Sari Agriculture Sciences and Natural Resources University

Research on Animal Production, Vol.14, No. 41, Autumn 2023 p: 59-69

"Research Paper"

Effect of Different Levels of Probiotic Primalac and Kappa-Carrageenan on Growth Performance, Gut Microbiota and Blood Parameters of Broiler Chickens

Faezeh Sadat Kiaalhosseini[1], Omid Ashayerizadeh[2] and Behrouz Dastar[3]

1- Graduated M.Sc. Student, Department of Animal and Poultry Nutrition, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources
2- Associate Professor, Department of Animal and Poultry Nutrition, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, (Corresponding author: o.ashayeri@gau.ac.ir)
3- Professor, Department of Animal and Poultry Nutrition, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources
Received: 8 January, 2023 Accepted: 24 May, 2023

Extended Abstract

Introduction and Objective: In recent decades, with the ban on the use of antibiotics in the poultry industry, the use of new alternatives such as probiotics and prebiotics have increased. Some of these alternatives can improve the growth and health of birds by creating optimal changes in the microbial population of the digestive tract. Therefore, the present experiment was conducted to investigate the effect of kappa-carrageenan polysacharid and primalac probiotic on the growth response and health of broilers.

Marerial and Methods: 240 one-day-old broilers of Ross 308 strain in a completely randomized design with 2× 2 factorial arrangement, including two levels of probiotic additive (zero and 0.1 % of food ration) and two levels of kappa-carrageenan additive (zero and 0.1 % of food ration) distributed in 24 cages (six replicates each containing ten birds) and reared on floor system for 24 days.

Results: The growth performance of birds was not affected by the interaction of probiotics and kappa-carrageenan in the diet. However, the use of kappa-carrageenan in diets significantly increased the body weight gain of birds during 1 to 10 days of age. Feed intake of the birds was not affected by the experimental treatments and dietar levels of probiotic and kappa-carrageenan, but the feed conversion ratio was improved by adding 0.1% of probiotic in the diet at day 24 ($P< 0.05$). The relative weight of thigh in birds that received kappa-carrageenan was higher compared to the zero level of kappa-carrageenan in the diet ($P< 0.05$). Probiotic supplementation alone in the diet increased the relative weight of the liver of birds. Also, the relative weight of the liver was significantly lower in the birds that received diets containing kappa-carrageenan. In broilers fed with kappa-garakinan, the villus length increased in the duodenum and decreased the crypts depth in the ileum. The use of 0.1% of probiotics significantly increased the population of lactic acid bacteria in the ileum of birds. The population of lactic acid bacteria in the ileum of birds under 0.1% of probiotic increased significantly. Consumption of kappa-carrageenan and probiotics separately or mixed in the diet reduced the population of coliforms in the cecum ($P< 0.05$). Using a mixture of kappa-carrageenan and probiotic in the diet the activity of superoxide desmutase enzyme improved compared to the treatment containing kappa-carrageenan ($P< 0.05$).

Conclusion: The results of the present experiment showed that the use of probiotics and kappa-carrageenan in the diet of young broiler chickens can be effective in improving some parameters of the growth response during separate periods of rearing and optimally changing the microbial population of the digestive tract.

Keywords: Broiler chicken, Growth performance, Feed additive, Intestinal morphol

OPEN ACCESS

دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

"مقاله پژوهشی"

تأثیر سطوح مختلف پروبیوتیک پریمالاک و کاپا-کاراگینان بر عملکرد رشد، جمعیت میکروبی دستگاه گوارش و فراسنجه‌های خون جوجه‌های گوشتی

فائزه سادات کیاءالحسینی[۱]، امید عشایری‌زاده[۲] و بهروز دستار[۳]

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه تغذیه دام و طیور، دانشکده علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

۲- دانشیار، گروه تغذیه دام و طیور، دانشکده علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، (نویسنده مسوول: o.ashayeri@gau.ac.ir)

۳- استاد، گروه تغذیه دام و طیور، دانشکده علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۰/۱۸ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۳/۳

صفحه ۵۹ تا ۶۹

چکیده مبسوط

مقدمه و هدف: طی چند دهه اخیر، پس از منع مصرف آنتی‌بیوتیک‌های محرک رشد در صنعت طیور تلاش برای یافتن جایگزین‌های جدیدی همانند پروبیوتیک‌ها و پری‌بیوتیک‌ها افزایش یافته است. برخی از این جایگزین‌ها می‌توانند با ایجاد تغییر بهینه در جمعیت میکروبی دستگاه گوارش سبب بهبود رشد و سلامت پرندگان شوند. از این‌رو، آزمایش حاضر با هدف بررسی اثر پروبیوتیک پریمالاک و پلی‌ساکارید کاپا-کاراگینان بر عملکرد و سلامت جوجه‌های گوشتی جوان انجام شد.

مواد و روش‌ها: تعداد ۲۴۰ قطعه جوجه نر یک روزه سویه راس ۳۰۸ در قالب طرح کاملاً تصادفی با آرایش فاکتوریل ۲×۲ شامل دو سطح افزودنی پروبیوتیک (صفر و ۰/۱ درصد از جیره) و دو سطح افزودنی کاپا-کاراگینان (صفر و ۰/۱ درصد از جیره) درون ۲۴ قفس (شش تکرار حاوی ۱۰ پرنده برای هر تکرار) توزیع و به‌مدت ۲۴ روز بر روی بستر پرورش یافتند.

یافته‌ها: عملکرد رشد پرندگان تحت تأثیر اثر متقابل پروبیوتیک و کاپا-کاراگینان در جیره قرار نگرفت. با این‌حال، استفاده از کاپا-کاراگینان در جیره‌ها توانست در فاصله سنین ۱ تا ۱۰ روزگی افزایش وزن بدن پرندگان را به‌صورت معنی‌دار افزایش دهد. مصرف خوراک پرندگان نیز تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی و سطوح پروبیوتیک و کاپا-کاراگینان قرار نگرفت، اما ضریب تبدیل خوراک با افزودن سطح ۰/۱ درصد پروبیوتیک در جیره در پایان ۲۴ روزگی بهبود یافت ($P<0/05$). وزن نسبی ران در پرندگانی که کاپا-کاراگینان دریافت کرده بودند در مقایسه با سطح صفر کاپا-کاراگینان در جیره بیشتر بود ($p<0/05$). مکمل‌سازی پروبیوتیک به‌تنهایی در جیره، سبب افزایش وزن نسبی کبد پرندگان شد. همچنین، پرندگانی که جیره‌های حاوی کاپا-کاراگینان دریافت کرده بودند، وزن نسبی کبد در آنها به‌صورت معنی‌دار کمتر بود. در جوجه‌های گوشتی که با کاپا-کاراکینان تغذیه شده بودند، طول پرزها در ناحیه دئودنوم افزایش و عمق کریپت‌ها در ناحیه ایلئوم کاهش یافت. استفاده از سطح ۰/۱ درصد پروبیوتیک توانست جمعیت باکتری‌های اسیدلاکتیکی را در ایلئوم پرندگان به‌صورت معنی‌دار افزایش دهد. مصرف جداگانه یا مخلوط کاپا-کاراگینان و پروبیوتیک در جیره، جمعیت کلی‌فرم‌ها را در روده کور کاهش داد ($p<0/05$). استفاده از مخلوط کاپا-کاراگینان و پروبیوتیک در جیره سبب بهبود فعالیت آنزیم سوپراکسید دسموتاز در مقایسه با تیمار حاوی کاپا-کاراگینان شد ($p<0/05$).

