

بررسی تأثیر سین بیوتیک بر عملکرد، جمعیت میکروبی و بافت شناسی روده کوچک مرغ‌های تخم‌گذار در شرایط تنش گرمایی

• غلامرضا زابلی (نویسنده مسئول)^۱، عنایت رحمت نژاد^۲، ابراهیم شهرکی^۱

۱- استادیار پژوهشی پژوهشگاه دامهای خاص پژوهشگاه زابل

۲- استادیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه خلیج فارس، بوشهر، ایران

تاریخ دریافت: شهریور ۱۴۰۳ تاریخ پذیرش: آبان ۱۴۰۳

شماره تماس نویسنده مسئول: ۰۹۱۵۳۴۰۲۹۳۹

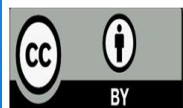
Email: Reza.zaboli@uoz.ac.ir

شناسه دیجیتال (DOI): 10.22092/ASJ.2024.366822.2414

چکیده

پژوهش حاضر به منظور ارزیابی اثرات سین بیوتیک بر عملکرد، صفات کیفی تخم مرغ، جمعیت میکروبی و ریخت سنجی روده کوچک مرغ‌های تخم‌گذار در شرایط تنش مزمن گرمایی و برآورد نقطه بهینه مصرف آن با استفاده از مدل سازی خط شکسته انجام شد. این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تیمار، چهار تکرار و نه قطعه مرغ در هر تکرار انجام شد. تیمارها شامل سطوح صفر (شاهد) ۰/۵، ۱ و ۱/۵ گرم در کیلوگرم سین بیوتیک بود که به جیره پایه اضافه شد. یافته‌ها نشان داد که افزودن سین بیوتیک، درصد تخم گذاری، توده تخم مرغ و وزن تخم مرغ را در ۴۲-۴۴ هفته‌گی و ۴۴-۴۶ هفته‌گی افزایش داد ($p < 0/05$). همچنین توده تخم مرغ و درصد تخم گذاری در همه گروه‌های دریافت کننده سین بیوتیک در مقایسه با شاهد، در کل دوره بیشتر بود ($p < 0/05$). کمترین و بیشترین مقدار توده تخم مرغ در کل دوره مربوط به گروه شاهد و گروه دریافت کننده ۰/۵ گرم سین بیوتیک بود (به ترتیب ۴۵/۸۸ و ۴۹/۶). شمار سالمونلا در گروه‌های ۰/۵، ۱ و ۱/۵ گرم سین بیوتیک در مقایسه با شاهد کمتر شد ($p < 0/05$). برآورد سطح بهینه در جیره بر اساس مدل سازی خط شکسته خطی و درجه دو برای درصد تخم گذاری به ترتیب ۰/۹۳ و ۱/۰۵ گرم سین بیوتیک در کیلوگرم جیره بود. در مجموع، استفاده از سین بیوتیک باعث بهبود وزن تخم مرغ، شاخص تولید و درصد تخم گذاری همراه با کاهش جمعیت سالمونلا شد و مقدار یک گرم در کیلوگرم برای شرایط تنش گرما توصیه می گردد.

واژه‌های کلیدی: تنش گرمایی مزمن، سین بیوتیک، عملکرد، مرغ تخم‌گذار.



Research Journal of Livestock Science No 148 pp: 77-92

Investigating the effects of synbiotic on the performance, microbial population, and histology of the small intestine in laying hens under heat stress conditionBy: Gholamreza Zaboli^{*1}, Enayat Rahmatnejad², Ebrahim shahrak¹

1: Research Assistant Professor, Institute of Special domestic animal, Research Institute of Zabol.

2: Department of Animal Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Persian Gulf University, Bushehr, 75169, Iran

Received: September 2024**Accepted: November 2024**

The present study was conducted to evaluate the effects of synbiotic on the performance, quality traits of eggs, intestinal microbial population, and intestinal morphology of laying hens under chronic heat stress and estimating its optimal point of synbiotic supplementation using broken line modeling. The experiment was conducted using a completely randomized design that included four treatments, four replications, and nine birds each. The results indicated that the addition of synbiotic increased the egg-laying percentage, egg mass, and egg weight during the 42-44 week and 44-46-week periods ($p < 0.05$). Likewise, the egg mass and egg laying percentage in all synbiotic-receiving groups were higher compared to the control group throughout the entire period. The lowest and highest egg mass values in the control group and the 0.5-gram additive group were 45.88 and 49.6, respectively, throughout the entire period. The number of Salmonella in the 0.5-, 1-, and 1.5-gram synbiotic -receiving groups decreased ($p < 0.05$). The optimal synbiotic was estimated through linear and quadratic broken line modeling to ascertain the percentage of egg laying, which corresponded to 0.93 and 1.05 grams per kilogram, respectively. Overall, the use of synbiotic improved performance along with the reduction of intestinal salmonella population, and the amount of 1 gram per kilogram is appropriate for heat stress conditions.

Key words: Chronic Heat stress, Laying hen, Performance, Synbiotic**مقدمه**

(۲۰۱۲). محدودیت خوراک‌دهی در ساعت‌های گرم روز، رهیافت‌های تغذیه‌ای، استفاده از تهویه، خنک‌کننده‌های تبخیری و تولید نژادهای مقاوم به تنش گرمایی، مانند پرندگان گردن لخت و کم پر، از جمله راه‌کارهای کاهش آثار زیان‌بار تنش گرمایی است (Yahav و همکاران، ۲۰۰۹؛ Sejian و همکاران، ۲۰۱۸). استفاده از ترکیبات پروبیوتیک، پری‌بیوتیک و سین‌بیوتیک در تنش گرمایی مورد اقبال قرار گرفته است (Lara و Rostagano، ۲۰۱۸). از سوی دیگر، استانداردهای بهداشت جهانی استفاده از آنتی‌بیوتیک را در جیره طیور ممنوع و ترکیبات جایگزینی مانند پروبیوتیک و پری‌بیوتیک را توصیه کرده است، که اثری همانند محرک‌های رشد آنتی‌بیوتیکی داشته و با مکانیسم‌هایی مانند حذف رقابتی باکتری‌های بیماری‌زا، تولید مواد باکتریواستاتیک و

تنش حرارتی از تهدیدهای اصلی رفاه و بازدهی اقتصادی طیور است. در دهه‌های اخیر پدیده گرم شدن کره زمین و تغییرات اقلیمی و از طرفی بهبود ظرفیت ژنتیکی سویه‌های جدید طیور، همراه با افزایش متابولیسم و تولید گرما بوده و از سوی دیگر موجب افزایش وقوع تنش‌های حرارتی و کاهش راندمان اقتصادی مزارع پرورشی شده است؛ پرندگان با داشتن سوخت‌وساز بالا، پوشش پر و نداشتن غدد عرق؛ حساسیت زیادی به تنش گرمایی دارند (Yahav، ۲۰۰۹). تنش گرمایی با تضعیف سیستم ایمنی و کاهش مقاومت پرند در برابر عوامل بیماری‌زا (Mohebifar و همکاران، ۲۰۱۳)، افزایش جمعیت میکروبی مضر، آسیب به پرزها و دیواره روده طیور، عملکرد تولید تخم‌مرغ را کاهش می‌دهد (Burkholder و همکاران، ۲۰۰۸؛ Yu و همکاران

نزدیک تر است (Pesti و همکاران، ۲۰۰۹). استفاده از سین-بیوتیک در شرایط تنش گرمایی توصیه شده و محققین نشان دادند که استفاده از این ترکیبات موجب بهبود عملکرد در جوجه‌های گوشتی گردیده است و سطح یک گرم در کیلو گرم سین بیوتیک را بعنوان سطح بهینه با استفاده از مقایسه میانگین‌ها توصیه کردند (Mohammad و همکاران ۲۰۱۹). از طرفی Sjöfan و همکاران (۲۰۲۰) سطح ۰/۸ گرم را در کیلو گرم توصیه کردند. با این حال براساس بررسی نگارندگان؛ پژوهشی برای ارزیابی اثر سین بیوتیک در شرایط تنش مزمن (الگوی دمایی ایران) و تعیین مقدار بهینه مصرف سین بیوتیک با استفاده از مدل سازی صورت پذیرفته است.

