Vol 26, No. 2, Summer 2024

University of Tehran Press

Journal of Animal Production

Online ISSN: 2382-994X

Homepage: https://jap.ut.ac.ir/

The Effect of direct-fed microbials on performance, pH values of gastrointestinal tract, blood parameters and small intestine microflora of laying hens fed wheat-soybean meal-based diet

Zahra Mostafaie[1]✉ | Mehran Torki[2] | Kianoosh Cheghamirza[3] | Rouhallah Sharifi[4]

1. Corresponding Author, Animal Science Department, College of Agriculture and Natural Resources, Razi University, Kermanshah, Iran. E-mail: zmostafai@basu.ac.ir
2. Animal Science Department, College of Agriculture and Natural Resources, Razi University, Kermanshah, Iran. E-mail: torki@razi.ac.ir
3. Agronomy and Plant Breeding Department, College of Agriculture and Natural Resources, Razi University, Kermanshah, Iran. E-mail: cheghamirza@ razi.ac.ir
4. Plant Protection Department, College of Agriculture and Natural Resources, Razi University, Kermanshah, Iran E-mail: r.sharifi@razi.ac.ir

Article Info

Article type:
Research Article

Article history:
Received 5 November 2023
Received in revised form
12 June 2024
Accepted 16 June 2024
Published online 14 July 2024

Keywords:
Bacillus volzensis
Intestinal health
Laying hen
Trichoderma
wheat

ABSTRACT

Introduction: Corn and wheat are the main sources of energy in poultry diets worldwide, although due to its availability, wheat can be a good substitute for corn in the diet of broilers and laying hens. However, the inclusion level of wheat is limited often because wheatbased diet contained higher levels ofsoluble non-starch polysaccharidesThe arabinoxylans are the main NSP in wheat that increasing the viscosity of the digesta and reducing nutrient digestibility of direct-fed microbial (DFM) supplements include Bacillus velezensis, Trichoderma, and Saccharomyces cerevisiae, which are used as biological control agents due to their high ability to suppress disease agents and inhibit the proliferation of intestinal pathogens.

Materials and Methods: The total number of 240 Hy-Line W-36 laying hens were randomly distributed between 40 cages, and the five experimental diets including (A) corn-soybean meal-based control diet, (B) wheat-based diet with no microbial additive, (C) wheat-based diet with 1×10^9 cfu/kg *Bacillus velezensis*, (D) wheat-based diet with 1×10^5 cfu/kg *Trichoderma* and (E) wheat-based diet with *B. velezensis* + *Trichoderma* were assigned to hens with 8 replicate cages per diet and 6 hens per each replicate.

Results and Discussion: The results showed that the addition of *B. velezensis* + *Trichoderma* to the diet led to an improvement in the feed conversion ratio (FCR), and increased egg production (EP) and feed intake (FI; P<0.05)., Also, the pH of the contents of the jejunum, ileum and caecum was reduced in the treatments containing microorganisms(P<0.05). The DFMs enhanced the efficiency of nutrient adsorption and utilization, predominantly ascribable to the production of exogenous enzymes by the test probiotic. Prebiotics work as feed for the intestinal microflora and could stimulate the fermentation rate which increased the production of short chain fatty acids and reduced luminal pH. Hens fed microbe-added diets had higher plasma levels of calcium (Ca), phosphorus (P) and high-density lipoprotein (P<0.05). The addition of *B. velezensis* + *Trichoderma* to the diet, modulated the ileal and caecal microflora composition by decreasing the numbers of *Escherichia coli* and increasing the numbers of Lactobacilli. Dietary supplemented by *B. velezensis* and *Trichoderma* could increase plasma Ca and P compared to other treatments, which can be interpreted as probiotics increase the rate of fermentation and reduce intestinal pH, leads to better absorption of Ca and P from the intestine. Improved intestinal morphology characteristics were observed in hens fed the microbe-added diets (P<0.05). These beneficial effects were directly associated with decrease in total microbes, *E. coli* and *Salmonella* and enhance lactic acid bacteria of cecal. Consistently, addition of *B. subtilis* manipulated the gut ecosystem toward beneficial bacteria and enhanced the development and health of gastrointestinal tract. The positive effects of DFMs on eggshell quality can be attributed to the enhancement of gut health and intestinal tract microflora environment. Also, modifying the gut microflora composition by promoting the growth of beneficial microflora (such as lactic acid bacteria) and inhibiting the growth of *Salmonella*, *E. coli*, and *Clostridium perfringens* is beneficial effects of DFMs. The present study confirmed *B. velezensis* and *Trichoderma* enhanced the colonization of the beneficial bacteria and reduced the colonization of enteric bacteria. Maintaining a healthy intestine by probiotics and prebiotics will improve the ability of birds to overcome the disease and enhance their performance. Highest count of aerobic bacteria, lactobacilli, anaerobic bacteria, and *E. coli* were associated with *Trichoderma reesei*.

Conclusion: Based on the results of the current study, it can be concluded that adding *B. velezensis* + *Trichoderma* to the wheat-based diets improve performance of laying hens, decrease plasma levels of cholesterol, triglyceride, and LDL and the intestinal pH and number of *E. coli*.

Cite this article: Mostafaie, Z., Torki, M., Cheghamirza, K., & Sharifi, R. (2024). The Effect of direct-fed microbials on performance, pH values of gastrointestinal tract, blood parameters and small intestine microflora of laying hens fed wheat-soybean meal-based diet. *Journal of Animal Production*, 26 (2), 179-190. DOI: https://doi.org/10.22059/jap.2024.367708.623768

© The Author(s).
Publisher: The University of Tehran Press.
DOI: https://doi.org/10.22059/jap.2024.367708.623768

دوره بیست و ششم، شماره دوم، تابستان ۱۴۰۳

انتشارات دانشگاه تهران

تولیدات دامی

شاپا الکترونیکی: ۲۳۸۲-۹۹۴x

Homepage: https://jap.ut.ac.ir/

تأثیر خوراندن مستقیم میکروارگانسیم بر عملکرد، pH دستگاه گوارش، فراسنجه‌های خونی و جمعیت میکروبی روده باریک مرغ‌های تخم‌گذار تغذیه‌شده با جیره غذایی بر پایه گندم–کنجاله سویا

زهرا مصطفائی [۱]✉ | مهران ترکی [۲] | کیانوش چغامیرزا [۳] | روح الله شریفی [۴]

۱. نویسنده مسئول، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران. رایانامه: zmostafai@basu.ac.ir

۲. گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران. رایانامه: torki@razi.ac.ir

۳. گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران. رایانامه: cheghamirza@ razi.ac.ir

۴. گروه حفظ نباتات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران. رایانامه: r.sharifi@razi.ac.ir

اطلاعات مقاله

نوع مقاله: مقالهٔ پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۸/۱۴

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۳/۰۳/۲۳

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۳/۲۷

تاریخ انتشار: ۱۴۰۳/۰۴/۲۴

کلیدواژه‌ها:

