ورید بال تزریق شد و سطوح IgG، IgM و ایموگلوبولین کل، ۷ روز بعد از هر یک از تزریق‌ها اندازه‌گیری شد (۳۲). برای این منظور ۲۵ میکرولیتر سرم و ۲۵ میکرولیتر محلول بافر فسفات به‌داخل اولین چاهک پلیت ۹۶ تایی ( $8 \times 12$ ) اضافه و پلیت در داخل انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد برای مدت نیم‌ساعت قرار داده شد. پس از نیم‌ساعت به بقیه چاهک‌ها ۲۵ میکرولیتر محلول بافر فسفات اضافه و سپس رقت‌های

گوارش اردک بومی مازندران بر عملکرد رشد، ذخایر چربی حفره‌ی بطنی، لیپیدهای سرمی، وزن اندام‌های داخلی و عملکرد سیستم ایمنی مرغ‌های گوشتی بررسی شد.

### مواد و روش‌ها

در این مطالعه اثر استفاده از سه سویه *لاکتوباسیلوس روتری* (*L. reuteri* ABRIG17 (MF686477)، *L. reuteri* ABRIG23 (MF686483)، *L. reuteri* ABRIG3 (MF686463))، جداسازی شده از بخش‌های دئودنوم و ژئوژنوم مجرای گوارش مرغ‌های بومی گیلان و یک سویه *لاکتوباسیلوس سالیواریوس* (*L. salivarius* NABRII58 (MH595986)) جداسازی شده از دستگاه گوارش اردک بومی مازندران بر عملکرد، لیپیدهای سرمی و پارامترهای ایمنی جوجه‌های گوشتی مورد بررسی قرار گرفت. سویه‌های مذکور طی یک رویه غربالگری به منظور یافتن باکتری‌های با پتانسیل پروبیوتیکی از میان ۳۸۳ باکتری اسید لاکتیکی گرم مثبت (باکتری‌های گرم مثبت شامل گروهی از باکتری‌ها هستند که در برابر رنگ‌آمیزی گرم واکنش مثبتی نشان داده و با جذب کریستال ویوله توسط پپتیدوگلیکان موجود در دیواره، به رنگ آبی تیره و بنفش دیده می‌شوند)، کاتالاز منفی (کاتالاز آنزیمی است که باعث آزاد سازی اکسیژن از آب اکسیژنه می‌شود و این تست برای شناسایی باکتری‌های کاتالاز منفی نظیر باکتری‌های اسید لاکتیکی انجام می‌شود) و KOH منفی (مخلوط نمودن کلنی باکتریایی با ۳% KOH از جمله تست‌های افتراق باکتری گرم مثبت از باکتری گرم منفی است) جداسازی شدند (۳۵). باکتری‌های انتخاب شده تمام تست‌های مربوط به تعیین خصوصیات پروبیوتیکی نظیر توانایی تحمل اسید معده (۴۵)، توانایی تحمل صفرای موجود در روده کوچک (۲۳)، مهار پاتوژن‌های *سالمونلا* / *انتیریتیدیس*، *سالمونلا* تیفی *موریوم* و فقدان همولیز را پشت سر گذاشته و به منظور شناسایی ملکولی از نظر ناحیه 16s باکتریایی بررسی شدند (۳۵). پس از خوانش، میزان شباهت قطعات مذکور با قطعات مشابه در بانک NCBI با استفاده از نرم افزار بلاست مشخص شد و قطعات مذکور در بانک ژنی NCBI ثبت گردیدند (۳۵). تست حساسیت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های مذکور به منظور انتخاب باکتری‌های حساس به ۸ آنتی‌بیوتیک توصیه شده توسط EFSA<sup>۱</sup> و اطمینان از عدم انتقال ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی در برابر آنتی‌بیوتیک‌های مهم مورد استفاده در پزشکی و دامپزشکی (آمپی‌سیلین، جنتامایسین، کانامایسین، استرپتومایسین، اریترومایسین، کلیندامایسین، تتراسایکلین و کلرامفنیکل) نیز انجام شد (۷).

چهار باکتری انتخاب شده به‌طور جداگانه در محیط کشت MRS مایع و در ۳۷ درجه سانتی‌گراد و در شرایط بی‌هوازی کشت شدند. بعد از کشت جدایه‌ها، سلول‌های باکتریایی توسط سانتریفوژ جداسازی شده و سوپرناتانت این باکتری‌ها دور ریخته شد. پس از شستشوی پلیت‌های باکتریایی، پلیت‌های باکتریایی جداگانه فریزدرای شدند. پودرهای فریزدرای شده به‌مدت چند ماه در یخچال و در دمای ۴ درجه

LR1 و LR2 به طور معنی‌داری ( $p < 0.05$ ) بالاتر از سایر تیمارها و تیمار شاهد بود. در دوره پایانی، جوجه‌های دریافت کننده تیمار LR1 دارای میزان مصرف خوراک روزانه بالاتری نسبت به تیمار شاهد و سایر تیمارها بود ( $p < 0.05$ ) و در کل دوره پرورش (۱-۴۲ روزگی)، پرندگان دریافت کننده تیمار LR1 مصرف خوراک بالاتری داشتند ( $p < 0.05$ ). ضریب تبدیل غذایی تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت.