این پژوهش به منظور بررسی اثر سطوح مختلف سین بیوتیک بر عملکرد تولید تخم مرغ، صفات کیفیت تخم مرغ، جمعیت میکروبی ایلئوم، ریخت سنجی روده کوچک مرغ تخم گذار و همچنین برآورد نقطه بهینه استفاده از آن در جیره با استفاده از مدل سازی خط شکسته انجام شد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش با استفاده از ۱۴۴ قطعه مرغ تخم گذار لگهورن سویه های لاین (W³⁶) در سن ۴۰ هفته و میانگین وزنی 1470 ± 79 گرم در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تیمار و چهار تکرار و نه پرند در هر تکرار برای شش هفته انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل: ۱- گروه شاهد (سطح صفر سین بیوتیک پولتری استار) تغذیه شده با جیره پایه، ۲- جیره پایه + نیم گرم در کیلو گرم سین بیوتیک پولتری استار (۱۰^۶ واحد تشکیل دهنده کلنی/گرم)، ۳- جیره پایه + یک گرم در کیلو گرم سین بیوتیک پولتری استار (۱۰^۶*۲ واحد تشکیل دهنده کلنی/گرم)، ۴- جیره پایه + یک و نیم گرم در کیلو گرم سین بیوتیک پولتری استار (۱۰^۶*۳ واحد تشکیل دهنده کلنی/گرم). سین بیوتیک مورد استفاده در تحقیق حاضر با نام تجاری پولتری استار (PoultryStar meUS, BIOMIN America Inc., San Antonio, TX) حاوی مجموعه ای از باکتری های دستگاه گوارش (*Lactobacillus reuteri*; *Enterococcus faecium*;))

ضد باکتری در برابر عوامل بیماری زا؛ جمعیت میکروبی دستگاه گوارش را به سود میکروب های مفید تغییر می دهد (Jahromi و همکاران، ۲۰۱۶). سین بیوتیک ها شامل ترکیبی مناسبی از پروبیوتیک و پری بیوتیک است و دارای اثرات سودمند پروبیوتیک و پری بیوتیک به شکل همزمان برای بهبود سلامت حیوانات می باشد (Dunislawska و همکاران، ۲۰۱۷). سین-بیوتیک اثر هم افزای بالقوه ای برای تکثیر سویه های باکتری های مفید در روده بزرگ و همچنین بهبود بقا و رشد سویه های پروبیوتیک را دارد (Schrezenmeir و De Verse، ۲۰۰۱). افزودن سین بیوتیک (ترکیب پری مالاک و ایزومالتو الیگو ساکارید) در مرغ های تخم گذار با سن ۲۰ تا ۳۶ هفته باعث بهبود تولید و سلامتی (افزایش لنفوسیت ها) پرندگان گردید و از طرفی موجب افزایش اندازه تخم مرغ در مقایسه با شاهد گردید (Tang و همکاران، ۲۰۱۷). افزودن سین بیوتیک (ترکیب فروکتوالیگوساکارید و سویه *انتروکوکوس فاسیوم*) به جیره مرغ های تخم گذار موجب بهبود عملکرد شد (Radu-Rusu و همکاران، ۲۰۱۰). همچنین گزارش داده شد که ترکیب پری بیوتیک (اینولین) پروبیوتیک (باسیلوس سوبتیلیس) بعنوان سین بیوتیک؛ منجر به بهبود عملکرد تولید، کیفیت پوسته تخم مرغ و ترکیب جمعیت میکروبی مرغ ها تخم گذار شد (Abdelqader و همکاران، ۲۰۱۳). در تحقیقی افزودن سین بیوتیک به جیره مرغ های تخم گذار منجر به بهبود ضریب تبدیل غذایی و بهبود جمعیت میکروبی در جوجه های گوشتی شد (Mookiah، 2014). استفاده از سین بیوتیک در تغذیه مرغ های تخم گذار باعث کاهش هزینه تولید، بهبود عملکرد (مصرف خوراک، وزن تخم مرغ، ضریب تبدیل خوراک) و کیفیت تخم مرغ (حجم آلبومین، رنگ زرده تخم مرغ و کلسترول) شد (Sjöfan و همکاران، ۲۰۲۰). شیوه مدل سازی خط شکسته در برابر مقایسه میانگین ها برآورد دقیق تری از نقطه بهینه برآورد می نماید. همچنین شیوه محاسباتی برآورد نقطه بهینه از عوامل اثر گذار در دقت و میزان تخمین است برآورد مقدار مناسب به شیوه خط شکسته خطی^۱ (LBL) و درجه دو (QBL)^۲ دقیق تر و به حد واقعی

¹ Linear Broken Line

² Quadratic Broken line

(*Bifidobacterium; and Pediococcus acidilactici*)

و پری بیوتیک فروکتو-الیگوساکارید می باشد. قابل ذکر است پایداری و زنده ماندن استاندارد این سین بیوتیک بررسی و گزارش شده است (Murugesan and Persi، ۲۰۱۵؛ Mohammad

و همکاران ۲۰۱۸). دمای سالن بین ۱۶ تا ۱۸ درجه سلسیوس حفظ شد. برنامه نوردی در سالن شامل ۱۶ ساعت نور و هشت ساعت تاریکی بود. جیره های آزمایشی از ده روز قبل از آزمایش در اختیار پرندگان قرار داده شد.

