

تأثیر پروبیوتیک و بوتیرات کلسیم بر عملکرد تولید، کیفیت تخم مرغ، فراسنجه‌های خونی و پاسخ ایمنی مرغ‌های تخم‌گذار

محمد حسین شهیر^۱، مینا محمدی^۲، شهاب قاضی^۲، امید افسریان^{۱*}، سعید مرادی^۱

(۱) گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی دانشگاه زنجان، زنجان - ایران.

(۲) گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی دانشگاه رازی، کرمانشاه - ایران.

(دریافت مقاله: ۱۷ دی ماه ۱۳۹۰، پذیرش نهایی: ۲۱ فروردین ماه ۱۳۹۱)

چکیده

زمینه مطالعه: پروبیوتیک و بوتیرات کلسیم از افزودنی‌های خوراکی هستند که باعث بهبود عملکرد و پاسخ ایمنی می‌شوند. **هدف:** این آزمایش برای ارزیابی اثرات سطوح مختلف پروبیوتیک و بوتیرات کلسیم بر عملکرد، کیفیت تخم مرغ و فراسنجه‌های خونی و ایمنی مرغ‌های تخم‌گذار انجام گرفت. **روش کار:** ۲۸۸ قطعه مرغ تخم‌گذار سویه‌ی های لاین (W-36) در سن ۶۲ تا ۷۰ هفتگی، در یک آزمایش فاکتوریل ۲×۳ با سه سطح پروبیوتیک (صفر، ۰/۰۷ و ۰/۱٪) و دو سطح بوتیرات کلسیم (صفر و ۰/۱٪) در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۶ تیمار و ۸ تکرار، مورد استفاده قرار گرفت. **نتایج:** نتایج نشان داد که افزودن پروبیوتیک و بوتیرات کلسیم به جیره غذایی تأثیری بر مصرف خوراک، ضریب تبدیل غذایی، درصد تولید تخم مرغ، شاخص شکل، شاخص زرده، واحد هاو، وزن پوسته و وزن مخصوص تخم مرغ نداشت. به هر حال استفاده از پروبیوتیک و وزن و توده تخم مرغ را نسبت به گروه شاهد به طور معنی داری ($p < 0/05$) افزایش داد، در حالی که بوتیرات کلسیم چنین اثری را نشان نداد. ضخامت پوسته تخم مرغ با کاربرد بوتیرات کلسیم در جیره غذایی به طور معنی داری ($p < 0/05$) افزایش یافت. اثرات متقابل بین سطوح مختلف پروبیوتیک و بوتیرات کلسیم، فقط بر ضریب تبدیل خوراک معنی دار ($p < 0/05$) بود. میزان آنتی بادی تولید شده بر علیه گلبول قرمز، تحت تأثیر جیره‌های آزمایشی قرار نگرفت. استفاده از پروبیوتیک و بوتیرات کلسیم در جیره غذایی، میزان آلبومین سرم را به طور معنی داری ($p < 0/05$) افزایش داد، علاوه بر این سطوح مختلف پروبیوتیک میزان پروتئین تام سرم را افزایش ($p < 0/05$) داد ولی بر سایر فراسنجه‌های خونی تأثیری نداشت. میزان هتروفیل و بازوفیل و همچنین نسبت هتروفیل به لمفوسیت با استفاده از پروبیوتیک در جیره غذایی به طور معنی داری ($p < 0/05$) کاهش یافت. **نتیجه‌گیری نهایی:** در نهایت، این نتایج نشان می‌دهد که استفاده از پروبیوتیک و بوتیرات کلسیم در جیره غذایی مرغ‌های تخم‌گذار، موجب بهبود پاسخ ایمنی پرنده می‌شود.

واژه‌های کلیدی: مرغ تخم‌گذار، پروبیوتیک، بوتیرات کلسیم، سیستم ایمنی، فراسنجه‌های خونی.

مناسب برای آنتی بیوتیک‌ها انجام گرفت و همگی به دنبال افزودنی‌هایی بودند که بتواند نتایج مشابهی با آنتی بیوتیکی‌های محرک رشد در کنترل بیماری‌های عفونی، بهبود رشد و راندمان خوراک داشته باشد. ترکیبات متعددی مانند اسیدهای آلی، عصاره‌های گیاهی، پروبیوتیک، آنزیم و پری بیوتیک‌ها برای جایگزینی با آنتی بیوتیک‌ها پیشنهاد گردید.

پروبیوتیک‌ها مکمل‌های میکروبی زنده‌ای هستند که از طریق بهبود تعادل میکروبی دستگاه گوارش اثرات سودمندی را بر میزان اعمال می‌کنند. بر اساس نظر Fuller در سال ۱۹۸۹، یک پروبیوتیک موثر باید در مقیاس تحاری قابل تهیه باشد، پایدار بماند، تحت شرایط انبار و مزرعه برای مدت طولانی زنده بماند و دارای توانایی زنده ماندن (نه الزاماً رشد) در روده باشد (۵). به طور کلی پروبیوتیک‌ها سبب افزایش تکثیر باکتری‌های مفید (گونه‌های لاکتوباسیلوس، بیفیدو باکتریوم، باسیلوس سوبتلیس) در روده می‌شوند، در نتیجه از تجمع باکتری‌های بیماری‌زا (گونه‌های اشریشیاکلی، کلوستریدیوم، سالمونلا و کامپیلوباکتر ژژونی) ممانعت می‌کنند. این شکل ممانعت و جلوگیری از رشد باکتری‌های مضر را حذف رقابتی می‌نامند. Murry و همکاران در سال ۲۰۰۶ و Fernandez و Tortuero در سال ۱۹۹۵، اثرات سودمند استفاده از پروبیوتیک در جیره

مقدمه

میزان بالای مواد مغذی موجود در تخم مرغ سبب قرار گرفتن این ماده خوراکی در سبد غذایی خانوار شده است. با توجه به روند رو به رشد جمعیت جهان و افزایش تقاضا برای فرآورده‌های طیور (مانند تخم مرغ) سبب شده است که به مسئله سلامت این محصول توجه ویژه گردد. بیماری‌های روده‌ای به دلیل اینکه اثرات نامطلوبی بر عملکرد تولیدی، تلفات و سلامت تولیدات طیور برای مصارف انسانی می‌گذارند، یکی از مهمترین دغدغه‌های صنعت مرغداری بحساب می‌آیند. بنابراین برای رفع این دغدغه، در طی ۵۰ سال گذشته از سطوح تحت بالینی آنتی بیوتیک‌های محرک رشد برای جلوگیری از عفونت‌های روده‌ای و همچنین تحریک رشد استفاده می‌شد. متأسفانه استفاده از آنتی بیوتیک در خوراک، سبب ایجاد باقیمانده آنتی بیوتیکی در بافت‌های بدن حیوان، بخصوص در تخم مرغ، و همچنین سبب ایجاد مقاومت در پاتوژن‌ها نسبت به آنتی بیوتیک می‌شود. از این رو، سازمان جهانی غذا در سال ۲۰۰۶، توصیه کرد که از این افزودنی‌ها در خوراک دام و طیور استفاده نشود (۱۱). به این منظور، تحقیقات گسترده‌ای به منظور یافتن جایگزین



گرفتند. گروه‌های آزمایشی، شامل تیمار A فاقد پروبیوتیک و بوتیرات کلسیم، تیمار B حاوی ۰/۱٪ بوتیرات کلسیم، تیمار C حاوی ۰/۰۷٪ پروبیوتیک، تیمار D حاوی ۰/۱٪ پروبیوتیک، تیمار E حاوی ۰/۱٪ بوتیرات کلسیم و ۰/۰۷٪ پروبیوتیک، تیمار F حاوی ۰/۱٪ بوتیرات کلسیم و ۰/۰۷٪ پروبیوتیک بودند. جیره‌های آزمایشی بر پایه‌ی ذرت - کنجاله سویا بود و با توجه به احتیاجات مواد مغذی توصیه شده برای سویه‌های - لاین، که همگی دارای انرژی قابل متابولیسم (۲۷۲۰ Kcal/Kg) و پروتئین خام (۱۵/۴۲٪) یکسانی بودند و با استفاده از نرم افزار جیره نویسی UFFDA تنظیم گردیدند (جدول ۱).

پروبیوتیک تپاکس ۱۰۰ (شرکت داروسازان ایران، تهران) یک پروبیوتیک خالص و غیر فعال شده از سلول‌های مخمر گونه الیپوئیدوس و از گروه ساکارومیسس سرویسیه می‌باشد. این پروبیوتیک حاوی ۳۸ تا ۴۶٪ پروتئین خام، ۲۲/۲٪ فیبر خام، ۲/۹٪ چربی و ۸٪ رطوبت می‌باشد.