استفاده از باکتری پروبیوتیکی در جیره خوراکی جوجه‌های گوشتی از جمله روش‌های رایج و سریع برای ورود و معرفی میکروفلور مفید به سیستم گوارشی پرنده جوان است (۳۸،۳۹). مطالعات بسیاری مشخص نموده‌اند که پروبیوتیک‌ها باعث بهبود عملکرد پرنده و کارایی خوراک به علت افزایش جذب مواد مغذی در جوجه‌های گوشتی شدند، اما بسیاری از باکتری‌های پروبیوتیکی تاثیر معنی‌داری بر روی بهبود عملکرد جوجه گوشتی نداشته‌اند (۲۹،۲۸،۲۷). چنین باکتری‌هایی قادر به کنترل پاتوژن‌های دستگاه گوارش جوجه‌های گوشتی بوده (۲۹،۲۴) و یا منجر به ظهور اثرات مفیدی نظیر کاهش چربی حفره بطنی علی‌رغم عدم تاثیر گذاری مثبت بر افزایش وزن روزانه، خوراک مصرفی و یا ضریب تبدیل غذایی شدند (۲۲). در یک تحقیق، گزارش شد که *L. johnsonii* و *L. reuteri* منجر به اندکی افزایش در میزان خوراک مصرفی جوجه‌های گوشتی شدند (۳۱) که این امر در توافق با نتایج به دست آمده در نتیجه مصرف تیمار LR1 و LR2 در این تحقیق بود. اثرات سودمند پروبیوتیک‌ها می‌تواند به دلیل تولید فاکتورهایی باشد که باعث تحریک سیتوکین‌ها و ایمنی سلولی می‌شوند (۶) که نتیجه آن تحریک اشتها (۵) و بهبود تعادل میکروبی روده باشد که باعث کوتاه شدن زمان استقرار میکروفلور روده می‌شود (۴۱). یکی از سازوکارهای کاهش تعداد پاتوژن‌های زنده موجود در مجرای گوارش از طریق تولید ترکیبات ضدباکتریایی نظیر لاکتوسیدین، اسیدوفیلین، اسیدهای آلی و باکتریوسین‌ها و نیز تولید پراکسید هیدروژن است (۴۱،۳۴). حذف رقابتی دیگر سازوکار عمل پروبیوتیک‌ها علیه میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا است که طی آن رقابت برای جایگاه اتصال در مجرای گوارش و نیز رقابت برای دسترسی به مواد مغذی انجام می‌گیرد. باکتری‌های بیماری‌زا و غیر بیماری‌زا به‌طور معمول برای دسترسی به مواد مغذی به رقابت می‌پردازند. باکتری‌های غیر بیماری‌زا معمولاً قدرت رقابتی بالایی داشته و در نتیجه از توانایی کلنی‌سازی بالاتری در مجرای روده برخوردارند (۱۴). یکی دیگر از عملکردهای منسوب به پروبیوتیک‌ها که می‌تواند اثری مستقیم بر عملکرد تولیدی پرنده داشته باشد، اثر آنها بر افزایش فعالیت آنزیم‌های گوارشی است که به هضم کربوهیدرات‌ها، چربی و پروتئین‌های مختلف و جذب مواد مغذی کمک می‌نماید (۳۴). پروبیوتیک‌ها باعث کاهش فعالیت آنزیم‌های باکتریایی تولید شده توسط باکتری‌های بیماری‌زا مانند بتا گلوکورونیداز و بتا گلوکزیداز می‌شوند (۳۸). خنثی‌سازی سموم موجود در روده، افزایش ناحیه جذب در روده کوچک از طریق بهبود مورفولوژی روده شامل افزایش ارتفاع پرزها، افزایش تعداد سلول‌های گابلت و کاهش عمق کریپت است (۱۱،۳۰).

۱/۲، ۱/۴، ۱/۸، ۱/۱۶، ۱/۳۲، ۱/۶۴، ۱/۱۲۸، ۱/۲۵۶، ۱/۵۱۲، ۱/۱۰۲۴ و ۱/۲۰۴۸ تهیه شد. پس از تهیه این رقت‌ها ۲۵ میکرولیتر محلول SRBC ۱ درصد به هر چاهک اضافه نموده سپس پلیت به مدت ۴۵ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه و پس از آن شماری اولین خانه‌ی لیز شده یادداشت گردید تیمارها بر اساس لگاریتم ۲ گزارش شدند. از آنجایی که ایمونوگلوبولین M به ۲- مرکاپتواتانول حساس است و در حضور آن تخریب می‌شود، با افزودن این ماده به چاهک اول می‌توان آن را حذف کرد که تیترا مشاهده شده نشان‌دهنده میزان ایمونوگلوبولین G است. تفاضل تیترا ایمونوگلوبولین G از تیترا آنتی SRBC کل، تیترا ایمونوگلوبولین M به دست می‌آید. برای اندازه‌گیری آنتی‌بادی حساس به ۲- مرکاپتواتانول (ایمونوگلوبولین M) ۲۵ میکرولیتر از سرم با ۲۵ میکرولیتر محلول بافر فسفات ۰/۰۱ مولار در دمای ۳۷ درجه برای مدت نیم ساعت انکوبه گردید بقیه مراحل مانند آزمایش آنتی SRBC کل است. آنتی‌بادی مقاوم به ۲- مرکاپتواتانول (ایمونوگلوبولین G) از کسر کل تیترا آنتی SRBC به دست آمد (۴۰).

در ۴۲ روزگی، ۱۰ جوجه از هر تیمار (۲ جوجه از هر تکرار) به طور تصادفی انتخاب شد و پس از ۵ ساعت گرسنگی، نمونه‌های سرم خون گرفته شد و اندازه‌گیری پارامترهای خونی شامل کلسترول کل، تری‌گلیسیرید، لیپوپروتئین‌های با چگالی پایین (LDL) و لیپوپروتئین‌های با چگالی بالا (HDL) با استفاده از دستگاه اتوآنالایزر (TECHNICON, USA) RA-1000 و کیت‌های شرکت پارس آزمون (تهران، ایران) استفاده شد. در روز ۴۲ دو جوجه قبلی که به منظور جمع‌آوری سرم انتخاب گردیده بودند وزن‌کشی شده و با قطع رگ گردن کشتار شدند. بلافاصله پس از کشتار وزن اندام‌های قلب، کبد، طحال، بورس، پانکراس و چربی حفره‌ی بطنی تعیین شد و به صورت درصدی از وزن بدن بیان شدند. همه داده‌ها با استفاده از رویه GLM با استفاده از نرم‌افزار SAS (۲۰۰۸) نسخه ۹/۲ بر اساس طرح کاملاً تصادفی آنالیز گردید و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از روش دانکن در سطح احتمال ۰/۰۵ انجام شد.

## نتایج و بحث

اثرات جداگانه مربوط به ۳ جدایه‌ی *L. reuteri* (LR1)، LR2 و LR3 و یک جدایه *L. salivarius* (LS) بر وزن بدن، افزایش وزن روزانه، میزان مصرف خوراک و ضریب تبدیل غذایی جوجه‌های گوشتی در جدول ۱ آورده شده است. در پایان دوره ۴۲ روزگی، میانگین وزن بدن جوجه‌های گوشتی که جیره حاوی LR1 و LS را دریافت نموده بودند به طور معنی‌داری بیشتر از تیمار دریافت کننده جیره شاهد بود ( $p < 0.05$ ). طی کل دوره پرورش، جوجه‌های گوشتی دریافت کننده تیمار LR1 دارای افزایش وزن روزانه بالاتری نسبت به تیمار شاهد و دو تیمار LR2 و LR3 بود ( $p < 0.05$ ). تفاوت معنی‌داری در میزان خوراک مصرفی روزانه طی دوره‌ی آغازین بین تیمارهای آزمایشی مشاهده نگردید. طی دوره‌ی رشد، میزان مصرف خوراک روزانه جوجه‌های دریافت کننده تیمار