نتیجه‌گیری: نتایج آزمایش حاضر نشان داد که استفاده از پروبیوتیک و کاپا-کاراگینان در جیره جوجه‌های گوشتی جوان می‌تواند طی دوره‌های جداگانه‌ای از پرورش در بهبود برخی از پارامترهای پاسخ رشد و همچنین تغییر بهینه جمعیت میکروبی دستگاه گوارش پرندگان مؤثر باشد.

واژه‌های کلیدی: جوجه گوشتی، عملکرد رشد، افزودنی خوراکی، مورفولوژی روده

مقدمه

همگام با پیشرفت صنعت پرورش متراکم طیور در دنیا و افزایش تقاضا برای گوشت سفید به‌عنوان یک منبع پروتئینی، استفاده از آنتی‌بیوتیک‌های محرک‌های رشد رواج داشته است. تحقیقات نشان داده است که این آنتی‌بیوتیک‌ها ضمن افزایش هزینه‌های تولید، سبب افزایش مقاومت باکتری‌ها به آنتی‌بیوتیک‌ها در پرنده و انسان می‌شود. امروزه محققین به‌دنبال یافتن جایگزین‌هایی با خواص ضدمیکروبی هستند که ضمن اقتصادی بودن نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها، عملکرد تولید و جمعیت میکروارگانیسم‌های مفید دستگاه گوارش پرنده را نیز بهبود دهند (Nobakht and Shahbazi, 2022). افزودنی‌هایی همانند پروبیوتیک‌ها، پری‌بیوتیک‌ها و سین‌بیوتیک‌ها (ترکیب پروبیوتیک و پری‌بیوتیک) به‌عنوان جایگزین مناسبی برای آنتی‌بیوتیک‌های محرک رشد معرفی شده‌اند (Patterson and Burkholder, 2003). پروبیوتیک‌ها میکروارگانیسم‌های زنده‌ای هستند که استفاده از آن‌ها در مقادیر کافی، سبب بهبود سلامت میزبان می‌شوند (FAO/WHO, 2002). پری‌بیوتیک‌ها، ترکیبات غیرقابل هضمی می‌باشند که پس از ورود به دستگاه گوارش (نواحی انتهایی روده کوچک)، به‌سرعت توسط بعضی از باکتری‌ها تخمیر شده و عمده‌ترین محصول آنها، اسیدهای چرب کوتاه زنجیر می‌باشد (Mohammadi et al., 2015). علی‌رغم گسترش تحقیقات در زمینه استفاده از پروبیوتیک در صنعت طیور، گزارشات متفاوتی پیرامون سطح تاثیر آنها وجود دارد. در برخی گزارشات، استفاده از پروبیوتیک‌ها در بهبود افزایش وزن بدن و ضریب تبدیل خوراک، کاهش نرخ تلفات و بهبود ماندگاری لاشه در جوجه‌های گوشتی مؤثر بوده است (Huang, et al., 2004; Panda et al., 2006). پروبیوتیک‌ها ممکن است از طریق تغییر جمعیت میکروبی دستگاه گوارش و شرایط مورفولوژیکی آن، عملکرد پرنده را تحت تأثیر قرار داده و سبب بهبود سلامت میزبان شوند (Mohammadi et al., 2015). به‌طور کلی، پروبیوتیک‌های مورد استفاده در تغذیه طیور بسته به ماهیت در سه گروه شامل باکتری‌های اسیدلاکتیکی، اسپورهای باسیلوس‌ها و مخمرها دسته‌ندی می‌شوند (Yousefi et al., 2017). مصرف یک پروبیوتیک سازگار با جمعیت میکروبی دستگاه گوارش، می‌تواند از نظر اقتصادی نیز برای پرورش‌دهندگان سودمند باشد (Shams

[DOR: 20.1001.1.22518622.1402.14.41.6.1]

[DOI: 10.61186/rap.14.41.59]

Shargh et al., 2012). کاراگینان یک نوع پلی‌ساکارید مشتق از جلبک دریایی با زنجیره‌ای خطی متشکل از واحدهای گالاکتوز با پیوندهای متناوب آلفا ۱←۳ و بتا ۱←۴ است که توسط آنزیم‌های دستگاه گوارش طیور هضم نمی‌شود. طی زیست- دگرگونی کاراگینان توسط جمعیت میکروبی دستگاه گوارش، الیگوساکاریدهای کاراگینان تولید می‌شوند که فعالیت زیستی قوی‌تری (شامل آنتی‌اکسیدانی، ضدمیکروبی و ضدویروسی) نشان می‌دهند (Wang et al., 2012). با توجه به اینکه بخش عمده‌ای از هزینه‌های جاری در پرورش جوجه گوشتی مربوط به هزینه‌های خوراک است، استفاده از مخلوط که با بهبود عملکرد سیستم گوارش در ارتباط هستند می‌تواند ضریب تبدیل خوراک را بهبود داده و ضمن تولید یک محصول غذایی بی‌خطر، سودآوری اقتصادی را در پایان دوره پرورش افزایش دهد.

مواد و روش‌ها

پرندگان و تیمارها

در پژوهش حاضر، ۲۴۰ قطعه جوجه گوشتی نر یکروزه سویه راس ۳۰۸ در قالب طرح کاملاً تصادفی با آرایش فاکتوریل ۲×۲ در چهار تیمار با شش تکرار (۱۰ قطعه جوجه در هر تکرار) توزیع و به‌مدت ۲۴ روز در مزرعه پرورش طیور دانشکده علوم دامی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان پرورش داده شدند. جیره پایه (به‌عنوان تیمار شاهد؛ جدول ۱) با توجه به توصیه‌های راهنمای سویه راس ۳۰۸ (Aviagen, 2014) به‌صورت آردی تهیه گردید. سایر تیمارهای غذایی با افزودن ۱) ۰/۱ درصد پروبیوتیک پریمالاک (حداقل حاوی $10^8 \times 1$ واحد تشکی کلنی در گرم از باکتری‌های *لاکتوباسیلوس کازئی*، *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*، *بیفیدوباکتریوم ترموفیلوم* و *انتروکوکوس فازیوم*؛ شرکت استارلبز، ایالات متحده)، ۲) ۰/۱ درصد کاپا-کاراگینان (با خلوص ۹۹ درصد، شرکت مارسل، فیلیپین)، ۳) ترکیب ۰/۱ درصد پریمالاک و ۰/۱ درصد کاپا-کاراگینان آماده شدند. در کل دوره پرورش پرندگان به آب و خوراک دسترسی آزاد داشتند. مصرف خوراک، افزایش وزن و ضریب تبدیل خوراک در پایان ۱۰ و ۲۴ روزگی اندازه‌گیری و محاسبه شد. در پایان دوره آزمایش، ۲ قطعه پرنده از هر واحد آزمایشی که نزدیک‌ترین وزن به میانگین گروه خود را داشتند انتخاب و پس از خونگیری به‌منظور بررسی خصوصیات لاشه (شامل درصد لاشه قابل طبخ، سینه، ران و چربی محوطه شکمی) و اندام‌های داخلی (شامل درصد سنگدان، کبد، بورس فابرسیوس، قلب و طحال) کشتار شدند (Huyghebaert and Pack, 1996). همچنین از محتویات ایلئوم و روده کور برای سنجش جمعیت باکتری‌های اسیدلاکتیکی و کلی‌فرم‌ها استفاده شد.

