

## ارزیابی تأثیر باسیلوس سوبتیلیس و لیشنی فرمیس بر عملکرد مرغ‌های مادر گوشتی تلقیح شده با سالمونلا انترتیدیس

بابک اسفندیاری<sup>۱</sup>، مجتبی زاغری<sup>۲\*</sup>، شیرین هنربخش<sup>۳</sup> و محمود شیوازاد<sup>۴</sup>

۱، ۲ و ۴. دانشجوی کارشناسی ارشد و استادان گروه علوم دامی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران،

کرج، البرز، ایران

۳. استادیار، گروه علوم دام و طیور، پردیس ابوریحان، دانشگاه تهران، پاکدشت، تهران، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۶/۱۱ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۴/۱۲/۱۹)

### چکیده

این پژوهش برای ارزیابی تأثیر باسیلوس سوبتیلیس و لیشنی فرمیس بر عملکرد مرغ‌های مادر گوشتی و سلامت دستگاه گوارش نتاج آن‌ها انجام شد. آزمایش در قالب طرح کامل تصادفی به صورت فاکتوریل ۲×۲ با استفاده از ۳۳۶ قطعه مرغ مادر گوشتی (کاب ۵۰۰) از سن ۲۲ تا ۳۲ هفتگی با چهار تیمار، هفت تکرار اجرا شد. تیمارهای آزمایشی شامل: (۱) جیره پایه بدون ریزجاندار سلامت‌بخش یا زیست‌یار (پروبیوتیک) و بدون تلقیح سالمونلا انترتیدیس؛ (۲) جیره پایه بدون زیست‌یار و تلقیح دهانی  $1 \times 10^6$  cfu/bird و  $1 \times 10^8$  cfu/bird سالمونلا انترتیدیس در هفته‌های ۲۶ و ۳۰؛ (۳) جیره پایه حاوی ۰/۴ گرم در کیلوگرم زیست‌یار و بدون تلقیح سالمونلا انترتیدیس؛ (۴) جیره پایه حاوی ۰/۴ گرم در کیلوگرم زیست‌یار و تلقیح دهانی  $1 \times 10^6$  cfu/bird و  $1 \times 10^8$  cfu/bird سالمونلا انترتیدیس در هفته‌های ۲۶ و ۳۰ بود. نتایج نشان داد که افزودن زیست‌یار موجب افزایش وزن نسبی زرده تخم‌مرغ و وزن نسبی کبد شد ( $P < 0/05$ ). تلقیح سالمونلا انترتیدیس، شمار فولیکول‌های زرد بزرگ و فولیکول‌های زرد کوچک را نسبت به گروه کنترل کاهش داد ( $P < 0/05$ ). به‌طورکلی، کاربرد زیست‌یار، نتوانست عملکرد مرغ‌هایی را که به سالمونلا آلوده شده بودند، بهبود بخشد.

**واژه‌های کلیدی:** باسیلوس سوبتیلیس و لیشنی فرمیس، سالمونلا انترتیدیس، عملکرد، مرغ مادر گوشتی.

### مقدمه

صنعت طیور یکی از فعالیتهای اقتصادی مهم در بسیاری از کشورهاست. پرورش متراکم پرندگان همراه با قرار دادن آن‌ها در معرض عامل‌های تنش‌زا، بیماری‌ها، تغییرپذیری‌های تغذیه‌ای، حمل‌ونقل و آسیب‌های محیطی است (Pinchasov & Noy, 1993)، که باعث شده سامانه ایمنی بدن پرنده تضعیف و در نتیجه پرنده را مستعد آلودگی به میکروبهای بیماری‌زای دستگاه گوارش کند؛ که تهدیدی هم برای سلامت پرندگان و هم

ایمنی محصولات و فرآورده‌های غذایی است (O'dea et al., 2006). افزون بر این، سطوح بالای آلودگی سالمونلایی در جوجه‌های گوشتی و انتقال این آلودگی به انسان‌ها از راه کاربرد فرآورده‌های طیور سبب شده که، صنعت طیور را برای یافتن راه‌های جایگزین پادزی (آنتی‌بیوتیک)، به‌منظور کاهش عامل‌های بیماری‌زا به چالش کشیده است، از این میان، زیست‌یار (پروبیوتیک)-ها یکی از جمله جایگزین‌های موردنظر هستند (Nava et al., 2005; Revollo et al., 2009). زیست‌یارها،

همه واحدهای آزمایشی، در سنین ۲۲ تا پایان ۲۴ هفتگی جیره پیش تخم‌گذاری را بنا بر پیشنهادهای راهنمای پرورشی مرغ مادر گوشتی کاب ۵۰۰ دریافت کردند. در سن ۲۴ هفتگی، به‌منظور بررسی وضعیت پرندگان از نظر نبود آلودگی به سالمونلا انتریتیدیس، از هر تکرار از دو پرندۀ خون‌گیری شد و از فضولات هر واحد آزمایشی نیز برای کشت میکروبی نمونه‌برداری شد. از آزمون الایزا برای بررسی نمونه‌های خون و روش راپاپورت واسیلیادیس (RV)<sup>۲</sup> برای کشت میکروبی استفاده شد. با توجه به نتیجه آزمایش‌های یادشده، پرندگان همه واحدهای آزمایشی، از لحاظ سالمونلا منفی بودند بنابراین جیره‌های آزمایشی مربوط به دوره تخم‌گذاری، از سن ۲۵ هفتگی در بین واحدهای آزمایشی مختلف توزیع شد. جیره آزمایشی بر پایه ذرت و کنجاله سویا فرموله شد که ۲۷۰۰ کیلوکالری انرژی قابل متابولیسم و ۱۵/۱ درصد پروتئین خام داشت. ترکیب و مواد مغذی جیره مورد استفاده در جدول ۱ نشان داده شده است. جیره‌های آزمایشی پیش تخم‌گذاری و تخم‌گذاری، بر پایه راهنمای پرورشی مرغ مادر گوشتی کاب ۵۰۰ توسط نرم‌افزار جیره‌نویسی UFFDA<sup>۳</sup> تنظیم شدند. میزان مصرف خوراک روزانه در آغاز هر هفته آزمایش بنا بر مدل Reyes *et al.* (2012) محاسبه شد. در طول دوره آزمایش دمای سالن  $22 \pm 2$  درجه سلسیوس و رطوبت آن ۱۰ الی ۳۰ درصد بود. در طول دوره آزمایش، تولید تخم‌مرغ و تخم‌مرغ قابل جوجه‌کشی هر واحد آزمایشی روزانه شمارش و ثبت شد. مرغ‌ها به‌صورت هفتگی وزن‌کشی و وزن تخم‌مرغ‌ها و وزن زرده دو عدد تخم‌مرغ اندازه‌گیری و میانگین مقادیر آنها ثبت شد.