گرین کب (شرکت کیمیا دارو مهر، تهران) حاوی ۷۰٪ بوتیرات کلسیم محافظت شده می‌باشد که با استفاده از یک فناوری نوین در سه مرحله محافظت شده است و بدین طریق به راحتی از معده عبور یافته و پس از تأثیر آنزیم لیپاز لوزالمعده و نمک‌های صفراوی به تدریج در تمام قسمت‌های مختلف روده جذب می‌گردد. بوتیرات کلسیم ماده‌ای بی بو و غالب آن روغن گیاهی است و اجزا تشکیل دهنده آن شامل: ۷۰٪ بوتیرات، ۱۴٪ کلسیم و ۱۰٪ اسیدهای چرب آزاد می‌باشد.

در طول آزمایش، شرایط محیطی برای همه گروه‌های آزمایشی یکسان بود. برنامه نوردی به صورت ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی بود و دمای محیط به صورت شبانه‌روزی کنترل می‌گردید و تمامی مرغ‌ها به صورت آزاد به آب آشامیدنی و غذا دسترسی داشتند. میانگین مصرف خوراک، ضریب تبدیل غذایی، وزن تخم مرغ، درصد تولید تخم مرغ و تولید توده‌ای تخم مرغ به صورت هفتگی اندازه‌گیری می‌شد. در پایان دوره آزمایشی، از هر تکرار ۳ عدد تخم مرغ به طور تصادفی انتخاب و بعد از توزین، وزن مخصوص آنها با استفاده از روش غوطه‌ورسازی در محلول آب نمک با غلظت‌های مختلف تعیین گردید. سپس تخم مرغ‌ها شکسته شده و ارتفاع سفیده غلیظ با استفاده از میکرومتر اندازه‌گیری شد. پوسته تخم مرغ از محتویاتش تمیز شد و پوسته‌ها به مدت ۴۸ ساعت برای خشک شدن در دمای اطاق نگهداری شدند. بعد از خشک شدن، وزن آنها با ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۱g اندازه‌گیری شد. ضخامت پوسته تخم مرغ‌ها با استفاده از میکرومتر با دقت ۰/۰۰۱mm در وسط تخم مرغ و در سه نقطه دیگر اندازه‌گیری شد و میانگین آنها به عنوان ضخامت پوسته در نظر گرفته شد. این کار برای هر ۳ عدد تخم مرغ انجام شده و میانگین آنها به عنوان ضخامت نهایی پوسته تخم مرغ برای هر یک از واحدهای آزمایشی منظور گردید.

در پایان دوره آزمایشی از هر واحد آزمایشی تعداد دو قطعه مرغ از هر تکرار (۱۶ قطعه به ازای هر تیمار) به صورت تصادفی انتخاب شده و از ورید

غذایی، رابر عملکرد و سلامت مرغ‌های تخم‌گذار گزارش کردند (۱۹، ۲۷). محققین افزایش سلامت مرغ، در نتیجه مصرف پروبیوتیک را این‌گونه گزارش نمودند که باکتری‌های مفید موجود در روده، بر بورس فابریسیوس تأثیر گذاشته و سبب ترشح سیتوکین از این اندام می‌شود، در مرحله بعد این هورمون بر روی تیموس تأثیر گذاشته و باعث افزایش تیترا آنتی‌بادی IgA می‌گردد. تصور می‌شود که حضور آنتی‌بادی‌های ترش‌حی، خصوصاً IgA به عنوان خط اولیه دفاع علیه ارگاناسم‌های بیماری‌زا می‌باشد. بر مبنای این فرضیه، Adams در سال ۱۹۹۹ گزارش کرد که افزودن باکتری‌های سودمند به خوراک سبب ایمن شدن حیوانات در مقابل هجوم میکروارگاناسم‌های بیماری‌زا می‌گردد (۴).

گزارش شده است که استفاده از اسیدهای آلی در جیره، عملکرد طیور را از طریق حفظ pH دستگاه گوارش، جذب بهتر مواد معدنی و مغذی، کاهش رشد باکتری‌های مضر، بهبود می‌بخشند. اسید بوتیریک به علت دارا بودن خصوصیت ویژه تحریک رشد پرز روده و دوز مصرفی پایین، نسبت به سایر اسیدهای آلی مورد توجه ویژه قرار گرفته است. استفاده از بوتیرات کلسیم در خوراک سبب اسیدی شدن جیره می‌شود و با مصرف این جیره‌ها، pH دستگاه گوارش کاهش می‌یابد. کاهش pH سبب کاهش میکروارگاناسم‌های حساس به شرایط اسیدی (مانند سالمونلا، کلاستریدیوم پرفرانژو و کامپیلوباکتر ژونی) می‌شود. مکانیسم عمل آن بدین صورت می‌باشد که اسیدهای آلی از غشا میکروارگاناسم عبور و سبب کاهش pH درون سلولی باکتری‌ها می‌گردد و از این طریق موجب مرگ سلول‌هایی می‌شود که به چنین شرایطی (کاهش pH) حساس می‌باشند، همچنین استفاده از اسید آلی می‌تواند سبب ایجاد اختلال در رشد باکتری‌ها شود، زیرا انرژی زیادی برای برگرداندن pH درون سلولی باکتری‌ها به سطوح هموستاتیک مورد نیاز است. در کل استفاده از اسیدهای آلی سبب افزایش میکروارگاناسم‌های مفید در روده می‌شوند و ممکن است از این طریق سبب بهبود عملکرد و پاسخ‌های ایمنی در طیور گردند (۶، ۱۵).

با توجه به ضرورت حذف آنتی‌بیوتیک‌های محرک رشد از جیره مرغ‌های تخم‌گذار و معرفی جایگزین‌های جدید، در این آزمایش از پروبیوتیک به همراه بوتیرات کلسیم استفاده گردید و اثرات این افزودنی‌های خوراکی بر عملکرد، کیفیت تخم مرغ و فراسنجه‌های خونی و سیستم ایمنی مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش کار

در این آزمایش تعداد ۲۸۸ قطعه مرغ تخم‌گذار سویه‌ی های - لاین (W36) از سن ۶۲ تا ۷۰ هفتگی، در یک آزمایش فاکتوریل ۳×۲ با سه سطح پروبیوتیک (۰، ۰/۰۷، ۰/۱٪) و دو سطح بوتیرات کلسیم (۰، ۰/۱٪) در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۶ تیمار و ۸ تکرار (هر تکرار شامل ۶ قطعه مرغ تخم‌گذار) به مدت ۸ هفته در شرایط محیطی یکسان، مورد استفاده قرار



جدول ۱- ترکیب جیره‌های آزمایشی. تیمار A فاقد پروبیوتیک و بوتیرات کلسیم، تیمار B حاوی ۰/۱٪ بوتیرات کلسیم، تیمار C حاوی ۰/۰۷٪ پروبیوتیک، تیمار D حاوی ۰/۱٪ پروبیوتیک، تیمار E حاوی ۰/۱٪ بوتیرات کلسیم و ۰/۰۷٪ پروبیوتیک، تیمار F حاوی ۰/۱٪ بوتیرات کلسیم و ۰/۱٪ پروبیوتیک. هر کیلوگرم جیره حاوی: ویتامین A، ۱۱۰۰۰ واحد بین المللی؛ کوله کلسیفرول، ۲۲۰۰ واحد بین المللی؛ ویتامین E، ۳۰ واحد بین المللی؛ ویتامین K، ۵/۵mg؛ ویتامین B12، ۰/۰۲mg؛ تیامین، ۱/۵mg؛ ریوفلاوین، ۶mg؛ اسید فولیک، ۰/۶mg؛ بیوتین، ۱۵mg؛ نیاسین، ۶۰mg؛ پریدوکسین، ۵mg؛ کولین کلراید، ۷۸۸mg. مس، ۲۰mg؛ آهن، ۸۰mg؛ منگنز، ۲۱/۸mg؛ سلنیوم، ۰/۱mg؛ ید، ۳۵mg؛ وروی، ۱۰۰mg.