مورفولوژی روده

پس از خارج کردن روده از بدن پرندگان، حدود ۴ سانتی‌متر از قسمت میانی دوازده، ژژنوم و ایلئوم جدا و به‌مدت یک روز درون محلول ۱۰ درصد فرمالین تثبیت گردید. سپس نمونه‌ها درون پارافین جامد قرار گرفتند و برش‌هایی (۶-۸ برش) به ضخامت تقریبی ۵ میکرومتر از آن‌ها تهیه و به‌روی لام شیشه‌ای انتقال یافت. این برش‌ها پس از رنگ‌آمیزی با هماتوکسیلین و ائوزین، زیر میکروسکوپ نوری مجهز به دوربین عکس‌برداری بررسی و عکس‌های به‌دست آمده توسط نرم افزار Image J تجزیه و تحلیل شدند (Zentek et al., 2002).

جمعیت میکروبی و pH دستگاه گوارش

پس از کشتار پرندگان انتخاب شده، محتویات ایلئوم و سکوم جوجه‌ها تحت شرایط استریل خارج گردید. مقدار ۱ گرم از نمونه‌های هر بخش به نسبت ۱:۹ با محلول نمکی ۰/۸۵ درصد هموژن گردید و پس از ساخت سری رقیق‌سازی، از رقت‌های مناسب بر روی محیط کشت اختصاصی انتقال و به‌مدت ۲۴ ساعت در گرمخانه نگهداری شدند (Shokaiyan et al., 2019).

فراسنجه‌های خونی

در پایان ۲۴ روزگی، از ورید پای پرندگان منتخب خونگیری (۵ میلی‌لیتر) شد. سپس، نمونه‌های خون به‌مدت ۱۰ دقیقه در ۴ درجه سانتیگراد با سرعت $g \times 2000$ سانتریوفیوژ و سرم خون جدا گردید.

غلظت کلسترول و فعالیت آنزیم‌های آلکالین فسفاتاز (ALP)، آسپارتات ترانس آمیناز (AST)، آلانین ترانس‌آمیناز (ALT)، کراتین فسفوکیناز (CKP) و سوپر اکسید دسموتاز (SOD) در سرم خون با استفاده از کیت‌های آزمایشگاهی تجاری (پارس آزمون، تهران، ایران) در دستگاه اتوماتیک بیوشیمیایی (مدل Abbott Alcyon 300) اندازه‌گیری شد (Joya et al., 2021).

مدل آماری و روش تجزیه و تحلیل

داده‌های حاصل از این آزمایش با استفاده از رویه GLM نرم‌افزار SAS (SAS, 2009) تجزیه و تحلیل شدند. مقایسه میانگین‌ها با آزمون توکی در سطح آماری ۵ درصد انجام شد.

جدول ۱- ترکیب جیره آزمایشی (براساس شکل معمول خوراکی)
Table 1. Composition of experimental diet (as-fed basis)

اجزای جیره (درصد) Components of diet (%)	۱ تا ۱۰ روزگی 1 to 10 days	۱۱ تا ۲۴ روزگی 11 to 24 days
ذرت Corn	55.53	62.10
کنجاله سویا Soybean meal	32.00	27.20
گلوتن ذرت Corn gluten meal	7.31	5.40
روغن سویا Soyebean oil	2.56	2.09
سنگ آهک Limestone	1.19	0.98
دی‌کلسیم فسفات Dicalcium phosphate	1.68	1.72
نمک کلرید سدیم Sodium chloride	0.37	0.35
مکمل ویتامینی[1] Mineral supplement	0.25	0.25
Vitamin supplement مکمل معدنی[2] Mineral supplement	0.25	0.25
دی-ال-متیونین DL-Methionine	0.28	0.26
ال-لیزین L-lysine	0.44	0.23
ال-ترئونین L-Threonine	0.12	0.07
آنالیز شیمیایی (مقادیر محاسبه شده) Chemical analysis (Calculated value)		
انرژی قابل متابولیسم (کیلوکالری بر کیلوگرم) Metabolisable energy (Kcal/Kg)	2900	3000
پروتئین خام (٪) Crude Protein (%)	22.23	20.80
کلسیم (٪) Calsium (%)	0.92	0.84
فسفر قابل استفاده (٪) Available phosphorus (%)	0.46	0.42
سدیم (٪) Sodium (%)	0.16	0.15
لیزین (٪) Lysine (%)	1.39	1.24
متیونین + سیستین (٪) Methionine + Cystine (%)	1.04	0.95
ترئونین (٪) Threonine (%)	0.93	0/85

[1] مقدار فراهم‌سازی در هر کیلوگرم جیره: ویتأمین A (ترانس رتینیل استات)، ۱۰۰۰۰ IU؛ ویتأمین D3 (کوله کلسیفرول)، ۲۰۰۰ IU؛ ویتأمین E (دی-ال- آلفا توکوفرول استات)، ۱۰ میلی گرم؛ ویتأمین K (ترکیب بی‌سولفات منادیون)، ۱ میلی گرم؛ ویتأمین B1 (تیامین مونونیترات)، ۱ میلی گرم؛ ویتأمین B2 (ریبوفلاوین)، ۵ میلی‌گرم؛ ویتأمین B3 (نیاسین)، ۳۰ میلی‌گرم؛ ویتأمین B6 (پیریدوکسین- هیدروکلراید)، ۱/۵ میلی‌گرم؛ ویتأمین B8 (بیوتین)، ۰/۰۵ میلی‌گرم؛ ویتأمین B5 (D - کلسیم پانتاتنات)، ۱۰ میلی‌گرم؛ ویتأمین B9 (اسید فولیک)، ۱ میلی‌گرم؛ و آنتی‌اکسیدان (بوتیل هیدروکسی متولین)، ۱۰ میلی‌گرم.

[1] Contained per kilogram of diet: vitamin A (trans - retinyl acetate), 10,000 IU; vitamin D_3 (cholecalciferol), 2,000 IU; vitamin E (DL - α - tocopherol acetate), 10 mg; vitamin K (bisulfate menadione complex), 1 mg; vitamin B_1 (thiamin mononitrate), 1 mg; vitamin B_2 (riboflavin), 5 mg; vitamine B_3 (Niacin), 30 mg; vitamine B_6 (pyridoxine - hydrochloride), 1.5 mg; vitamine B_8 (biotin), 0.05 mg; vitamin B_5 (D - calcium pantothenate), 10 mg; vitamine B_9 (folic acid), 1 mg; and antioxidant (butylated hydroxytoluene), 10 mg.

[2] مقدار فراهم‌سازی در هر کیلوگرم جیره: منگنز (سولفات منگنز)، ۶۰ میلی‌گرم؛ روی (سولفات روی)، ۵۰ میلی‌گرم؛ آهن (سولفات آهن)، ۳۰ میلی‌گرم؛ مس (سولفات مس)، ۴ میلی‌گرم؛ ید (پتاسیم یدید)، ۳ میلی‌گرم؛ سلنیوم (سدیم سلنیت)، ۰/۱ میلی‌گرم؛ و کبالت (کربنات کبالت) ۰/۱ میلی‌گرم.

[2] Contained per kilogram of diet: Mn (manganese sulfate), 60 mg; Zn (zinc sulfate), 50 mg; Fe (ferrous sulfate), 30 mg; Cu (copper sulfate), 4 mg; I (potassium iodide), 3 mg; Se (sodium selenite), 0.1 mg; and Co (cobalt carbonate), 0.1 mg.