در پایان آزمایش (سن ۳۲ هفتگی) دو قطعه مرغ با میانگین وزن واحد آزمایشی، انتخاب و پس از کشتار، وزن کبد، وزن چربی محوطه بطنی، وزن تخمدان و وزن مجرای تخم‌بر اندازه‌گیری شد. ریخت‌شناسی تخمدان نیز به روش Gilbert *et al.* (1983) رتبه‌بندی شد. در پایان آزمایش از ورید بال سه قطعه مرغ از هر واحد آزمایشی نمونه خون گرفته شد و میزان متابولیت‌های چربی در

مکمل‌های غذایی میکروبی زنده‌ای هستند که از راه بهبود تعادل میکروبی روده تأثیر سودمندی بر میزبان دارند (Fuller, 1989). هنگامی که Nurmi & Rantala (1973) حذف رقابتی را به عنوان یک راهکار برای جلوگیری از عفونت سالمونلا پیشنهاد کردند، گزارش‌های متعددی از محققان مختلف منتشر شده است که نشان می‌دهند زیست‌یارها توانایی کاهش تأثیر عوامل بیماریزا (مانند گونه‌های سالمونلا) را در دستگاه گوارش طیور دارند (Higgins *et al.*, 2007; Vilà *et al.*, 2009; Knap *et al.*, 2011). یکی از مهم‌ترین مراحل کنترل سالمونلا در جوجه‌های گوشتی، کاهش میزان سالمونلای منتقل‌شده از مرغ مادر است (Cox *et al.*, 2000)، و در این بین استفاده از زیست‌یارها به سبب تولید اسیدلاکتیک برای کنترل و محدود کردن رشد میکروب‌های بیماری‌زا در روده می‌تواند برای کاهش انتقال آلودگی از مرغ مادر به نتاج مؤثر باشد. بنابراین این پژوهش باهدف ارزیابی تأثیر زیست‌یار بر عملکرد مرغ‌های مادر گوشتی و بررسی سلامت دستگاه گوارش نتاج آنها انجام شد.

## مواد و روش‌ها

آزمایش در قالب طرح کامل تصادفی به‌صورت فاکتوریل  $2 \times 2$  با هفت تکرار و دوازده مشاهده در هر واحد آزمایشی انجام شد. عامل اول عامل زیست‌یار با دو وضعیت بدون زیست‌یار و  $0.4$  گرم در کیلوگرم زیست‌یار (باسیلوس سوبتیلیس DSM 5750 به میزان  $10^9 \times 1/6$  cfu/g و باسیلوس لیشنی‌فرمیس DSM 5749 به میزان  $10^9 \times 1/6$  cfu/g) بود. عامل دوم عامل تلقیح بود که در دو وضعیت تلقیح‌نشده و تلقیح‌شده با باکتری سالمونلا انتریتیدیس<sup>۱</sup> از راه دهان استفاده شد. شمار ۳۳۶ قطعه مرغ مادر گوشتی سویه کاب ۵۰۰ و ۲۸ قطعه خروس در سن ۲۲ هفتگی از یک گله تجاری بر پایه وزن نزدیک به یکسان انتخاب و در ۲۸ جایگاه روی بستر پوشال چوب، تا پایان سن ۳۲ هفتگی پرورش یافتند. تحریک نوری در سن ۲۲ هفتگی اعمال شد و نور سالن به چهارده ساعت در روز افزایش و تا پایان دوره آزمایش حفظ شد. پرندگان

2. Rappaport Vassiliadis  
3. User Friendly Feed Formulation Done Again

1. Salmonella Enteritidis

سالمونلا انتریکا سروتیپ انتریتیدیس (RTTC 1693) از بخش میکروبی شناسی مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی کرج-ایران تهیه شد. در گروه های چالشی در سن ۲۶ هفتگی همه پرنده های موجود در هر تکرار، با ۲ میلی لیتر از محلول سوسپانسیون سالمونلا انتریتیدیس حاوی  $1 \times 10^6$  cfu/bird باکتری و در سن سی هفتگی با  $1 \times 10^8$  cfu/bird باکتری به روش تلقیح دهانی چالش داده شدند. به منظور بررسی وضعیت پرندگان از نظر پاک و یا آلوده بودن به سالمونلا انتریتیدیس چهارده روز پس از هر بار تلقیح از هر واحد آزمایشی دو قطعه مرغ انتخاب و پس از خون گیری، نمونه های سرم با روش سنجش ایمنوسوربنت متصل به آنزیم (ELISA)<sup>۱</sup> با استفاده از کیت تجاری (IDEXX Inc., Westbrook, USA) آزمون شدند. روش آزمون و تجزیه و تحلیل نتایج به دست آمده بنا بر توصیه کارخانه سازنده انجام شد. به منظور تعقیب دفع سالمونلا انتریتیدیس از مدفوع پرنده ها، از چهار نقطه متفاوت بستر هر واحد آزمایشی نمونه گیری شد و پس از تعیین اسیدیته و دمای آن با استفاده از pH متر، از روش راپاپورت واسیلیادیس برای کشت میکروبی استفاده شد (Kozak et al., 2009). در پایان آزمایش به منظور بررسی میزان تهاجم سالمونلا انتریتیدیس به اندام های درونی بدن پرنده ها، به ترتیب از محتوای فولیکول زرد تخمدان و روده کور (سکوم) و ۵ و ۲۸ قطعه پرنده از گروه های تلقیح شده و نشده نمونه گیری و سپس با روش راپاپورت واسیلیادیس کشت داده شدند. به منظور بررسی آلودگی سالمونلایی در جوجه های حاصل، شمار پانزده قطعه جوجه تفریخ شده از هر گروه آزمایشی به آزمایشگاه دامپزشکی انتقال داده شد و پس از اعمال ۲۴ ساعت گرسنگی، جوجه ها به روش جابجایی مهره گردن کشتار شدند و از محتویات کیسه زرده و روده کور آنها برای بررسی وضعیت سلامت نتاج از نظر سالمونلا، نمونه برداری شده و با استفاده از روش راپاپورت واسیلیادیس کشت داده شد.

سرم شامل کلسترول (روش آنزیمی-گرماسنجی (کالریمتری) (CHOD-PAP) با روش نورسنجی (فتومتریک) (Alpha-Max Autoanalyzer)، HDL (با روش Enzymatic/Precipitation method به صورت دستی)، LDL (با روش آنزیمی-گرماسنجی با روش نورسنجی (Alpha-Max Autoanalyzer)، VLDL و تری گلیسرید (با روش آنزیمی-گرماسنجی (GPO-PAP) با روش نورسنجی (Alpha-Max Autoanalyzer) در آزمایشگاه اندازه گیری شدند. برای اندازه گیری میزان ناباروری تخم مرغ و جوجه درآوری، تخم مرغ های گردآوری شده از هر واحد آزمایشی در سن ۳۲ هفتگی، به دستگاه جوجه کشی انتقال داده شدند و میزان ناباروری تخم مرغ و جوجه درآوری کل تعیین شد.