جدول ۱- اثر مصرف چهار باکتری اسید لاکتیکی بر صفات تولیدی جوجه ۱۲۲-۰های گوشتی

Table 1. Effect of four lactic acid bacteria on production traits of broiler chickens

| خطای<br>استاندارد<br>میانگین                      | لاکتوباسیلوس<br>سالیواریوس سویه<br>NABRII58<br>(MH595986) | لاکتوباسیلوس روترنی<br>سویه<br>ABRIG17<br>(MF686477) | لاکتوباسیلوس روترنی<br>سویه<br>ABRIG23<br>(MF686483) | لاکتوباسیلوس روترنی<br>سویه<br>ABRIG3<br>(MF686463) | شاهد               | P-Value             |
|---------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------|------------------------------------------------------|------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|--------------------|---------------------|
| وزن نهایی بدن (گرم)                               |                                                           |                                                      |                                                      |                                                     |                    |                     |
| ۰/۰۳۳                                             | ۳۴/۲۹                                                     | ۳۵۰/۱ <sup>a</sup>                                   | ۳۳۶۴ <sup>b</sup>                                    | ۳۴۱۰ <sup>ab</sup>                                  | ۳۴۹۵ <sup>a</sup>  | ۳۳۷۷ <sup>b</sup>   |
| خوراک مصرفی (روز/ پرند/ گرم)<br>(سن به روز)       |                                                           |                                                      |                                                      |                                                     |                    |                     |
| ۰/۰۶۹                                             | ۰/۰۵۳                                                     | ۲۴/۹۸                                                | ۲۳/۹۸                                                | ۲۴/۶۸                                               | ۲۴/۷۰              | ۲۴/۹۲               |
| ۰/۰۲                                              | ۱/۹۱                                                      | ۱۰۵/۳ <sup>c</sup>                                   | ۱۰۶/۳ <sup>c</sup>                                   | ۱۱۳/۷ <sup>ab</sup>                                 | ۱۱۳/۳ <sup>a</sup> | ۱۰۷/۱ <sup>bc</sup> |
| ۰/۰۴                                              | ۳/۴۶                                                      | ۲۶۰/۴ <sup>ab</sup>                                  | ۲۵۳/۰ <sup>b</sup>                                   | ۲۶۲/۷ <sup>ab</sup>                                 | ۲۶۶/۶ <sup>a</sup> | ۲۵۲/۴ <sup>b</sup>  |
| ۰/۰۴                                              | ۱/۸۶                                                      | ۱۴۶/۵ <sup>b</sup>                                   | ۱۴۵/۲ <sup>b</sup>                                   | ۱۳۹/۴ <sup>ab</sup>                                 | ۱۵۳/۳ <sup>a</sup> | ۱۴۷/۰ <sup>b</sup>  |
| افزایش وزن روزانه (روز/ پرند/ گرم)<br>(سن به روز) |                                                           |                                                      |                                                      |                                                     |                    |                     |
| ۰/۰۲۵                                             | ۰/۰۵۱                                                     | ۱۹/۲۰                                                | ۱۷/۸۲                                                | ۱۸/۴۸                                               | ۱۹/۲۴              | ۱۹/۱۵               |
| ۰/۰۱۳                                             | ۱/۲۱                                                      | ۵۰/۴۷                                                | ۵۰/۰۲                                                | ۵۳/۳۶                                               | ۵۳/۳۷              | ۴۹/۴۰               |
| ۰/۰۴                                              | ۲/۷۷                                                      | ۱۲۷/۸ <sup>ab</sup>                                  | ۱۲۲/۰ <sup>b</sup>                                   | ۱۲۳/۰ <sup>b</sup>                                  | ۱۳۲/۶ <sup>a</sup> | ۱۲۴/۷ <sup>ab</sup> |
| ۰/۰۳                                              | ۱/۴۸                                                      | ۸۵/۱۴ <sup>ab</sup>                                  | ۸۲/۹۶ <sup>b</sup>                                   | ۸۳/۳۸ <sup>b</sup>                                  | ۸۸/۸۳ <sup>a</sup> | ۸۴/۱۶ <sup>b</sup>  |
| ضریب تبدیل غذایی<br>(سن به روز)                   |                                                           |                                                      |                                                      |                                                     |                    |                     |
| ۰/۰۲۹                                             | ۰/۰۲                                                      | ۱/۳۰                                                 | ۱/۳۴                                                 | ۱/۳۳                                                | ۱/۲۸               | ۱/۳۰                |
| ۰/۰۱۶                                             | ۰/۰۳                                                      | ۲/۰۹                                                 | ۲/۰۴                                                 | ۲/۱۱                                                | ۲/۱۲               | ۲/۱۶                |
| ۰/۰۲۸                                             | ۰/۰۴                                                      | ۲/۰۴                                                 | ۲/۰۶                                                 | ۲/۱۳                                                | ۲/۰۱               | ۲/۰۳                |
| ۰/۰۳۸                                             | ۰/۰۲                                                      | ۱/۷۲                                                 | ۱/۷۵                                                 | ۱/۷۹                                                | ۱/۷۲               | ۱/۷۴                |

\*: در جیره‌های آزمایشی = به جیره شاهد ۱ گرم در کیلوگرم از مخلوط حاوی باکتری‌های مورد بررسی افزوده گردید.  
a-c: اختلاف بین اعداد با حروف غیر مشابه در هر ردیف معنی‌داری است ( $p < 0.05$ ).

و باعث دفع بیشتر اسیدهای صفراوی در مدفوع می‌شود (۳۹). تفاوت معنی‌داری از نظر تری‌گلیسیرید بین تیمار کنترل و سه تیمار LR2، LR1 و LS مشاهده نشد و تنها سطح تری‌گلیسیرید LR3 بالاتر از سایرین بود ( $p < 0.05$ ). اکثر مطالعات پیشین کاهش سطح تری‌گلیسیرید سرم در اثر مصرف پروبیوتیک‌ها را گزارش کرده‌اند (۱، ۲، ۳، ۱۸، ۲۱) که مغایر با یافته‌های مطالعه حاضر است و گزارشهایی نیز از عدم تاثیر مصرف پروبیوتیک بر سطح تری‌گلیسیرید سرم وجود دارند (۱۲). سطح HDL یا کلسترول خوب در تیمار LS بالاتر از تیمار کنترل بود ( $p < 0.05$ ) و سایر تیمارها از این نظر تفاوت معنی‌داری با تیمار شاهد نداشتند. از نظر سطح LDL سرم تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی و شاهد وجود نداشت. نتایج مشاهده شده متفاوت از یافته‌های تحقیقی دیگر بود که گزارش نمودند مکمل‌سازی پروبیوتیک باعث کاهش سطح LDL سرم شد، اما اثری بر سطح HDL سرم نداشت (۲۱)، با این حال، عدم تاثیر مکمل‌سازی پروبیوتیک بر سطح HDL و LDL سرم نیز گزارش شده است (۴).