جدول ۱. ترکیب و آنالیز جیره پایه

ذرت	۵۹/۱۳
کنجاله سویا	۲۲/۸۸
سنگ آهک	۱۱/۴
روغن گیاهی	۴/۰۴
دی ال_ متیونین	۰/۱۹
ال_ ترئونین	۰/۰۱
دی کلسیم فسفات	۱/۵۲
جوش شیرین	۰/۱۳
نمک طعام	۰/۳۲
مکمل ویتامینه	۰/۲۵
مکمل معدنی	۰/۲۵
مواد مغذی محاسبه شده (درصد)	
انرژی قابل متابولیسم (کیلو کالری به کیلو گرم)	۲۹۱۰
پروتئین خام	۱۵/۰۸
کلسیم	۴/۸
فسفر قابل دسترس	۰/۴۹
متیونین	۰/۳۹
لیزین	۰/۷۶
متیونین + سیستین	۰/۶۶
آرژنین	۰/۹۸
ترئونین	۰/۵۶
تریپتوفان	۰/۲۲

مکمل ویتامینی در هر کیلو گرم از خوراک مقادیر زیر را تامین می نماید: ویتامین A ۱۰۰۰ واحد بین المللی، ویتامین D₃ ۲۵۰۰ واحد بین المللی، ویتامین B₁ ۲/۲ میلی گرم، ویتامین B₂ ۴ میلی گرم، ویتامین D₃ ۸ میلی گرم، ویتامین B₁ ۲/۲ میلی گرم، ویتامین B₂ ۴ میلی گرم، ویتامین B₃ ۸ میلی گرم، ویتامین B₆ ۲ میلی گرم، ویتامین B₉ ۵/۶ میلی گرم، ویتامین B₁₂ ۱۵ میکرو گرم، کولین کلراید ۲۰۰ میلی گرم مکمل معدنی در هر کیلو گرم خوراک مقادیر زیر را تامین می نماید: ۸۱ میلی گرم منگنز، ۵۱ میلی گرم روی، ۷۱ میلی گرم آهن، ۷ میلی گرم سلنیوم و ۵۱۱ میلی گرم کولین کلراید. ۱ میلی گرم کبالت، ۱ میلی گرم ید، ۰/۱ میلی گرم سلنیوم.

سلسیوس نگهداری شد. نمونه ابتدا برای ۳۰ دقیقه یخ‌گشایی و مقدار نیم گرم برای رقیق‌سازی با محلول پیتروتر^۳ برداشت شد. در پایان مقدار ۰/۱ میلی لیتر از محلول رقیق‌شده روی پلت‌های اختصاصی باکتری‌های اسیدلاکتیکی (ام آر اس آگار) و باکتری سالمونلا (اس اس آگار) کشت داده شد. برای ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس در گرم‌خانه انکوباسیون شدند. پس از شمارش کلنی‌ها در هر پلت، عدد حاصله در عکس رقت ضرب و نتیجه به واحد تشکیل دهنده کلونی CFU در یک گرم نمونه گزارش شد (Xia و همکاران، ۲۰۰۴).

به منظور اندازه‌گیری صفات کیفی تخم‌مرغ، در هفته ششم (در سن ۴۶ هفتگی پرندگان) طی سه روز متوالی رکوردبرداری به صورت تصادفی انجام شد. برای توزین از ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ گرم استفاده شد. سنجش ضخامت پوسته تخم‌مرغ‌ها از سه نقطه سر، ته و وسط تخم‌مرغ به همراه غشا زیرین آن با استفاده از دستگاه ضخامت سنج (Ogawa Seikic., LTD OSK 13469, JAPAN) انجام شد. وزن پوسته و زرده پس از جدا سازی اندازه‌گیری شد.

واحد هاو طبق رابطه (۱) محاسبه شد (Haugh و همکاران، ۱۹۳۷):

$$\text{رابطه (۱)} \quad (HU = 100 \log_{10} (H + 57/7 - 1.7 W^{0/37}))$$

در این رابطه، HU نشان‌دهنده واحد هاو، H وزن تخم‌مرغ برحسب گرم و W ارتفاع سفیده برحسب میلی‌متر است. برای سنجش ارتفاع سفیده غلیظ از میکرومتر سه پایه مخصوص استفاده شد (Ogawa Seiki coo, LTD, Oski 3471, Japan). واکاوی آماری داده‌ها با رویه GLM و استفاده از نرم افزار SAS (1996) و مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن در سطح آماری ۵ درصد انجام شد. از مدل زیر استفاده شد:

$$\text{رابطه (۲)} \quad Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij}$$

که Y_{ij} میانگین، T_i تیمار و e_{ij} خطای آزمایشی است. همچنین، با روش مدل‌سازی خط شکسته بهترین سطح سین-بیوتیک برآورد شد. از دو مدل خط شکسته خطی و خط شکسته درجه دو استفاده شد که مدل‌ها به شرح ذیل می‌باشند

پرندگان به مدت شش هفته، هماهنگ با الگوی دمایی ایران (Akbarian و همکاران، ۲۰۱۳). در شرایط تنش گرمایی مزمن (شش ساعت، از ده صبح تا چهار عصر در دمای ۳۲ °C) نگهداری شدند. دما در دامنه ۱۶ تا ۱۸ درجه سلسیوس در بقیه ساعات شبانه روز حفظ گردید. جیره آزمایشی پایه برای گروه‌های آزمایشی مختلف براساس توصیه‌های مواد مغذی راهنمایی پرورش سویه های لاین (W₃₆) توسط نرم افزار UFFDA تنظیم شد. خوراک و آب به صورت آزاد در دسترس پرنده بود. مقدار تولید تخم مرغ و میانگین وزنی آن تا پایان دوره به صورت روزانه ثبت شد. درصد تخمگذاری (تعداد تخم مرغ های تولید شده در طول دوره / روزمرغ = درصد تخمگذاری) و ضریب تبدیل غذایی (مصرف غذا در طول دوره (گرم) / مجموع وزن تخم مرغ ها در طول دوره (گرم) = ضریب تبدیل خوراک) محاسبه شد. وزن توده تخم مرغ تولیدی از طریق ضرب متوسط وزن تخم مرغ در درصد تولید حساب شد. همچنین پرندگان در ابتدا و انتهای دوره وزن شدند.

ریخت‌سنجی روده: برای سنجش شاخص‌های بافت‌شناسی ایلئوم تعداد دو قطعه پرنده از هر تکرار به صورت تصادفی انتخاب شده و سپس با جابجایی مهره‌های گردن کشتار، محوطه شکمی باز و از قسمت ایلئوم روده کوچک نمونه‌برداری صورت گرفت. نمونه‌ها برای انتقال به آزمایشگاه در فرمالین ۱۰ درصد تثبیت شدند. در ادامه با افزایش غلظت اتانول آبگیری و پس از شفاف‌سازی، قالب گیری با پارافین انجام شد. نمونه‌ها توسط میکروتوم دوار به ضخامت شش میکرومتر برش عرضی داده شدند. پس از اطمینان از خشک شدن کامل لام‌ها در دمای آزمایشگاه، به وسیله میکروسکوپ نوری معمولی (میکروسکوپ مدل OLYMPUS-CH30) و لنزهای مخصوص (PF10X) مورد سنجش قرار گرفتند (Thompson و Ap-Plegate، ۲۰۱۶). بررسی جمعیت باکتریایی ایلئوم: برای شمارش جمعیت میکروبی در پایان دوره، پرندگان کشتار شدند، با ضد عفونی سطح شکمی آنها، دستگاه گوارش خارج شد. حدود ۱/۵ گرم از محتویات ایلئوم برداشت و تا زمان کشت میکروبی در دمای منفی ۷۰ درجه

لگه‌ورن در کل دوره آزمایش نداشت. اما بر شاخص توده تخم مرغ، وزن و درصد تخم‌مرغ تولیدی در هفته دوم (۴۲-۴۴ هفتگی) و سوم (۴۴-۴۶ هفتگی) آزمایش اثر معنی‌داری داشت. ($P \leq 0.05$). به‌طوری‌که همه گروه‌های دریافت‌کننده سین‌بیوتیک در مقایسه با گروه شاهد وزن و درصد تخم‌مرغ تولیدی بیشتری نشان دادند. در کل دوره شاخص توده تخم مرغ و درصد تخم‌مرغ تولیدی افزایش یافت ($P \leq 0.01$). کمترین و بالاترین شاخص توده تخم مرغ برای گروه شاهد و دریافت‌کننده ۰/۵ گرم سین‌بیوتیک به ترتیب ۴۵/۸۸ و ۴۹/۶ بود و البته تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های دریافت‌کننده سین‌بیوتیک وجود نداشت. تیمارهای آزمایشی اثری بر درصد تلفات در کل دوره نشان نداد ($p \geq 0.05$).