جیره‌های آزمایشی						اجزای جیره (%)
F	E	D	C	B	A	
۶۵/۰۶	۶۵/۰۶	۶۵/۰۶	۶۵/۰۶	۶۵/۰۶	۶۵/۰۶	ذرت
۱۷/۵۵	۱۷/۵۵	۱۷/۵۵	۱۷/۵۵	۱۷/۵۵	۱۷/۵۵	کنجاله سویا
۴/۹۸	۴/۹۸	۴/۹۸	۴/۹۸	۴/۹۸	۴/۹۸	سبوس گندم
۰/۳	۰/۳	۰/۳	۰/۳	۰/۳	۰/۳	روغن آفتابگردان
۲	۲	۲	۲	۲	۲	پودر ماهی
۷/۸۷	۷/۸۷	۷/۸۷	۷/۸۷	۷/۸۷	۷/۸۷	سنگ آهک
۱/۲۹	۱/۲۹	۱/۲۹	۱/۲۹	۱/۲۹	۱/۲۹	دی کلسیم فسفات
۰/۲۶	۰/۲۶	۰/۲۶	۰/۲۶	۰/۲۶	۰/۲۶	نمک
۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	مکمل معدنی
۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	مکمل ویتامینه
۰/۲	۰/۲	۰/۲	۰/۲	۰/۲	۰/۲	DL-متیونین
۰/۱	۰/۱	۰	۰	۰/۱	۰	بوتیرات کلسیم
۰/۱	۰/۰۷	۰/۱	۰/۰۷	۰	۰	پروبیوتیک

ترکیب شیمیایی جیره‌های آزمایشی						
۲۷۲۰	۲۷۲۰	۲۷۲۰	۲۷۲۰	۲۷۲۰	۲۷۲۰	انرژی متابولیسمی
۱۵/۴۲	۱۵/۴۲	۱۵/۴۲	۱۵/۴۲	۱۵/۴۲	۱۵/۴۲	پروتئین خام
۳/۱۳	۳/۱۳	۳/۱۳	۳/۱۳	۳/۱۳	۳/۱۳	چربی خام
۳/۲۳	۳/۲۳	۳/۲۳	۳/۲۳	۳/۲۳	۳/۲۳	فیبر خام
۳/۴۲	۳/۴۲	۳/۴۲	۳/۴۲	۳/۴۲	۳/۴۲	کلسیم
۰/۳۵	۰/۳۵	۰/۳۵	۰/۳۵	۰/۳۵	۰/۳۵	فسفر قابل دسترس
۱/۶۸	۱/۶۸	۱/۶۸	۱/۶۸	۱/۶۸	۱/۶۸	لینولئیک اسید
۰/۱۶	۰/۱۶	۰/۱۶	۰/۱۶	۰/۱۶	۰/۱۶	سدیم
۰/۴۷	۰/۴۷	۰/۴۷	۰/۴۷	۰/۴۷	۰/۴۷	متیونین
۰/۷۷	۰/۷۷	۰/۷۷	۰/۷۷	۰/۷۷	۰/۷۷	لیزین
۰/۷۳	۰/۷۳	۰/۷۳	۰/۷۳	۰/۷۳	۰/۷۳	متیونین + سیستئین

ندارد. استفاده از بوتیرات کلسیم در جیره غذایی، ضخامت پوسته تخم‌مرغ را به طور معنی‌داری ($p < 0/05$) افزایش داد، اما سطوح مختلف پروبیوتیک تأثیری بر ضخامت پوسته تخم‌مرغ نداشت. هیچ‌کدام از اثرات متقابل بین سطوح مختلف پروبیوتیک و بوتیرات کلسیم بر خصوصیات کیفی تخم‌مرغ معنی‌دار نبود.

تیترا آنتی‌بادی بر علیه SRBC: اثرات سطوح مختلف پروبیوتیک و بوتیرات کلسیم بر میزان آنتی‌بادی تولید شده بر علیه گلبول قرمز گوسفند در جدول ۴ نشان داده شده است. اعداد بدست آمده نشان می‌دهد که سطوح مختلف پروبیوتیک و بوتیرات کلسیم تأثیر معنی‌داری بر میزان آنتی‌بادی تولید شده بر علیه گلبول قرمز در نوبت اول و دوم نداشت. به هر حال مرغ‌هایی که جیره C (جیره حاوی پروبیوتیک ۰/۰۷) را دریافت کرده

بال آنها خونگیری به عمل آمد و خون حاصله در دو لوله آزمایش که یکی حاوی ماه ضد انعقاد EDTA بوده، جهت تعیین درصد سلول‌های خونی (هتروفیل، لمفوسیت، منوسیت، بازوفیل، ائوزینوفیل) و دیگری برای اخذ سرم به منظور اندازه‌گیری پارامترهای بیوشیمیایی خون ریخته شده و آنالیزهای مربوط به فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون توسط دستگاه بیوشیمی TECH NICON مدل RA1000 (Massachusetts, USA) (Bayer Diagnostics co.,) با استفاده از محلول‌های معرف مربوطه شرکت پارس آزمون انجام گرفت. تعیین سلول‌های خونی از طریق مشاهده و شمارش آنها بعد از رنگ آمیزی در زیر میکروسکوپ نوری انجام گردید.

برای تعیین تیترا آنتی‌بادی بر علیه گلبول قرمز گوسفندی (SRBC)، در روزهای ۱۴ و ۲۱ (بعد از شروع آزمایش) به سه قطعه پرنده از هر تکرار، مقدار ۲mL از سوسپانسیون گلبول قرمز گوسفند ۹/۰٪ شسته شده در بافر فسفات استریل، از طریق ورید بال تزریق گردید. سپس ۷ روز پس از هر بار تزریق (روزهای ۲۱ و ۲۸)، از همان پرنده‌ها از طریق ورید بال حدود دو میلی‌لیتر خون گرفته شد. نمونه‌های خون با سرعت ۳۰۰۰rpm به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ و سرم جدا شد. برای تعیین عیار آنتی‌بادی تولید شده علیه گلبول قرمز گوسفند از روش هم‌گلو تیناسیون میکرو تیترا استفاده شد (۲۸).

در پایان داده‌های حاصله در قالب طرح کاملاً تصادفی و بصورت یک آزمایش فاکتوریل با استفاده از نرم افزار SAS 9.1 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند (SAS, 2003). برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن استفاده شد و سطح ۵٪ به عنوان سطح معنی‌دار در نظر گرفته شد.

نتایج

صفات کمی: جدول ۱۲ اثر جیره‌های آزمایشی بر صفات کمی را نشان می‌دهد. بر طبق اعداد موجود در این جدول، سطوح مختلف پروبیوتیک و بوتیرات کلسیم تأثیری بر مصرف خوراک، ضریب تبدیل غذایی و درصد تولید تخم‌مرغ نداشت. استفاده از پروبیوتیک، وزن و توده تخم‌مرغ را نسبت به گروه شاهد به طور معنی‌داری ($p < 0/05$) افزایش داد، و حداکثر افزایش در وزن و توده تخم‌مرغ زمانی مشاهده گردید که از سطح ۰/۰۷٪ پروبیوتیک در جیره غذایی استفاده گردید. به هر حال استفاده از بوتیرات کلسیم در جیره غذایی تأثیری بر وزن و توده تخم‌مرغ نداشت.

اثرات متقابل بین سطوح مختلف پروبیوتیک و بوتیرات کلسیم فقط در ضریب تبدیل غذایی معنی‌دار ($p < 0/05$) شد.

صفات کیفی تخم‌مرغ: نتایج مربوط به اثرات سطوح مختلف پروبیوتیک و بوتیرات کلسیم بر صفات کیفی تخم‌مرغ در جدول ۳ بیان شده است. اعداد موجود در این جدول نشان می‌دهد که سطوح مختلف پروبیوتیک و بوتیرات کلسیم تأثیر معنی‌داری بر صفاتی از قبیل شاخص شکل، شاخص زرده، واحدها، وزن پوسته و وزن مخصوص تخم‌مرغ



جدول ۲- تأثیر سطوح مختلف پروبیوتیک و بوتیرات کلسیم بر عملکرد مرغ‌های تخم‌گذار. ۱. تیمار A فاقد پروبیوتیک و بوتیرات کلسیم، تیمار B حاوی ۰/۱٪ بوتیرات کلسیم، تیمار C حاوی ۰/۰۷٪ پروبیوتیک، تیمار D حاوی ۰/۱٪ پروبیوتیک، تیمار E حاوی ۰/۱٪ بوتیرات کلسیم و ۰/۰۷٪ پروبیوتیک، تیمار F حاوی ۰/۱٪ بوتیرات کلسیم و ۰/۱٪ پروبیوتیک. a, b حروف غیر مشابه در هر ستون بیانگر تفاوت معنی‌دار می‌باشد. * (p < ۰/۰۵)، ns میانگین‌ها از لحاظ آماری با هم اختلاف معنی‌داری ندارند.