نتایج آنالیز لیپیدهای سرم جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با ۴ باکتری اسید لاکتیکی در ۴۱ روزگی در جدول ۲ نشان داده شده است. در این مطالعه، غلظت کل کلسترول سرم تیمار LR2 به طور معنی‌داری ( $p < 0.05$ ) پائین‌تر از سایر تیمارها بود. در مطالعات پیشین کاهش کلسترول کل سرم در اثر مصرف پروبیوتیک گزارش شده است (۱۸، ۴). هر چند که در مطالعه حاضر این اثر تنها در مورد یکی از پروبیوتیک‌های بررسی شده مشاهده شد. اثر کاهش کلسترول ناشی از پروبیوتیک‌ها در جوجه‌های گوشتی ممکن است به دلیل سازوکارهای متفاوتی باشد. باکتری‌های اسید لاکتیکی قادر به جذب کلسترول با منشاء داخلی و یا خارجی در مجرای روده هستند (۱۰) و همچنین کاهش یا مهار بیان سطوح پروتئین Niemann-Pick C1-like1 توسط پروبیوتیک‌ها گزارش شده است؛ این پروتئین در سطح سلول‌های روده‌ای بیان شده و باعث کاهش جذب کلسترول می‌شود (۱۶). باکتری‌های اسید لاکتیکی آنزیم هیدرولاز نمک‌های صفراوی را تولید می‌کنند که مسئول دکتروگه کردن نمک‌های صفراوی است

جدول ۲- نتایج آنالیز لیپید سرم‌های جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با چهار باکتری اسید لاکتیکی

Table 2. Serum lipids analysis of broiler chickens fed with four lactic acid bacteria

| P-Value | خطای استاندارد میانگین | لاکتوباسیلوس سالیاریوس سویه NABRII58 (MH595986) | لاکتوباسیلوس روتری سویه ABRIG17 (MF686477) | لاکتوباسیلوس روتری سویه ABRIG23 (MF686483) | لاکتوباسیلوس روتری سویه ABRIG3 (MF686463) | شاهد               | پارامترهای خونی (mg/dl) |
|---------|------------------------|-------------------------------------------------|--------------------------------------------|--------------------------------------------|-------------------------------------------|--------------------|-------------------------|
| ۰/۱۲    | ۱/۹۷                   | ۳۵/۰                                            | ۲۸/۶                                       | ۳۰/۴                                       | ۳۳/۶                                      | ۳۵/۱               | LDL                     |
| ۰/۰۰۴   | ۲/۳۴                   | ۷۲/۲ <sup>a</sup>                               | ۶۷/۷ <sup>ab</sup>                         | ۵۸/۱ <sup>c</sup>                          | ۶۶/۱ <sup>ab</sup>                        | ۶۳/۷ <sup>bc</sup> | HDL                     |
| ۰/۰۰۷   | ۵/۰۷                   | ۶۰/۶ <sup>b</sup>                               | ۸۳/۱ <sup>a</sup>                          | ۵۵/۷ <sup>b</sup>                          | ۵۹/۲ <sup>b</sup>                         | ۶۵/۷ <sup>b</sup>  | TG                      |
| ۰/۰۲۰   | ۳/۴۸                   | ۱۱۶/۷ <sup>a</sup>                              | ۱۱۳/۰ <sup>a</sup>                         | ۹۹/۶ <sup>ab</sup>                         | ۱۱۱/۶ <sup>a</sup>                        | ۱۱۲/۱ <sup>a</sup> | کلسترول کل              |

\*: در جیره‌های آزمایشی = به جیره شاهد ۱ گرم در کیلوگرم از مخلوط حاوی باکتری‌های مورد بررسی افزوده گردید.  
LDL: لیپوپروتئین‌های با چگالی پایین، HDL: لیپوپروتئین‌های با چگالی بالا. a-c: اختلاف بین اعداد با حروف غیر مشابه در هر ردیف معنی‌داری است ( $p < 0.05$ ).

تخمیری حاوی لاکتوباسیلوس‌های گوناگون منجر به افزایش قابل ملاحظه IgG و IgM گردید (۲۲). در تحقیقی دیگر، مصرف *Lactobacillus acidophilus* و *Lactobacillus casei* منجر به افزایش پاسخ IgA شد، در حالیکه پاسخ IgG نسبت به گروه شاهد تغییری نیافت (۱۵).

اثر تحریک‌کننده پروبیوتیک‌ها بر سیستم ایمنی باعث کاهش حساسیت پرنده در برابر بیماری‌ها می‌شود. این عمل از طریق افزایش سطح انتی بادی خون، افزایش فعالیت ماکروفاژی و افزایش تولید ایمونوگلوبولین IgA، IgM و IgG و همچنین سیتوکین‌ها انجام می‌گیرد. روش دیگر عمل پروبیوتیک‌ها تغییر شرایط محیطی روده از طریق تولید اسید لاکتیک و کاهش pH، تولید آنزیم‌های هضم‌کننده پروتئین، تولید ویتامین‌ها، آنزیم‌ها و سایر کوفاکتورها و برخی فاکتورهای محرک رشد نظیر اسید مالیک و اسیدهای چرب کوتاه زنجیر باعث تکثیر باکتری‌های سودمند می‌شوند (۳۶، ۳۰، ۸).