رابطه ۳) if $R < X$: $Y = L + U \times (R - X)$

مدل خط شکسته خطی

رابطه ۴) if $R < X$: $Y = L + U \times (R - X)$

مدل خط شکسته درجه دو

که در این رابطه‌ها، (۳ و ۴) L = مقدار عرض از مبدا، U = شیب خط و R = نقطه شکست است.

نتایج

عملکرد: یافته‌های مربوط به اثر سطوح سین‌بیوتیک بر عملکرد مرغ‌ها تخم‌گذار سویه‌های لاین (W₃₆) در جدول ۲، گزارش شده است. بر اساس یافته‌های این پژوهش، سطوح سین‌بیوتیک اثری بر مصرف خوراک و ضریب تبدیل مرغ‌ها تخم‌گذار

جدول ۲. تاثیر سطوح مختلف سین بیوتیک بر شاخص های عملکرد مرغ های تخم گذار تحت تنش مزمن گرمایی

P-VALE	SEM	۱/۵	۱	۰/۵	صفر	تیمارها (سین بیوتیک، گرم در کیلو گرم)
فراسنجه های دو هفته اول (۴۰-۴۲ هفتگی)						
۰/۹۲	۱/۸۷	۵۵/۳۳	۵۴/۳۳	۵۵	۵۴/۶۶	وزن تخم مرغ (گرم)
۰/۹۲	۷/۴۷	۱۱۴/۸۳	۱۲۱/۷۰	۱۱۷/۷۰	۱۱۸/۷۰	مصرف خوراک (گرم در روز / پرنده)
۰/۴۵	۰/۱۲۹	۲/۱۶	۲/۲۳	۲/۱۴	۲/۱۹	ضریب تبدیل خوراک
۰/۴۳	۰/۸۸	۸۲	۸۳/۶۶	۸۲/۳۳	۸۱/۶۶	درصد تولید
						شاخص توده تخم مرغ
۰/۹۰	۱/۷۳	۴۳/۷۳	۴۵/۴۵	۴۵/۲۸	۴۴/۶۴	(گرم/مرغ/روز)
فراسنجه های دو هفته دوم (۴۴-۴۲ هفتگی)						
۰/۰۰۱	۰/۴۸	۵۹ ^a	۶۰/۶۶ ^a	۵۹/۳۳ ^a	۵۵ ^b	وزن تخم مرغ (گرم)
۰/۸۰	۹/۹۲	۱۳۶/۴۷	۱۴۰/۷۸	۱۴۰/۰۷	۱۲۸/۳۳	مصرف خوراک (گرم در روز / پرنده)
۰/۹۹	۰/۱۷	۲/۳۲	۲/۳۱	۲/۳۶	۲/۳۳	ضریب تبدیل خوراک
۰/۰۰۰۱	۰/۳۷	۸۴/۶۶ ^a	۸۵/۳۳ ^a	۸۶/۶۶ ^a	۸۱/۶۶ ^b	درصد تولید
						شاخص توده تخم مرغ
۰/۰۰۰۱	۰/۴۳	۴۹/۵۶ ^a	۵۰/۷۵ ^a	۵۰/۰۳ ^a	۴۵/۱۰ ^b	(گرم/مرغ/روز)
فراسنجه های دو هفته سوم (۴۶-۴۴ هفتگی)						
۰/۰۸	۰/۸۳	۶۱ ^a	۶۰/۶۶ ^a	۶۲ ^a	۵۸/۶۶ ^b	وزن تخم مرغ (گرم)
۰/۷	۱۰/۴۸	۱۳۷/۶۱	۱۴۱/۲۰	۱۵۳/۰۳	۱۳۹	مصرف خوراک
۰/۸۳	۰/۱۶۸	۲/۲۵	۲/۳۳	۲/۴۶	۲/۳۶	ضریب تبدیل خوراک
۰/۰۰۱	۰/۳۷	۸۴/۶۶ ^a	۸۵/۳۳ ^a	۸۶/۶۶ ^a	۸۱/۶۶ ^b	درصد تولید
						شاخص توده تخم مرغ
۰/۰۰۰۳	۰/۶۳	۵۱/۶۴ ^b	۵۱/۷۶ ^b	۵۳/۷۳ ^a	۴۷/۹۱ ^c	(گرم/مرغ/روز)
فراسنجه های کل دوره						
۰/۱۹	۰/۸۸	۵۷/۷	۵۸/۷	۵۸/۷	۵۶/۱۱	وزن تخم مرغ (گرم)
						مصرف خوراک (گرم- در روز/پرنده)
۰/۸۴	۷/۶	۱۲۹/۵	۱۳۴/۵	۱۳۶/۹	۱۲۸/۶۷	در روز/پرنده)
۰/۹۷	۱/۲۶	۲/۲۴	۲/۲۹	۲/۳۲	۲/۲۹	ضریب تبدیل خوراک
۰/۰۰۲۲	۰/۴۰	۸۳/۵ ^a	۸۴/۲ ^a	۸۴/۴ ^a	۸۱/۷ ^b	درصد تولید
						شاخص توده تخم مرغ
۰/۰۱۹	۰/۷۷	۴۸/۳ ^a	۴۹/۳ ^a	۴۹/۶ ^a	۴۵/۸۸ ^b	(گرم/مرغ/روز)
۰/۴۵	۰/۶	۱۰/۷	۱۲/۷	۲۱/۶	۲۲/۹	درصد تلفات

میانگین ها در هر سطر که حداقل یک حرف (a,b,c) نامشابه دارند اختلافات معنی داری را در سطح ۵ درصد نشان می دهند.

ریخت‌شناسی روده: یافته‌های مربوط به اثر سطوح مختلف سین‌بیوتیک بر ریخت‌شناسی روده باریک در جدول ۳، آورده شده است. اثر استفاده از سین‌بیوتیک بر صفات ریخت‌شناسی

روده شامل ارتفاع، عمق و نسبت ارتفاع به عمق در تیمارهای مورد مطالعه، معنی‌دار نبود ($P \geq 0.05$).

جدول ۳. تاثیر سطوح مختلف سین‌بیوتیک بر شاخص‌های بافت‌شناسی بخش ایلیوم روده کوچک مرغ‌های تخمگذار ۴۶ هفته در تخت تنش مزمن گرمایی

تیمارها (سین‌بیوتیک، گرم در کیلوگرم)	ارتفاع پرز (میلی متر)	عمق کریپت (میلی متر)	ارتفاع/عمق کریپت
۰	۱/۹۹	۰/۲۲	۹/۵۱
۰/۵	۱/۹۱	۰/۲۴	۷/۹۴
۱	۱/۵۸	۰/۲۳	۷/۵۲
۱/۵	۱/۸۰	۰/۲۵	۷/۳۹
P-value	۰/۹۲	۰/۸۶	۰/۸۵
SEM	۰/۲۰	۰/۰۲۶	۱/۹۳

جمعیت میکروبی روده: یافته‌های مربوط به اثر سطوح سین‌بیوتیک بر روی جمعیت میکروبی روده‌ی باریک در مرغ‌های تخم‌گذار در جدول (۴) ارائه شده است. بیشترین مقدار جمعیت سالمونلا در روده کوچک مرغ‌هایی که سین‌بیوتیک دریافت نکردند، مشاهده شد و از این نظر با سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری

داشت ($P \leq 0.05$)؛ و کمترین مقدار در گروه دریافت‌کننده ۰/۵ گرم مشاهده شد هرچند بین تیمارهای دریافت‌کننده سین‌بیوتیک تفاوتی نبود. جمعیت باکتری‌های اسیدلاکتیک روده‌ی باریک تحت تأثیر سطوح سین‌بیوتیک در جیره قرار نگرفت ($P \geq 0.05$).