نتایج و بحث

عملکرد رشد

نتایج مربوط به افزایش وزن بدن، مصرف خوراک و ضریب تبدیل خوراک جوجه‌های گوشتی در جدول ۲ گزارش شده است. هیچ‌گونه اثر متقابلی بین کاپا-کاراگینان و پروبیوتیک بر عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی مشاهده نشد. استفاده از کاپا-کاراگینان توانست در فاصله سنین ۱ تا ۱۰ روزگی افزایش وزن بدن پرندگان را به‌صورت معنی‌دار افزایش دهد. ضریب تبدیل خوراک با استفاده از سطح ۰/۱ درصد پروبیوتیک در فاصله سنین ۱ تا ۲۴ روزگی در مقایسه با سطح صفر پروبیوتیک بهبود یافت (P< ۰/۰۵). هیچکدام از تیمارهای آزمایشی بر مصرف خوراک اثر معنی‌دار نداشتند. نتایج آزمایش حاضر، با برخی از گزارشات منتشر شده مطابقت داشت (Kannan et al., 2007; Yousefi et al., 2022).

جعفری آهنگری و همکاران (Jafari Ahangari et al., 2014) گزارش کردند که استفاده از پروبیوتیک، وزن بدن را در دوره آغازین پرورش تحت تأثیر قرار نداد ولی در دوره‌های رشد و پایانی سبب افزایش معنی‌دار وزن بدن شد. نتایج حاصل از مصرف خوراک، با نتایج کونان و همکاران (Kannan et al., 2007) موافق و با برخی از گزارشات دیگر (Jafari Ahangari et al., 2014; Safari Samani and Akbari Samani, 2014) در تضاد بود. در مطالعه نوبخت و شهبازی (Nobakht and Shahbazi, 2022)، مصرف خوراک تحت‌تاثیر تیمارهای حاوی پروبیوتیک قرار نگرفت. در مطالعه صفاری سامانی و

[DOR: 20.1001.1.22518622.1402.14.41.6.1]
[DOI: 10.61186/rap.14.41.59]

اکبری سامانی (Safari Samani and Akbari Samani, 2014) افزایش مصرف خوراک معنی‌دار گزارش شد. نتایج ضریب تبدیل خوراک در آزمایش حاضر با گزارشات برخی از محققان دیگر مطابقت داشت (Kannan et al., 2007; Safari Samani and Akbari Samani, 2014). در مقابل، نوبخت و شهبازی (Nobakht and Shahbazi, 2022) نشان دادند که ضریب تبدیل خوراک با افزودن پروبیوتیک به جیره به‌صورت معنی‌دار تحت تاثیر قرار نگرفت. در مطالعه انجام شده توسط شریفی و همکاران (Sharifi et al., 2011) بهبود معنی‌دار ضریب تبدیل خوراک در تیمارهای حاوی پروبیوتیک گزارش شد. پروبیوتیک‌ها ممکن است از طریق تاثیر مثبت بر فرآیند هضم و جذب مواد مغذی و همچنین بهبود جمعیت میکروبی دستگاه گوارش سبب بهبود ضریب تبدیل خوراک در پرندگان شوند (Mountzouris et al., 2010). هرچند دلیل اصلی عدم مشاهده تاثیر معنی‌دار کاپا-کاراگینان بر بهبود ضریب تبدیل خوراک یا افزایش وزن در کل دوره پرورش برای نویسندگان مشخص نیست، اما بخشی از آن ممکن است به دز ناکافی این محصول در جیره مربوط باشد.

جدول ۲- اثر پروبیوتیک، کاپا- کاراگینان و اثر متقابل بین آنها بر عملکرد جوجه‌های گوشتی در دوره‌های مختلف پرورش

Table 2. Effect of probiotic, kappa-carrageenan and their interaction on broiler chicken’s performance in different rearing periods.

تیمارها Treatments		افزایش وزن (گرم) Weight gain (g)			مصرف خوراک (گرم) Feed intake (g)			ضریب تبدیل خوراک (گرم /گرم) Feed conversion ratio (g/g)		
اثرات اصلی Main effects		۱-۱۰ 1-10	۱۱-۲۴ 11-24	۱-۲۴ 1-24	۱-۱۰ 1-10	۱۱-۲۴ 11-24	۱-۲۴ 1-24	۱-۱۰ 1-10	۱۱-۲۴ 11-24	۱-۲۴ 1-24
کاپا-کاراگینان kappa-carrageenan										
صفر Zero		118.69[b]	500.00	618.69	185.88	875.06	1060.93	1.56	1.75	1.71
۰/۱ 0.1		126.12[a]	487.49	613.62	179.99	845.72	1025.64	1.43	1.74	1.76
خطای استاندارد میانگین Standard error of the means		2.216	12.73	13.42	2.43	17.54	18.49	0.03	0.03	0.02
سطح احتمال P-value		0.02	0.49	0.79	0.10	0.25	0.19	0.79	0.79	0.28
پروبیوتیک Probiotic										
صفر Zero		121.46	489.73	611.20	183.98	875.95	1059.5	1.52	1.79	1.73[a]
۰/۱ 0.1		123.35	497.76	621.22	181.81	844.80	1026.62	1.47	1.70	1.65[b]
خطای استاندارد میانگین Standard error of the means		2.216	12.73	13.46	2.43	17.54	18.49	0.03	0.03	0.02
سطح احتمال P-value		0.55	0.66	0.60	0.53	0.22	0.21	0.21	0.06	0.04
اثرات متقابل Interaction effect										
کاپا-کاراگینان kappa-carrageenan	پروبیوتیک Probiotic									
صفر Zero	صفر Zero	117.10	495.40	612.50	187.22	899.00	1086.22	1.60	1.82	1.77
۰/۱ 0.1	صفر Zero	125.83	484.07	609.90	180.75	852.99	1033.69	1.44	1.76	1.69
صفر Zero	۰/۱ 0.1	120.29	504.60	624.89	184.55	851.11	1035.65	1.53	1.68	1.65
۰/۱ 0.1	۰/۱ 0.1	126.42	490.92	617.34	179.08	838.49	1017.57	1.42	1.71	1.65
خطای استاندارد میانگین Standard error of the mean		3.130	17.66	18.65	3.44	24.52	26.20	0.03	0.04	0.03
سطح احتمال P-value		0.68	0.94	0.89	0.88	0.29	0.51	0.53	0.40	0.37

[a,b] در هر ردیف میانگین‌های با حروف نامشابه دارای اختلاف معنی‌دار هستند (p<۰/۰۵).

[a,b] Means in each column with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

خصوصیات لاشه

نتایج مربوط به وزن نسبی بخش‌های مختلف لاشه در سن ۲۴ روزگی در جدول ۳ نشان داده شده است. استفاده از ۰/۱ درصد کاپا-کاراگینان وزن نسبی ران جوجه‌های گوشتی را به‌صورت معنی‌داری افزایش داد. وزن نسبی کبد پرندگان تحت تاثیر اثر متقابل کاپا-کاراگینان و پروبیوتیک قرار گرفت. وزن نسبی کبد در تیمار حاوی پروبیوتیک اما فاقد کاپا-کاراگینان، در مقایسه با سایر تیمارها بالاتر بود. وزن سایر اندام‌های بدن تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت.