بوتیرات کلسیم	پروبیوتیک	خوراک مصرفی (day/chicken/g)	ضریب تبدیل غذایی	توده تخم‌مرغ (day/chicken/g)	وزن تخم‌مرغ (g)	درصد تولید (chicken/day)
۰	-	۱۱۶/۴۱	۲/۱۷	۵۳/۱۷	۶۴/۱۲	۸۱/۱۲
۰/۱	-	۱۱۵/۳۵	۲/۰۴	۵۵/۶۵	۶۳/۹۵	۸۳/۲۹
SEM	-	۰/۸۱	۰/۰۴۸	۱/۲۱	۰/۳۳	۱/۹۳
-	۰	۱۱۴/۷۷	۲/۱۸	۵۱/۵۷ ^b	۶۳/۲۸ ^b	۸۲/۶۶
-	۰/۰۷	۱۱۵/۹۶	۲/۰۳	۵۷/۳۳ ^a	۶۴/۷۶ ^a	۸۴/۰۲
-	۰/۱	۱۱۶/۹۱	۲/۱۰	۵۴/۳۳ ^{ab}	۶۴/۰۱ ^{ab}	۸۲/۹۳
-	SEM	۰/۹۹	۰/۰۵۹	۱/۴۹	۰/۴۰	۲/۳۷
اثرات متقابل ^۱						
A	-	۱۱۵/۲۸	۲/۳۱ ^a	۵۳/۵۲	۶۳/۰۶	۸۰/۷۴
B	-	۱۱۴/۲۶	۲/۰۶ ^{ab}	۵۴/۶۳	۶۳/۵۰	۸۳/۵۸
C	-	۱۱۶/۵۷	۲/۰۷ ^{ab}	۵۶/۵۲	۶۴/۸۶	۸۱/۲۶
D	-	۱۱۷/۳۸	۲/۱۴ ^{ab}	۵۴/۴۶	۶۴/۴۵	۸۲/۳۵
E	-	۱۱۵/۳۶	۱/۹۹ ^b	۵۷/۱۱	۶۴/۶۶	۸۴/۷۸
F	-	۱۱۶/۴۵	۲/۰۶ ^{ab}	۵۵/۲	۶۳/۶۸	۸۳/۵۲
SEM	-	۱/۰۳	۰/۰۸۳	۲/۱	۰/۵۷	۳/۳۶
سطح احتمال (p Value)						
بوتیرات کلسیم	-	ns	۰/۰۶	ns	ns	ns
پروبیوتیک	-	ns	ns	*	*	ns
پروبیوتیک × بوتیرات	-	ns	*	ns	ns	ns

در میزان بازوفیل معنی‌دار (p < ۰/۰۵) بود.

فراسنجه‌های خونی: نتایج تأثیر سطوح مختلف پروبیوتیک و بوتیرات کلسیم بر فراسنجه‌های خونی در جدول ۶ گزارش شده است. بر طبق اعداد موجود در این جدول، استفاده از بوتیرات سدیم و سطح ۰/۰۷٪ پروبیوتیک باعث کاهش غیر معنی‌دار سطح تری‌گلیسرید خون گردید. میزان کلسترول سرم نیز تحت تأثیر سطح ۰/۰۷٪ پروبیوتیک به طور غیر معنی‌داری کاهش یافت. افزودن بوتیرات کلسیم میزان آلبومین سرم را بطور معنی‌داری (p < ۰/۰۵) افزایش داد، همچنین استفاده از سطح ۰/۱٪ پروبیوتیک در جیره غذایی، میزان پروتئین تام سرم و آلبومین را افزایش داد. به هر حال، سطوح مختلف پروبیوتیک و بوتیرات کلسیم بر میزان کلسیم، گلبولین پلاسما و همچنین نسبت آلبومین به گلوبولین تأثیری نداشت.

اثرات متقابل بین سطوح مختلف پروبیوتیک و بوتیرات کلسیم فقط بر پروتئین تام سرم معنی‌دار (p < ۰/۰۵) بود.

بحث

هدف تحقیق حاضر بررسی اثر افزودن همزمان پروبیوتیک و اسید

بودند، میزان آنتی‌بادی بالاتری را در نوبت دوم خونگیری تولید کردند. اثرات متقابل بین سطوح مختلف پروبیوتیک و بوتیرات کلسیم بر تیتراژ آنتی‌بادی بر علیه گلبول قرمز گوسفندی معنی‌دار نبود.

شمارش تفریقی گلبول‌های سفید: نتایج تأثیر سطوح مختلف پروبیوتیک و بوتیرات کلسیم بر گلبول‌های سفید خون در جدول ۵ گزارش شده است. اعداد موجود در این جدول نشان می‌دهد که درصد نسبی هتروفیل‌ها با کاربرد بوتیرات کلسیم در جیره غذایی به طور غیر معنی‌داری (p > ۰/۰۵) کاهش می‌یابد، اما سطوح مختلف پروبیوتیک درصد نسبی هتروفیل را به طور معنی‌داری (p < ۰/۰۵) کاهش داد. به هر حال، بیشترین کاهش در درصد نسبی هتروفیل پلاسما زمانی مشاهده گردید که از سطح ۰/۰۷٪ پروبیوتیک در جیره غذایی استفاده گردید. استفاده از بوتیرات کلسیم در جیره غذایی تأثیری بر درصد نسبی لمفوسیت، منوسیت، ائوزینوفیل و بازوفیل موجود در پلاسما نداشت. به هر حال استفاده از پروبیوتیک در جیره غذایی، میزان لمفوسیت را افزایش (p < ۰/۰۵) و بازوفیل را کاهش (p < ۰/۰۵) داد ولی بر میزان منوسیت و ائوزینوفیل تأثیری نداشت.

اثرات متقابل بین سطوح مختلف پروبیوتیک و بوتیرات کلسیم فقط



جدول ۳- تأثیر سطوح مختلف پروبیوتیک و بوتیرات کلسیم بر صفات کیفی تخم مرغ. ۱. تیمار A فاقد پروبیوتیک و بوتیرات کلسیم، تیمار B حاوی ۰/۱ بوتیرات کلسیم، تیمار C حاوی ۰/۰۷ بوتیرات کلسیم، تیمار D حاوی ۰/۱ پروبیوتیک، تیمار E حاوی ۰/۱ بوتیرات کلسیم و ۰/۰۷ پروبیوتیک، تیمار F حاوی ۰/۱ بوتیرات کلسیم و ۰/۱ پروبیوتیک. حروف غیر مشابه در هر ستون بیانگر تفاوت معنی دار می‌باشد. * (p < ۰/۰۵)، ns میانگین‌ها از لحاظ آماری با هم اختلاف معنی داری ندارند. ۲. نشان دهنده کیفیت سفیده تخم مرغ است.

بوتیرات کلسیم	پروبیوتیک	شاخص شکل	شاخص زرده	واحد هاو ^۲	وزن پوسته (g)	ضخامت پوسته (mm × 10 ^۲)	وزن مخصوص
-	-	۷۴/۴۰	-/۴۳۷	۹۵/۱۴	۶/۰۴	۳۶/۳	۱/۰۸۰
۰/۱	-	۷۴/۴۶	-/۴۳۹	۹۵/۵۲	۶/۰۰	۳۷/۶	۱/۰۸۱
-	-	۰/۶۸	-/۰۵۸	-/۳۳	-/۰۶	-/۳۵	۰/۰۰۲
SEM							
-	-	۷۴/۰۰	-/۴۳۷	۹۵/۱۷	۶/۰۵	۳۷/۲	۱/۰۸۰
-	۰/۰۷	۷۴/۴۰	-/۴۳۹	۹۵/۶	۶/۰۲	۳۶/۶	۱/۰۸۱
-	۰/۱	۷۴/۸۵	-/۴۳۵	۹۵/۲۳	۵/۹۷	۳۷/۰۳	۱/۰۸۰
-	SEM	۰/۸۳	-/۰۰۶	-/۴	-/۰۷۵	-/۴۳	۰/۰۰۳
اثرات متقابل ^۱							
A	-	۷۲/۸۳	-/۴۳۶	۹۵/۰۶	۶/۰۶	۳۵/۹۷	۱/۰۷۹
B	-	۷۵/۱۸	-/۴۳۹	۹۵/۲۹	۶/۰۳	۳۸/۲۲	۱/۰۸۱
C	-	۷۵/۴۷	-/۴۴۰	۹۵/۰۱	۶/۱۰	۳۷/۱۸	۱/۰۸۰
D	-	۷۴/۸۴	-/۴۴۲	۹۵/۳۶	۵/۹۵	۳۷/۳۳	۱/۰۸۰
E	-	۷۳/۳۴	-/۴۳۸	۹۶/۱۷	۵/۹۳	۳۶/۱۹	۱/۰۸۲
F	-	۷۴/۸۷	-/۴۴۰	۹۵/۱۰	۶/۰۰	۳۶/۷۳	۱/۰۸۰
SEM	-	۱/۱۸	-/۰۰۸	-/۵۶	-/۱۰۵	-/۶۱	۰/۰۰۸
سطح احتمال (p Value)							
بوتیرات کلسیم	ns	ns	ns	ns	ns	ns	*
پروبیوتیک	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
پروبیوتیک × بوتیرات	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