باسیلوس ولزنسیس

تریکودرما

سلامت روده

گندم

مرغ تخم‌گذار

چکیده

اثر خوراندن مستقیم میکروارگانیسم بر عملکرد، میکرو فلور روده باریک و کور، فراسنجه‌های خونی و pH روده باریک مرغ‌های تخم‌گذار تغذیه‌شده با جیره حاوی گندم از سن ۵۴ تا ۶۲ هفتگی با استفاده از تعداد ۲۴۰ قطعه مرغ تخم‌گذار های–لاین W-36 در قالب طرح کاملا تصادفی بین ۴۰ قفس شامل پنج تیمار، هشت تکرار و شش پرنده در هر تکرار بررسی شد. جیره‌های آزمایشی شامل الف– جیره شاهد بر پایه ذرت– کنجاله سویا، ب– جیره بر پایه گندم بدون افزودنی میکروبی، ج– جیره بر پایه گندم حاوی 1×10^{9} cfu/kg باسیلوس ولزنسیس (*B. velezensis*)، د– جیره بر پایه گندم حاوی 1×10^{5} cfu/kg قارچ تریکودرما (*Trichoderma*)، و– جیره بر پایه گندم با باسیلوس ولزنسیس+ تریکودرما (*Trichoderma + B.velezensis*) بود نتایج نشان داد که افزودن باسیلوس ولزنسیس+ تریکودرما به جیره منجر به بهبود ضریب تبدیل خوراک نسبت به تیمار شاهد و تیمار بر پایه گندم و افزایش تولید تخم‌مرغ و مصرف خوراک روزانه شد ($p<0/05$). هم‌چنین pH محتویات ژژنوم، ایلئوم و روده کور در تیمارهای حاوی میکروارگانیسم‌ها کاهش یافت ($p<0/05$). پرندگان دریافت‌کننده میکروارگانیسم‌ها سطح پلاسمایی کلسیم، فسفر و لیپوپروتئین با چگالی بالا (HDL) بالاتری را داشتند ($p<0/05$). افزودن باسیلوس ولزنسیس+ تریکودرما به جیره منجر به کاهش تعداد کلنی اشرشیاکلی و افزایش کلنی لاکتوباسیل‌ها شد. براساس نتایج مطالعه حاضر، می‌توان نتیجه گرفت که در مرغ‌های تخم‌گذار، افزودن باسیلوس ولزنسیس+ تریکودرما به جیره غذایی بر پایه گندم باعث بهبود عملکرد تولیدی، کاهش سطح کلسترول و تری‌گلیسیرید پلاسما و بهبود میکروفلور روده می‌شود.

استناد: مصطفائی، زهرا؛ ترکی، مهران؛ چغامیرزا، کیانوش و شریفی، روح الله (۱۴۰۳). تأثیر خوراندن مستقیم میکروارگانسیم بر عملکرد، pH دستگاه گوارش، فراسنجه‌های خونی و جمعیت میکروبی روده باریک مرغ‌های تخم‌گذار تغذیه‌شده با جیره غذایی بر پایه گندم–کنجاله سویا. *نشریه تولیدات دامی*، ۲۶ (۲)، ۱۹۰–۱۷۹.
DOI: https://doi.org/10.22059/jap.2024.367708.623768

ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.

© نویسندگان.

۱. مقدمه

در خوراک طیور ذرت و گندم از منابع اصلی انرژی هستند، اما در بسیاری از کشورها (از جمله کشور ما) گندم به‌دلیل در دسترس‌بودن می‌تواند جایگزین مناسبی برای ذرت در جیره جوجه‌های گوشتی و مرغ‌های تخم‌گذار باشد (Nguyen, 2021). از سوی دیگر، گندم به‌دلیل داشتن پلی‌ساکاریدهای غیر نشاسته‌ای (NSP) محلول محدودیت مصرف دارد (Choct, 2015). از اصلی‌ترین NSP موجود در گندم، آرابینوزایلان‌ها هستند که باعث افزایش ویسکوزیته شیرابه هضمی و کاهش قابلیت هضم مواد مغذی می‌شوند (Chen, 2021). افزودن زایلاناز به جیره‌های بر پایه گندم، یک روش معمول تغذیه مرغ‌های تخم‌گذار برای بهبود ویسکوزیته محتویات گوارشی و کارایی غذاست (Naderi Sahami Zamir, 2021).

۲. پیشینهٔ پژوهش

برای اولین بار Fuller در سال ۱۹۹۸ استفاده از میکروب‌های زنده را با عنوان مکمل خوراکی (پروبیوتیک‌ها) که از طریق بهبود تعادل میکروبی روده باعث تقویت عملکرد و پاسخ‌های ایمنی پرنده می‌شوند، معرفی کرد. چندین مطالعه نشان دادند که می‌توان از تغذیه مستقیم میکروب‌ها (Direct Fed Microbials or DFM) به‌عنوان مواد افزودنی در جیره برای بهبود عملکرد و سیستم ایمنی پرنده استفاده کرد (Wang, 2010). استفاده از DFM به‌عنوان منبعی از میکروارگانیسم‌های زنده مفید، به‌دلیل عملکرد متنوع آن بر روی سلامت و بهره‌وری پرنده، طی چند دهه گذشته به‌عنوان جایگزینی مؤثر برای آنتی‌بیوتیک‌ها در صنعت خوراک طیور استفاده شده است.

این میکروارگانیسم‌ها می‌توانند بر میکروب‌های روده و هم‌چنین سلامتی و رفاه میزبان به‌روش‌های مختلفی از جمله حذف رقابتی باکتری‌های بیماری‌زا، پایین‌آمدن pH از طریق تخمیر اسید، ایجاد رقابت پیوسته در جذب مواد مغذی مخاطی، تولید باکتریوکسین‌ها، تحریک سیستم ایمنی مرتبط با روده، افزایش تولید اسیدهای چرب زنجیره کوتاه و تحریک لنفوسیت داخل اپیتلیالی مؤثر باشند (Ferket, 2011). به‌دلیل بالابردن تعادل و کیفیت میکرو فلور روده برای میزبان، استفاده از مکمل DFM در صنعت طیور مورد توجه قرار گرفته است، اما اثر این محصولات با توجه به‌روش تولید و کاربرد عملی آن‌ها متفاوت است. چندین پژوهش‌گر گزارش کردند که تغذیه DFM باعث بهبود عملکرد طیور شده است (Salim, 2013). فرض بر این است که سود بالقوه DFM به گونه‌های میکروبی، غلظت، تکنیک‌های تولید و شرایط نگهداری بستگی دارد. شواهدی وجود دارد که نشان می‌دهد عملکرد بهتر با استفاده از مخلوطی از میکروارگانیسم‌ها با گونه‌های مختلف به جای یک نوع منفرد میکروبی حاصل شده است (Lee, 2010). از جمله مکمل‌های DFM می‌توان به باکتری *Bacillus velezensis* و قارچ *Trichoderma* اشاره کرد که به‌عنوان پروبیوتیک (جایگزین آنتی‌بیوتیک خوراک) استفاده می‌شود که عملکرد تولید، کیفیت تخم‌مرغ، قابلیت هضم غذا و شاخص بیوشیمیایی پلاسما را در طیور بهبود می‌بخشند (Ye, 2020).

پژوهش‌های مختلف نشان دادند که قارچ تریکودرما (Sharma, 2017) و باکتری باسیلوس ونزنسیس (Ramlucken, 2020) توانایی تولید آنزیم زایلاناز را دارند و هر دو دارای اثرات پروبیوتیکی در پرندگان و سایر تک‌یاخته‌ها مانند انسان و ماهی هستند. افزودن ۱۵ گرم پری‌بیوتیک (تخمیر سبوس گندم با تریکودرما و مخلوط با ساکارومایسس سرویسیه) در کیلوگرم جیره، وزن و تولید تخم‌مرغ را افزایش داد؛ هم‌چنین ضریب تبدیل خوراک را بهبود بخشید (Jasim, 2018).