جین و همکاران (De Souza et al., 2018) نتایج مشابهی با استفاده از *لاکتوباسیل* بر وزن روده، کبد، طحال، سنگدان و بورس فابرسیوس گزارش کردند. عشایری‌زاده و همکاران (Ashayerizadeh et al., 2009) گزارش کردند که استفاده از پروبیوتیک در جیره سبب بهبود بازدهی لاشه، سینه و ران شد. پروبیوتیک‌ها از طریق ترشح ترکیباتی مانند اسیدهای آلی بر بهبود خصوصیات لاشه موثر هستند. این ترکیبات از طریق کاهش pH دستگاه گوارش، کاهش جمعیت باکتری‌های بیماری‌زا و کاهش ترشح آنزیم‌های اوره آز و گلیکوزیدازهای میکروبی، هضم و جذب و سوخت و ساز مواد مغذی را بهبود می‌دهند (Jafari Ahangari et al., 2014).

هرچند در مطالعه حاضر، بازدهی لاشه به لحاظ آماری تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت. جعفری آهنگری و همکاران (Jafari Ahangari et al., 2014) گزارش کردند که پروبیوتیک اثر معنی‌داری بر افزایش بازدهی لاشه و وزن کل دستگاه گوارش دارد. در مطالعه میکولک و همکاران (Mikulec et al., 1999) وزن چربی محوطه شکمی جوجه‌های گوشتی تحت تیمارهای حاوی پروبیوتیک قرار نگرفت. وجود گزارشات متفاوت در خصوص بازدهی لاشه به عواملی مانند سن و نژاد پرندگان، ترکیب جیره، زمان مصرف پروبیوتیک و همچنین مقدار مصرف ارتباط دارد (Jin et al., 2009).

جدول ۳- اثر پروبیوتیک، کاپا-کاراگینان و اثر متقابل بین آنها بر خصوصیات لاشه[۱] جوجه‌های گوشتی در سن ۲۴ روزگی

Table 3. Effect of probiotic, kappa-carrageenan and their interaction on carcass characteristics of broilers chicken at day 24 of age.

تیمارها Treatments		صفات								
اثرات اصلی Main effects		لاشه	سینه	ران	چربی بطنی	سنگدان	کبد	بورس	قلب	طحال
کاپا-کاراگینان kappa-carrageenan										
صفر Zero		63.55	19.23	17.39^{b}	0.43	2.88	3.47^{a}	0.19	0.69	0.13
۰/۱ 0.1		64.83	19.86	19.18^{a}	0.39	3.05	2.89^{b}	0.17	0.69	0.11
خطای استاندارد میانگین Standard error of the means		1.298	0.787	0.532	0.083	0.184	0.145	0.031	0.036	0.009
سطح احتمال P-value		0.508	0.589	0.044	0.723	0.528	0.021	0.799	1.000	0.243
پروبیوتیک Probiotic										
صفر Zero		63.71	19.20	17.59	0.40	2.86	2.93^{b}	0.19	0.65	0.11
۰/۱ 0.1		64.76	19.88	18.97	0.42	3.07	3.43^{a}	0.17	0.73	0.13
خطای استاندارد میانگین Standard error of the means		1.298	0.787	0.532	0.083	0.184	0.145	0.31	0.036	0.009
سطح احتمال P-value		0.614	0.558	0.104	0.891	0.426	0.041	0.598	0.189	0.078
اثرات متقابل Interaction effect										
کاپا-کاراگینان kappa-carrageenan	پروبیوتیک Probiotic									
صفر Zero	صفر Zero	62.10	18.64	16.52	0.41	2.91	2.87^{b}	0.21	0.64	0.11
۰/۱ 0.1	صفر Zero	65.32	19.76	18.67	0.40	2.80	2.99^{b}	0.17	0.67	0.10
صفر Zero	۰/۱ 0.1	65.00	19.82	18.26	0.46	2.85	4.08^{a}	0.16	0.74	0.15
۰/۱ 0.1	۰/۱ 0.1	64.35	19.95	19.69	0.38	3.30	2.78^{b}	0.18	0.71	0.12
خطای استاندارد میانگین Standard error of the mean		1.836	1.114	15.655	0.118	0.260	3.003	0.044	0.050	0.013
سطح احتمال P-value		0.322	0.669	0.646	0.764	0.316	0.008	0.541	0.572	0.627

a,b در هر ردیف میانگین‌های با حروف نامشابه دارای اختلاف معنی‌دار هستند (P<۰/۰۵).

a,b Means in each column with different superscripts are significantly different (p <0.05).

۱ برحسب درصد از وزن زنده

1 in percent of live weight

مورفولوژی روده

نتایج بررسی مورفولوژی پرزهای روده کوچک در سن ۲۴ روزگی در جداول ۴ آورده شده است. هیچکدام از صفات مورد بررسی تحت تاثیر اثر متقابل کاپا-کاراگینان و پروبیوتیک قرار نگرفتند. با این‌حال، استفاده از کاپا-کاراگینان در جیره‌های پرندگان، طول پرزهای دوازده را افزایش و عمق کریپت‌های ایلئوم را کاهش داد (P<۰/۰۵). دسوزا و همکاران (De Souza et al., 2018) گزارش کردند که استفاده از پروبیوتیک در جیره جوجه‌های گوشتی طول و ضخامت پرزها را در دوازده و ژژنوم افزایش داد. در یک مطالعه دیگر، استفاده از پروبیوتیک بدون تغییر در عمق کریپت، طول پرزهای روده را افزایش داد (Sen et al., 2012). دلیل افزایش طول و مساحت پرز در روده، به‌ویژه در نواحی داوزده و ژنوژنوم، به بهبود شرایط گوارشی به افزایش فعالیت آنزیم‌های گوارشی و همچنین افزایش جمعیت

میکروب‌های مفید در دستگاه گوارش مرتبط دانسته‌اند (De Souza et al., 2018; Jin et al., 2000).
تشفام و همکاران (Tashfam et al., 2005) گزارش کردند که *باسیلوس*‌ها برای اینکه بتوانند در روده کوچک به‌طور دائم مستقر شوند با اتصال بر پرزها سبب تغییر در طول پرز و مورفولوژی روده می‌شوند. بخش عمده این تغییرات در ۱۰ درصد ابتدایی روده می‌باشد و قسمت‌های انتهایی کمتر تحت تأثیر *باسیلوس*‌ها هستند.

جدول ۴- اثر پروبیوتیک، کاپا-کاراگینان و اثر متقابل بین آنها بر مورفولوژی روده جوجه‌های گوشتی در سن ۲۴ روزگی
Table 4. Effect of probiotic, kappa-carrageenan and their interaction on intestinal morphology of broiler chicken at day 24 of age.