نتایج آنالیز ایمونوگلوبولین‌های سرم پس از دو مرحله تزریق SRBC در جدول ۳ نشان داده شده است. در این مطالعه از نظر سطح ایمونوگلوبولین کل تیمار LR3 دارای بالاترین سطح پس از دومین تزریق نسبت به تیمار شاهد بود ( $p < 0.05$ ) و تفاوت معنی‌داری بین سه تیمار دیگر و تیمار شاهد از این نظر مشاهده نگردید. از نظر سطح IgG تیمار LR1 دارای سطح بالاتری پس از اولین تزریق نسبت به گروه شاهد بود ( $p < 0.05$ )، اما تفاوت معنی‌داری بین این تیمار و دو تیمار LR2 و LR3 مشاهده نشد. پس از تزریق دوم، میزان IgG چهار تیمار آزمایشی مورد مطالعه بالاتر از تیمار شاهد بود ( $p < 0.05$ ). از نظر IgM تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی و تیمار شاهد مشاهده نشد. مطالعات مختلف مشخص نموده‌اند که تیمارهای حاوی باکتری‌های پروبیوتیکی باعث تحریک سیستم ایمنی جوجه‌های گوشتی، افزایش ایمونوگلوبولین کل، IgG و IgM به دنبال تزریق SRBC می‌شوند (۴۳). به علاوه، مصرف خوراک

جدول ۳- نتایج آنالیز ایمونوگلوبولین‌های سرم جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با ۴ باکتری اسید لاکتیکی پس از دو مرحله تزریق SRBC  
Table 3. Analysis of serum immunoglobulins in broiler chicks fed four lactic acid bacteria after two steps of SRBC injection

| P-Value | خطای استاندارد میانگین | لاکتوباسیلوس سالیاریوس سویه NABRII58 (MH595986) | لاکتوباسیلوس روتری سویه ABRIG17 (MF686477) | لاکتوباسیلوس روتری سویه ABRIG23 (MF686483) | لاکتوباسیلوس روتری سویه ABRIG3 (MF686463) | شاهد               |        |
|---------|------------------------|-------------------------------------------------|--------------------------------------------|--------------------------------------------|-------------------------------------------|--------------------|--------|
| ۰/۰۱    | ۰/۲۹                   | ۳/۷۰ <sup>a</sup>                               | ۲/۵۰ <sup>bc</sup>                         | ۳/۰۰ <sup>abc</sup>                        | ۲/۳۰ <sup>c</sup>                         | ۳/۲۲ <sup>ab</sup> | IgM1   |
| ۰/۰۴    | ۰/۴۵                   | ۳/۸۰ <sup>ab</sup>                              | ۲/۵۰ <sup>b</sup>                          | ۳/۱۱ <sup>ab</sup>                         | ۴/۲۰ <sup>a</sup>                         | ۲/۶۶ <sup>b</sup>  | IgG1   |
| ۰/۰۴    | ۰/۵۹                   | ۷/۵۰ <sup>a</sup>                               | ۵/۰۰ <sup>b</sup>                          | ۶/۱۱ <sup>ab</sup>                         | ۶/۵۰ <sup>ab</sup>                        | ۵/۸۸ <sup>ab</sup> | Total2 |
| ۰/۲     | ۰/۴۳                   | ۳/۶۶                                            | ۵/۰۰                                       | ۴/۶۲                                       | ۳/۴۲                                      | ۵/۰۰               | IgM2   |
| ۰/۰۱    | ۰/۴۵                   | ۴/۶۶ <sup>a</sup>                               | ۴/۸۸ <sup>a</sup>                          | ۴/۳۷ <sup>a</sup>                          | ۴/۱۴ <sup>a</sup>                         | ۲/۷۰ <sup>b</sup>  | IgG2   |
| ۰/۰۰۴   | ۰/۴۱                   | ۸/۳۳ <sup>bc</sup>                              | ۹/۸۸ <sup>a</sup>                          | ۹/۰۰ <sup>ab</sup>                         | ۷/۵۷ <sup>c</sup>                         | ۷/۷۰ <sup>bc</sup> | Total2 |

\*: در جیره‌های آزمایشی = به جیره شاهد ۱ گرم در کیلوگرم از مخلوط حاوی باکتری‌های مورد بررسی افزوده گردید.  
a-c: اختلاف بین اعداد با حروف غیر مشابه در هر ردیف معنی‌داری است ( $p < 0.05$ ).  
IgM1 = ایمونوگلوبولین M در ۲۹ روزگی، IgG1 = ایمونوگلوبولین G در ۲۹ روزگی، Total 1 = کل ایمونوگلوبولین‌ها در پاسخ به تزریق گلبول‌های قرمز گوسفندی در ۲۹ روزگی، IgM2 = ایمونوگلوبولین M در ۴۲ روزگی، IgG2 = ایمونوگلوبولین G در ۴۲ روزگی، Total 2 = کل ایمونوگلوبولین‌ها در پاسخ به تزریق گلبول‌های قرمز گوسفندی در ۴۲ روزگی.

چربی حفره بطنی کمتری نسبت به تیمار شاهد بودند ( $p < 0.05$ ). سه باکتری از میان چهار باکتری مورد استفاده در این تحقیق منجر به کاهش چربی حفره بطنی شدند. چربی حفره بطنی به عنوان ضایعات و دورریز صنعت پرورش طیور گوشتی بوده و میزان چربی حفره شکمی پارامتری قابل اعتماد برای قضاوت در مورد چربی کل لاشه می باشد، زیرا بخش

درصد وزن نسبی اندام‌های داخلی و اجزای لاشه نسبت به وزن زنده در جدول ۴ خلاصه شده است. تفاوت معنی‌داری در وزن نسبی سینه، ران، بورس فابریسیوس، سنگدان، قلب، طحال و کبد بین تیمارهای آزمایشی و شاهد مشاهده نشد، اما تیمار LR3 دارای درصد لاشه بالاتری نسبت به تیمار شاهد بود ( $p < 0.05$ ). سه تیمار LR1، LR2 و LR3 دارای میزان

باکتری اسید لاکتیکی *Lactobacillus johnsonii* BS15) به هر دو صورت زنده و یا تخریب شده به میزان  $10^6 \times 1$  به ازای هر گرم خوراک منجر به کاهش معنی دار چربی حفره بطنی شد (۴۲). از جمله دلایل قابل ذکر برای این اثر کنترل موثر متابولیسم چربی توسط باکتری های پروبیوتیکی و محدود نمودن بیوسنتز چربی ها توسط این باکتری ها (۴۴) و نیز افزایش کاتابولیسم اسیدهای چرب توسط آنها است (۱۷).