در بررسی تعیین سطح مکمل بهینه آنزیم زایلاناز تولیدی از قارچ تریکودرما بر عملکرد رشد، ابقاء ظاهری انرژی و مواد مغذی کل دستگاه[1]، مورفولوژی روده و غلظت اسیدهای چرب فرّار روده در جوجه‌های گوشتی، گزارش شد که با

1. Apparent total tract retention (ATTR) of energy and nutrients

افزایش زایلاناز جیره پاسخ خطی در افزایش وزن کلی و ضریب تبدیل خوراک مشاهده شد. هم‌چنین قابلیت هضم ظاهری کل ماده خشک، انرژی ناخالص، ضریب قابلیت هضم ظاهری روده‌ای نیتروژن و پلی‌ساکاریدهای غیر نشاسته‌ای محلول به‌صورت خطی با افزودن زایلاناز به جیره بهبود یافت. در پژوهشی لی و همکاران (۲۰۲۰) اثر باسیلوس ولزنسیز به‌عنوان جایگزین آنتی‌بیوتیک آویلامایسین بر عملکرد، بیوشیمی خون و شاخص‌های کیفیت تخم، مرغ‌های تخم‌گذار بررسی و گزارش کردند که درصد تولید و وزن تخم‌مرغ، خوراک مصرفی در تیمارهای حاوی باکتری نسبت به شاهد و آنتی‌بیوتیک بالاتر بود، هم‌چنین وزن زرده و پوسته و واحد هاو نیز در تیمار حاوی باسیلوس ولزنسیز بالاتر بود. بنابراین، هدف از این مطالعه تعیین اثرات میکروبی تغذیه مستقیم بر عملکرد، pH دستگاه گوارش، فراسنجه‌های خونی و جمعیت میکروبی روده باریک مرغ‌های تخم‌گذار تغذیه‌شده با رژیم غذایی مبتنی بر کنجاله گندم و سویا بود.

۳. روش‌شناسی پژوهش

این طرح در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه رازی به‌روش پرورش در قفس انجام گرفت. در مطالعه حاضر از ۲۴۰ قطعه مرغ تخم‌گذار های–لاین W-36 در سن ۵۴ تا ۶۲ هفتگی در قالب طرح کاملا تصادفی و در پنج تیمار، هشت تکرار و شش پرنده در هر کدام استفاده شد. تیمارها شامل ۱– تیمار شاهد جیره بر پایه ذرت و سویا، ۲– جیره بر پایه گندم بدون افزودنی میکروبی، ۳– جیره بر پایه گندم حاوی 1×10^{9} cfu/kg *B. velezensis*، ۴– جیره بر پایه گندم حاوی 1×10^{5} cfu/kg *Trichoderma*، ۵– جیره بر پایه گندم+ *Trichoderma* و *B. velezensis* است. *Trichoderma* (RUP15) و *B. velezensis* (RUB23) مورد استفاده از کلکسیون میکروبی گروه گیاهپزشکی دانشکده کشاورزی رازی تهیه گردید. گندم مورداستفاده در جیره‌ها رقم سرداری بود. همه جیره‌های غذایی مطابق با راهنمای پرورش سویه (۲۰۱۵) فرموله شدند (جدول ۱). خوراک، به شکل مش و آب برای مصرف آزاد ارائه شد. نور به‌مدت ۱۶ ساعت در روز ارائه و دمای سالن پرورش در طول آزمایش در ۴±۲۳ درجه سانتی‌گراد حفظ شد.

در طول دوره آزمایش، میزان تولید و وزن تخم‌مرغ‌ها برای محاسبه درصد تولید و توده تخم‌م بطور روزانه با ترازوی دیجیتال توزین و مصرف خوراک به‌صورت هفتگی برای محاسبه ضریب تبدیل خوراک ثبت شد. در انتهای آزمایش، برای بررسی برخی از متابولیت‌های سرم شامل تری‌گلیسرید، کلسترول کل، کلسترول LDL و کلسترول HDL از هر تکرار دو پرنده انتخاب و از ورید بال آن‌ها خونگیری و با استفاده از کیت‌های آزمایشگاهی مناسب (زیست شیمی) اندازه‌گیری شدند (Friedewald, 1972). در پایان دوره آزمایشی، دو مرغ تخم‌گذار از هر تکرار به‌طور تصادفی انتخاب و سپس با دوز بیش از حد پنتوباربیتال (۱/۵ میلی‌لیتر بر کیلوگرم) معدوم شدند. pH قسمت‌های مختلف دستگاه گوارش با استفاده از pHمتر دیجیتال (Corning Glass Works, Medfield, MA) اندازه‌گیری شد. نوک ظریف الکترود شیشه‌ای استریل شد و به‌آرامی در هر بخش وارد شد و pH دو بار ثبت شد (Pang & Applegate, 2007) . برای ارزیابی آماری داده‌ها از میانگین دو اندازه‌گیری استفاده شد.

برای اندازه‌گیری جمعیت میکروبی، یک گرم از محتویات ایلئوم و روده کور با نمک بافر فسفات با استفاده از هموژنایزر همگن شده و تا ۱۰ برابر رقیق شد. سری رقت متوالی از 10^{-1} تا 10^{-8} در بافر فسفات سالین تهیه گردید. ۰/۱ میلی‌لیتر از سه رقت آخر به‌ترتیب در محیط کشت‌های ام. آر. اس آگار، کی. اف. آگار و مک کانکی آگار کشت شدند. این پلیت‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲۴ ساعت انکوبه شدند. تعداد زنده میکرو فلورا با روش Wang & Kim (2011) شمارش شد. نتایج به‌صورت لگاریتم ۱۰ واحد تشکیل‌دهنده کلنی (cfu) در هر گرم محتویات ایلئوم یا سکوم بیان شد.

جدول ۱. مواد خوراکی ئو ترکیب شیمیایی جیره‌های آزمایش (درصد، برحسب ماده موجود)

ماده خوراکی	پایه ذرت	پایه گندم
ذرت	۵۹/۷۳	–
کنجاله سویا	۲۴/۱۷	۱۲/۰۰
گندم	۰	۷۲/۶۰
روغن سویا	۲/۸۹	۲/۱۸
دی‌کلسیم فسفات	۱/۹۷	۱/۹۳
پودر صدف	۵/۱۹	۵/۲۵
کربنات کلسیم	۵/۰	۵/۰
نمک	۰/۱۹	۰/۱۶
جوش شیرین	۰/۲	۰/۱۴
مکمل معدنی[۱]	۰/۲۵	۰/۲۵
مکمل ویتامینی[۲]	۰/۲۵	۰/۲۵
دی–ال متیونین	۰/۱۵	۰/۱۰
لیزین	۰	۰/۱۵
کل	۱۰۰	۱۰۰
ترکیب شیمیایی (محاسبه‌شده)		
انرژی قابل متابولیسم (کیلوکالری بر کیلوگرم)	۲۸۰۰	۲۸۰۰
پروتئین خام (درصد)	۱۵/۲۷	۱۵/۲
فیبر خام (درصد)	۲/۱۷	۲/۸۲
کلسیم (درصد)	۴/۴	۴/۴
فسفر قابل‌دسترس (درصد)	۰/۴۵	۰/۴۵
سدیم (درصد)	۰/۱۵	۰/۱۵
لیزین قابل هضم (درصد)	۰/۷۵	۰/۷۱
متیونین قابل هضم (درصد)	۰/۳۷	۰/۳۵
ترئونین قابل هضم (درصد)	۰/۵۲	۰/۵۵

۱. تأمین‌شده در هر کیلوگرم خوراک مکمل معدنی: ۷۰ میلی‌گرم منگنز (اکسید)، ۶۰ میلی‌گرم روی (اکسید)، ۶۰ میلی‌گرم آهن (سولفات)، ۸ میلی‌گرم مس (سولفات)، ۱/۱ میلی‌گرم ید (کلسیم یدات)، ۰/۱۵ میلی‌گرم کبالت و ۰/۲۵ میلی‌گرم سلنیوم است.

۲. هر کیلوگرم مکمل ویتامینی در هر کیلوگرم خوراک: ۱۰۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین A، ۲۵۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین D_3، ۲۰ واحد بین‌المللی ویتامین E، ۳ میلی‌گرم ویتامین k_3، ۲ میلی‌گرم تیامین، ۵ میلی‌گرم ریبوفلاوین، ۱۲ میلی‌گرم اسیدپانتوتنیک، ۴۰ میلی‌گرم نیاسین، ۵۲۰۰ میلی‌گرم کولین کلراید، ۵ میلی‌گرم پیرودوکسین، ۰/۰۱۵ میلی‌گرم کوبالامین، ۰/۰۵ گرم بیوتین، ۴۰۰ میلی‌گرم کولین کلراید، ۰/۷۵ میلی‌گرم اسید فولیک است.