تیمارها Treatments		دوازده [1] VH	CD	VH:CD	ژژنوم VH	CD	VH:CD	ایلئوم VH	CD	VH:CD
اثرات اصلی Main effects										
کاپا-کاراگینان kappa-carrageenan										
صفر Zero		79.17[b]	113.69	7.49	911.89	117.84	8.17	706.12	152.46[a]	4.65
۰/۱ 0.1		94.76[a]	116.6	8.72	808.75	129.79	6.59	527.37	96.34[b]	5.86
خطای استاندارد میانگین Standard error of the means		40.943	12.376	0.878	54.647	14.445	0.943	72.817	13.280	0.662
سطح احتمال P-value		0.031	0.871	0.349	0.218	0.574	0.270	0.120	0.337	0.235
پروبیوتیک Probiotic										
صفر Zero		831.16	128.28	6.73	909.21	137.18	7.21	697.33	145.58	5.26
۰/۱ 0.1		917.78	102.01	9.48	811.43	110.45	7.56	536.16	103.22	5.25
خطای استاندارد میانگین Standard error of the means		40.943	12.376	0.878	54.647	14.450	0.943	72.810	13.280	0.662
سطح احتمال P-value		0.173	0.171	0.058	0.241	0.227	0.796	0.156	0.054	0.990
اثرات متقابل Interaction effect										
کاپا-کاراگینان kappa-carrageenan	پروبیوتیک Probiotic									
صفر Zero	صفر Zero	756.24	118.58	6.52	983.55	126.66	8.66	816.78	183.21	4.42
۰/۱ 0.1	صفر Zero	906.08	108.08	6.94	824.87	147.71	5.76	577.88	107.24	6.10
صفر Zero	۰/۱ 0.1	842.11	137.98	8.45	840.23	109.02	7.69	596.46	121.72	4.89
۰/۱ 0.1	۰/۱ 0.1	993.45	95.23	10.50	782.63	111.88	7.43	476.85	84.73	5.61
خطای استاندارد میانگین Standard error of the mean		57.903	17.502	1.242	77.283	20.443	1.333	102.979	18.781	0.936
سطح احتمال P-value		0.990	0.373	0.528	0.571	0.668	0.351	0.575	0.337	0.625

[a,b] در هر ردیف میانگین‌های با حروف نامشابه دارای اختلاف معنی‌دار هستند (P<۰/۰۵).
[a,b] Means in each column with different superscripts are significantly different (p <0.05).
[1] VH= طول پرز (بر حسب میکرومتر)، CD= عمق کریپت (بر حسب میکرومتر)، VH:CD= نسبت طول پرز به عمق کریپت
[1] VH = Villus height (in micrometers), CD = crypt depth (in micrometers), VH:CD = Villus height:crypt depth ratio

جمعیت میکروبی دستگاه گوارش

نتایج مقایسه جمعیت باکتری‌های اسید لاکتیکی و کلی‌فرم‌ها در ایلئوم و روده کور پرندگان در روز ۲۴ پرورش در جدول ۵ گزارش شده است. جمعیت کلی‌فرم‌ها در روده کور تحت‌تاثیر اثر متقابل پروبیوتیک و کپا-کاراگینان قرار گرفت. جمعیت کلی‌فرم‌های روده کور در تمام تیمارهای آزمایش در مقایسه با تیمار فاقد پروبیوتیک و کاپا-کاراگینان کمتر بود (P < ۰/۰۵). استفاده از کاپا-کاراگینان در جیره توانست جمعیت کلی‌فرم‌های روده کور را کاهش دهد (p<۰/۰۵). همچنین، مکمل‌سازی جیره با پروبیوتیک جمعیت باکتری‌های اسید لاکتیکی را در ایلئوم افزایش و جمعیت کلی‌فرم‌ها را در روده کور کاهش داد (p< ۰/۰۵). سایر فراسنجه‌های آزمایش تحت تأثیر افزودنی‌های غذایی قرار نگرفتند. تأثیر پروبیوتیک در کاهش معنی‌دار کلی‌فرم‌ها با نتایج گزارش شده توسط شوکائیان و همکاران (Shokaiyan et al., 2019) مطابقت داشت. جویا و همکاران (Joya *et al*., 2021) گزارش کردند که استفاده از پروبیوتیک در جیره توانست جمعیت میکروبی ایلئوم را در سن ۲۴ روزگی افزایش دهد. در مقابل، کاکه‌باوه و همکاران (Kakebaveh et al., 2014) گزارش کردند که جمعیت میکروبی *لاکتوباسیل*‌ها در ایلئوم و روده کور در سن ۲۳ روزگی تحت‌تأثیر مصرف پروبیوتیک قرار نگرفت. در گزارشی نشان داده شد که استفاده از ترکیبات پروبیوتیکی در جوجه‌های گوشتی فرایند هضم بهبود یافته در نتیجه دسترسی مواد مغذی برای باکتری‌های *لاکتوباسیل* افزایش می‌یابد که با افزایش باکتری‌های *لاکتوباسیل* تولید اسید لاکتیک در ناحیه روده افزایش یافته و در نتیجه محیط روده کور نسبتاً اسیدی‌تر

می‌شود. کاهش pH در ناحیه روده کور با کاهش باکتری‌های مضر گرم منفی رابطه مستقیم دارند (Pascual et al., 1999). به‌نظر می‌رسد که بخشی از اثر مثبت کاپا-کاراگینان بر کاهش کلی‌فرم‌ها در روده کور، همانند سایر کربوهیدرات‌های پری‌بیوتیکی، مربوط به تخمیر این ترکیب توسط باکتری‌های مفید دستگاه گوارش باشد.

جدول ۵- اثر پروبیوتیک، کاپا-کاراگینان و اثر متقابل بین آنها بر جمعیت میکروبی (Log_{10} CFU/g) دستگاه گوارش جوجه‌های گوشتی در سن ۲۴ روزگی

Table 5. Effect of probiotic, kappa-carrageenan and their interaction on microbial population (Log_{10} CFU/g) of the gastrointestinal tract of broiler chickens at day 24 of age.

تیمارها Treatments		ایلئوم		روده کور	
اثرات اصلی Main effects		باکتری‌های اسیدلاکتیکی	کلی‌فرم‌ها	باکتری‌های اسیدلاکتیکی	کلی‌فرم‌ها
کاپا-کاراگینان kappa-carrageenan					
صفر Zero		824	8.15	5.04	7.73[a]
۰/۱ 0.1		8.72	8.58	5.73	7.18[b]
خطای استاندارد میانگین Standard error of the means		0.226	0.29	0.403	0.15
سطح احتمال P-value		0.197	0.328	0.244	0.045
پروبیوتیک Probiotic					
صفر Zero		8.07[b]	8.26	5.81	7.72a
۰/۱ 0.1		8.90[a]	8.47	4.95	7.18b
خطای استاندارد میانگین Standard error of the means		0.226	0.29	0.36	0.168
سطح احتمال P-value		0.044	0.622	0.154	0.047
اثرات متقابل Interaction effect					
کاپا-کاراگینان kappa-carrageenan	پروبیوتیک Probiotic				
صفر Zero	صفر Zero	7.77	8.08	5.63	8.38[a]
۰/۱ 0.1	صفر Zero	8.36	8.44	6.00	7.07[b]
صفر Zero	۰/۱ 0.1	8.71	8.23	4.45	7.08[b]
۰/۱ 0.1	۰/۱ 0.1	9.09	8.72	5.45	7.29[b]
خطای استاندارد میانگین Standard error of the mean		0.320	0.41	0.567	0.121
سطح احتمال P-value		0.762	0.875	0.574	0.012

[a,b] در هر ردیف میانگین‌های با حروف نامشابه دارای اختلاف معنی‌دار هستند ($P<0/05$).