آلی به عنوان جایگزینی برای آنتی‌بیوتیک در جیره مرغ تخم‌گذار بود. نتایج آزمایش نشان داد که وزن و توده تخم مرغ با کاربرد پروبیوتیک در جیره افزایش می‌یابد. بهبود وزن و توده تخم مرغ با استفاده از پروبیوتیک در جیره غذایی می‌تواند در رابطه با بهبود سلامت دستگاه گوارش باشد. ثابت شده است که میکروفلور مضر موجود در دستگاه گوارش از طرق مختلفی قابلیت هضم و جذب مواد غذایی را کاهش می‌دهند که از این بین می‌توان به افزایش ضخامت روده به وسیله توکسین‌های تولیدی و همچنین غیر فعال شدن آنزیم‌ها و دکترز و گه شدن اسیدهای صفراوی اشاره نمود، در نتیجه قابلیت هضم و جذب مواد غذایی کاهش می‌یابد. بنابراین اگر جمعیت میکروفلور مضر را با استفاده از پروبیوتیک کاهش دهیم می‌توانیم انتظار داشته باشیم که قابلیت هضم و جذب مواد غذایی نیز افزایش یابد. افزایش در قابلیت هضم و جذب غذا نیز رابطه مستقیمی با بهبود وزن و توده تخم مرغ دارد. نتایج آزمایش حاضر در تطابق با نتایج Yo'ru'k و همکاران در سال ۲۰۰۴، Kirunda و همکاران در سال ۲۰۰۱ بود، این محققین گزارش کردند که وزن و توده تخم مرغ با کاربرد پروبیوتیک در جیره غذایی افزایش می‌یابد (۱۳،۳۰). نتایج آزمایش حاضر نشان داد که بوتیرات کلسیم تأثیری بر وزن و توده تخم مرغ ندارد، این نتیجه در مطابقت با نتایج Yesilbag and Colpan در سال ۲۰۰۶ می‌باشد. این محققین گزارش کردند که افزودن اسیدهای آلی مختلف به جیره مرغ‌های تخم‌گذار، تأثیر قابل ملاحظه‌ای بر وزن و توده تخم مرغ ندارد (۲۹). نتایج آزمایش حاضر در مورد بی‌تأثیر بودن استفاده از پروبیوتیک و

جدول ۴- تأثیر سطوح مختلف پروبیوتیک و بوتیرات کلسیم بر روی عیار پادتن علیه گلبول قرمز گوسفند. تیمار A فاقد پروبیوتیک و بوتیرات کلسیم، تیمار B حاوی ۰/۱ بوتیرات کلسیم، تیمار C حاوی ۰/۰۷ پروبیوتیک، تیمار D حاوی ۰/۱ پروبیوتیک، تیمار E حاوی ۰/۱ بوتیرات کلسیم و ۰/۰۷ پروبیوتیک، تیمار F حاوی ۰/۱ بوتیرات کلسیم و ۰/۱ پروبیوتیک. حروف غیر مشابه در هر ستون بیانگر تفاوت معنی دار می‌باشد. * (p < ۰/۰۵)، ns میانگین‌ها از لحاظ آماری با هم اختلاف معنی داری ندارند.

بوتیرات کلسیم	پروبیوتیک	تیترا آنتی‌بادی بر علیه گلبول قرمز گوسفند (log _۲)	پاسخ اولیه	پاسخ ثانویه
-	-	-	۱۱/۵۸۳	۱۲/۲۵۰
۰/۱	-	-	۱۱/۴۱۷	۱۲/۲۰
-	-	-	۰/۲۶۷	-/۳۸۷
SEM				
-	-	۰	۱۱/۲۵۰	۱۱/۷۴۰
-	۰/۰۷	-	۱۱/۵۰۰	۱۳/۰۰
-	۰/۱	-	۱۱/۷۵۰	۱۲/۷۵۰
-	SEM	-	۰/۴۵۸	-/۶۱۱
اثرات متقابل				
A	-	-	۱۱/۷۵۰	۱۲/۷۵۰
B	-	-	۱۰/۷۵۰	۱۱/۷۵۰
C	-	-	۱۲/۲۵۰	۱۳/۲۵۰
D	-	-	۱۰/۷۵۰	۱۲/۷۵۰
E	-	-	۱۰/۷۵۰	۱۱/۷۵۰
F	-	-	۱۲/۱۵۰	۱۲/۷۵۰
SEM	-	-	۰/۹۶۷	۱/۰۹۸
ارزش احتمال (p Value)				
بوتیرات	ns	ns	ns	ns
پروبیوتیک	ns	ns	ns	ns
پروبیوتیک × بوتیرات	ns	ns	ns	ns



جدول ۵- اثرات سطوح مختلف پروبیوتیک و بوتیرات کلسیم بر درصد نسبی گلبول‌های سفید خون. ۱. تیمار A فاقد پروبیوتیک و بوتیرات کلسیم، تیمار B حاوی ۰/۱٪ بوتیرات کلسیم، تیمار C حاوی ۰/۰۷٪ پروبیوتیک، تیمار D حاوی ۰/۱٪ پروبیوتیک، تیمار E حاوی ۰/۱٪ بوتیرات کلسیم و ۰/۰۷٪ پروبیوتیک، تیمار F حاوی ۰/۱٪ بوتیرات کلسیم و ۰/۱٪ پروبیوتیک. a, b حروف غیر مشابه در هر ستون بیانگر تفاوت معنی‌دار می‌باشد. * (p < ۰/۰۵): ns میانگین‌ها از لحاظ آماری با هم اختلاف معنی‌داری ندارند.

بوتیرات کلسیم	پروبیوتیک	هتروفیل (%)	لمفوسیت (%)	منوسیت (%)	انوزینوفیل (%)	بازوفیل (%)	نسبت هتروفیل / لمفوسیت
۰	-	۳۴/۰۰	۶۵/۷۳	۱/۰۰	۰/۲۰	۱/۸۰	۰/۵۱۷
۰/۱	-	۳۱/۲۷	۶۴/۰۷	۰/۵۳	۰/۳۳	۱/۰۷	۰/۴۸۸
SEM	-	۱/۳۹۹	۱/۴۱۵	۰/۲۹۸	۰/۱۱۵	۰/۲۸۹	۰/۰۳۲
-	۰	۳۶/۵۰ ^a	۶۲/۳۷	۱/۰۰	۰/۲۰	۱/۹۰	۰/۵۸۵ ^a
-	۰/۰۷	۲۹/۲۰ ^b	۶۵/۰۰	۰/۵۰	۰/۳۰	۱/۶۰	۰/۴۴۹ ^b
-	۰/۱	۳۲/۲۰ ^{ab}	۶۷/۸۰	۰/۸۰	۰/۳۰	۰/۸۰	۰/۴۷۴ ^{ab}
-	SEM	۱/۷۱	۱/۷۲۳	۰/۳۶۵	۰/۱۴۱	۰/۳۵۴	۰/۰۲۹
اثرات متقابل ^۱							
A		۳۷/۶۰	۶۰/۲۰	۱/۶۰	۰/۲۰	۲/۰۰ ^a	۰/۶۲۴
B		۳۲/۸۰	۶۵/۲۰	۰/۴۰	۰/۲۰	۱/۴۰ ^b	۰/۵۰۳
C		۳۱/۶۰	۶۳/۶۰	۰/۴۰	۰	۱/۸۰ ^{ab}	۰/۴۹۷
D		۳۱/۸۰	۶۸/۸۰	۱/۰۰	۰/۴۰	۰/۸۰ ^b	۰/۴۶۲
E		۳۱/۶۰	۶۴/۸۰	۰/۶۰	۰/۶۰	۱/۰۰ ^b	۰/۴۸۷
F		۳۳/۴۰	۶۶/۸۰	۰/۶۰	۰/۲۰	۰/۶۰ ^b	۰/۵۰۱
SEM		۲/۴۲	۲/۴۵۲	۰/۵۱۶	۰/۲۰	۰/۵۰	۰/۰۵۵
سطح احتمال (p Value)							
بوتیرات کلسیم	ns	ns	ns	ns	ns	۰/۰۸	ns
پروبیوتیک	*	*	۰/۰۷	ns	ns	ns	*
پروبیوتیک*بوتیرات	ns	ns	ns	ns	ns	*	ns

این شرایط اسیدی روده سبب افزایش جذب مواد معدنی بخصوص کلسیم و فسفر جیره غذایی می‌گردد. افزایش جذب مواد معدنی منجر به افزایش رسوب کلسیم در پوسته و بهبود کیفیت آن می‌شود و از این رو تعداد تخم مرغ با پوسته شکسته کاهش می‌یابد. این نتیجه در مطابقت با نتایج Brons و همکاران در سال ۲۰۰۲ بود (۳). نتایج آزمایش حاضر در مورد بی‌تأثیر بودن اثر استفاده از پروبیوتیک بر ضخامت پوسته در مطابقت با نتایج Nahashon و همکاران در سال ۱۹۹۶ بود (۲۰)، این محققین نشان دادند که پروبیوتیک در جیره مرغ تخمگذار تأثیر قابل ملاحظه‌ای بر ضخامت و سختی پوسته تخم مرغ ندارد. بر طبق نتایج آزمایش، پروبیوتیک و بوتیرات کلسیم تأثیری بر شاخص شکل، شاخص زرده، واحد هاو، وزن پوسته و وزن مخصوص تخم مرغ نداشت. این نتایج در مطابقت با نتایج Soltan و همکاران در سال ۲۰۰۸ و Nursoy و همکاران در سال ۲۰۰۴ بود (۲۱، ۲۵).