داده‌های حاصل با استفاده از رویه GLM نرم‌افزار آماری SAS (نسخه۹/۱) برای رابطه (۱) تجزیه و میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح معنی‌داری پنج درصد مقایسه شدند.

رابطه ۱) $$Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij}$$

که در این رابطه، Y_{ij}، برابر مقدار هر مشاهده؛ μ، میانگین مشاهدات؛ T_i، اثر تیمار و e_{ij}، خطای آزمایشی است.

۴. یافته‌های پژوهش و بحث

اثر تیمارهای آزمایشی بر عملکرد تخم‌گذاری در جدول آورده شده است وزن تخم‌مرغ در تیمار شاهد نسبت به تیمار حاوی گندم بالاتر بود، هم‌چنین تیمار جیره بر پایه گندم+ *B. velezensis + Trichoderma* نسبت به تیمارهای دیگر وزن تخم‌مرغ بالاتر داشت ($P<۰/۰۵$). تیمار جیره بر پایه گندم+ *Trichoderma* نسبت به تیمارهای جیره بر پایه گندم و تیمار جیره بر پایه گندم+ *B. velezensis* وزن تخم‌مرغ بالاتری داشت. تیمار شاهد، تیمار حاوی گندم و تیمار حاوی باکتری *B. velezensis*

مصرف خوراک یکسانی داشتند، اما تیمار شاهد نسبت به تیمارهای تیمار جیره بر پایه گندم+ *Trichoderma* و جیره بر پایه گندم *B.velezensis + Trichoderma* مصرف خوراک روزانه بیش‌تری داشتند. هم‌چنین تیمار حاوی قارچ *Trichoderma* نسبت به تیمارهای دیگر (به جز تیمار ۵) مصرف خوراک روزانه کم‌تری داشت (P<۰/۰۵). میزان تولید تخم‌مرغ در تیمار جیره بر پایه گندم نسبت به شاهد کم‌تر بود (P<۰/۰۵)، اما تفاوت معنی‌داری بین شاهد و تیمارهای دریافت‌کننده میکروارگانیسم‌ها مشاهده نشد. توده تخم‌مرغ در تیمار شاهد نسبت به تیمار جیره بر پایه گندم بالاتر بود، اما با تیمارهای حاوی میکروارگانیسم‌ها تفاوتی نداشت. تیمارهای حاوی میکروارگانیسم‌ها نسبت به تیمار ۲ توده تخم‌مرغ بیش‌تری داشتند (P<۰/۰۵). بین تیمارهای حاوی باکتری *B. velezensis* و قارچ *Trichoderma* از نظر تولید تخم‌مرغ تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. تیمار جیره بر پایه گندم نسبت به تیمارهای دیگر ضریب تبدیل خوراک بالاتری را داشت (P<۰/۰۵)، اما تیمارهای حاوی میکروارگانیسم‌ها با تیمار شاهد تفاوت معنی‌داری نداشتند. هم‌چنین تیمار حاوی باکتری *B. velezensis* نسبت به تیمار حاوی قارچ *Trichoderma* ضریب تبدیل خوراک بالاتری داشت. بهبود عملکرد ناشی از استفاده میکروارگانیسم‌ها در جیره مرغ‌های تخم‌گذار توسط تعدادی از پژوهش‌گران (ژانگ، ۲۰۱۲؛ لی، ۲۰۱۶؛ Bozkurt، ۲۰۰۹) گزارش شده است که با نتایج پژوهش حاضر هم‌راستا می‌باشد. این پژوهش‌گران اعلام کردند که پروبیوتیک‌های بر پایه باسیلوس‌ها به‌دلیل افزایش کارایی جذب و استفاده از مواد مغذی به‌ویژه افزایش تولید آنزیم‌های برون زا تأثیر مثبتی بر وزن و توده تخم‌مرغ دارند. با توجه به نتایج عملکردی به‌نظر می‌رسد که اثر متقابل افزودن باکتری *B. velsensis* و قارچ *Trichoderma* در بهبود عملکرد نسبت به افزودن جداگانه مثبت بوده است. مطالعات متعدد نشان داده است که افزودن باسیلوس‌ها به جیره مرغ‌های تخم‌گذار می‌تواند به‌طور قابل‌توجهی نرخ تولید و میانگین وزن تخم‌مرغ را افزایش و ضریب تبدیل خوراک را کاهش دهد (Zhang, 2012; Guo, 2017).

برخی آزمایش‌ها (Hadorn & Wiedmer, 2001) از افزایش مصرف خوراک در اثر افزودن قارچ *Trichoderma* به جیره گزارش کردند که نتایج آن‌ها نشان داد که بیش‌ترین مصرف خوراک در کل دوره مربوط به تیمار حاوی قارچ *Trichoderma* بود. مصرف مکمل آنزیمی حاصل از قارچ *Trichoderma* در جیره به‌دلیل بهبود شرایط فیزیکوشیمیایی محتویات روده (کاهش چسبندگی دستگاه گوارش) و افزایش سرعت عبور مواد هضمی، اشتها را بهبود می‌بخشد و مصرف خوراک را افزایش می‌دهد (Hadorn & Wiedmer, 2001; Tasirnafas *et al*., 2020). هم‌چنین افزایش وزن تخم مرغ با افزودن *B. velezensis* و *Trichoderma asperellum* می‌تواند به‌دلیل افزایش دریافت پروتئین به‌دلیل بهبود قابلیت هضم پروتئین باشد (Omwango, 2013). در این پژوهش بهبود مشاهده‌شده در عملکرد می‌تواند ارتباطی با تغییرات pH دستگاه گوارش ناشی از افزودنی میکروبی و تغییر در جمعیت باکتری‌ها داشته باشد.

جدول ۲. اثر باکتری باسیلوس ولزنسیس و قارچ تریکودرما بر صفات عملکرد تولیدی مرغ‌های تخم‌گذار در کل دوره پرورش (از سن ۵۴ تا ۶۲ هفتگی)

تیمار	وزن تخم‌مرغ (گرم)	مصرف خوراک (گرم/روز)	درصد تولید (درصد)	توده تخم‌مرغ (گرم/روز)	ضریب تبدیل غذایی
شاهد	۶۲/۶۱^{bc}	۱۱۰/۶۷^{a}	۸۶/۹۱^{a}	۵۴/۳۰^{ab}	۲/۰۴^{bc}
جیره بر پایه گندم	۶۱/۶۱^{d}	۱۱۰/۱۸^{ab}	۸۲/۹۷^{b}	۵۱/۲۴^{c}	۲/۱۵^{a}
جیره بر پایه گندم+ *B. velezensis*	۶۲/۳۶^{c}	۱۱۰/۱۲ ^{ab}	۸۶/۱۳^{a}	۵۳/۷۲^{b}	۲/۰۵^{b}
جیره بر پایه گندم+ Trichoderma	۶۲/۶۷^{b}	۱۰۹/۱۰^{c}	۸۶/۵۳^{a}	۵۴/۲۹^{ab}	۲/۰۱^{c}
جیره بر پایه گندم+ Trichoderma + *B. velezensis*	۶۳/۰۵^{a}	۱۰۹/۶۶^{bc}	۸۶/۷۴^{a}	۵۴/۶۶^{a}	۲/۰۱^{c}
SEM	۰/۰۹۷۲	۰/۳۱۳۱	۰/۴۲۳۲	۰/۲۹۳۷	۰/۰۱۰۷
P-value	۰/۰۰۵۴	۰/۰۰۰۵	۰/۰۰۰۲	۰/۰۰۰۵	۰/۰۰۵۱

a-b تفاوت میانگین‌ها در هر ستون با حروف نامشابه معنی‌دار است (P ≤ ۰/۰۵).

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها.