اعظم چربی بدن طیور در محوطه بطنی تجمع می یابد (۱۳). گزارش شده است که *Lactobacillus* ها با کاهش چربی حفره بطنی و کاهش چربی لاشه منجر به بهبود کیفیت لاشه می شوند (۱۹). در تحقیقی مشاهده شد زمانیکه غلظت باکتری اسید لاکتیکی *Lactobacillus johnsonii* BS15 در جیره از  $10^5 \times 1$  به  $10^6 \times 1$  به ازاء هر گرم خوراک افزایش یافت منجر به کاهش معنی دار چربی حفره بطنی جوجه های گوشتی شد (۲۵). در گزارشی دیگر، استفاده از

جدول ۴- اثر مصرف چهار باکتری اسید لاکتیکی بر درصد وزن نسبی اندام های داخلی و اجزاء لاشه  
Table 4. Effect of consumption of four lactic acid bacteria on the percentage of relative weight of internal organs and carcass components

| P-Value | خطای استاندارد میانگین | لاکتوباسیلوس سالیواریوس سویه NABRII58 (MH595986) | لاکتوباسیلوس روتری سویه ABRI17 (MF686477) | لاکتوباسیلوس روتری سویه ABRI23 (MF686483) | لاکتوباسیلوس روتری سویه ABRI3 (MF686463) | شاهد               | (درصد از وزن بدن)     |
|---------|------------------------|--------------------------------------------------|-------------------------------------------|-------------------------------------------|------------------------------------------|--------------------|-----------------------|
| ۰/۰۲    | ۰/۱۰                   | ۲/۷۳ <sup>a</sup>                                | ۲/۶۷ <sup>ab</sup>                        | ۲/۴۰ <sup>b</sup>                         | ۲/۶۵ <sup>ab</sup>                       | ۲/۶۰ <sup>ab</sup> | کبد                   |
| ۰/۰۲    | ۰/۱۳۸                  | ۱/۵۷ <sup>ab</sup>                               | ۱/۲۱ <sup>b</sup>                         | ۱/۳۴ <sup>b</sup>                         | ۱/۳۵ <sup>b</sup>                        | ۱/۸۳ <sup>a</sup>  | چربی بطنی             |
| ۰/۹۹    | ۰/۰۱                   | ۰/۱۳۶                                            | ۰/۱۳۹                                     | ۰/۱۳۴                                     | ۰/۱۳۷                                    | ۰/۱۳۶              | طحال                  |
| ۰/۱۷    | ۰/۰۱۸                  | ۰/۴۷                                             | ۰/۴۲                                      | ۰/۴۲                                      | ۰/۴۴                                     | ۰/۴۶               | قلب                   |
| ۰/۴۴    | ۰/۰۴                   | ۱/۲۷                                             | ۱/۳۰                                      | ۱/۳۰                                      | ۱/۲۱                                     | ۱/۲۵               | سنگدان                |
| ۰/۲۸    | ۰/۰۰۸                  | ۰/۱۰                                             | ۰/۰۹                                      | ۰/۰۸                                      | ۰/۱۰                                     | ۰/۰۸               | بورس                  |
| ۰/۳۳    | ۱/۳۰                   | ۲۴/۷۷                                            | ۲۶/۸۶                                     | ۲۵/۹۵                                     | ۲۳/۷۷                                    | ۲۷/۰۷              | فایبریسوس             |
| ۰/۵۲    | ۰/۸۸                   | ۱۹/۲۷                                            | ۱۹/۸۲                                     | ۱۹/۳۲                                     | ۱۸/۲۵                                    | ۲۰/۴۲              | سینه                  |
| ۰/۵۸    | ۰/۰۳                   | ۱/۲۸                                             | ۱/۳۶                                      | ۱/۳۴                                      | ۱/۲۹                                     | ۱/۳۲               | ران                   |
| ۰/۰۱۸   | ۰/۷۴                   | ۶۹/۹۶ <sup>ab</sup>                              | ۷۱/۵۱ <sup>a</sup>                        | ۷۰/۵۶ <sup>ab</sup>                       | ۶۹/۸۴ <sup>ab</sup>                      | ۶۸/۹۳ <sup>b</sup> | نسبت سینه به ران لاشه |

\*: در جیره های آزمایشی= به جیره شاهد ۱ گرم در کیلوگرم از مخلوط حاوی باکتری های مورد بررسی افزوده گردید.  
a-c: اختلاف بین اعداد با حروف غیر مشابه در هر ردیف معنی داری است ( $p < 0.05$ ).

جداسازی شده از مجرای گوارش اردک بومی بر افزایش وزن و ایمونوگلوبولین های سرم خون جوجه های گوشتی بود که پیشنهاد می نماید باکتری های اختصاصی مجرای گوارش یک گونه از طیور می تواند به عنوان پروبیوتیک در دیگر گونه های طیور مورد استفاده قرار گیرد.

مطالعه حاضر مشخص نمود که امکان جداسازی باکتری های با قابلیت پروبیوتیکی از جمعیت میکروبی طیور بومی وجود داشته و باکتری های جداسازی شده قادر به بهبود صفات تولیدی و ایمنی جوجه های گوشتی می باشند. نکته قابل توجه اثر مطلوب سویه *Lactobacillus salivarius* سالیواریوس

## منابع

1. Abeer, E.S.M and S.A. Mosaad. 2015. Effect of dietary probiotic and/or prebiotic supplementation on growth performance, carcass traits and some serum biochemical alterations in broiler chicken. Journal of Animal Science Advances, 5: 1480-1492.
2. Al-Saad, S., M. Abbod and A. Abo Yones. 2014. Effect of some growth promoters on blood hematology and serum composition of broiler chickens. International Journal of Agricultural Research, 9: 265-270.
3. Ashayerizadeh, A., N. Dabiri, K.H. Mirzadeh and M.R. Ghorbani. 2011. Effect of dietary supplementation of probiotic and prebiotic on growth indices and serum biochemical parameters of broiler chickens. Cell and Animal Biology, 5: 152-156.
4. Ashayerizadeh, O., B. Dastar, F. Samadi, M. Khomeiri, A. Yamchi and S. Zerehdaran. 2014. Comparison between the effects of two multi-strain probiotics and antibiotics on growth performance, carcass characteristics, gastrointestinal microbial population and serum biochemical values of broiler chickens. Journal of Animal Science, 3: 110-119.
5. Asli, M.M., S.A. Hosseini, H. Lotfollahian and F. Shariatmadari. 2007. Effect of probiotics, yeast, vitamin E and C supplements on performance and immune response of laying hen during high environmental temperature. International Journal of Poultry Science, 6: 895-900.
6. Britton, R.A. and J. Versalovic. 2008. Probiotics and gastrointestinal infections: a review article. Interdiscip Perspect Infect Dis 1-10. <http://dx.doi.org/10.1155/2008/290769>. Hindawi Pub-lishing Corporation.