در خصوص تیترا آنتی‌بادی بر علیه SRBC، نتایج آزمایش حاضر در مطابق با نتایج آزمایش Midilli و همکاران در سال ۲۰۰۸ می‌باشد، این

بوتیرات کلسیم در جیره غذایی بر مصرف خوراک و ضریب تبدیل غذایی و درصد تولید تخم مرغ در مطابقت با نتایج Jin و همکاران در سال ۱۹۹۸ و Mountzouris و همکاران در سال ۲۰۰۶ بود (۹، ۱۸). بر طبق نتایج آزمایش اثرات متقابل بین سطوح مختلف پروبیوتیک و بوتیرات کلسیم تنها بر ضریب تبدیل غذایی معنی‌دار بود. این موضوع می‌تواند در رابطه با اثرات سینرژیست پروبیوتیک و بوتیرات کلسیم بر فلور میکروبی دستگاه گوارش باشد، بنابراین وقتی این افزودنی‌ها بصورت همزمان در جیره استفاده می‌شوند اثرات سودمندشان بر جمعیت میکروبی دستگاه گوارش بیشتر از زمانی خواهد بود که به صورت انفرادی در جیره بکار می‌روند.

در خصوص صفات کیفی تخم مرغ، نتایج آزمایش نشان داد که استفاده از بوتیرات کلسیم در جیره غذایی بر ضخامت پوسته تخم مرغ تأثیر معنی‌داری دارد. به طور کلی بوتیرات کلسیم سبب اسیدی شدن دستگاه گوارش می‌شود و ثابت شده است که کاهش pH دستگاه گوارش سبب کاهش میکروفلور مضر و افزایش میکروفلور مفید می‌گردد، علاوه بر



جدول ۶- اثرات سطوح مختلف پروبیوتیک و بوتیرات کلسیم بر فراسنجه‌های خونی. ۱. تیمار A فاقد پروبیوتیک و بوتیرات کلسیم، تیمار B حاوی ۰/۰۱ بوتیرات کلسیم، تیمار C حاوی ۰/۰۷ پروبیوتیک، تیمار D حاوی ۰/۰۱ پروبیوتیک، تیمار E حاوی ۰/۰۱ بوتیرات کلسیم و ۰/۰۷ پروبیوتیک، تیمار F حاوی ۰/۰۱ بوتیرات کلسیم و ۰/۰۱ پروبیوتیک. a, b حروف غیر مشابه در هر ستون بیانگر تفاوت معنی‌داری می‌باشد. * (p < ۰/۰۵)، ns میانگین‌ها از لحاظ آماری با هم اختلاف معنی‌داری ندارند.

بوتیرات کلسیم	پروبیوتیک	کلسیم (mg/dL)	تری‌گلیسرید (mg/dL)	کلسترول (mg/dL)	پروتئین تام (g/dL)	آلبومین (g/dL)	گلوبولین (g/dL)	آلبومین/گلوبولین
۰	-	۲۷/۰۴	۲۰۶۱/۵۰	۱۹۶/۲۶	۵/۹۹	۲/۶۷	۳/۳۲	۰/۸۱۶
۰/۱	-	۲۷/۲۱	۲۰۲۱/۳۳	۱۸۲/۹۳	۶/۱۷	۲/۸۳	۳/۳۴	۰/۸۶۲
SEM	-	۰/۲۴۲	۷۲/۶۷	۶/۴۲	۰/۰۸۸	۰/۰۵۶	۰/۰۸۱	۰/۰۲۹
-	۰	۲۷/۰۳	۲۰۹۳/۴۰	۱۹۴/۳۵	۵/۸۵ ^b	۲/۶۷ ^b	۳/۱۸	۰/۸۵۱
-	۰/۰۷	۲۷/۴۸	۱۹۳۵/۴۵	۱۷۷/۲۵	۵/۹۸ ^b	۲/۶۲ ^b	۳/۳۶	۰/۷۹۲
-	۰/۱	۲۶/۸۶	۲۰۹۵/۴۰	۱۹۷/۲۰	۶/۴۱ ^a	۲/۹۶ ^a	۳/۴۵	۰/۸۷۵
-	SEM	۰/۲۹۶	۸۹/۰۲۲	۷/۹۱	۰/۱۰۸	۰/۰۶۸	۰/۱	۰/۰۳۶
اثرات متقابل ^۱								
A		۲۶/۹۳	۲۱۶۰/۴	۲۰۳/۶۰	۵/۶۰ ^a	۲/۴۸	۳/۱۱	۰/۸۰۹
B		۲۷/۱۴	۲۰۲۶/۴۰	۱۸۵/۱۰	۶/۱۱ ^{bc}	۲/۸۶	۳/۲۵	۰/۸۹۲
C		۲۷/۴۶	۱۹۴۰/۷۰	۱۸۰/۸۰	۶/۱۳ ^{bc}	۲/۶۳	۳/۵۰	۰/۷۵۷
D		۲۶/۷۵	۲۰۸۳/۴۰	۲۰۴/۴۰	۶/۲۳ ^{bc}	۲/۸۸	۳/۳۵	۰/۸۸۲
E		۲۷/۵۱	۱۹۳۰/۲۰	۱۷۳/۷۰	۵/۸۳ ^{ab}	۲/۶۱	۳/۲۲	۰/۸۲۶
F		۲۶/۹۸	۲۱۰۷/۴۰	۱۹۰/۰۰	۶/۵۸ ^c	۳/۰۳	۳/۵۵	۰/۸۶۹
SEM		۰/۴۱۸	۱۲۵/۸۹۶	۱۱/۱۹۳	۰/۱۵۳	۰/۰۹۷	۰/۱۴۱	۰/۰۵۱
سطح احتمال (p Value)								
بوتیرات کلسیم	ns	ns	ns	ns	ns	*	ns	ns
پروبیوتیک	ns	ns	ns	ns	*	*	ns	ns
پروبیوتیک*بوتیرات	ns	ns	ns	ns	*	ns	ns	ns

افزایش درصد لمفوسیت در جیره‌های حاوی پروبیوتیک مطابق با نتایج Kalanakanond و همکاران در سال ۲۰۰۸ می‌باشد. به طور کلی پذیرفته شده است که افزایش نسبت هتروفیل به لمفوسیت نشان دهنده وجود استرس در جوجه‌های گوشتی می‌باشد (۱۰). در طی تنش و بدنال تحریک مغز استخوان توسط محور هیپوتالاموس - هیپوفیز - غدد فوق کلیوی، تعداد هتروفیل‌ها در خون سریعاً افزایش می‌یابد. نسبت هتروفیل به لمفوسیت توسط عوامل استرس‌زا تحت تأثیر قرار گرفته و می‌تواند به عنوان شاخص اندازه‌گیری استرس بکار رود. نسبت هتروفیل به لمفوسیت بیان‌کننده کیفیت تعادل بین دفاع اختصاصی و سریع هتروفیل‌ها و دفاع اختصاصی لمفوسیت‌ها می‌باشد که دیرتر وارد عمل می‌شوند. در مواقعی که شدت استرس زیاد باشد بازوفیلیا (افزایش درصد بازوفیل) در پرندگان مشاهده می‌شود. به طور کلی دستگاه گوارش و میکروبیوم‌های مستقر در آن نقش محوری در شکل‌دهی مجموعه سیستم ایمنی بازی می‌کنند. گزارش شده است که مکمل لاکتوباسیل، فعالیت سلول‌های NK طحالی و فعالیت فاگوسیتوزی را تحریک می‌کند (۲۴). در مغایرت با نتایج این آزمایش، Stromfova و همکاران در سال ۲۰۰۵ گزارش کردند که افزودن گونه لاکتوباسیلوس فرمنتیوم AD1 به جیره بلدرچین ژاپنی، بر تعداد گلبول‌های سفید تأثیری نداشت اما فعالیت فاگوسیتیک

محققین گزارش کردند که تیترا آنتی‌بادی بر علیه آنتی‌ژن گوسفندی (SRBC) در مرغ‌های که جیره‌های حاوی پروبیوتیک را مصرف نمودند اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد ایجاد نکردند (۱۷). در مغایرت با این نتایج، Panda و همکاران در سال ۲۰۰۰ نشان دادند که بعضی از پروبیوتیک‌ها می‌تواند پرنده را به تولید پاسخ‌های ایمنی کافی برای مقاومت در برابر پاتوژن‌های میکروبی تحریک کنند (۲۲). همچنین Khaksefidi and Ghoorchi در سال ۲۰۰۶، با تزریق SRBC به جوجه‌های گوشتی در جیره‌های دارای پروبیوتیک، تیترا آنتی‌بادی بالاتری را در روزهای ۷ و ۱۴ آزمایش مشاهده کردند (۱۲). دلیل اختلاف بین نتایج حاضر با گزارشات قبلی را می‌توان به سن پرنده و همچنین تفاوت در نوع و سطح استفاده از پروبیوتیک و بوتیرات کلسیم مورد استفاده در آزمایشات نسبت داد.