جدول ۱. ترکیب مواد خوراکی و مواد مغذی محاسبه شده موجود در جیره سنین ۲۵ تا ۳۲ هفتگی (به صورت مصرفی)  
Table 1. Ingredient composition and calculated nutrient content of the diets from 25 to 32 wk of age (as-fed basis)

Ingredient	Female diet (g/kg)	Male diet (g/kg)
Corn, grain	367.3	440.0
Soybean meal, 44% CP	194.0	108.0
Wheat, grain	350.0	300.0
Wheat bran	0.0	114.4
Dicalcium phosphate	18.7	20.3
Oyster	61.0	8.9
Sodium chloride	1.9	2.2
Sodium bicarbonate	1.0	1.0
Vitamin premix <sup>a</sup>	2.5	2.5
Mineral premix <sup>a</sup>	2.5	2.5
DL-Methionine	1.1	0.2
Total	1000	1000
Calculated nutrient content		
AME (kcal/kg)	2700.00	2749.00
CP (%)	15.10	12.97
Ca (%)	2.82	0.90
Available phosphorous (%)	0.42	0.45
Sodium (%)	0.14	0.15
Digestible Lys (%)	0.66	0.49
Digestible Met (%)	0.32	0.21
Digestible Met+Cys (%)	0.56	0.43

\* مکمل ویتامینی و معدنی مقادیر زیر را در هر کیلوگرم خوراک تأمین کرد: ۱۲۰۰۰ واحد بین المللی ویتامین A، ۳۵۰۰ واحد بین المللی ویتامین D<sub>3</sub>، ۱۰۰ میلی گرم ویتامین E، ۵ میلی گرم ویتامین K<sub>3</sub>، ۳ میلی گرم ویتامین B<sub>1</sub>، ۱۲ میلی گرم ویتامین B<sub>2</sub>، ۵ میلی گرم ویتامین B<sub>6</sub>، ۰/۰۳ میلی گرم ویتامین B<sub>12</sub>، ۵۰ میلی گرم نیکوتینیک اسید، ۲ میلی گرم فولیک اسید، ۱۳ میلی گرم پنتوتنیک اسید، ۱۲۰۰ میلی گرم کولین کلراید، ۱۲۰ میلی گرم منگنز، ۱۱۰ میلی گرم روی، ۵۰ میلی گرم آهن، ۱۰ میلی گرم مس، ۲ میلی گرم ید، ۰/۳ میلی گرم سلنیوم.

<sup>a</sup> Vitamin and mineral premixes supplied the following (kilogram of feed): vitamin A, 12,000 IU; vitamin D<sub>3</sub>, 3,500 IU; vitamin E, 100 IU; vitamin K<sub>3</sub>, 5 mg; vitamin B<sub>1</sub>, 3 mg; vitamin B<sub>2</sub>, 12 mg; vitamin B<sub>6</sub>, 5 mg; vitamin B<sub>12</sub>, 0.03 mg; nicotinic acid, 50 mg; folic acid, 2 mg; pantothenic acid, 13 mg; choline chloride, 1200 mg; manganese, 120 mg; zinc, 110 mg; iron, 50 mg; copper, 10 mg; iodine, 2 mg; selenium, 0.3 mg.

## 1. Enzyme Linked Immunosorbent Assay

## تجزیه و تحلیل داده‌ها

داده‌های گردآوری شده پس از اطمینان از توزیع نرمال داشتن، توسط نرم‌افزار آماری SAS (2002) تجزیه و تحلیل آماری شدند. تفاوت بین میانگین عامل‌های اصلی و اثر متقابل آن‌ها با استفاده از گزاره Lsmmeans تعیین و سطح معنی‌داری ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

## نتایج و بحث

اثر متقابل کاربرد زیست‌یار و تلقیح دهانی مرغ‌های

مادر گوشتی با سالمونلا انتریتیدیس در سنین ۲۶ و ۳۰ هفتگی روی عملکرد (وزن بدن، سرانه کل تولید تخم‌مرغ، سرانه کل تولید تخم‌مرغ قابل جوجه‌کشی، وزن تخم‌مرغ و وزن نسبی زرده تخم‌مرغ) سن ۲۶ تا ۳۲ هفتگی معنی‌دار نبود (جدول ۲). کاربرد زیست‌یار تأثیر معنی‌داری بر وزن نسبی زرده تخم‌مرغ مادرهای گوشتی در سن ۲۶ تا ۳۲ هفتگی داشت ( $P < 0.05$ ), اما اثر آن بر دیگر ویژگی‌های عملکردی مرغ‌های مادر گوشتی معنی‌دار نبود.

جدول ۲. تأثیر زیست‌یار حاوی باسیلوس سوبتیلیس و لیسنی فرمیس بر عملکرد مرغ‌های مادر گوشتی تلقیح شده با سالمونلا انتریتیدیس<sup>۱</sup> (۲۶ تا ۳۲ هفتگی)

Table 2. Effect of probiotic containing *Bacillus subtilis* and *licheni formis* on performance of broiler breeder hens inoculated with *Salmonella enteritidis*<sup>1</sup> (26 to 32 wk age)

Treatment*	BW 26 wk (g)	BW 32 wk (g)	Hen house total egg production (N)	hen house total hatching egg production (N)	Egg wt <sup>2,3</sup> (g)	Yolk <sup>2,3</sup> (%)
Probiotic (g/kg)						
p-	3423.07	3683.07	35.37	31.62	55.37	27.39 <sup>b</sup>
p+	3445.21	3687.50	34.43	31.20	55.71	27.93 <sup>a</sup>
SEM	33.68	43.53	0.84	0.94	0.21	0.16
Salmonella enteritidis						
s-	3401.28	3665.36	35.58	31.64	55.39	27.86
s+	3467.00	3705.21	34.21	31.18	55.70	27.46
SEM	33.68	42.53	0.84	0.94	0.21	0.16
	----- Probability -----					
Probiotic	0.65	0.94	0.44	0.75	0.27	0.03
Salmonella enteritidis	0.18	0.52	0.26	0.73	0.30	0.10
Probiotic × Salmonella enteritidis	0.09	0.24	0.71	0.34	0.43	0.79

a,b. در هر ستون، میانگین تیمارهایی که حروف همسان ندارند تفاوت معنی‌دار دارند ( $P < 0.05$ ).

۱. در سنین ۲۶ و ۳۰ هفتگی، به ترتیب، تلقیح دهانی پرندگان با  $1 \times 10^6$  cfu/bird و  $1 \times 10^8$  cfu/bird سالمونلا انتریتیدیس انجام شد.

۲. داده‌ها، میانگین هفت هفته (۲۶ تا ۳۲ هفتگی) است.

۳. درصد زرده تخم‌مرغ به صورت درصدی از وزن کل تخم‌مرغ تعیین شد.

\* s-: تلقیح نشده، s+: تلقیح شده، p-: بدون زیست‌یار، p+: با زیست‌یار.

a,b. Treatment means within same column with different superscripts are significantly different ( $P < 0.05$ ).

1. Hens were inoculated orally with  $1 \times 10^6$  cfu/bird and  $1 \times 10^8$  cfu/bird of *Salmonella enteritidis*, respectively, at 26 and 30 wk of age.

2. The data is an average of 7 weeks (26 to 32 wk).

3. Yolk Percent was determined as a percentage of the total egg weight.

\*. s-: not inoculated; s+: inoculated; p-: without probiotic; p+: with probiotic.

نتیجه گرفتند که این بهبود ممکن است به خاطر بهبود وضعیت هورمونی، به ویژه FSH<sup>۱</sup> که باعث افزایش رشد فولیکول و LH<sup>۲</sup> که باعث افزایش نرخ تخم‌گذاری می‌شود باشد. آنان همچنین گزارش دادند که بهبود بوم‌سازگان (اکوسیستم) روده و فعالیت‌های سوخت‌وسازی (متابولیک) مانند هضم و

یافته‌های این پژوهش با نتایج آزمایش‌های دیگر مبنی بر نبود اختلاف معنی‌دار در عملکرد مرغ‌های مادر گوشتی (Hajati & Hassanabadi, 2014) و تخم‌گذار (Mahdavi et al., 2005) تغذیه شده با زیست‌یار تطابق دارد. با این حال بررسی دیگری روی مرغ‌های مادر گوشتی نشان داد که، با مکمل‌سازی زیست‌یار، تولید تخم‌مرغ و وزن تخم‌مرغ بهبود یافتند (Sultan & Abdul-Rahman, 2011). این پژوهشگران

1. Follicle Stimulating Hormone

2. Luteinizing Hormone

معنی دار در وزن بدن پرندگان تیمارهای تلقیح نشده و تلقیح شده بیانگر نبود تأثیر چالش سالمونلا بر وزن بدن است. در دیگر پژوهش‌های انجام شده نیز چالش با سالمونلا بر وزن بدن پرنده‌ها بدون تأثیر بود که در توافق با نتیجه آزمایش حاضر می باشد (Grimes *et al.*, 2008; Vicente *et al.*, 2008).