اثر خوراندن میکروارگانیسم بر pH چینه‌دان، پیش معده و سنگدان بی‌تأثیر بود، اما بر بخش‌های دیگر دستگاه گوارش اثر معنی‌داری داشت (جدول ۳). بین تیمارهای شاهد و دو تفاوتی در میزان pH مشاهده نشد، اما کم‌ترین pH در دوازدهه در تیمار جیره بر پایه گندم+ Trichoderma مشاهده گردید (P<۰/۰۵). هم‌چنین pH در دوازدهه بین تیمارهای حاوی باکتری *B. velsensis* و قارچ *Trichoderma* متفاوت نبود. از نظر pH ژژنوم بین تیمارهای شاهد و تیمار جیره بر پایه گندم اختلافی مشاهده نشد، اما نسبت به تیمارهای حاوی میکروارگانیسم‌ها، pH بالاتری داشتند (P<۰/۰۵). تیمار شاهد pH ایلئوم بیش‌تری نسبت به تیمار جیره بر پایه گندم داشت و کم‌ترین pH ایلئوم در تیمارهای حاوی میکروارگانیسم‌ها مشاهده گردید (P<۰/۰۵). از نظر pH ایلئوم بین تیمارهای حاوی باکتری *B. velsensis* و قارچ *Trichoderma* متفاوتی مشاهده نشد. بیش‌ترین pH در روده کور در تیمار شاهد مشاهده گردید، اما بین تیمار جیره بر پایه گندم و تیمارهای حاوی افزودنی‌ها تفاوتی وجود نداشت. pH روده کور در تیمارهای حاوی میکروارگانیسم‌ها نسبت به یکدیگر و هم‌چنین نسبت به تیمار حاوی گندم اختلاف معنی‌داری نداشتند. در مطالعه حاضر مقادیر pH در دوازدهه، ژژونوم، ایلئوم و روده کور نسبت به تیمار شاهد کاهش یافت، اما تفاوت در چینه‌دان، پیش معده و سنگدان ناچیز بود. در مقابل، میرزایی (۲۰۱۲) گزارش دادند که مقادیر pH بخش‌های مختلف روده تحت تأثیر جیره‌های حاوی پروبیوتیک قرار نگرفت. پروبیوتیک‌ها خود به‌عنوان خوراک برای میکرو فلور روده عمل می‌کنند و سرعت تخمیر را تحریک کرده که باعث افزایش تولید اسیدهای چرب با زنجیره کوتاه (مانند استات، پروپیونات و بوتیرات) و اسید لاکتیک و کاهش pH مجرا روده می‌شود (وانگ، ۲۰۲۱). برخی از پژوهش‌گران گزارش کردند که pH سنگدان و روده کور با جیره‌های مبتنی بر گندم به‌دلیل تغییر در تخمیر توسط میکرو فلور کاهش می‌یابد (Engberg, 2004). از اثرات کاهش pH در دستگاه گوارش، مهار رقابت باکتری‌های روده با میزبان برای مواد مغذی موجود و کاهش آمونیاک و در نتیجه بهبود افزایش وزن حیوانات میزبان است (Singh, 2019). با این‌حال، یکی از فرضیات این است که مکمل‌های *B. velezensis* و *Trichoderma* به‌دلیل بهبود سلامت روده و جذب بهتر مواد مغذی به‌ویژه کلسیم و فسفر باعث افزایش کیفیت تخم‌مرغ می‌شوند. افزودن پروبیوتیک باعث افزایش تعداد بیفیدوباکتری‌ها و لاکتوباسیلوس‌ها، کاهش pH مدفوع و اختلال در عملکرد آنزیم‌های باکتری مضر در شرایط خاص می‌شود (Karimi, 2022). افزودن باکتری‌های مفید به‌عنوان پروبیوتیک‌ها و الیگوساکاریدهای غیرقابل هضم، pH دستگاه گوارش را کاهش داد و محیط زیست سالمونلا را مختل کرد که pH مطلوب آن‌ها حدود هفت بود و در نتیجه عملکرد، ضریب تبدیل خوراک و سرعت رشد را در پرندگان بهبود بخشید (Shalaei, 2014) که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد. سطح pH در یک ناحیه از دستگاه گوارش عامل مهمی برای افزایش جمعیت میکروبی خاص را تشکیل می‌دهد که می‌تواند روی قابلیت هضم و مقدار جذب مواد مغذی اثرگذار باشد. بیش‌تر باکتری‌های بیماریزا در pH نزدیک به هفت یا کمی بالاتر رشد می‌کنند، درحالی‌که میکروارگانیسم‌های مفید در pH اسیدی رشد کرده و با باکتری‌های بیماریزا رقابت می‌کنند (Ferd, 1974).

جدول ۳. اثر باکتری باسیلوس ولزنسیس و قارچ تریکودرما بر pH دستگاه گوارش مرغ‌های تخم‌گذار تغذیه‌شده با جیره غذایی بر پایه گندم– کنجاله سویا در کل پرورش (از سن ۵۴ تا ۶۲ هفتگی)

تیمار	چینه‌دان	پیش معده	سنگدان	دوازدهه	ژژنوم	ایلئوم	روده کور
شاهد	۵/۸۴	۵/۵۱	۴/۷۷	۵/۶۸^{a}	۵/۷۵^{a}	۶/۶۲^{a}	۶/۳۶^{a}
جیره بر پایه گندم	۵/۸۱	۵/۴۳	۴/۷۴	۵/۶۰^{a}	۵/۷۷^{a}	۶/۳۸^{b}	۶/۲۰^{b}
جیره بر پایه گندم+ *B. velezensis*	۵/۸۲	۵/۵۶	۴/۷۹	۵/۵۷^{a}	۵/۵۱^{c}	۵/۹۸^{c}	۶/۱۷^{b}
جیره بر پایه گندم+ *Trichoderma*	۵/۸۵	۵/۶۳	۴/۸۳	۵/۴۲^{b}	۵/۵۸^{bc}	۵/۹۵^{c}	۶/۱۹^{b}
جیره بر پایه گندم+ *Trichoderma* +*B. velezensis*	۵/۸۵	۵/۵۴	۴/۸۰	۵/۵۷^{a}	۵/۶۱^{b}	۵/۹۳^{c}	۶/۱۵^{b}
SEM	۰/۰۱۸۰	۰/۰۵۱۲	۰/۰۲۹۳	۰/۰۳۸۸	۰/۰۳۲۵	۰/۰۱۷۷	۰/۰۲۱۹
P-value	۰/۳۹۳۴	۰/۱۴۳۰	۰/۳۰۸۸	۰/۰۰۵۳	۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱

a-b: تفاوت میانگین‌ها در هر ستون با حروف نامشابه معنی‌دار است (P ≤ ۰/۰۵). SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها.