جدول ۴. تاثیر سطوح مختلف سین‌بیوتیک بر جمعیت میکروبی روده مرغ‌های تخم‌گذار ۴۶ هفته نخت تنش مزمن گرمایی (واحد تشکیل‌دهنده کلنی/گرم)

تیمارها (سین‌بیوتیک، گرم در کیلوگرم)	باکتری سالمونلا	باکتری‌های تولیدکننده اسید لاکتیک
۰	۷/۳۲ ^a	۵/۴۳
۰/۵	۷/۰۴ ^b	۵/۵۲
۱	۷/۱۵۸ ^b	۵/۳۹
۱/۵	۷/۰۷ ^b	۵/۴۰
P-value	۰/۰۰۹	۰/۹۱
SEM	۰/۵۱	۰/۱۵۲

میانگین‌ها در هر سطر که حداقل یک حرف (a,b) نامشابه دارند اختلافات معنی‌داری را در سطح ۵ درصد نشان می‌دهند.

کیفی تخم مرغ شامل: درصد پوسته، ضخامت پوسته، واحد هاو و وزن زرده نداشت.

۴-۴. صفات کیفی تخم مرغ: نتایج مربوط به اثر تیمارهای مورد مطالعه بر روی صفات کیفی تخم مرغ در جدول ۵. نشان داده است. سطوح مختلف سین بیوتیک در جیره اثری بر روی صفات

جدول ۵. تاثیر سطوح مختلف سین بیوتیک بر پارامترهای کیفیت تخم مرغ در مرغهای تخم گذار ۴۶ هفته تحت تنش مزمن گرمایی

تیمارها (سین بیوتیک، گرم در کیلوگرم)	درصد پوسته	ضخامت پوسته (میکرومتر)	واحد هاو	درصد وزن زرده
۰	۹/۳۳	۵۰/۰۰	۸۴/۶۶	۱۸/۰۰
۰/۵	۹/۶۶	۴۹/۶۶	۸۵/۰۰	۱۹/۰۰
۱	۱۰/۳۳	۵۰/۶۶	۸۴/۶۶	۱۹/۶۶
۱/۵	۹/۳۳	۵۱/۰۰	۸۵/۰۰۰	۲۰/۰۰
P-value	۰/۸۳	۰/۹۷	۰/۹۹	۰/۴۱
SEM	۰/۸۷	۲/۳۰	۱/۵۵	۰/۸۷

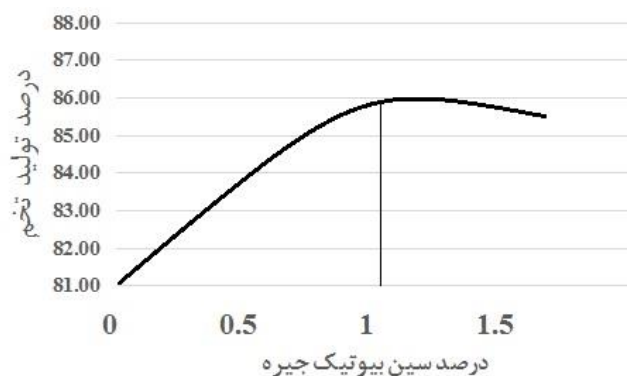
مدلسازی خط شکسته درجه دو با اطمینان ۹۰ درصد مقدار ۰/۹۳ و ۱/۰۵ گرم سین بیوتیک بر کیلوگرم برآورد شد.

برآورد نقطه بهینه سین بیوتیک برای درصد تولید تخم مرغ: تخمین نقطه بهینه سین بیوتیک در جیره براساس درصد تولید تخم در جدول ۵. و شکل های ۲ و ۳ نشان داده شد. بهترین درصد تولید تخم براساس مدل سازی خط شکسته خطی و

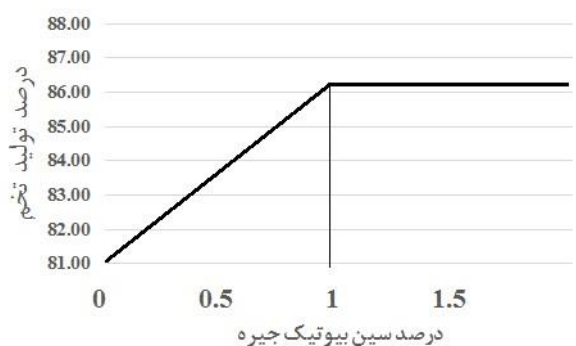
جدول ۵. نقطه بهینه میزان استفاده از سین بیوتیک در جیره برای درصد تولید تخم مرغ

درصد تولید تخم مرغ		QBL	LBL
حد بهینه	۰/۹۳	۱/۰۵	
۹۵ درصد حدود اطمینان	۰/۷۹-۱/۰۵	۰/۸۱-۱/۲۵	
SEM	۰/۰۹	۰/۱۲	
R ²	۰/۹۰		
R			

*مدلسازی خط شکسته خطی (LBL) و مدلسازی خط شکسته درجه دو (QBL)



شکل ۲. برآورد نقطه بهینه سطوح مختلف سین بیوتیک در جیره برای درصد تولید تخم با استفاده از مدل سازی خطی خط شکسته درجه دو. (نقطه بهینه مقدار ۱/۰۵)



شکل ۳. برآورد نقطه بهینه سطوح مختلف سین بیوتیک در جیره برای درصد تولید تخم با استفاده از مدل سازی خطی خط شکسته. (نقطه بهینه مقدار ۰/۹۳)

بحث

پرنندگان افزایش یافت (Abdel و همکاران، ۲۰۱۶). گزارش شده است که وزن و تولید تخم مرغ با افزودن پروبیوتیک به جیره بهبود یافت (Zhang و Kim، ۲۰۱۲). کامل های غذایی پروبیوتیک، پری بیوتیک و ترکیب آن ها (سین بیوتیک) باعث بهبود عملکرد و کیفیت تخم مرغ در مقایسه با شاهد شد (Abdelqader و همکاران، ۲۰۱۶). Tang و همکاران (۲۰۱۷) با افزودن سین بیوتیک (ترکیب پرمالاک و ایزومالتوز) بیان کردند که تولید، توده و اندازه تخم مرغ از ۲۰ تا ۵۲ هفتگی بهبود یافت پژوهشگران همچنین گزارش کردند که پروبیوتیک های حاوی لاکتوباسیلوس و باسیلوس سوبتلیس، اثر مثبت بر تولید و وزن تخم مرغ