جذب مواد مغذی در بهتر شدن عملکرد پرنده‌ها کمک می‌کند. نتایج متفاوت مشاهده شده در آزمایش‌های مختلف می‌تواند به علت سن پرنده، تنوع در نژاد، ترکیب جیره، نوع کشت میکروبی، شرایط پرورش مرغ مادر و یا وضعیت جمعیت میکروبی (میکروفلور) روده پرندگان باشد (Bozkurt *et al.*, 2011). نبود تفاوت

جدول ۳. تأثیر زیست‌یار حاوی باسیلوس سوبتیلیس و لیشنی فرمیس بر وزن اجزاء لاشه و ریخت‌شناسی تخمدان مرغ‌های مادر گوشتی تلقیح شده با سالمونلا انتریتیدیس<sup>۱</sup>

Table 3. Effect of probiotic containing *Bacillus subtilis* and *licheni formis* on organ weights of carcass and ovarian morphology of broiler breeder hens inoculated with *Salmonella enteritidis*<sup>1</sup>

Treatment*	Relative organ weight (% of BW)				LYF <sup>2</sup> (>8 mm)	SYF <sup>3</sup> (2 to 8 mm)	White follicle (2 to 5 mm)
	Abdominal fat	Liver	Ovary	Oviduct			
Probiotic (g/kg)							
p-	2.74	1.34 <sup>b</sup>	1.59	1.65	6.39	5.96	12.54
p+	2.63	1.49 <sup>a</sup>	1.52	1.61	6.15	5.25	13.21
SEM	0.17	0.03	0.05	0.06	0.25	1.15	1.14
Salmonella enteritidis							
s-	2.57	1.40	1.60	1.65	6.69 <sup>a</sup>	9.46 <sup>a</sup>	11.89
s+	2.80	1.44	1.51	1.61	5.86 <sup>b</sup>	1.75 <sup>b</sup>	13.86
SEM	0.17	0.03	0.05	0.59	0.25	1.15	1.14
	----- Probability -----						
Probiotic	0.67	0.006	0.98	0.34	0.50	0.2100	0.74
Salmonella enteritidis	0.37	0.460	0.95	0.21	0.02	0.0001	0.13
Probiotic × Salmonella enteritidis	0.55	0.780	0.29	0.11	0.18	0.6400	0.89

a,b. در هر ستون، میانگین تیمارهایی که حروف همسان ندارند تفاوت معنی دار دارند ( $P < 0.05$ ).

۱. در سنین ۲۶ و ۳۰ هفتگی، به ترتیب، تلقیح دهانی پرندگان با  $1 \times 10^6$  cfu/bird و  $1 \times 10^8$  cfu/bird سالمونلا انتریتیدیس انجام شد.

۲. شمار فولیکول‌های زرد بزرگ (دارای قطر بزرگ‌تر از ۸ میلی‌متر).

۳. شمار فولیکول‌های زرد کوچک (دارای قطر بین ۲ تا ۸ میلی‌متر).

\* s-: تلقیح نشده، s+: تلقیح شده، p-: بدون زیست‌یار، p+: با زیست‌یار.

a,b. Treatment means within same column with different superscripts are significantly different ( $P < 0.05$ ).

1. Hens were inoculated orally with  $1 \times 10^6$  cfu/bird and  $1 \times 10^8$  cfu/bird of *Salmonella enteritidis*, respectively, at 26 and 30 wk of age.

2. Number of large yellow follicles (greater than 8 mm in diameter).

3. Number of small yellow follicles (between 2 and 8 mm in diameter).

\* s-: not inoculated; s+: inoculated; p-: without probiotic; p+: with probiotic.

دستگاه گوارش پرنده می‌تواند سبب تجزیه نمک‌های صفراوی و افزایش دفع مدفوعی آن‌ها شود. بنابراین نیاز به جایگزینی نمک‌های صفراوی سبب ساخت بیشتر این نمک‌ها از پیش‌ساز آن‌ها (کلسترول) توسط کبد شده و در نتیجه موجب افزایش اندازه آن می‌شود (Gilliland *et al.*, 1985). در پرنده‌های تلقیح شده با سالمونلا انتریتیدیس در سنین ۲۶ و ۳۰ هفتگی، از میان صفات مختلف لاشه و ریخت‌شناسی تخمدان، تنها شمار فولیکول‌های زرد بزرگ و شمار فولیکول‌های زرد کوچک معنی دار بود ( $P < 0.05$ ). اطلاعات اندکی در مورد اینکه باکتری سالمونلا انتریتیدیس در کدام قسمت اندام تولیدمثلی مستقر می‌شود و اینکه چطور با عامل‌های میزبانی از جمله

اثر متقابل کاربرد زیست‌یار و تلقیح دهانی سالمونلا انتریتیدیس در سنین ۲۶ و ۳۰ هفتگی بر وزن نسبی چربی بطنی، کبد، تخمدان و مجرای تخم‌بر و ریخت‌شناسی تخمدان مرغ‌های مادر گوشتی معنی دار نبود (جدول ۳). در این آزمایش افزایش معنی‌داری در وزن نسبی کبد گروه دریافت‌کننده زیست‌یار در مقایسه با گروه شاهد مشاهده شد ( $P < 0.05$ ). نتیجه این پژوهش با نتایج استفاده از زیست‌یار در جیره مرغ‌های تخم‌گذار (Davis & Anderson, 2002) و جوجه‌های گوشتی (Awad *et al.*, 2009) همخوانی دارد. از آنجایی که ریزجانداران (میکروارگانیسم‌های) تشکیل‌دهنده زیست‌یار مورد استفاده در این آزمایش به باسیلوس‌ها تعلق دارد، استقرار این باکتری‌ها در

سیستم ایمنی پرنده تعامل برقرار می‌کند وجود دارد. این باکتری‌ها به دلیل رشد گسترده در فولیکول‌های غنی از مواد مغذی به احتمال زیاد منجر به تحلیل فولیکول‌های تخمدانی شده که نتیجه آن کاهش در چرخه (سیکل) تولیدی پرنده است (Gantois *et al.*, 2009). به‌هرحال، این مورد بحث‌برانگیز است و نیاز به یک بررسی در مقیاس بزرگ با استفاده از سروتیپ‌های مختلف سالمونلا به‌منظور ارائه اطلاعات بیشتر در مورد بررسی نحوه استقرار سروتیپ‌ها در تخمدان و ماندگاری آن‌ها دارد.