همان‌طورکه در جدول (۴) مشاهده می‌گردد تیمارهای شاهد و دو پروتئین و آلبومین پلاسما یکسانی داشتند، تیمارهای حاوی میکروارگانیسم‌ها از نظر پروتئین با یکدیگر اختلاف معنی‌داری نداشتند، اما نسبت به تیمار شاهد و دو میزان پروتئین بالاتری داشتند (P<۰/۰۵). تیمارهای شاهد و دو بیش‌ترین سطح کلسترول را نسبت به تیمارهای دیگر داشتند (P<۰/۰۵)، تیمار حاوی باکتری *B. velsensis* و قارچ *Trichoderma* نسبت به تیمار حاوی باکتری *B. velsensis* کلسترول کم‌تری داشتند. تیمارهای حاوی میکروارگانیسم‌ها نسبت به تیمار شاهد دو تری‌گلیسرید کم‌تری داشتند، اما بین تیمارهای حاوی باکتری *B.velsensis* و قارچ *Trichoderma* تفاوت معنی‌داری مشاهده نگردید. کلسیم پلاسما در تیمار شاهد نسبت به تیمار جیره بر پایه گندم کاهش یافت (P<۰/۰۵)، تیمارهای حاوی میکروارگانیسم‌ها نسبت به تیمار شاهد کلسیم پلاسما را افزایش دادند (P<۰/۰۵)، تیمارهای حاوی باکتری *B. velsensis* و قارچ *Trichoderma* کلسیم یکسانی داشتند، اما نسبت به تیمار جیره بر پایه گندم + *B. velezensis* + *Trichoderma* (مخلوط باکتری *B. velsensis* و قارچ *Trichoderma*) سطح کلسیم کم‌تری داشتند. تیمار گندم نسبت به تیمارهای دیگر پایین‌ترین سطح فسفر پلاسما را داشت (P<۰/۰۵)، تیمارهای حاوی میکروارگانیسم‌ها نسبت به تیمار شاهد و دو فسفر بالاتری را داشتند، اما از این با یکدیگر اختلافی نداشتند. اثر تیمارها بر گلوبولین پلاسما معنی‌دار نبود. سطح LDL پلاسما در تیمارهای حاوی میکروارگانیسم یکسان بود، اما نسبت به تیمارهای یک و دو پایین‌تر بود (P<۰/۰۵). مقدار HDL تیمار شاهد نسبت به تیمار جیره بر پایه گندم بیش‌تر بود، اما تیمارهای حاوی میکروارگانیسم‌ها HDL بالاتری نسبت به تیمارهای دیگر داشتند (P<۰/۰۵). مکانیسم پیشنهادی برای کاهش سطح تری‌گلیسرید و کلسترول پلاسما در پژوهش حاضر این است که باسیلوس سوبتلیس از بازجذب نمک‌های صفراوی از انتهای روده جلوگیری می‌کند که می‌تواند منجر به کاهش بازجذب کلسترول‌ها گردد. هم‌چنین این میکروارگانیسم‌ها توانایی سنتز آنزیم‌های استراز و لیپاز هستند که باعث کاتابولیسم تری‌گلیسریدها در بافت‌های مختلف از جمله کبد می‌شوند (Panda, 2000). به‌طورکلی استفاده از پروبیوتیک سبب افزایش تعداد باکتری‌های تجزیه‌کننده قند (ساکارولیتیک) نسبت به باکتری‌های تجزیه‌کننده پروتئین (پروتئولیتیک) می‌شود این امر تجزیه پروتئین‌ها را کاهش و میزان پروتئین کل سرم را افزایش داده و بهره‌وری جیره را بهبود می‌بخشد (نعمتی و همکاران، ۱۴۰۰). برداشت کلسترول توسط سلول‌های لاکتوباسیل و در نتیجه کاهش جذب آن از حفره گوارشی، دکنژوگه‌شدن اسیدهای صفراوی ناشی از فعالیت آنزیمی و ممانعت از فعالیت آنزیم هیدرواکسی متیل گلوتاریل کوآنزیم- آ، که در سنتز کلسترول نقش دارد از جمله مکانیسم‌های مؤثر در رابطه با کاهش سطح کلسترول سرم با استفاده از مصرف پروبیوتیک و پری‌بیوتیک بیان شده است (Fukushima & Nakano, 1995; Abdelqader *et al*., 2013). در مطالعه حاضر، تغذیه با *B. velezensis* و *Trichoderma* می‌تواند کلسیم و فسفر پلاسما را در مقایسه با سایر تیمارها افزایش دهد، که می‌توان این گونه تفسیر کرد که پروبیوتیک‌ها باعث افزایش سرعت تخمیر و کاهش pH روده می‌شوند که این منجر به جذب بهتر کلسیم و فسفر از روده می‌شود (Scholz-Ahrens *et al*., 2007).

جدول ٤. اثر باکتری باسیلوس ولزنسیس و قارچ تریکودرما بر مؤلفه‌های خونی مرغ‌های تخم‌گذار تغذیه‌شده با جیره غذایی بر پایه گندم- کنجاله سویا

تیمار	پروتئین[1]	آلبومین[1]	کلسترول[2]	تری‌گلیسرید[2]	کلسیم[2]	فسفر[2]	گلوبولین	LDL[2]	HDL[2]
شاهد	۵/۵۱^{c}	۲/۳۳^{c}	۱۴۶/۴۲^{a}	۱۸۷۷/۸۰^{a}	۲۵/۱۵^{d}	۵/۳۲^{b}	۱۸۰/۷۷	۲۷۹/۶۶^{a}	۵۰/۵۲^{b}
جیره بر پایه گندم	۵/۴۸^{c}	۲/۳۵^{c}	۱۵۰/۲۵^{a}	۱۸۹۱/۹۳^{a}	۲۶/۰۱^{c}	۴/۲۱^{c}	۱۷۴/۹۵	۲۷۵/۹۹^{a}	۴۷/۸۵^{c}
جیره بر پایه گندم + *B.velezensis*	۶/۲۷^{b}	۲/۷۳^{ab}	۱۳۶/۳۰^{b}	۱۴۵۳/۳۵^{b}	۲۷/۰۳^{ab}	۶/۲۱^{a}	۱۷۲/۴۰	۲۰۶/۱۰^{b}	۵۱/۷۲^{a}
جیره بر پایه گندم + *Trichoderma*	۶/۳۹^{ab}	۲/۶۸^{b}	۱۳۰/۶۰^{bc}	۱۴۵۱/۹۵^{b}	۲۶/۵۵^{bc}	۶/۲۸^{a}	۱۷۶/۲۲	۲۱۱/۹۷^{b}	۵۲/۱۷^{a}
جیره بر پایه گندم +*Trichoderma+ B.velezensis*	۶/۵۳^{a}	۲/۸۱^{a}	۱۲۷/۳^{c}	۱۴۳۱/۱۰^{b}	۲۷/۴۱^{a}	۶/۳۸^{a}	۱۷۷/۲۵	۲۱۱/۱۷^{b}	۵۲/۳۲^{a}
SEM	۰/۰۷۰۲	۰/۰۳۱۴	۱/۹۸۸۰	۴۲/۷۹	۰/۱۸۲۲	۰/۱۰۳۷	۳/۵۵۸۲	۷/۹۶۵۷	۰/۳۸۹۴
P-value	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	۰/۵۷۳۴	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱

a-b: تفاوت میانگین‌ها در هر ستون با حروف نامشابه معنی‌دار است (P ≤ ۰/۰۵). SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها.
۱. گرم بر دسی لیتر، ۲. میلی‌گرم بر دسی‌لیتر.

اختلاف معنی‌داری از نظر جمعیت لاکتوباسیل بین تیمارهای شاهد و دو مشاهده نشد (جدول ۵)، اما جمعیت لاکتوباسیل در تیمار جیره بر پایه گندم+ *B. velezensis* + *Trichoderma* نسبت به سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری داشت. در تیمار جیره بر پایه گندم نسبت به تیمارهای دیگر جمعیت اشرشیاکلی افزایش یافت، اما در تیمارهای حاوی میکروارگانیسم کاهش یافت (P<۰/۰۵). از نظر جمعیت سالمونلا تفاوتی بین تیمارهای شاهد و دو مشاهده نشد، افزودن میکروارگانیسم به جیره باعث کاهش جمعیت سالمونلا شد (P<۰/۰۵). جمعیت کل میکروبی تیمار شاهد با تیمارهای جیره بر پایه گندم و تیمار جیره بر پایه گندم+ *B. velezensis* تفاوتی نداشت، اما تیمارهای جیره بر پایه گندم+ *Trichoderma* و تیمار جیره بر پایه گندم+ *B. velezensis* + *Trichoderma* جمعیت کل میکروبی را نسبت به تیمارهای دیگر کاهش دادند (P<۰/۰۵).