در رابطه با اثرات سطوح مختلف پروبیوتیک و بوتیرات کلسیم بر سطح ایمنی بدن مرغ‌ها، استفاده از پروبیوتیک به طور محسوس و بوتیرات کلسیم به طور نامحسوسی سبب افزایش درصد لمفوسیت و کاهش درصد هتروفیل و بازوفیل و همچنین نسبت هتروفیل به لمفوسیت شده است که این موارد بیان‌کننده اثرات مثبت پروبیوتیک و بوتیرات کلسیم بر سطح ایمنی مرغ‌های تخم‌گذار می‌باشد. کاهش درصد هتروفیل و



سال ۲۰۰۴ و Colpan و Yesilbag در سال ۲۰۰۶، مطابقت دارد (۲۱،۲۹). در مغایرت با نتایج آزمایش اخیر Soltan در سال ۲۰۰۸ گزارش کرد که افزودن سطوح مختلف اسید آلی (سطح ppm ۲۶۰، ۵۲۰، ۷۸۰) در جیره مرغ‌های تخم‌گذار باعث افزایش معنی‌دار آلومین سرم در سطوح ppm ۵۲۰ و ۷۸۰ گردید و سبب افزایش و کاهش معنی‌دار گلوبولین در سطح ppm ۷۸۰ و ۲۶۰ گردید، همچنین نسبت آلومین به گلوبولین به طور معنی‌داری در سطوح ppm ۲۶۰ و ۵۲۰ افزایش داشت (۲۵).

کاربرد پروبیوتیک و بوتیرات کلسیم سطوح تری‌گلیسرید و کلسترول سرم را بطور نامحسوسی کاهش می‌دهد، در نتیجه سطوح این مواد نیز در تخم‌مرغ کاهش می‌یابد که این به نوبه خود می‌تواند نتیجه قابل ملاحظه‌ای باشد. از سوی دیگر، کاربرد پروبیوتیک در جیره مرغ‌های تخم‌گذار سبب ارتقای عملکرد سیستم ایمنی، کاهش در تعداد سلول‌های هتروفیل و نسبت هتروفیل به لمفوسیت می‌گردد از این رو می‌توان نتیجه گرفت که توانایی پرنده برای مواجهه با تنش‌ها و عفونت‌های دستگاه گوارش افزایش می‌یابد.

تشکر و قدردانی

از مسئولین دانشکده کشاورزی دانشگاه رازی کرمانشاه جهت فراهم آوردن امکانات تحقیق تشکر و قدردانی می‌گردد.

References

1. Arun, K.P., Savaram, V., Rama, R., Mantena, V.L.N., Sita, R.S. (2006) Dietary supplementation of *Lactobacillus sporogenes* on performance and serum biochemical-lipid profile of broiler chickens. *Poult. Sci.* 43: 235-240.
2. Baba, E., Nagaishi, S., Fukata, T., Arakava, A. (1996) The role of intestinal microflora on the prevention of salmonella colonization in gnotobiotic chicks. *Poult. Sci.* 70:1902-1907.
3. Brons, F., Kettlitz, B., Arrigont, E. (2002) Resistant starch and the butyrate revolution. *Trends Food Sci. Technol.* 13: 251-261.
4. Chichlowski, M., Croom, J., McBride, B.W., Daniel, L., Davis, G., Koci, M.D. (2007) Direct-fed microbial PrimaLac and salinomycin modulate whole-body and

در گلبول‌های سفید به طور معنی‌داری افزایش یافت (۲۶). اثرات اسیدهای آلی روی پاسخ‌های ایمنی به خوبی ثبت نشده است. اگر چه به خوبی شناخته شده است میکروارگانیزم‌های روده‌ای برای توسعه سیستم ایمنی دستگاه گوارش ضروری هستند.

در رابطه با فراسنجه‌های بیوشیمیایی سرم خون، در آزمایش حاضر، کاربرد پروبیوتیک سبب افزایش غیر معنی‌دار کلسیم در خون گردید. نتایج این آزمایش در مطابقت با نتایج Matéova و همکاران در سال ۲۰۰۹ می‌باشد، این محققین مشاهده کردند که افزودن پروبیوتیک به جیره سبب افزایش غیر معنی‌دار در کلسیم سرم می‌گردد (۱۶). نتایج آزمایش اخیر در مورد تأثیر بوتیرات کلسیم بر میزان کلسیم سرم در مغایرت با نتایج Soltan در سال ۲۰۰۸ می‌باشد، این محقق گزارش کرد که افزودن سطوح مختلف اسید آلی در جیره مرغ‌های تخم‌گذار، مقدار کلسیم سرم را بطور معنی‌داری افزایش می‌دهد (۲۵). بر طبق نتایج آزمایش اخیر کاربرد پروبیوتیک تأثیری بر میزان تری‌گلیسرید سرم نداشت، که این نتیجه در مطابقت با نتایج آزمایش Gilliland و همکاران در سال ۱۹۸۵ می‌باشد، این محققین گزارش کردند که میزان کلسترول سرم تحت تأثیر تیمار پروبیوتیک قرار نمی‌گیرد و دلیل این موضوع را به کاهش قدرت لاکتوباسیل‌ها در تجزیه‌ی صفرابه ترکیبات غیر قابل جذب نسبت دادند (۷). در مغایرت با نتایج آزمایش اخیر، Jin و همکاران در سال ۱۹۹۸ و der Meer و van Klaver در سال ۱۹۹۳ گزارش کردند که کاربرد سطوح مختلف پروبیوتیک میزان کلسترول پلاسما را بطور معنی‌داری کاهش می‌دهد، آنها گزارش کردند که کاهش سطوح کلسترول سرم با مصرف پروبیوتیک می‌تواند در رابطه با جذب (و یا برداشت) کلسترول توسط سلول‌های لاکتوباسیل بوده و یا در رابطه با دکنژوگه شدن اسیدهای صفرای باشد (۹،۱۴). در این آزمایش استفاده از بوتیرات کلسیم تأثیری بر غلظت کلسترول سرم نداشت که با نتایج آزمایش انجام گرفته توسط Hernandez و همکاران در سال ۲۰۰۶، در جوجه‌های گوشتی مبنی بر عدم تغییر میزان کلسترول سرم در اثر تغذیه با اسیدهای آلی مطابقت دارد (۸). نتایج آزمایش اخیر در مورد تأثیر پروبیوتیک بر پروتئین تام در مطابقت با نتایج آزمایش Matéova و همکاران در سال ۲۰۰۹ می‌باشد، این محققین گزارش کردند که افزودن پروبیوتیک به جیره مرغ‌های تخم‌گذار سبب افزایش معنی‌دار پروتئین تام سرم می‌گردد (۱۶). پروتئین تام نشانگر مقدار کل پروتئین‌های موجود در سرم از جمله آلفا، بتا و گاما گلوبولین‌ها، آلومین و ایمینوگلوبولین‌ها می‌باشد. به طور کلی، استفاده از پروبیوتیک سبب غلبه باکتری‌های تجزیه‌کننده قند (ساکارولیتیک) به باکتری‌های تجزیه‌کننده پروتئین (پروتئولیتیک) می‌شود. در نتیجه، هضم پروتئین‌ها افزایش و تجزیه آنها کاهش می‌یابد. بنابراین، میزان پروتئین تام سرم افزایش و بهره‌وری پروتئین جیره بهبود می‌یابد (۲). نتایج تحقیق حاضر در مورد عدم تغییر پروتئین تام پلاسماي جوجه‌های گوشتی در اثر تغذیه با اسیدهای آلی و پروبیوتیک با گزارش‌های Nursoy و همکاران در