جدول ۴. تأثیر زیست‌یار حاوی باسیلوس سوبتیلیس و لیسنی فرمیس بر متابولیت‌های سرم خون<sup>۱</sup> مرغ‌های مادر گوشتی تلقیح‌شده با سالمونلا انتریتیدیس<sup>۲</sup>

Table 4. Effect of probiotic containing *Bacillus subtilis* and *Licheniformis* on blood serum metabolites of broiler breeder hens inoculated with *Salmonella enteritidis*<sup>1</sup>

Treatment*	TG <sup>1</sup> (mg/dL)	TC <sup>1</sup> (mg/dL)	HDL <sup>1</sup> (mg/dL)	LDL <sup>1</sup> (mg/dL)	VLDL <sup>1</sup> (mg/dL)
Probiotic (g/kg)					
p-	1685.63	198.45	5.96	6.24	337.12
p+	1692.21	190.72	6.81	6.05	338.44
SEM	60.40	5.86	0.62	0.39	12.08
Salmonella enteritidis					
s-	1677.29	188.03	5.59	6.08	335.45
s+	1700.54	201.14	7.18	6.21	340.10
SEM	60.40	5.86	0.65	0.39	12.08
	----- Probability -----				
Probiotic	0.94	0.36	0.34	0.74	0.93
Salmonella enteritidis	0.79	0.13	0.08	0.82	0.78
Probiotic × Salmonella enteritidis	0.31	0.23	0.10	0.92	0.31

۱. TG: تری‌گلیسرید؛ TC: کلسترول کل؛ HDL: لیپوپروتئین با چگالی بالا؛ LDL: لیپوپروتئین با چگالی پایین؛ VLDL: لیپوپروتئین با چگالی بسیار پایین. ۲. در سنین ۲۶ و ۳۰ هفتگی، به ترتیب، تلقیح دهانی پرندگان با  $1 \times 10^6$  cfu/bird و  $1 \times 10^8$  cfu/bird سالمونلا انتریتیدیس انجام شد.

\*: s-: not inoculated; s+: inoculated; p-: without probiotic; p+: with probiotic.  
1. TG = triglyceride; TC = total cholesterol; HDL = high-density lipoprotein; LDL = low-density lipoprotein; VLDL = very low-density lipoprotein.  
2. Hens were inoculated orally with  $1 \times 10^6$  cfu/bird and  $1 \times 10^8$  cfu/bird of *Salmonella enteritidis*, respectively, at 26 and 30 wk of age.

نتایج بررسی نشان داد که کاربرد زیست‌یار تأثیر معنی‌داری بر تری‌گلیسرید، کلسترول کل، لیپوپروتئین با چگالی زیاد، لیپوپروتئین با چگالی کم و لیپوپروتئین با چگالی بسیار کم مرغ‌های مادر گوشتی نداشت (جدول ۴). در پرنده‌های تلقیح‌شده با سالمونلا انتریتیدیس در سنین ۲۶ و ۳۰ هفتگی، از میان فراسنجه‌های خونی مختلف، تنها میزان کلسترول خون افزایش داشت اما معنی‌دار نبود. اثر متقابل این دو عامل نیز بر فراسنجه‌های خونی مختلف مرغ‌های مادر گوشتی معنی‌دار نبود. تحقیقات مختلف نشان داده است که زیست‌یارها می‌توانند میزان کلسترول خون طیور را کاهش دهند (Kurtoglu *et al.*, 2004; Mahdavi *et al.*, 2005; Rahimi & Khaksefidi, 2010; Aghaii *et al.*, 2006). فعالیت کاهش‌دهنده کلسترول توسط باکتری‌های اسیدلاکتیک به سه روش: (۱) به‌واسطه مهار ساخت (سنتز) کلسترول، (۲) مهار جذب آن در روده و (۳) به‌واسطه آبکافت (هیدرولیز) نمک‌های صفاوی صورت می‌گیرد (Smet *et al.*, 1995). کاربرد زیست‌یار و تلقیح دهانی مرغ‌های مادر گوشتی با سالمونلا انتریتیدیس در سنین ۲۶ و ۳۰ هفتگی و همچنین اثر متقابل آن‌ها نیز تأثیر معنی‌داری روی میزان اسیدیت و دمای بستر اندازه‌گیری‌شده در سنین ۲۸ و ۳۲ هفتگی نداشت (جدول ۵). به دلیل اینکه در حال حاضر اطلاعات اندکی در مورد تأثیر تغذیه زیست‌یارها بر میزان اسیدیت و دمای بستر پرورش طیور وجود دارد بنابراین یافته‌هایی که در آزمایش حاضر در این خصوص به‌دست آمده‌اند قابلیت بررسی با جزئیات بیشتر را ندارد. دستاوردهای محققین نشان می‌دهد که استفاده از مکمل باسیلوس سوبتیلیس در جیره غذایی جوجه‌های گوشتی، با بهبود فعالیت آنزیم‌ها و کاهش محتوای آمونیاک در فضولات همراه است (Zhang & Kim, 2013). به نظر می‌رسد که کاهش تولید آمونیاک بستر و فعالیت اوره‌آز روده کوچک به‌واسطه کشت زیست‌یار می‌تواند برای بهبود سلامت حیوان و افزایش رشد سودمند باشد.

نتایج بررسی نشان داد که کاربرد زیست‌یار تأثیر معنی‌داری بر تری‌گلیسرید، کلسترول کل، لیپوپروتئین با چگالی زیاد، لیپوپروتئین با چگالی کم و لیپوپروتئین با چگالی بسیار کم مرغ‌های مادر گوشتی نداشت (جدول ۴). در پرنده‌های تلقیح‌شده با سالمونلا انتریتیدیس در سنین ۲۶ و ۳۰ هفتگی، از میان فراسنجه‌های خونی مختلف، تنها میزان کلسترول خون افزایش داشت اما معنی‌دار نبود. اثر متقابل این دو عامل نیز بر فراسنجه‌های خونی مختلف مرغ‌های مادر گوشتی معنی‌دار نبود. تحقیقات مختلف نشان داده است که زیست‌یارها می‌توانند میزان کلسترول خون طیور را کاهش دهند (Kurtoglu *et al.*, 2004; Mahdavi *et al.*, 2005; Rahimi & Khaksefidi, 2010; Aghaii *et al.*, 2006). فعالیت کاهش‌دهنده کلسترول توسط باکتری‌های اسیدلاکتیک به سه روش: (۱) به‌واسطه مهار ساخت (سنتز) کلسترول، (۲) مهار جذب آن در روده و (۳) به‌واسطه آبکافت (هیدرولیز) نمک‌های صفاوی صورت می‌گیرد (Smet *et al.*, 1995).

جدول ۵. تأثیر زیست‌یار حاوی باسیلوس سوبتیلیس و لیسنی فرمیس بر کیفیت بستر مرغ‌های مادر گوشتی تلقیح‌شده با سالمونلا انتریتیدیس<sup>۱</sup>

Table 5. Effect of probiotic containing *Bacillus subtilis* and *licheni formis* on litter quality of broiler breeder hens inoculated with *Salmonella enteritidis*<sup>1</sup>

Treatment*	Age (wk)			
	28		32	
	pH	Temperature (°C)	pH	Temperature (°C)
Probiotic (g/kg)				
p-	7.93	28.91	7.83	28.92
p+	7.98	28.72	7.73	28.66
SEM	0.08	0.29	0.06	0.29
<i>Salmonella enteritidis</i>				
s-	8.04	28.77	7.80	28.95
s+	7.87	28.86	7.76	28.62
SEM	0.08	0.29	0.06	0.29
	----- Probability -----			
Probiotic	0.66	0.65	0.31	0.54
<i>Salmonella enteritidis</i>	0.19	0.84	0.70	0.43
Probiotic × <i>Salmonella enteritidis</i>	0.68	0.28	0.84	0.58

۱. در سنین ۲۶ و ۳۰ هفتگی، به ترتیب، تلقیح دهانی پرندگان با  $1 \times 10^6$  cfu/bird و  $1 \times 10^8$  cfu/bird سالمونلا انتریتیدیس انجام شد.