تنش مرمین گرمایی از عوامل اصلی کاهش تولید در مرغ های تخم گذار و بازدهی اقتصادی در مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری است (Zhang و Kim، ۲۰۱۲). تنش گرمایی با اثر بر سیستم غدد درون ریز، منجر به عدم تعادل اسید و باز، افزایش مرگ و میر، کاهش راندمان خوراک و کاهش کمیت و کیفیت تخم مرغ می شود (Mashaly و همکاران، ۲۰۰۴). در پژوهش کنونی، سطوح سین بیوتیک در مقایسه با شاهد در خلال تنش گرمایی منجر به بهبود شاخص توده تخم مرغ و درصد تولید تخم در مقایسه با شاهد در کل دوره شد. براساس مطالعه ای بیان شد که با افزودن سین بیوتیک به جیره در سنین ۲۴ تا ۳۶ هفتگی عملکرد

۲۰۰۳). وجود باکتری‌های تولیدکننده اسیدلاکتیک در ترکیب سین بیوتیک میزان بقای باکتری‌های مضر قلیادوست مانند سالمونلا را کاهش می‌دهد (Numi و همکاران، ۱۹۹۲). همچنین، برخی از ترکیبات سین بیوتیکی با ایجاد پیوند با باکتری‌های مضر میزان اثرگذاری آن‌ها را در دستگاه گوارش کاهش داده و باعث بهبود عملکرد پرند می‌شوند و منجر به تغییر در زیست بوم میکروبی روده شود و تغذیه و کارایی خوراک را بهبود بخشد (Zareii و همکاران، ۲۰۱۰). همچنین، گزارش شده است که سین بیوتیک، فضای روده را بیشتر پر می‌کند و مانع از استقرار عوامل بیماری‌زا می‌شود. عوامل بسیاری بر جمعیت میکروبیوم روده پرندگان اثرگذار هستند با این حال، دانسته‌ها در مورد رابطه تنش گرمایی و اکوسیستم میکروبی روده پرندگان، به‌ویژه مرغ‌های تخم‌گذار، اندک است (Zhu و همکاران ۲۰۱۹).

در این پژوهش افزودن سین بیوتیک به جیره غذایی مرغ‌های تخم‌گذار در شرایط تنش مزمن گرمایی، اثر معنی‌داری بر صفات کیفی تخم‌مرغ مانند امت پوسته، واحد هاو وزن زرده نداشت؛ در مخالفت با نتیجه‌ی این پژوهش؛ عبدالقادر و همکاران، (۲۰۱۲) گزارش کردند که مکمل‌های غذایی پروبیوتیک، پری بیوتیک و ترکیب آن‌ها ضخامت پوسته تخم‌مرغ و مقدار کلسیم پوسته تخم‌مرغ را در مقایسه با شاهد افزایش داد (Abdelqader و همکاران ۲۰۱۲). هم‌چنین در مطالعه‌ای دیگر توسط زارعی و همکاران (۲۰۱۱) مشخص شد که وزن و ضخامت پوسته تخم‌مرغ در مرغ‌های تخم‌گذار تغذیه شده با مواد افزودنی (پری و پروبیوتیک) در مقایسه با مرغ‌های تغذیه‌شده با جیره شاهد بهبود یافته است (Zareii و همکاران، ۲۰۱۰). به نظر می‌رسد نوع سین بیوتیک، رژیم غذایی، شدت و مدت تنش و سن پرند باعث تفاوت شده باشد (Mohebbifar و همکاران، ۲۰۱۳).

تنش گرمایی تاثیر منفی بر ریخت‌سنجی روده و کاهش جذب مواد مغذی داشته است (Zhan و همکاران، ۲۰۰۳). در گزارشی افزودن ترکیبات سین بیوتیک منجر به بهبود یکپارچگی و کیفیت پرز دیواره روده شده است (Zhang و همکاران، ۲۰۱۷). در تحقیق کنونی تغییرات معنی‌داری برای صفات ریخت‌شناسی روده

دارد (Zhang و Kim، ۲۰۱۳). که می‌تواند به علت کاهش باکتری‌های مضر مانند سالمونلا، افزایش جذب و هضم مواد غذایی از طریق روده و اثرات مثبت فیزیولوژیکی و ایمنی باشد (Sugiharto و همکاران، ۲۰۱۷). به نظر می‌رسد سین بیوتیک با تغییر در محیط روده باعث بهبود هضم و جذب مواد خوراکی شده در نتیجه سلامتی و عملکرد میزبان بهبود می‌یابد (Abdelqader و همکاران، ۲۰۱۲؛ Tang و همکاران، ۲۰۱۷). با این وجود، برخی از گزارش‌ها هیچ اثر مثبتی از سین بیوتیک بر تولید تخم‌مرغ، توده تخم‌مرغ و عملکرد گزارش نکردند (Zarei و همکاران، ۲۰۱۱؛ Mikulaski و همکاران، ۲۰۱۲؛ Bozkurt و همکاران ۲۰۱۲). افزودن سین بیوتیک بیوپلاس در جیره مرغ‌های تجاری هیچ اثر مثبتی بر مصرف خوراک، ضریب تبدیل، تولید تخم‌مرغ و وزن تخم‌مرغ نداشته است (Mahdavi و همکاران، ۲۰۰۵). نتایج متناقض در پژوهش‌های مختلف می‌تواند به علت نوع پروبیوتیک و پری بیوتیک موجود در سین بیوتیک، سن پرند، ترکیبات خوراک و متغیرهای دیگر باشد (Mohebbifar و همکاران، ۲۰۱۳).

تنش گرمایی منجر به سرکوب سیستم ایمنی و اختلال عملکرد روده می‌شود (Star et al., 2009; Deng et al., 2012). در طی تنش گرمایی خطر کلونیزاسیون؛ پاتوژن‌هایی مانند سالمونلا و کمپیلوباکتر در حیوانات مزرعه زیاد شده که با تغییر عملکرد فیزیولوژیکی میزبان؛ موجب رشد و بیماری‌زایی می‌شود (Freestone و همکاران، ۲۰۰۸؛ Lara و rostagno، ۲۰۱۳؛ Verbruggher و همکاران، ۲۰۱۲). در این مطالعه افزودن سین بیوتیک به جیره غذایی پرندگان در شرایط تنش گرمایی منجر به کاهش جمعیت سالمونلای روده شد. به‌طوری‌که بیشترین جمعیت سالمونلا در گروه شاهد بود. به نظر می‌رسد استفاده از ترکیبات سین بیوتیک با اثر بر محیط گوارشی منجر به افزایش جذب مواد مغذی از دیواره روده می‌شوند (Zhang و Kim، ۲۰۱۳). کاهش میکروب‌های مضر و افزایش نوع مفید میکروارگانیسم‌ها در بخش روده‌ای باعث بهبود جذب زیست‌فراهمی مواد مغذی شده است (Chen و Yusrizal،

سین‌بیوتیک برای دوره‌های نرمال پرورش است. به نظر می‌رسد در شرایط و فصل‌های گرم، استفاده از سطوح بالاتر سین‌بیوتیک ضرورت ندارد. در آزمایشی سطوح ۰/۵ و یک گرم سین‌بیوتیک بولتری استار را استفاده کردند و نشان داد که سطح یک گرم در کیلوگرم باعث بهبود عملکرد برای جوجه گوشتی شد (Mohhamad و همکاران، ۲۰۱۹). که با یافته‌های پژوهش جاری همخوانی دارد. در تحقیقی از سین‌بیوتیکی با سویه‌های لاکتوباسیلوس و فروکتوالیگو ساکارید استفاده شد و بر اساس مقایسه میانگین‌ها مقدار ۰/۸ گرم در کیلوگرم را در جیره مرغ تخم‌گذار توصیه نمودند (Sjofan و همکاران، ۲۰۲۰).

نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج این مطالعه؛ استفاده از سین‌بیوتیک در جیره مرغ‌ها تخم‌گذار در طی دوره تنش گرمایی مزمن باعث بهبود شاخص توده تخم‌مرغ و درصد تولید شد. سطح بهینه افزودن سین‌بیوتیک به جیره براساس مدل‌سازی خط شکسته خطی و درجه دو ۰/۹۳ و ۱/۰۵ گرم در کیلوگرم جیره می‌باشد.

در پایان شش هفته آزمایش مشاهده نشد. به نظر می‌رسد شش هفته تنش گرمایی مزمن باعث تلفات پرندگان ضعیف شده و سایر پرندگان سازگار و عادت پذیر شده‌اند (Renaudeau و همکاران، ۲۰۱۲). به طور کلی، علت تفاوت نتایج تغییرات در پاسخ به پروبیوتیک‌ها، پری‌بیوتیک‌ها و / یا مکمل‌های سین‌بیوتیک در مرغ‌ها را، می‌توان تفاوت بین سویه‌ها، هیبریدها، سن، سطح تغذیه، ترکیب مواد مغذی جیره غذایی، جمعیت میکروبی دستگاه گوارش، بخش نمونه‌برداری روده، سطح گنجاندن پروبیوتیک، پری بیوتیک و/یا سین‌بیوتیک در جیره غذایی، مدت‌زمان مصرف مکمل یا سایر شرایط محیطی در نظر گرفت (Sugiharto و همکاران، ۲۰۱۷؛ Mohebifar و همکاران ۲۰۱۳). یافته‌های این مطالعه بر اساس مدل‌سازی خط شکسته خطی و درجه دو مقدار ۰/۹۳ و ۱/۰۵ گرم در کیلوگرم جیره را بعنوان بهترین سطح برای حداکثر درصد تولید تخم مرغ برآورد نموده و مدل‌سازی خطی مقدار برآورد کمتری را در مقایسه با حالت درجه دو نشان داد که حاکی از ویژگی‌های مدل‌های اسپلاین است و نوع درجه دو، حد بالاتری را برآورد می‌کند (Pesti و همکاران ۲۰۱۲). این مقدار تخمین مشابه سطح توصیه

منابع

- Abdelqader, A., Al-Fataftah, A. R., & Daş, G. (2013). Effects of dietary *Bacillus subtilis* and inulin supplementation on performance, eggshell quality, intestinal morphology and microflora composition of laying hens in the late phase of production. *Animal Feed Science and Technology*, 179(1-4), 103-111. <https://doi.org/10.1128/AEM.00600->
- Abdel-Wareth, A. A. A. (2016). Effect of dietary supplementation of thymol, synbiotic and their combination on performance, egg quality and serum metabolic profile of Hy-Line Brown hens. *British poultry Science*, 57(1), 114-122. doi.org/10.1080/00071668.2015.1123219
- Akbarian, A., Golian, A.H., Kermanshahi, R., Farhoosh, A.R., Raji, S. (2013). Growth performance and gut health parameters of finishing broilers supplemented with plant extracts and exposed to daily increased temperature. *Spanish Journal Agriculture Research*, 11:109-119. doi.org/10.5424/sjar/2013111-3392
- Bozkurt, M., Küçükylmaz, K., Catli, A. U., Çınar, M., Bintaş, E., & Çöven, F. (2012). Performance, egg quality, and immune response of laying hens fed diets supplemented with mannan-oligosaccharide or an essential oil mixture under moderate and hot environmental conditions. *Poultry science*, 91(6), 1379-1386. <https://doi.org/10.3382/ps.2011-02023>
- Brenes, A., & Roura, E. (2010). Essential oils in poultry nutrition: Main effects and modes of action. *Animal Feed Science and Technology*, 158(1-2), 1-14.

- Burkholder, K. M., Thompson, K. L., Einstein, M. E., Applegate, T. J., & Patterson, J. A. (2008). Influence of stressors on normal intestinal microbiota, intestinal morphology, and susceptibility to *Salmonella enteritidis* colonization in broilers. *Poultry Science*, 87(9), 1734-1741. <https://doi.org/10.3382/ps.2008-00107>
- Deng, W., Dong, X. F., Tong, J. M., & Zhang, Q. (2012). The probiotic *Bacillus licheniformis* ameliorates heat stress-induced impairment of egg production, gut morphology, and intestinal mucosal immunity in laying hens. *Poultry Science*, 91(3), 575-582. <https://doi.org/10.3382/ps.2010-01293>
- Dunislawska, A., Slawinska, A., Stadnicka, K., Bednarczyk, M., Gulewicz, P., Jozefiak, D., & Siwek, M. (2017). Synbiotics for broiler chickens—in vitro design and evaluation of the influence on host and selected microbiota populations following in ovo delivery. *PLoS one*, 12(1), e0168587. doi.org/10.1371/journal.pone.0168587
- Freestone, P. P., Sandrini, S. M., Haigh, R. D., & Lyte, M. (2008). Microbial endocrinology: how stress influences susceptibility to infection. *Trends in Microbiology*, 16(2), 55-64. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2007.11.005>
- Haugh RR (1937) The Haugh unit for measuring egg quality. *U.S. Egg Poultry* 43: 552-555 & 572-573.
- Jahromi, F., Wesam Altaher, Y., Shokryazdan, P., Ebrahimi, R., Ebrahimi, M., Idrus, Z., ... & Liang, J. B. (2016). Dietary supplementation of a mixture of *Lactobacillus* strains enhances performance of broiler chickens raised under heat stress conditions. *International Journal of Biometeorology*, 60, 1099-1110. doi.org/10.1007/s00484-015-1103-x
- Lara, L. J., & Rostagno, M. H. (2013). Impact of heat stress on poultry production. *Animals*, 3 (2): 356–369. doi.org/10.3390/ani3020356
- Mahdavi, A. H., Rahmani, H. R., & Pourreza, J. (2005). Effect of probiotic supplements on egg quality and laying hen's performance. *International Poultry Science Journal*, 4(7), 488-492.
- Mashaly, M. M., Hendricks 3rd, G. L., Kalama, M. A., Gehad, A. E., Abbas, A. O., & Patterson, P. H. (2004). Effect of heat stress on production parameters and immune responses of commercial laying hens. *Poultry Science*, 83(6), 889-894. doi.org/10.1093/ps/83.6.889
- Mikulski, D. 1., Jankowski, J., Naczemski, J., Mikulska, M., & Demey, V. (2012). Effects of dietary probiotic (*Pediococcus acidilactici*) supplementation on performance, nutrient digestibility, egg traits, egg yolk cholesterol, and fatty acid profile in laying hens. *Poultry Science*, 91(10), 2691-2700. <https://doi.org/10.3382/ps.2012-02370>
- Mohammed, A. A., Jacobs, J. A., Murugesan, G. R., & Cheng, H. W. (2018). Effect of dietary synbiotic supplement on behavioral patterns and growth performance of broiler chickens reared under heat stress. *Poultry science*, 97(4), 1101-1108. <https://doi.org/10.3382/ps/pex421>
- Mohammed, A. A., Jiang, S., Jacobs, J. A., and Cheng, H. W. (2019). Effect of a synbiotic supplement on cecal microbial ecology, antioxidant status, and immune response of broiler chickens reared under heat stress. *Poultry Science*, 98(10): 4408-4415. <https://doi.org/10.3382/ps/pez246>
- Mohebbifar, A., Kashani, S., Afsari, M., & Torki, M. (2013). Effects of commercial prebiotic and probiotics of diet on performance of laying hens, egg traits and some blood parameters. *Annual Research & Review in Biology*, 921-934.
- Mookiah, S., Sieo, C. C., Ramasamy, K., Abdullah, N., & Ho, Y. W. (2014). Effects of dietary prebiotics, probiotic and synbiotics on performance, caecal bacterial populations and caecal fermentation concentrations of broiler chickens. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94(2), 341-348. doi.org/10.1002/jsfa.6365
- Murugesan, G. R., & Persia, M. E. (2015). Influence of a direct-fed microbial and xylanase enzyme on the dietary energy uptake efficiency and performance of broiler