جدول ۵. اثر باکتری باسیلوس ولزنسیس و قارچ تریکودرما بر جمعیت میکروبی ایلئوسکال مرغ‌های تخم‌گذار تغذیه‌شده با جیره غذایی بر پایه گندم– کنجاله سویا (log ۱۰ cfu/g)

تیمار	لاکتوباسیل	اشرشیاکلی	سالمونلا	کل میکروبی
شاهد	۷/۰۳^{d}	۵/۱۲^{b}	۳/۲۴^{a}	۵/۴۱^{ab}
جیره بر پایه گندم	۶/۸۸^{d}	۵/۳۷^{a}	۳/۴۰^{a}	۵/۵۶^{a}
جیره بر پایه گندم + *B. velezensis*	۷/۴۰^{c}	۴/۸۷^{c}	۲/۴۷^{b}	۵/۲۲^{bc}
جیره بر پایه گندم + *Trichoderma*	۷/۶۲^{b}	۴/۶۹^{c}	۲/۲۸^{b}	۵/۱۹^{c}
جیره بر پایه گندم +*Trichoderma* + *B. velezensis*	۸/۰۹^{a}	۴/۸۰^{c}	۲/۴۸^{b}	۵/۰۷^{c}
SEM	۰/۰۵۸۵	۰/۰۸۱۲	۰/۰۶۹۰	۰/۰۷۰۳
P-value	<۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۲	<۰۰۰۱	۰/۰۰۱۳

a-b: تفاوت میانگین‌ها در هر ستون با حروف نامشابه معنی‌دار است (P ≤ ۰/۰۵).
SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها.

مطالعه حاضر اثرات مفید *B. velezensis* و *Trichoderma* را بر بهبود تعادل میکرو فلور روده مرغ‌های تخم‌گذار مسن تأیید کرد. این اثرات مفید به‌طور مستقیم با کاهش کل میکروب‌ها، اشریشیا کلی و سالمونلا و افزایش باکتری‌های اسید لاکتیک روده کور مرتبط بود. افزودن *B. subtilis* به‌طور مداوم در طیور اکوسیستم روده را به سمت باکتری‌های مفید بهبود داد و رشد و سلامت دستگاه گوارش را افزایش داد (Gaggìa *et al*., 2010). هم‌چنین، اصلاح ترکیب میکرو فلور روده با افزایش رشد میکرو فلور مفید (مانند باکتری‌های اسیدلاکتیک) و مهار رشد سالمونلا، اشرشیاکلی و کلستریدیوم پرفرنجنس از اثرات مفید میکروب‌های تغذیه مستقیم است (Upadhaya *et al*., 2019). مطالعه حاضر تأیید کرد که *B. velezensis* و *Trichoderma* باعث افزایش کلونیزاسیون باکتری‌های مفید (مانند لاکتوباسیلوس) و کاهش کلونیزاسیون باکتری‌های روده‌ای (مانند اشریشیا کلی و سالمونلا) شدند. حفظ روده سالم توسط پروبیوتیک‌ها و پری‌بیوتیک‌ها باعث بهبود توانایی پرندگان برای غلبه بر بیماری و افزایش عملکرد آن‌ها می‌شود (Chen & Nakthong, 2005; Gaggìa *et al*., 2010). بیش‌ترین تعداد باکتری‌های هوازی، لاکتوباسیل‌ها، باکتری‌های بی‌هوازی و *E. coli* مربوط به *Trichoderma reesei* بود (Tasirnafas Karimi *et al*., 2020).

۵. نتیجه‌گیری و پیشنهادها

براساس نتایج حاصل از این پژوهش افزودن *B. velezensis* و *Trichoderma* به جیره غذایی بر پایه گندم در مرغ‌های تخم‌گذار، اثرات منفی NSP موجود در گندم را کاهش داده و باعث بهبود عملکرد، کاهش pH روده باریک، بهبود پارامترهای خونی و

کاهش جمعیت باکتری اشرشیاکلی روده باریک شد. در مجموع می‌توان نتیجه گرفت با افزودن *B. velezensis* و *Trichoderma* به جیره مرغ‌های تخم‌گذار گندم را می‌توان جایگزین ذرت کرد.

۶. تشکر و قدردانی

از مدیریت محترم معاونت پژوهشی دانشگاه رازی و از مدیریت محترم مجتمع پرورش‌مرغ تخم‌گذار دانشکده کشاورزی دانشگاه رازی،کرمانشاه به‌خاطر فراهم‌نمودن امکانات مزرعه ای و هم‌چنین از کلیه دوستانی که در انجام این کار تحقیقاتی به‌خاطر همکاری و همراهی، تشکر و قدردانی می‌گردد.

۷. تعارض منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان وجود ندارد.

۸. منابع

نعمتی، محمدحسین؛ حاجی‌لو، مصطفی؛ حسینی، سید عبداله و موسوی سیدسعید (۱۴۰۰). مقایسه اثر پروبیوتیک بیوپلاس B2 و پری‌بیوتیک گالاکتوالیگوساکارید بر عملکرد، کیفیت تخم‌مرغ تولیدی و برخی فراسنجه‌های خونی مرغ‌های تخم‌گذار تجاری. تولیدات دامی، ۲۳(۴)، ۵۰۱-۵۱۴.

References

Abdelqader, A., Irshaid, R., & Al-Fataftah, A. R. (2013). Effects of dietary probiotic inclusion on performance, eggshell quality, cecal microflora composition, and tibia traits of laying hens in the late phase of production. *Tropical Animal Health And Production*, 45(4), 1017-1024. https://doi.org/10.1007/s11250-012-0326-7.

Bozkurt, M., Kucukyılmaz, K., Catlı, A.U., & Cınar, M. (2009). The effect of single or combined dietary supplementation of prebiotics, organic acid and probiotics on performance and slaughter characteristics of broilers. *South African Journal of Animal Science*, 39 (3), 302-304.

Chen, W., Wang, S., Xu, R., Xia, W., Ruan, D., Zhang, Y., & Zheng, C. (2021). Effects of dietary barley inclusion and glucanase supplementation on the production performance, egg quality and digestive functions in laying ducks. *Animal Nutrition*, 7(1), 176-184. https://doi.org/10.1016/j.aninu.2020.06.011.

Chen, Y.C., Nakthong, C., & Chen, T.C. (2005). Improvement of laying hen performance by dietary prebiotic chicory oligofructose and inulin. International Journal Poultry. Science, 4 103–108. https://10.3923/ijps.2005.103.108

CHOCT, M. (2015). Fibre-Chemistry and Functions in Poultry Nutrition. Paper presented at the LII Simposio Científico de Avicultura, Málaga, Spain, 29th Oct.

Engberg, R. M., Hedemann, M. S., Steenfeldt, S., & Jensen, B. B. (2004). Influence of whole wheat and xylanase on broiler performance and microbial composition and activity in the digestive tract. *Poultry Science*, 83(6), 925-938. https://doi.org/10.1093/ps/83.6.925.

Ferd, D.J. (1974). The effect of microflora on gastrointestinal pH in the chick. *Poultry Science*, 53, 115-131.

Ferket, P. R. (2011). Nutrition-disease interactions regarding gut health in chickens. In Proceeding 18th European Symposium on Poultry Nutrition. Cesme, Izmir, Turkey.

Fukushima, M., & Nakano, M. (1995). The effect of a probiotic on faecal and liver lipid classes in rats. *British Journal of Nutrition*, 73(5), 701-710. https://doi.org/10.1079/BJN19950074.

Fuller, R., & Gibson, G. R. (1998). Probiotics and prebiotics: microflora management for improved gut health. *Clinical Microbiology And Infection*, 4(9), 477-480.

Gaggìa, F., Mattarelli, P., & Biavati, B. (2010). Probiotics and prebiotics in animal feeding for safe food production. *International Journal Of Food Microbiology*, 141, S15-S28. https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.02.031.

Gao, X. Y., Liu, Y., Miao, L. L., Li, E. W., Sun, G. X., Liu, Y., & Liu, Z. P. (2017). Characterization and mechanism of anti-Aeromonas salmonicida activity of a marine probiotic strain, Bacillus velezensis V4. *Applied Microbiology And Biotechnology*, 101, 3759-3768.