\* s- تلقیح‌نشده، s+ تلقیح‌شده، p- بدون زیست‌یار، p+ با زیست‌یار.

1. Hens were inoculated orally with  $1 \times 10^6$  cfu/bird and  $1 \times 10^8$  cfu/bird of *Salmonella enteritidis*, respectively, at 26 and 30 wk of age.

\* s-: not inoculated; s+: inoculated; p-: without probiotic; p+: with probiotic.

تخم‌مرغ. شرایط نگهداری (انکوباسیون)، ضخامت پوسته و شاخص شکل تخم‌مرغ نیز از مهم‌ترین عامل‌های مؤثر بر جوجه درآوری تخم‌مرغ به شمار می‌آیند (King'ori, 2011).

تأثیر کاربرد زیست‌یار بر حضور یا عدم حضور آنتی‌بادی ایجادشده علیه سالمونلا انتریتیدیس در چهارده روز پس از هر بار تلقیح در جدول ۷ ارائه شده است. جدا نشدن سالمونلا از گروه چالش نیافته با توجه به چالش نداشتن این پرندگان با سالمونلا انتریتیدیس، حکایت از رعایت موفقیت‌آمیز اصول قرنطینه بین گروه‌های آزمایشی چالش یافته و بدون چالش را دارد. در این آزمایش، در گروه‌های دریافت-کننده زیست‌یار و تلقیح‌شده سه نمونه سالمونلا مثبت گزارش شد (۲۱/۴۲ درصد) و زیست‌یار توانست میزان بروز سالمونلا را در مرغ‌های تلقیح‌شده کاهش دهد. به نظر می‌رسد که عمل اصلی اسپورهای باسیلوس به توانایی آن‌ها برای ایجاد یک محیط بی‌هوازی در روده پس از جوانه‌زنی، به علت مصرف سریع اکسیژن مرتبط باشد که این عمل به نفع رشد و افزایش جمعیت میکروبی بومی مفید است، که می‌تواند از راه تولید اسیدلاکتیک به حذف رقابتی میکروبی‌های بیماری‌زا در روده منجر شود (Jeong & Kim, 2014).

نتایج جدول ۶ نشان می‌دهد که کاربرد زیست‌یار و تلقیح دهانی مرغ‌های مادر گوشتی با سالمونلا انتریتیدیس در سنین ۲۶ و ۳۰ هفتگی تأثیر معنی‌داری بر میزان ناباروری و جوجه درآوری آن‌ها نداشت. اثر متقابل کاربرد زیست‌یار و تلقیح دهانی سالمونلا انتریتیدیس در سنین ۲۶ و ۳۰ هفتگی تأثیر معنی‌داری بر جوجه‌درآوری مرغ‌های مادر گوشتی داشت ( $P < 0.05$ ) ولی روی ناباروری تخم‌مرغ آن‌ها معنی‌دار نبود. استفاده از مکمل زیست‌یار پروتکسین در سطح ۰/۱ درصد در جیره مرغ‌های مادر گوشتی اگرچه تأثیر سودمندی داشت و به لحاظ عددی سبب بهبود جوجه درآوری و کاهش ناباروری تخم‌مرغ‌ها و جنین‌های مرده در داخل پوسته تخم‌مرغ شد، اما این تفاوت در مقایسه با تیمار شاهد معنی‌دار نبود (Hajati & Hassanabadi, 2014). افزون بر این، بهبود قابل توجه در میزان جوجه‌درآوری (در هر دو کل تخم‌مرغ و تخم‌مرغ بارور) مرغ‌های مادر گوشتی به هنگام کاربرد فرآورده‌های زیست‌یار در مقایسه با گروه کنترل مشاهده شد، ولی میزان باروری تحت تأثیر قرار نگرفت (Bozkurt et al., 2011). عامل‌های پرشماری هستند که در جوجه‌درآوری تأثیر دارند. عامل‌های مادری که جوجه‌درآوری را تحت تأثیر قرار می‌دهند عبارتند از سن، وضعیت سلامت، تغذیه، وزن و اندازه

جدول 6. تأثیر زیست‌یار حاوی باسیلوس سوبتیلیس و لیسنی‌فرمیس بر میزان جوجه‌درآوری و ناباروری تخم‌مرغ مرغ‌های مادر گوشتی تلقیح‌شده با سالمونلا انتریتیدیس<sup>1</sup>

Table 6. Effect of probiotic containing *Bacillus subtilis* and *licheni formis* on hatchability and infertility of eggs in broiler breeder hens inoculated with *Salmonella enteritidis*<sup>1</sup>

Treatment*	Egg infertility (%)	Hatchability (%)
Probiotic (g/kg)		
p-	13.52	68.43
p+	12.72	59.96
SEM	4.49	5.45
Salmonella enteritidis		
s-	13.46	65.17
s+	12.78	63.22
SEM	4.49	5.45
Probiotic × Salmonella enteritidis		
p-s-	10.32	80.63 <sup>a</sup>
p-s+	16.72	56.23 <sup>ab</sup>
p+s-	16.59	49.72 <sup>b</sup>
p+s+	8.84	70.21 <sup>ab</sup>
SEM	6.35	7.71
-----Probability-----		
Probiotic	0.90	0.30
Salmonella enteritidis	0.92	0.81
Probiotic × Salmonella enteritidis	0.28	0.02

a, b در هر ستون، میانگین تیمارهایی که حروف همسان ندارند تفاوت معنی‌دار دارند ( $P < 0.05$ ).

1. در سنین 26 و 30 هفتگی، به ترتیب، تلقیح دهانی پرندگان با  $1 \times 10^6$  cfu/bird و  $1 \times 10^8$  cfu/bird سالمونلا انتریتیدیس انجام شد.

\* s-: تلقیح‌نشده، s+: تلقیح‌شده، p- بدون زیست‌یار، p+ با زیست‌یار.

a, b. Treatment means within same column with different superscripts are significantly different ( $P < 0.05$ ).

1. Hens were inoculated orally with  $1 \times 10^6$  cfu/bird and  $1 \times 10^8$  cfu/bird of *Salmonella enteritidis*, respectively, at 26 and 30 wk of age.

\* s-: not inoculated; s+: inoculated; p-: without probiotic; p+: with probiotic.