7. EFSA: Panel on additives and products or substances used in animal feed, guidance on the assessment of bacterial susceptibility to antimicrobials of human and veterinary importance. 2012. EFSA Journal, 10: 1-10.
8. Eto, S.F., F.G. Andrade, J.W. Pinheiro, M.R. Balanin, S.P. Ramos and E.J. Venancio. 2012. Effect of inoculation route on the production of antibodies and histological characteristics of the spleen in laying hens. Brazilian Journal of Poultry Science, 14: 63-66.
9. Fouad, A.M. and H.K. El-Senousey. 2014. Nutritional factors affecting abdominal fat deposition in poultry: a review. Asian-Australasian Journal of Animal Science, 27: 1057-1068.
10. Gilliland, S.E. 1989. Acidophilus milk-products a review of potential benefits to consumers. Journal of Dairy Science, 72: 2483-2495.
11. Goto, Y. and H. Kiyono. 2012. Epithelial barrier: an interface for the cross-communication between gut flora and immune system. Immunological Reviews, 245: 147-163.
12. Haddadin, M.S.Y., S.M. Abdulrahim., E.A.R. Hashlamoun and R.K. Robinson. 1996. The effect of Lactobacillus acidophilus on the production and commercial composition of hen's egg. Poultry Science, 66: 480-486.
13. Hermier, D. 1997. Lipoprotein metabolism and fattening in poultry. Journal of Nutrition, 127: 805S-808S.
14. Hibbing, M.E., C. Fuqua, M.R. Parsek and S.B. Peterson. 2010. Bacterial competition: surviving and thriving in the microbial jungle. Nature Reviews Microbiology, 8: 15-25.
15. Huang, M.K., Y.J. Choi, R. Houde, J.W. Lee, B. Lee and X. Zhao. 2004. Effects of Lactobacilli and an acidophilic fungus on the production performance and immune responses in broiler chickens. Poultry Science, 83: 788-795.
16. Huang, Y. and Y. Zheng. 2010. The probiotic Lactobacillus acidophilus reduces cholesterol absorption through the down-regulation of Niemann-Pick C1-like 1 in Caco-2 cells. British Journal of Nutrition, 103: 473-478.
17. Homma, H. and T. Shinohara. 2004. Effects of probiotic Bacillus cereus toyoi on abdominal fat accumulation in the Japanese quail (Coturnix japonica). Animal Science Journal, 75: 37-41.
18. Iqamu, M.H., A. Nazim and A.M. Mohammad. 2017. Comparative analysis of body weight and serum biochemistry in broilers supplemented with some selected probiotics and antibiotic growth promoters. Journal of Advanced Veterinary and Animal Research, 4: 288-294.
19. Kalavathy, R., N. Abdullah, S. Jalaludin and Y.W. Ho. 2003. Effects of Lactobacillus cultures on growth performance, abdominal fat deposition, serum lipids and weight of organs of broiler chickens. British Poultry Science, 44: 139-144.
20. Kalavathy, R., N. Abdullah, S. Jalaludin, M. Wong and Y.W. Ho. 2009. Effects of Lactobacillus cultures on performance of laying hens, and total cholesterol, lipid and fatty acid composition of egg yolk. Journal of Science Food and Agriculture, 89: 482-486.
21. Kalavathy, R., N. Abdullah, S. Jalaludin and Y.W. Ho. 2010. Effects of Lactobacillus cultures on growth performance, abdominal fat deposition, serum lipids and weight of organs of broiler chickens. British Poultry Science, 44: 139-144.
22. Koenen, M.E., J. Kramer, R. Van der Hulst, L. Heres, S.H.M. Jeurissen and W.J.A. Boersma. 2004. Immunomodulation by probiotic lactobacilli in layer- and meat-type chickens, British Poultry Science, 45: 355-366.
23. Kumar, A. and D. Kumar. 2015. Characterization of Lactobacillus isolated from dairy samples for probiotic properties. Anaerobe, 33: 117-123.
24. La Ragione, R.M., A. Narbad, M.J. Gasson and M.J. Woodward. 2004. In vivo characterization of Lactobacillus johnsonii F19785 for use as a defined competitive exclusion agent against bacterial pathogens in poultry. Letters in Applied Microbiology, 38: 197-205.
25. Liu, L., X. Ni, D. Zeng, H. Wang, B. Jing and Z. Yin. 2016. Effect of a dietary probiotic, Lactobacillus johnsonii BS15, on growth performance, quality traits, antioxidant ability and nutritional and flavour substances of chicken meat. Animal Production Science, 57: 920-926.
26. Munns, P.L. and S.L. Lamont. 1991. Research note: Effects age and immunization interval on the immunity response T-cell dependent and T-cell independent antigens in chickens. Poultry Science, 70: 2371-2374.
27. Murry, J.A.C., J.A. Hinton and R.J. Buhr. 2006. Effect of botanical probiotic containing Lactobacilli on growth performance and populations of bacteria in the ceca, cloaca and carcass rinse of broiler chickens. International Journal of Poultry Science, 5: 344-350.
28. Maiorka, A., E. Santin, S.M. Sugeta, J.C. Almeida and M. Macari. 2001. Utilization of prebiotics, probiotics and symbiotic in diets parameters. Brazilian Journal of Poultry Science, 3: 75-82.
29. Olhood, C.G., S.S.M. Beski, P.A. Iji and M. Choct. 2015. Delivery routes for probiotics: Effects on broiler performance, intestinal morphology and gut microflora. Animal Nutrition, 1: 192-202.
30. Otutumi, L.C., M.B. Gois, E.R. de Moraes Garcia and M.M. Loddi. 2012. Variations on the efficacy of probiotics in poultry. In: Rigobelo EC (ed) Probiotics in animals. InTech, Rijeka. doi:10.5772/3319, 248.
31. Pelicano, E.R.L., P.A. Souza, H.B.A. Souza, A. Oba, E.A. Norkus, L.M. Kodawara and T.M.A. Lima. 2004. Performance of broilers fed diets containing natural growth promoters. Brazilian Journal of Poultry Science, 6: 231-236.