[a,b] Means in each column with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

فراسنجه‌های خونی

نتایج مربوط به فراسنجه‌های خون جوجه‌های گوشتی در سن ۲۴ در جدول ۶ آورده شده است. فعالیت آنزیم سوپراکسید دسموتاز تحت‌تأثیر اثر متقابل کاپا-کاراگینان و پروبیوتیک قرار گرفت. استفاده از مخلوط کاپا-کاراگینان و پروبیوتیک توانست فعالیت آنزیم سوپراکسید دسموتاز را در مقایسه با تیماری که تنها حاوی کاپا-کاراگینان بود به‌صورت معنی‌دار افزایش دهد. جویا و همکاران (Joya et al., 2021) گزارش کردند که استفاده از پروبیوتیک *باسیلوس سوبتیلیس* در جیره جوجه‌های گوشتی فعالیت آنزیم سوپراکسید دسموتاز را به‌صورت معنی‌دار افزایش و غلظت کلسترول سرم را کاهش داد. ساراس و ساگیلی (Sarac and Saygili, 2007) گزارش کردند که بالا بودن آلکالین فسفاتاز، آسپارتات ترانس آمینار و آلانین ترانس آمیناز نشان‌دهنده آسیب کبدی یا افزایش فعالیت استخوان‌سازی می‌باشد. عدم افزایش معنی‌دار فعالیت این آنزیم‌ها در مطالعه حاضر نشان می‌دهد که استفاده از این افزودنی‌ها در جیره جوجه گوشتی آسیبی در کبد ایجاد نکرده است.

جدول ۶- اثر پروبیوتیک، کاپا-کاراگینان و اثر متقابل بین آنها بر فراسنجه‌های خون۱ جوجه‌های گوشتی در سن ۲۴ روزگی
Table 6. Effect of probiotic, kappa-carrageenan and their interaction on blood parameters of broiler chickens at day 24 of age

فراسنجه‌های اندازه‌گیری شده۲							تیمارها Treatments
Chol	SOD	CPK	ALP	ALT	AST		اثرات اصلی Main effects
							کاپا-کاراگینان kappa-carrageenan
113.58	0.55	4510.66	833.83	2.26	220.68		صفر Zero
113.50	0.57	4290.83	806.50	3.30	201.25		۰/۱ 0.1
5.997	0.114	563.31	378.165	0.518	25.731		خطای استاندارد میانگین Standard error of the means
0.992	0.904	0.789	0.960	0.196	0.607		سطح احتمال P-value
							پروبیوتیک Probiotic
112.66	0.48	4297.83	521.83	2.30	184.98		صفر Zero
114.41	0.63	4503.66	1118.50	3.26	236.95		۰/۱ 0.1
5.364	0.114	563.31	378.65	0.518	25.731		خطای استاندارد میانگین Standard error of the means
0.834	0.37	0.802	0.297	0.224	0.191		سطح احتمال P-value
							اثرات متقابل Interaction effect
						پروبیوتیک Probiotic	کاپا-کاراگینان kappa-carrageenan
116.66	0.68^{ab}	5066.66	735.00	2.36	187.03	صفر Zero	صفر Zero
108.66	0.28^{b}	3529.00	308.66	2.32	182.93	صفر Zero	۰/۱ 0.1
110.50	0.41^{ab}	3954.66	93266	2.16	254.33	۰/۱ 0.1	صفر Zero
118.33	0.86^{a}	5052.66	1304.33	4.36	219.56	۰/۱ 0.1	۰/۱ 0.1
8.438	0.161	796.653	534.806	0.733	36.39		خطای استاندارد میانگین Standard error of the mean
0.375	0.030	0.136	0.477	0.150	0.684		سطح احتمال P-value

۱ برحسب میلی‌گرم/ دسی‌لیتر
1 mg/dl
۲ AST= آسپارتات ترانس آمیناز؛ ALT= آلانین ترانس آمیناز؛ ALP= آلکالین فسفاتاز؛ CKP= کراتین فسفوکیناز؛ SOD = سوپر اکسیددسموتاز؛ Chol= کلسترول.
2 AST = aspartate transaminase; ALT= alanine transaminase; ALP = alkaline phosphatase; CKP= creatine phosphokinase; SOD = superoxide desmutase; Chol = cholesterol.

نتایج آزمایش حاضر ضمن تایید اثرات مثبت پروبیوتیک‌ها بر عملکرد جوجه‌های گوشتی نشان داد که استفاده از کاپا-کاراگینان نیز به‌عنوان یک پری‌بیوتیک در جیره، تاثیر مثبت بر رشد (به‌ویژه ابتدای دوره پرورش) و مورفولوژی روده جوجه‌های گوشتی داشته و فاقد تاثیر منفی بر سلامت اندام‌های درونی است. همچنین مصرف کاپا-کاراگینان به‌تنهایی یا همراه با پروبیوتیک‌ها در جیره می‌تواند در کاهش جمعیت باکتری‌های بیماری‌زا در روده کور موثر باشد.

منابع

Abramoff, M.D., Magelhaes, P.J., and Ram, S.J. (2004). Image processing with Image J. *Journal of Biophotonic*. 11, 36-42.

Ashayerizadeh, A., Dabir. N., Ashayerizadeh. O., Mirzadeh. K.H., Roshanfekr, H., and Mamooee, M. (2009). Effect of dietary antibiotic, probiotic and prebiotic as growth promoters, on growth performance, carcass characteristics and hematological indices of broiler chickens. *Pakistan Journal of Biological Sciences.* 12, 52- 57. DOI: 10.3923/pjbs.2009.52.57.

Aviagen, W. (2014). Ross 308 broiler nutrition specifications. Aviagen: Huntsville, AL, USA.

De Souza, L. F., Araújo, D. N., Stefani, L. M., Giometti, I. C., Cruz-Polycarpo, V. C., Polycarpo, G., & Burbarelli, M. F. (2018). Probiotics on performance, intestinal morphology and carcass characteristics of broiler chickens raised with lower or higher environmental challenge. *Austral journal of veterinary sciences*, *50*(1), 35-41. DOI: 10.4067/S0719-81322018000100107.

World health organization (WHO. (2002). Health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria, a joint FAO/WHO expert consultation. Cordoba, Argentina, 1-4 October 2001. *http://www. who. int/foodsafety/publications/fs_management/probiotics/en/index. html*.

Huang, M. K., Choi, Y. J., Houde, R., Lee, J. W., Lee, B., & Zhao, X. (2004). Effects of Lactobacilli and an acidophilic fungus on the production performance and immune responses in broiler chickens. *Poultry Science*, *83*(5), 788-795. DOI: 10.1093/ps/83.5.788

Huyghebaert, G., & Pack, M. (1996). Effects of dietary protein content, addition of nonessential amino acids and dietary methionine to cysteine balance on responses to dietary sulphur-containing amino acids in broilers. *British poultry science*, *37*(3), 623-639. DOI: 10.1080/00071669608417892

Jafari Ahangari, Y., Parizadian Kavan, B., & Hoseinzadeh, M. (2014). The effect of probiotic on performance and immunity parameters of broilers. *Research on animal production*, *4*(8), 46-56. (In Persian).

Jin, L. Z., Ho, Y. W., Abdullah, N., & Jalaludin, S. (2000). Digestive and bacterial enzyme activities in broilers fed diets supplemented with Lactobacillus cultures. *Poultry science*, *79*(6), 886-891. DOI: 10.1093/ps/79.6.886

Jin, L. Z., Ho, Y. W., Abdullah, N., & Jalaludin, S. (1998). Growth performance, intestinal microbial populations, and serum cholesterol of broilers fed diets containing Lactobacillus cultures. *Poultry science*, *77*(9), 1259-1265. DOI: 10.1093/ps/77.9.1259

Joya, M., Ashayerizadeh, O., & Dastar, B. (2020). Effects of Spirulina (Arthrospira) platensis and Bacillus subtilis PB6 on growth performance, intestinal microbiota and morphology, and serum parameters in broiler chickens. *Animal Production Science*, *61*(4), 390-398. DOI: 10.1071/AN20218.