بنابر جدول 8، همه نتایج به‌دست‌آمده از کشت میکروبی نمونه‌های به‌دست‌آمده از کود و پوشال بستر، محتوای فولیکول زرد و روده کور مرغ‌های مادر گوشتی از نظر آلودگی سالمونلا انتریتیدیس منفی بودند. همچنین نتایج به‌دست‌آمده از کشت میکروبی کیسه زرده و روده کور جوجه‌های تفریح‌شده از نظر آلودگی سالمونلا

جدول 7. تأثیر زیست‌یار حاوی باسیلوس سوبتیلیس و لیسنی‌فرمیس بر حضور یا عدم حضور آنتی‌بادی ایجادشده علیه سالمونلا انتریتیدیس در سرم خون مرغ‌های مادر گوشتی تلقیح‌شده با سالمونلا انتریتیدیس<sup>1</sup>

Table 7. Effect of probiotic containing *Bacillus subtilis* and *licheni formis* on presence or absence of antibody against *Salmonella enteritidis* in blood serum of broiler breeder hens inoculated with *Salmonella enteritidis*<sup>1</sup>

Sample	<i>Salmonella enteritidis</i>	Treatment*	Result of testing 14 days after inoculation N (%)	
			(+)	(-)
Serum	First inoculation	s-	-	14 (100)
		s+	-	14 (100)
	Second inoculation	s-	-	14 (100)
		s+	3 (21.42)	11 (78.58)

1. در سنین 26 و 30 هفتگی، به ترتیب، تلقیح دهانی پرندگان با  $1 \times 10^6$  cfu/bird و  $1 \times 10^8$  cfu/bird سالمونلا انتریتیدیس انجام شد.

\* s-: تلقیح‌نشده، s+: تلقیح‌شده.

1. Hens were inoculated orally with  $1 \times 10^6$  cfu/bird and  $1 \times 10^8$  cfu/bird of *Salmonella enteritidis*, respectively, at 26 and 30 wk of age.

s-: not inoculated; s+: inoculated.



جدول ۸. تأثیر زیست‌یار حاوی باسیلوس سوبتیلیس و لیشنی فرمیس بر میزان تهاجم سالمونلا انتریتیدیس به محتوای فولیکول زرد و روده کور و میزان دفع آن در فضولات مرغ مادر گوشتی<sup>۱</sup>

Table 8. Effect of probiotic containing *Bacillus subtilis* and *licheni formis* on the invasion of *Salmonella enteritidis* on content of yellow follicle, cecum and fecal shedding of broiler breeder hens inoculated with *Salmonella enteritidis*<sup>1</sup>

Sample	<i>Salmonella enteritidis</i>	Treatment*	Result of testing 14 days after inoculation N (%)		
			(+)	(-)	
Hen	Fecal and litter	First inoculation	s-	-	14 (100)
			s+	-	14 (100)
	Second inoculation	s-	-	14 (100)	
		s+	-	14 (100)	
	Content of yellow follicle	s-	-	5 (100)	
		s+	-	5 (100)	
Cecum	p-s-	-	28 (100)		
	p+s+**	-	25 (100)		
	p-s+***	-	3 (100)		
Chicken	Yolk sac and cecum	p±s±	-	30 (100)	

۱. در سنین ۲۶ و ۳۰ هفتگی، به ترتیب، تلقیح دهانی پرندگان با  $1 \times 10^6$  cfu/bird و  $1 \times 10^8$  cfu/bird سالمونلا انتریتیدیس انجام شد.

\* -s- تلقیح نشده، +s+ تلقیح شده، p- بدون زیست‌یار، +p+ با زیست‌یار.

\*\* ۲۵ نمونه به لحاظ کلیفرمی بررسی شدند.

\*\*\* ۳ نمونه به لحاظ پروتئوس (*Protous*) بررسی شدند.

1. Hens were inoculated orally with  $1 \times 10^6$  cfu/bird and  $1 \times 10^8$  cfu/bird of *Salmonella enteritidis*, respectively, at 26 and 30 wk of age.

\*. s-: not inoculated; s+: inoculated; p-: without probiotic; p+: with probiotic.

\*\* 25 samples were analyzed in terms of *Coli form*.

\*\*\* 3 samples were analyzed in terms of *Protous*.

در نهایت مشاهده شد که جوجه‌های به‌دست‌آمده از

همه تیمارها در کشت میکروبی کیسه زرده و روده کور بدون آلودگی سالمونلا بودند.

نتیجه‌گیری

در نتیجه، کاربرد زیست‌یار، نتوانست عملکرد مرغ‌هایی را که به سالمونلا آلوده شده بودند، بهبود بخشد.

## REFERENCES

- Aghaii, A., Chaji, M., Mohammadabadi, T. & Sari, M. (2010). The effect of probiotic supplementation on production performance, egg quality and serum and egg chemical composition of laying hens. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 9, 2774-2777.
- Awad, W. A., Ghareeb, K., Abdel-Raheem, S. & Böhm, J. (2009). Effects of dietary inclusion of probiotic and synbiotic on growth performance, organ weights, and intestinal histomorphology of broiler chickens. *Poultry Science*, 88, 49-56.
- Bozkurt, M., Küçükyılmaz, K., Ayhan, V., Çabuk, M. & Çatlı, A. U. (2011). Performance of layer or broiler breeder hens varies in response to different probiotic preparations. *Italian Journal of Animal Science*, 10, 162-169.
- Cobb-Vantress. (2013). *Cobb 500 Breeder Management Supplement*. Cobb Vantress, Siloam Springs, AR.
- Cox, N. A., Berrang, M. E. & Cason, J. A. (2000). *Salmonella* penetration of egg shells and proliferation in broiler hatching eggs- A review. *Poultry Science*, 79, 1571-1574.
- Davis, G. S. & Anderson, K. E. (2002). The effects of feeding the direct-fed microbial, primalac, on growth parameters and egg production in single comb white leghorn hens. *Poultry Science*, 81, 755-759.
- Fuller, R. (1989). Probiotics in man and animals. *The Journal of Applied Bacteriology*, 66, 365-378.
- Gantois, I., Ducatelle, R., Pasmans, F., Haesebrouck, F., Gast, R., Humphrey, T.J. & Van Immerseel, F. (2009). Mechanisms of egg contamination by *Salmonella enteritidis*. *Federation of European Microbiological Societies Microbiology Reviews*, 33, 718-738.
- Gilbert, A. B., Perry, M. M., Waddington, D. & Hardie, M. A. (1983). Role of atresia in establishing the follicular hierarchy in the ovary of the domestic hen (*Gallus domesticus*). *Journal of Reproduction and Fertility*, 69, 221-227.
- Gilliland, S. E., Nelson, C. R. & Maxwell, C. (1985). Assimilation of cholesterol by *Lactobacillus acidophilus*. *Applied and Environmental Microbiology*, 49, 377-381.