- intestinal oxygen consumption and intestinal mucosal cytokine production in the broiler chick. *Poult. Sci.* 86:1100-1106.
5. Fuller, R. (1989) A review: Probiotics in man and animals. *J. Appl. Bacteriol.* 66:365-378.
 6. Gama, N.M.S.Q., Olivera, M.B.C., Santin, E., Berchieri, J. (2000) Supplementation with organic acids in diets of laying hens. *Ciencia Rural.* 30: 499-502.
 7. Gilliland, S.E., Nelson, C.R., Maxwell, C. (1985) Assimilation of cholesterol by *Lactobacillus acidophilus* bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 49: 337-381.
 8. Hernández, F., García, V., Madrid, J., Orengo, J., Catalá, P., Megías, M.D. (2006) Effect of formic acid on performance, digestibility, intestinal histomorphology and plasma metabolite levels of broiler chickens. *Br. Poult. Sci.* 47: 50-56.
 9. Jin, L.Z., Ho, Y.W., Abdullah, M.A., Jalaludin, S. (1998) Growth performance, intestinal microbial populations, and serum cholesterol of broilers fed diets containing *Lactobacillus* cultures. *Poult. Sci.* 77: 1259-1265.
 10. Kalandakanond, S., Thngsong, T.B., Chavananikul, V. (2008) Blood haematological cholesterol profile and antibody Titer response of broilers with added probiotic containing both bacteria and yeast or an antibiotic in drinking water. *wetchasan Sattawaphaet.* 38:45-56.
 11. Kelley, T.R., Pancorbo, O.C., Merka, W.C., Barnhart, H.M. (1998) Antibiotic resistance of bacterial litter isolates. *Poult. Sci.* 77:243-247.
 12. Khaksefidi, A., Ghoorchi, T. (2006) Effect of probiotic on performance and immunocompetence in broiler chicks. *Poult. Sci.* 43:296-300.
 13. Kirunda, D.F.K., Scheideler, S.E., McKee, S.R. (2001) The Efficacy of vitamin E (DL-"-tocopheryl acetate) supplementation in hen diets to alleviate egg quality deterioration associated with high temperature exposure. *Poult. Sci.* 80: 1378-1383.
 14. Klaver, F.A.M., van der Meer, R. (1993) The assumed assimilation of cholesterol by *Lactobacilli* and *Bifidobacterium bifidum* is due to their bile salt-deconjugating activity. *Appl. Environ. Microbiol.* 59:1120-1124.
 15. Leeson, S., Namkung, H., Antongiovanni, M., Lee, E.H. (2005) Effect of butyric acid on the performance and carcass yield of broiler chickens. *Poult. Sci.* 84: 1418-1422.
 16. Matéova, S., Gaalova, M., Šaly, J., Fialkovicova, M. (2009) Investigation of the effect of probiotics and potentiated probiotics on productivity of laying hens. *Czech J. Anim. Sci.* 54: 24-30.
 17. Midilli, M.M., Kocabagli, N., Muglali, O.H., Turan, N., Yilmaz, H., Cakir, S. (2008) Effects of dietary probiotic and prebiotic supplementation on growth performance and serum IgG concentration of broilers. *S. Afr. J. Anim. Sci.* 38:21-27.
 18. Mountzouris, K.C., Tsirtsikos, P., Kalamara, E., Nitsch, S., schatzmayr, G., Ffegeeros, K. (2007) Evaluation of the efficacy of a Probiotic containing *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus*, and *Pediococcus* strains in promoting broiler performance and modulating cecal microflora composition and metabolic activities. *Poult. Sci.* 86: 309- 317.
 19. Murry, A.C., Hinton, A., Buhr, R.J. (2006) Effect of botanical probiotic containing lactobacilli on growth performance and populations of bacteria in the ceca, cloaca, and carcass rinse of broiler chickens. *Int. J. Poult. Sci.* 5: 344-350.
 20. Nahashon, S.N., Nakaue, H.S., Mirosh, I.W. (1996) Performance of single comb white leghorn fed a diet supplemented with a live microbial during the growth and egg laying phases. *Anim. Feed Sci. Technol.* 57: 25-38.
 21. Nursoy, H., Kaplan, O., Oguz, M.N., Yilmaz, O. (2004) Effects of varying levels of live yeast culture on yield and some parameters in laying hen diets. *Indian Vet. J.* 81:59-62.
 22. Panda, A.K., Reddy, M.R., Rama Rao, S.V., Raju, M.V.L.N., Praharaj, N.K. (2000) Growth, carcass characteristics, immunocompetence and response to *Escherichia coli* of broilers fed diets with various levels of probiotic. *Archiv für Geflügelkunde.* 64:152-



156.

23. Rafacz-Livingston, K.A., Parsons, C.M., Jungk, R. (2005) The effects of various organic acids on phytate phosphorus utilization in chicks. *Poult. Sci.* 84: 1356-1362.
24. Shini, S. (2003) Physiological responses of laying hens to the alternative housing systems. *Int. J. Poult. Sci.* 2: 357-360.
25. Soltan, M.A. (2008) Effect of dietary organic acid supplementation on egg production, egg quality and some blood serum parameters in laying hens. *Int. J. Poult. Sci.* 7:613-621.
26. Stromfova, V., Marcinakova, M., Gancarcikova, S., Jonecova, Z., Scirankova, L., Guba, P., et al. (2005) New probiotic strain *Lactobacillus fermentum* AD1 and its effect in Japanese quail. *Vet. Med. (praha)*. 50: 415-420.
27. Tortuero, F., Fernandez, E. (1995) Effect of inclusion of microbial culture in barley-based diets fed to laying hens. *Anim. Feed Sci. Technol.* 53: 255-265.
28. Wegmann, T., Smithies, O. (1966) A simple hemagglutination system requiring small amounts of red cells and antibodies. *Transfusion.* 6: 67-75.
29. Yesilbag, D., Colpan, I. (2006) Effects of organic acid supplemented diets on growth performance, egg production and quality and on serum parameters in laying hens. *Vet. Med. Rev.* 157: 280-284.
30. Yo`ru`, k.M.A., Gu`l,A., Hayirli, A., Macit, M. (2004) The effects of supplementation of humate and probiotic on egg production and quality parameters during the late laying period in hens. *Poult. Sci.* 83:84-88.



Effects of probiotic and calcium butyrate on production performance, egg quality, blood parameters and immune response in laying hens

Shahir, M.H.¹, Mohamadi, M.², Ghazi, Sh.², Afsarian, O.^{1*}, Moradi, S.¹

¹Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan- Iran.

²Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture, University of Razi, Kermanshah- Iran.

(Received 7 January 2012 , Accepted 9 April 2012)

Abstract:

BACKGROUND: The effects of probiotic and calcium butyrate (Ca-butyrate) as feed additives on performance and immune response have been shown in laying hens. **OBJECTIVES:** The aim of the present study was to investigate the effects of different levels of probiotic and Ca-butyrate on performance, egg quality, blood parameters and immune response in laying hens. **METHODS:** Two hundred and eighty eight Hy-Line W-36 hens (62 to 70 wks of age) were used in a 2×3 factorial arrangement with three levels of probiotic (0, 0.07 and 0.01 percent) and two levels of Ca-butyrate (0 and 0.1 percent) in a completely randomized design of 6 treatments and 8 replicates. **RESULTS:** The results showed that feed intake, feed conversion ratio, egg production, shape index, yolk index, haugh unit, egg weight and specific gravity were not affected by probiotic and Ca-butyrate. While egg weight and egg mass were significantly ($p < 0.05$) increased using probiotic compared with the control diet, such an effect was not observed due to Ca-butyrate addition. However, shell thickness showed significant increase ($p < 0.05$) in response to Ca-butyrate. The interaction between different levels of probiotic and Ca-butyrate was only significant for feed conversion ratio ($p < 0.05$). Antibody titer against sheep red blood cell (SRBC) was not affected ($p > 0.05$) by experimental treatments. The concentration of serum albumin was significantly increased ($p < 0.05$) by adding probiotic and Ca-butyrate to feed. Furthermore, significant increase ($p < 0.05$) in total serum protein was pronounced in response to probiotic and Ca-butyrate. However, other serum metabolites (total calcium, triglycerides and cholesterol concentrations) were not affected by treatments. The relative percentage of heterophiles and heterophiles to lymphocytes ratio were significantly decreased ($p < 0.05$) using probiotic. **CONCLUSION:** Dietary probiotic and Ca-butyrate can be considered as additives to improve immune responses in laying hens.

Key words: laying hen, probiotic, calcium butyrate, immune system, blood parameters.

Figure Legends and Tabel Captions

Table 1. Feed components (per kg): vitamin A, 11,000 IU; cholecalciferol, 22,000 IU; vitamin E, 30 IU; vitamin K3, 0.5 mg; Vitamin B12, 0.02 mg; thiamine, 1.5 mg; riboflavin, 6.0 mg; folic acid, 0.6 mg; biotin, 0.15 mg; niacin, 60 mg; pyridoxine, 5 mg; Choline chloride, 788 mg. Supplemented per kilogram of feed: Cu, 20 mg; Fe, 80 mg; Mn, 21.8 mg; Se, 0.1 mg; I, 0.35 mg; Zn, 100 mg.

Table 2. Effect of different levels of probiotic and ca-butyrate on the performance.

Table 3. Effect of different levels of probiotic and ca-butyrate on the egg quality 5 parameters.

Table 4. Effect of different levels of probiotic and ca-butyrate on the antibodies against SRBC.

Table 5. Effect of different levels of probiotic and ca-butyrate on the white blood cell differential values.

Table 6. Effect of different levels of probiotic and ca-butyrate on the serum biochemical values. In all tables different superscript letters show significant difference at ($p < 0.05$).