Kakebaveh, M., Taheri, H. R., & Harki, N. T. (2014). Effects of dietary supplementation with probiotics, prebiotic and synbiotic on performance and intestinal microbial population of broiler chickens. *Research on Animal Production.* 5, 44-56 (In Persian). DOI: 10.14202/vetworld.2016.313-319.

Kannan, D., Viswanathan, K., & Mohan, B. (2007). The effect of feeding virginiamycin and lactobacillus sporogenes on broiler production performance characters. *Journal of Veterinary & Animal Science*, *3*(2), 1-106.

Mikulec, Z., Šerman, V., Mas, N., & Lukac, Z. (1999). Effect of probiotic on production results of fattened chickens fed different quantities of protein. *Veterinarski Arhiv*, *69*(4), 199-209.

Mohammadi, J., Dastar. B., Hashemi, R., and Ashayerizadeh, A. (2015). Determining the effect of probiotic in high or low nutrient density diets on growth performance, immune system and some blood parameters of broiler chickens. *Journal of Research in Animal Nutrition,* 1, 15-27 (In Persian).

Mountzouris, K. C., Tsitrsikos, P., Palamidi, I., Arvaniti, A., Mohnl, M., Schatzmayr, G., & Fegeros, K. (2010). Effects of probiotic inclusion levels in broiler nutrition on growth performance, nutrient digestibility, plasma immunoglobulins, and cecal microflora composition. *Poultry science*, *89*(1), 58-67. DOI: 10.3382/ps.2009-00308

Nobakht, A., & Shbazi, B. (2022). The Effects of Probiotic and Thyme Powder on Growth Performance, Carcass Traits and Blood Biochemical Parameters of Broilers with Normal and Crude Protein Reduced Diets. *Research On Animal Production*, *13*(37), 1-9 (In Persian). DOI: 10.52547/rap.13.37.1

Panda, A. K., Rao, S. V. R., Raju, M. V., & Sharma, S. R. (2006). Dietary supplementation of Lactobacillus sporogenes on performance and serum biochemico-lipid profile of broiler chickens. *The Journal of Poultry Science*, *43*(3), 235-240. DOI: 10.2141/jpsa.43.235

Pascual, M., Hugas, M., Badiola, J. I., Monfort, J. M., & Garriga, M. (1999). Lactobacillus salivarius CTC2197 prevents Salmonella enteritidis colonization in chickens. *Applied and environmental microbiology*, *65*(11), 4981-4986. DOI: 10.1128/aem.65.11.4981-4986.1999

Patterson, J. A., & Burkholder, K. M. (2003). Application of prebiotics and probiotics in poultry production. *Poultry science*, *82*(4), 627-631. DOI: 10.1093/ps/82.4.627

Safari Samani, E., and Akbari Samani. A. (2014). Effect of probiotic supplementation on growth performance of broiler chicks. *Empirical Animal Biology Magazine*, 1, 29-45 (In Persian).

Saraç, F., & Saygılı, F. (2007). Causes of high bone alkaline phosphatase. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, *21*(2), 194-197. DOI: 10.1080/13102818.2007.10817444.

SAS. (2009). User's Guide: Satistics, Version 9.2. SAS Inst, Inc., Cary, NC, US.

Sen, S., Ingale, S. L., Kim, Y. W., Kim, J. S., Kim, K. H., Lohakare, J. D., ... & Chae, B. J. (2012). Effect of supplementation of Bacillus subtilis LS 1-2 to broiler diets on growth performance, nutrient retention, caecal microbiology and small intestinal morphology. *Research in Veterinary Science*, *93*(1), 264-268. DOI: 10.1016/j.rvsc.2011.05.021

Shargh, M. S., Dastar, B., Zerehdaran, S., Khomeiri, M., & Moradi, A. (2012). Effects of using plant extracts and a probiotic on performance, intestinal morphology, and microflora population in broilers. *Journal of Applied Poultry Research*, *21*(2), 201-208. DOI: 10.3382/japr.2010-00145

Sharifi, M. R., Shams-Shargh, M., Dastar, B., & Hassani, S. (2011). The effect of dietary protein levels and synbiotic on performance parameters, blood characteristics and carcass yields of Japanese quail (Coturnix coturnix Japonica). *Italian Journal of Animal Science*, 10, 16-21. DOI: 10.4081/ijas.2011.e4.

Shokaiyan, M., Ashayerizadeh, O., Shams Shargh, M., and Dastar, B. (2019). The effect of fucoidan, probiotic and antibiotic on growth indices, gut microbiota and blood parameters in broiler chickens. *Research on Animal Production*, 10, 10-17 (In Persian). DOI: 10.29252/rap.10.24.10.

de Los Santos, F. S., Farnell, M. B., Tellez, G. U. I. L. L. E. R. M. O., Balog, J. M., Anthony, N. B., Torres-Rodriguez, A., ... & Donoghue, A. M. (2005). Effect of prebiotic on gut development and ascites incidence of broilers reared in a hypoxic environment. *Poultry science*, *84*(7), 1092-1100. DOI: 10.1093/ps/84.7.1092

Soukaina, B., Zainab, E. A. T., Guillaume, P., Halima, R., Philippe, M., Cherkaoui, E. M., & Cédric, D. (2020). Radical depolymerization of alginate extracted from moroccan brown seaweed bifurcaria bifurcata. *Applied Sciences*, *10*(12), 4166. DOI: 10.3390/app10124166

Tashfam, M., Rahimi, S.H., and Karimi. K. (2005). Effect of various levels of probiotic on morphology of instestinal mucosa in broiler chicks. *Journal of Veterinary Research,* 6, 211-205 (In Persian).

Wang, F. F., Yao, Z., Wu, H. G., Zhang, S. X., Zhu, N. N., & Gai, X. (2012). Antibacterial activities of kappa-carrageenan oligosaccharides. *Applied Mechanics and Materials*, *108*, 194-199. DOI: 10.1016/j.algal.2021.102593.

Yousefi, S,. Rezaei, M., Kazemifard, M., and Shohreh, B. (2022). Evaluation of enzyme and probiotic supplemention in diet containing different levels of energy on growth performance, body composition and net energy improvment in broiler chickens with wheat-soybean meal diet. *Research on Animal Production,* 13, 22-31 (In Persian). DOI: 10.22059/ijas.2022.342323.653888.

Yousefi, Z., Kazemi Fard, M., Rezaei M., and Ansari Pirsaraei, Z. (2017). Effect of Chicory extract and probiotic on performance, caracas characteristics, blood parameters, intestinal microflora and immune response of broiler chicken. *The Iranian Journal of Animal Science Research*, 9, 185-195 (In Persian). DOI: 10.22067/ijasr.v9i2.55240.

Zentek, J., Hall, E. J., German, A., Haverson, K., Bailey, M., Rolfe, V., ... & Day, M. J. (2002). Morphology and immunopathology of the small and large intestine in dogs with nonspecific dietary sensitivity. *The Journal of nutrition*, *132*(6), 1652S-1654S. DOI: 10.1093/jn/132.6.1652S.