11. Grimes, J. L., Rahimi, S., Oviedo, E., Sheldon, B. W. & Santos, F. B. O. (2008). Effects of a direct-fed microbial (primalac) on turkey poult performance and susceptibility to oral *Salmonella* challenge. *Poultry Science*, 87, 1464-1470.
12. Hajati, H. & Hassanabadi, A. (2014). The effect of dietary supplementation of prebiotic and probiotic on performance, humoral immunity responses and egg hatchability in broiler breeders. *Poultry Science Journal*, 2, 1-13. (in Farsi)
13. Higgins, J.P., Higgins, S.E., Vicente, J.L., Wolfenden, A.D., Tellez, G. & Hargis, B.M. (2007). Temporal effects of lactic acid bacteria probiotic culture on *Salmonella* in neonatal broilers. *Poultry Science*, 86, 1662-1666.
14. Higgins, J.P., Higgins, S. E., Wolfenden, A.D., Henderson, S.N., Torres-Rodriguez, A., Vicente, J.L., Hargis, B.M. & Tellez, G. (2010). Effect of lactic acid bacteria probiotic culture treatment timing on *Salmonella enteritidis* in neonatal broilers. *Poultry Science*, 89, 243-247.
15. Jeong, J.S. & Kim, I. H. (2014). Effect of *Bacillus subtilis* c-3102 spores as a probiotic feed supplement on growth performance, noxious gas emission, and intestinal microflora in broilers. *Poultry Science*, 93, 3097-3103.
16. King'ori, A. M. (2011). Review of the factors that influence egg fertility and hatchability in poultry. *International Journal of Poultry Science*, 10, 483-492.
17. Knap, I., Kehlet, A.B., Bennedsen, M., Mathis, G.F., Hofacre, C.L., Lumpkins, B.S., Jensen, M.M., Raun, M. & Lay, A. (2011). *Bacillus subtilis* (dsm17299) significantly reduces *Salmonella* in broilers. *Poultry Science*, 90, 1690-1694.
18. Kozak, G.K., Boerlin, P., Janecko, N., Reid-Smith, R.J. & Jardine, C. (2009). Antimicrobial resistance in *Escherichia coli* isolates from swine and wild small mammals in the proximity of swine farms and in natural environments in Ontario, Canada. *Applied and Environmental Microbiology*, 75, 559-566.
19. Kurtoglu, V., Kurtoglu, F., Seker, E., Coskun, B., Balevi, T. & Polat, E.S. (2004). Effect of probiotic supplementation on laying hen diets on yield performance and serum and egg yolk cholesterol. *Food Additives and Contaminants*, 21, 817-823.
20. Mahdavi, A. H., Rahmani, H. R. & Pourreza, J. (2005). Effect of probiotic supplements on egg quality and laying hen's performance. *International Journal of Poultry Science*, 4, 488- 492.
21. Morshed, R. & Peighambari, S. M. (2010). *Salmonella* infections in poultry flocks in the vicinity of Tehran. *International Journal of Veterinary Research*, 4, 273- 276. (In Farsi)
22. Nava, G. M., Bielke, L. R., Callaway, T. R. & Castaneda, M. P. (2005). Probiotic alternatives to reduce gastrointestinal infections: The poultry experience. *Animal Health Research Reviews*, 6, 105-118.
23. Nurmi, E. & Rantala, M. (1973). New aspects of *Salmonella* infection in broiler production. *Nature*, 241, 210-211.
24. O'dea, E. E., Fasenko, G. M., Allison, G. E., Korver, D. R., Tannock, G. W. & Guan, L. L. (2006). Investigating the effects of commercial probiotics on broiler chick quality and production efficiency. *Poultry Science*, 85, 1855-1863.
25. Pinchasov, Y. & Noy, Y. (1993). Comparison of post-hatch holding time and subsequent early performance of broiler chicks and turkey poults. *British Poultry Science*, 34, 111-120.
26. Rahimi, S. & Khaksefidi, A. (2006). A comparison between the effects of a probiotic (bioplus 2b) and an antibiotic (virginiamycin) on the performance of broiler chickens under heat stress conditions. *Iranian Journal of Veterinary Research*, 7, 23-28.
27. Revollo, L., Ferreira, C. S. A. & Ferreira, A. J. P. (2009). Prevention of *Salmonella typhimurium* colonization and organ invasion by combination treatment in broiler chicks. *Poultry science*, 88, 734- 743.
28. Reyes, M. E., Salas, C. & Coon, C. N. (2012). Metabolizable energy requirements for broiler breeder in different environmental temperatures. *International Journal of Poultry Science*, 11, 453-461.
29. SAS. (2002). User's Guide: Statistics. Version 9.00. *SAS Institute InC*, Cary, NC.
30. Smet, I., Hoorde, L., Woestyne, M., Christiaens, H. & Verstraete, W. (1995). Significance of bile salt hydrolytic activities of lactobacilli. *Journal of Applied Bacteriology*, 79, 292- 301.
31. Sultan, K. H. & Abdul-Rahman. S. Y. (2011). Effect of probiotic on some physiological parameters in broiler breeders. *International Journal of Poultry Science*, 10, 626- 628.
32. Vicente, J. L., Torres-Rodriguez, A., Higgins, S. E., Pixley, C., Tellez, G., Donoghue, A. M. & Hargis, B. M. (2008). Effect of a selected *lactobacillus spp.*-based probiotic on *Salmonella enterica* serovar *enteritidis*-infected broiler chicks. *Avian Diseases* 52, 143-146.
33. Vilà, B., Fontgibell, A., Badiola, I., Esteve-Garcia, E., Jiménez, G., Castillo, M. & Brufau, J. (2009). Reduction of *Salmonella enterica* var. *enteritidis* colonization and invasion by *Bacillus cereus* var. *toyoi* inclusion in poultry feeds. *Poultry Science*, 88, 975-979.
34. Zhang, Z. F. & Kim, I. H. (2013). Effects of probiotic supplementation in different energy and nutrient density diets on performance, egg quality, excreta microflora, excreta noxious gas emission, and serum cholesterol concentrations in laying hens. *Journal of Animal Science*, 91, 4781-4787.

## Evaluating the effect of *Bacillus subtilis* and *Licheni formis* on performance of broiler breeder hens challenged with *Salmonella enteritidis*

Babak Esfandyari<sup>1</sup>, Mojtaba Zaghari<sup>2\*</sup>, Shirin Honarbakhsh<sup>3</sup> and Mahmood Shivazad<sup>2</sup>

1, 2. M. Sc. Student and Professors, Department of Animal Science, University College of Agriculture & Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Alborz, Iran

3. Assistant Professor, Department of Animal and Poultry Science, Campus of Aburaihan, University of Tehran, Pakdasht, Tehran, Iran

(Received: Sep. 2, 2015 - Accepted: Mar. 9, 2016)

### ABSTRACT

This study was conducted to investigate the effect of *Bacillus subtilis* and *Licheni formis* on broiler breeder performance and gastrointestinal health of their progenies. A total of 336 broiler breeder hens (Cobb 500) from 22 to 32 weeks of age were used in a completely randomized design of  $2 \times 2$  factorial arrangement with four treatments, each with seven replicates. Dietary treatments included: 1) basal diet without probiotic and without *Salmonella enteritidis* inclusion; 2) basal diet without probiotic and oral inclusion of  $1 \times 10^6$  cfu/bird and  $1 \times 10^8$  cfu/bird *Salmonella enteritidis* in 26 and 30 weeks of age, respectively; 3) basal diet containing 0.4 gr/kg probiotic and without *Salmonella enteritidis* inclusion; 4) basal diet containing 0.4 gr/kg probiotic and oral inclusion of  $1 \times 10^6$  cfu/bird and  $1 \times 10^8$  cfu/bird *Salmonella enteritidis* in 26 and 30 weeks of age, respectively. The results showed that adding probiotic was increased fractional weight of yolk and liver ( $P < 0.05$ ). The number of large and small yellow follicles were decreased significantly in response to the challenge with *Salmonella* compared with the control. The results of this study did not show any benefit of adding probiotic on performance of broiler breeder hens contaminated with *Salmonella enteritidis*.

**Keywords:** *Bacillus subtilis* and *Licheni formis*, broiler breeder hen, performance, *Salmonella enteritidis*.

\* Corresponding author E-mail: mzaghari@ut.ac.ir

Tel: +98 912 1694973