32. Rahimi, S.H. and A. Khaksefidi. 2006. A comparison between the effects of a probiotic (Bioplus 2B) and an antibiotic (virginiamycin) on the performance of broiler chickens under heat stress condition. *Iranian Journal of Veterinary Research*, 7: 23-28.
33. Rinttila, T. and J. Apajalahti. 2013. Intestinal microbiota and metabolites implications for broiler chicken health and performance. *Journal of Applied Poultry Research*, 22: 647-658.
34. Risoen, P.A., P. Ronning, I.K. Hegna and A.B. Kolsto. 2004. Characterization of broad range antimicrobial substance from *Bacillus cereus*. *Journal of Applied Microbiology*, 96: 648-655.
35. Royan, M, H. Alaie Kordghashlaghi, F. Afraz, M. Hashemi, S.M.F. Vahidi and R. Seighalani. 2018. Screening *Lactobacilli* isolates from Northern Iran Backyard chickens as bio-control strategy against *Salmonella* Enteritidis and *Salmonella* Typhimurium. *kafkas universitesi veteriner fakultesi dergisi journal*, 24: 423-430.
36. Salminen, S. and A. Von Wright. 1998. Lactic acid bacteria: microbiology and functional aspects. Marcel Dekker, New York.
37. Saminathan, M., C.C. Sieo, K. Ramasamy, N. Abdullah and Y.W. Ho. 2014. Effects of dietary prebiotics, probiotic and synbiotics on performance, caecal bacterial populations and caecal fermentation concentrations of broiler chickens. *Journal of Science of Food and Agriculture*, 94: 341-348.
38. Shokryazdan, P., M. Faseleh Jahromi, J.B. Liang, K. Ramasamy, C.C. Sieo and Y.W. Ho. 2017. Effects of a *Lactobacillus salivarius* mixture on performance, intestinal health and serum lipids of broiler chickens. *PLoS ONE*, 12: e0175959.
39. Surono, I.S. 2003. In vitro probiotic properties of indigenous dadhi lactic bacteria. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 16: 726-731.
40. Van der Zijpp, A.J. and F.R. Leenstra. 1980. Genetic analysis of the humoral immune response of White Leghorn chicks. *Poultry Science*, 59: 1363-1369.
41. Vila, R., E. Esteve-Garcia and J. Brufau. 2010. Probiotic micro-organisms: 100 years of innovation and efficacy; modes of action (reviews). *World Poultry Science Journal*, 65: 369-380.
42. Wang, H., X. Ni, X. Qing, D. Zeng, M. Luo, L. Liu, G. Li, K. Pan and B. Jing. 2017. Live probiotic *Lactobacillus johnsonii* BS15 promotes growth performance and lowers fat deposition by improving lipid metabolism, Intestinal Development, and Gut Microflora in Broilers. *Frontiers in Microbiology*, 8: 1073. doi: 10.3389/fmicb.2017.01073.
43. Wondmeneh, E., T. Getachew and T. Dessie. 2012. Immunomodulatory Effect of Effective Microorganisms (EM) in chickens. *Research Journal of Immunology*, 5(1): 17-23.
44. Yamamoto, M., F. Saleh, M. Tahir, A. Ohtsuka and K. Hayashi. 2007. The effect of Koji-fed (fermented distillery byproduct) on the growth performance and nutrient metabolizability in broiler. *Journal of Poultry Science*, 44: 291-296.
45. Yamazaki, M., H. Ohtsu, Y. Yakabe, M. Kishima and H. Abe. 2012. In vitro screening of *Lactobacilli* isolated from chicken excreta to control *Salmonella* Enteritidis and *Typhimurium*. *British Poultry Science*, 53: 183-189.

## Effect of Isolates of *Lactobacillus reuteri* and *Lactobacillus salivarius* Isolated from the Gastrointestinal Tract of Native Poultry of Northern of Iran on Performance, Serum Lipids and Immune Parameters of Broiler Chickens

Maryam Royan<sup>1</sup>, Maryam Hashemi<sup>2</sup> and Ramin Seighalani<sup>3</sup>

1- North Region Branch, Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran (ABRII), Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Rasht, IRAN  
(Corresponding author: m.royan@abrii.ac.ir)

2- Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran (ABRII), Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, IRAN

3- North Region Branch, Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran (ABRII), Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Rasht, IRAN  
Received: October 6, 2018 Accepted: May 20, 2019

### Abstract

The purpose of this study was to investigate the effects of the use of three lactobacillus strains (*L. reuteri* ABRIG17 (MF686477), *L. reuteri* ABRIG23 (MF686483), *L. reuteri* ABRIG3 (MF686463)), Isolated from duodenum and Jejunum sections of the native Guilan chickens and one isolate of *L. salivarius* NABRII58 (MH595986) isolated from the digestive system of the native ducks of Mazandaran, on serum lipids and immune parameters of broiler chickens. The strains were isolated from 383 gram-positive and catalase negative lactic acid bacteria in a screening procedure for the detection of bacteria with probiotic potential. In the experiment, 500 male Ross 308 male broiler chicks were used in a completely randomized design with 5 treatments, 5 replicates and 20 birds per replicate. The treatments consisted of: 1-The basal diet as control group (treatment C), 2- The basal diet + 1 g / kg of mixed powder containing MF686463 (*L. reuteri* ABRIG3 (LR1), 3- The base diet + 1 g /kg of *L. reuteri* ABRIG23 (MF686483) (LR2 treatment), 4- The basal diet + 1 g / kg of *L. reuteri* (MF686477) ABRIG17 (LR3 treatment) and 5- The basal diet + 1 g / kg of *L. salivarius* (MH595986) NABRII58 (Treatment LS). The use of bacterial strains in LR1 and LS treatments resulted in improved weight gain at the end of the experiment ( $P < 0.05$ ). The bacterial strains in LR1 treatment improved daily weight gain in whole experimental period ( $P < 0.05$ ). All three strains of *Lactobacillus* used, namely, LR1, LR2 and LR3 treatments, caused a significant decrease in abdominal fat pad ( $P < 0.05$ ). In LR3 treatment, the increase in carcass weight was observed ( $P < 0.05$ ). Measuring serum immunoglobulins in broiler chicks after two stages of sheep red blood cell injection showed that LR3 had the highest total immunoglobulin level after the second injection ( $P < 0.05$ ), and IgG levels in the LR1 treatment increased after the first injection compared to the control group ( $P < 0.05$ ). After the second injection, the IgG of all the four experimental groups were higher than control group ( $P < 0.05$ ), but IgM showed no significant difference between experimental treatments and control group. Total serum cholesterol concentration of LR2 treatment was significantly ( $P < 0.05$ ) lower than other treatments. There was no significant difference in serum triglyceride level between control and the LR1, LR2 and LS treatments, and only LR3 triglyceride level was higher than others ( $P < 0.05$ ). The level of HDL or good cholesterol in LS treatment was higher than the control group ( $P < 0.05$ ). Serum LDL level did not show any significant difference between the experimental and control groups. The present study revealed that probiotic bacteria can be isolated from native poultry microbial populations and isolated bacteria can improve the production and immunity of broiler chicks. It is worthy of note that the positive effect of *Lactobacillus salivarius* strain isolated from the native duck gastrointestinal tract on the weight gain and serum immunoglobulins in broiler chickens suggested that the gastrointestinal bacteria of a species of poultry could be used as a probiotic in other types of poultry.

**Keywords:** Broiler chickens, Immune system, Lactic acid bacteria, Performance, Probiotics