- chickens. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95(12), 2521-252. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6984>
- Numi, E., Nuotio, L., and Schnitz, C. (1992) The Spring P, Wenk C, Dawson KA and Newman KE (2000) competitive exclusion concept: Development and future. The effects of dietary mannaoligosaccharides on cecal. *International Journal of Food Microbiology* 15(3-4): 237– 240. [doi.org/10.1016/0168-1605\(92\)90054-7](https://doi.org/10.1016/0168-1605(92)90054-7)
- Pesti, G. M., J. A. Vedenov, J. A. Cason, and L. Billard. (2009). A comparison of methods to estimate nutritional requirements from experimental data. *Poultry Science*. 50: 16-320. <https://doi.org/10.1080/00071660802530639>
- Radu-Rusu, C. G., Pop, I. M., & Simeanu, D. (2010). Effect of a synbiotic feed additive supplementation on laying hens performance and eggs quality. *Lucrări Științifice, Seria Zootehnie*, 53, 89-93.
- Renaudeau, D., Collin, A., Yahav, S., De Basilio, V., Gourdine, J. L., & Collier, R. J. (2012). Adaptation to hot climate and strategies to alleviate heat stress in livestock production. *Animal*, 6(5), 707-728. doi.org/10.1017/S1751731111002448
- Schrezenmeir, J., & de Vrese, M. (2001). Probiotics, prebiotics, and synbiotics—approaching a definition. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 73(2), 361s-364s. doi.org/10.1093/ajcn/73.2.361s
- Sejian, V., Bhatta, R., Gaughan, J. B., Dunshea, F. R., and Lacetera, N. (2018). Adaptation of animals to heat stress. *Animal*. 12(s2): s431-s444. doi.org/10.1017/S1751731118001945
- Sjofjan, O., Natsir, M.H., Adli, D.N., Adelina, D.D. and Triana, L.M., 2020, March. Effect of symbiotic flour (*Lactobacillus* sp. and fos) to the egg quality and performance of laying hens. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 465, No. 1, p. 012033). [10.1088/1755-1315/465/1/012033](https://doi.org/10.1088/1755-1315/465/1/012033).
- Sugiharto, S., Yudiarti, T., Isroli, I., Widiastuti, E. and Kusumanti, E., 2017. Dietary supplementation of probiotics in poultry exposed to heat stress—a review. *Annals of animal science*, 17(3), pp.591-604.
- Tang, S. G. H., Siew, C. C., Ramasamy, K., Saad, W. Z., Wong, H. K., & Ho, Y. W. (2017). Performance, biochemical and haematological responses, and relative organ weights of laying hens fed diets supplemented with prebiotic, probiotic and synbiotic. *BMC veterinary research*, 13, 1-12. doi.org/10.1186/s12917-017-1160-y.
- Thompson, K. L., and T. J. Applegate. 2006. Feed withdrawal alters small-intestinal morphology and mucus of broilers. *Poultry Science*. 85:1535–1540. doi.org/10.1016/j.vetmic.2011.09.012
- Verbrugghe, E., Boyen, F., Gaastra, W., Bekhuis, L., Leyman, B., Van Parys, A., ... & Pasmans, F. (2012). The complex interplay between stress and bacterial infections in animals. *Veterinary Microbiology*, 155(2-4), 115-127. doi.org/10.1016/j.vetmic.2011.09.012
- Xia, M. S., Hu, C. H., & Xu, Z. R. (2004). Effects of copper-bearing montmorillonite on growth performance, digestive enzyme activities, and intestinal microflora and morphology of male broilers. *Poultry Science*, 83(11), 1868-1875.
- Yahav, S. (2009). Alleviating heat stress in domestic fowl: different strategies. *World's Poultry Science Journal*. 44(32): 719–732. doi.org/10.1017/S004393390900049X
- Yu, L. C. H., Wang, J. T., Wei, S. C., & Ni, Y. H. (2012). Host-microbial interactions and regulation of intestinal epithelial barrier function: From physiology to pathology. *World journal of Gastrointestinal Pathophysiology*, 3(1), 27.
- Yusrizal, C. and T.C. Chen. (2003). Effects of adding chicory fructans in feed on broiler growth performance, serum cholesterol, and intestinal length. *International Journal of Poultry Science*, 3: 214-219. [doi/full/10.5555/20033119235](https://doi.org/10.5555/20033119235)
- Zaboli, G. R., Rahimi, S., Shariatmadari, F., Torshizi, M. A. K., Baghbanzadeh, A., & Mehri, M. (2017). Thermal manipulation

during Pre and Post-Hatch on thermotolerance of male broiler chickens exposed to chronic heat stress. *Poultry Science*, 96(2), 478-485. doi.org/10.3382/ps/pew344

Zarei, M., Ehsani, M., & Torki, M. (2011). Dietary inclusion of probiotics, prebiotics and synbiotic and evaluating performance of laying hens. *American Journal of Agricultural and Biological Sciences*, 6(2), 249-255. [doi/full/10.5555/20113280837](https://doi.org/10.5555/20113280837)

Zhan XA, Hu CH, Xu ZR (2003). Effects of fructo-oligosaccharide on growth performance and intestinal microflora and morphology of broiler chicks. *Chinese Journal of Veterinary Science*. 23(2):196-198. [doi/full/10.5555/20033091502](https://doi.org/10.5555/20033091502)

Zhang, C., Zhao, X. H., Yang, L., Chen, X. Y., Jiang, R. S., Jin, S. H., and Geng, Z. Y. (2017). Resveratrol alleviates heat stress-

induced impairment of intestinal morphology, microflora, and barrier integrity in broilers. *Poultry Science*. 96(12): 4325-4332. doi.org/10.3382/ps/pex266

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(10), 4781-4787. doi.org/10.2527/jas.2013-6484

Zhu, L., Liao, R., Wu, N., Zhu, G., & Yang, C. (2019). Heat stress mediates changes in fecal microbiome and functional pathways of laying hens. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 103, 461-472. doi.org/10.1007/s00253-018-9465-8