Hadorn, R., & Wiedmer, H. (2001). Effect of an enzyme complex in a wheat-based diet on performance of male and female broilers. *Journal of Applied Poultry Research*, 10(4), 340-346.

Jasim, M.S. (2018). Use trichoderma harzianum and saccharomyces cerevisiae in Solid State Fermentation for Wheat Bran as Productive Performance Prebiotic of Layer Hens. *Iraqi Poultry Sciences Journal*, 12(2).

Karimi, A. (2022). Effect of Probiotics (direct-fed microbials) in poultry production: A Comprehensive Review. *Revista Electronica de Veterinaria*, 72-82. https://doi.org/10.3390/ani10101863.

Lee, K. W., Lee, S. H., Lillehoj, H. S., Li, G. X., Jang, S. I., Babu, U. S., ... & Siragusa, G. R. (2010). Effects of direct-fed microbials on growth performance, gut morphometry, and immune characteristics in broiler chickens. 10.3382/ps.2009-00418

Lee, S. H., Hosseindoust, A., Laxman Ingale, S., Rathi, P. C., Yoon, S. Y., Choi, J. W., & Kim, J. S. (2020). Thermostable xylanase derived from Trichoderma citrinoviride increases growth performance and non-starch polysaccharide degradation in broiler chickens. *British Poultry Science*, 61(1), 57-62. https://doi.org/10.1080/00071668.2019.1673316

Li, Y., Xu, Q., Huang, Z., Lv, L., Liu, X., Yin, C., Yan, H., & Yuan, J. (2016). Effect of Bacillus subtilis cgmcc 1.1086 on the growth performance and intestinal microbiota of broilers. *Journal Applied Microbiology*, 120(1), 195-204. https://doi.org/10.1111/jam.12972

Macfarlane, G. T., & Cummings, J. H. (2002). Probiotics, infection and immunity. *Current Opinion in Infectious Diseases*, 15(5), 501-506.

Mirzaie, S., Zaghari, M., Aminzadeh, S., Shivazad, M., & Mateos, G. G. (2012). Effects of wheat inclusion and xylanase supplementation of the diet on productive performance, nutrient retention, and endogenous intestinal enzyme activity of laying hens. *Poultry Science*, 91(2), 413-425. https://doi.org/10.3382/ps.2011-01686

Naderi Sahami Zamir, S., Mirzaie Goudarzi, S., Saki, A. A., & Zamani, P. (2021). Effect of different levels of canola meal and protease enzyme on performance, egg quality traits and nutrient digestibility in laying hens. *Animal Production Research*, 9(4), 33-45. https://10.22124/AR.2021.15020.1474

Nemati, M. H., Hajilo, M., Hosseini, S. A., & Mosavi, S. S. (2021). Comparison of the effect of Bioplus B2 probiotic and galacto oligosaccharide prebiotic on performance, egg quality and some blood parameters of commercial laying hens. *Animal Production*, 23(4), 549-559. (inPersian)

Nguyen, H. T., Wu, S. B., Bedford, M. R., Nguyen, X. H., & Morgan, N. K. (2021). Dietary soluble non-starch polysaccharide level and xylanase influence the gastrointestinal environment and nutrient utilisation in laying hens. *British Poultry Science*, 1-11. https://doi.org/10.1080/00071668.2021.2003754

Omwango, E. O., Njagi, E. N. M., Orinda, G. O., & Wanjau, R. N. (2013). Nutrient enrichment of pineapple waste using Aspergillus niger and Trichoderma viride by solid state fermentation. African *Journal of Biotechnology*, 12(43), 6193-6196.

Panda, A.K., Reddy, M.R., Rama Rao, S.V., Raju, M.V.L.N., and Paraharaj, N.K. (2000). Growth, carcass characteristics, immunocomponence and response to Escherchia coli of broiler fed diets with various level of probiotic. *Archive for Geflugel Customer*, 64, 152-156.

pang, Y., & Applegate, T. J. (2007). Effects of dietary copper sup-plementation and copper source on digesta pH, calcium, zinc, and copper complex size in the gastrointestinal tract of the broiler chicken. *Poultry Science*, 86, 531-537. https://doi.org/10.1093/ps/86.3.531.

Salim, H. M., Kang, H. K., Akter, N., Kim, D. W., Kim, J. H., Kim, M. J., ... & Kim, W. K. (2013). Supplementation of direct-fed microbials as an alternative to antibiotic on growth performance, immune response, cecal microbial population, and ileal morphology of broiler chickens. *Poultry Science*, 92(8), 2084-2090.

Scholz-Ahrens, K. E., Ade, P., Marten, B., Weber, P., Timm, W., Açil, Y., . & Schrezenmeir, J. (2007). Prebiotics, probiotics, and synbiotics affect mineral absorption, bone mineral content, and bone structure. *The Journal of Nutrition*, 137(3), 838S-846S. https://doi.org/10.1093/jn/137.3.838S

Shalaei, M., Hosseini, S. M., & Zergani, E. (2014). Effect of different supplements on eggshell quality, some characteristics of gastrointestinal tract and performance of laying hens. In Veterinary Research Forum. Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran.

Singh, Y., Molan, A. L., & Ravindran, V. (2019). Influence of the method of whole wheat inclusion on performance and caecal microbiota profile of broiler chickens. *Journal of Applied Animal Nutrition*. https://doi.org/10.1017/jan.2019.3

Statistical Analytical Systems. (2012). SAS 9.4 for Windows x64 Based Systems. SAS Institute Inc., Cary, NC 27513, USA.

Tasirnafas, M., Karimi, K., Asgari Jafarabadi, G., Seidavi, A., & Noorbakhsh, F. (2020). Extraction and purification of β-glucanase from bovine rumen fungus Trichoderma reesei and its effect on performance, carcass characteristics, microbial flora, plasma biochemical parameters, and immunity in a local broiler hybrid Golpayegan-Ross. *Tropical Animal Health and Production*, 52(4), 1833-1843. https://doi.org/10.1007/s11250-019-02186-5

Trichoderma and probiotics: scope for future research. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 100, 84-96. https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2017.07.005.

Upadhaya, S. D., Rudeaux, F., & Kim, I. H. (2019). Effects of inclusion of *Bacillus subtilis* (Gallipro) to energy-and protein-reduced diet on growth performance, nutrient digestibility, and meat quality and gas emission in broilers. *Poultry Science*, 98(5), 2169-2178.

Wang, J. P., & Kim, I. H. (2011). Effect of caprylic acid and Yucca schidigera extract on production performance, egg quality, blood characteristics, and excreta microflora in laying hens. *British poultry Science*, 52(6), 711-717. https://doi.org/10.1080/00071668.2011.635638

Wang, J. P., Lee, J. H., Yoo, J. S., Cho, J. H., Kim, H. J., & Kim, I. H. (2010). Effects of phenyllactic acid on growth performance, intestinal microbiota, relative organ weight, blood characteristics, and meat quality of broiler chicks. *Poultry Science*, 89(7), 1549-1555. https://doi.org/10.3382/ps.2009-00235

Ye, M., Wei, C., Khalid, A., Hu, Q., Yang, R., Dai, B., ... & Wang, Z. (2020). Effect of Bacillus velezensis to substitute in-feed antibiotics on the production, blood biochemistry and egg quality indices of laying hens. *BMC veterinary research*, 16, 1-8.

Ye, M., Wei, C., Khalid, A., Hu, Q., Yang, R., Dai, B., ... & Wang, Z. (2020). Effect of Bacillus velezensis to substitute in-feed antibiotics on the production, blood biochemistry and egg quality indices of laying hens. *BMC Veterinary Research*, 16(1), 1-8. https://doi.org/10.1186/s12917-020-02570-6.

Zhang, J.L., Xie, Q.M., Ji, J., Yang, W.H., Wu, Y.B., Li, C., & Bi, Y.Z. (2012). Different combinations of probiotics improve the production performance, egg quality, and immune response of layer hens. *Poultry Science*, 91(11), 2755-2760.