تولیدات دامی
دوره ۲۳ ■ شماره ٤ ■ زمستان ١٤٠٠
صفحه‌های ٥٥٩-٥٤٩
DOI: 10.22059/jap.2021.321414.623605

مقاله پژوهشی

مقایسه اثر پروبیوتیک بیوپلاس B2 و پری‌بیوتیک گالاکتوالیگوساکارید بر عملکرد، کیفیت تخم‌مرغ تولیدی و برخی فراسنجه‌های خونی مرغان تخم‌گذار تجاری

محمدحسین نعمتی[1*]، مصطفی حاجی‌لو[2]، سید عبداله حسینی[3]، سید سعید موسوی[1]
۱. استادیار بخش تحقیقات علوم دامی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی زنجان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، زنجان، ایران.
۲. دانش‌آموخته دکتری، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران.
۳. استاد، مؤسسه تحقیقات علوم دامی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج ایران.
تاریخ دریافت مقاله: ۱۴۰۰/۰۲/۱۱ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۴۰۰/۰۴/۰۶

چکیده
اثر استفاده از پروبیوتیک بیوپلاس B2 و پری‌بیوتیک گالاکتوالیگوساکارید بر عملکرد، کیفیت تخم‌مرغ تولیدی و برخی فراسنجه‌های خونی مرغان تخم‌گذار تجاری، با استفاده از ۲۱٦ قطعه مرغ تخم‌گذار های‌لاین (w36) با میانگین وزنی مشابه از سن ۵۰ تا ٦۲ هفتگی به‌مدت ۱۲ هفته در قالب طرح کاملاً تصادفی در سیستم قفس با شش تیمار و شش تکرار و شش قطعه مرغ در هر تکرار بررسی شد. تیمارهای آزمایشی شامل ۱- بدون افزودنی (شاهد)، ۲- جیره حاوی ۰/۱ درصد پروبیوتیک بیوپلاس B2، ۳ تا ٦- به‌ترتیب جیره‌های حاوی ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۱۵ و ۰/۲ درصد پری‌بیوتیک گالاکتوالیگوساکارید بودند. نتایج نشان داد که وزن و توده تخم‌مرغ تولیدی در جیره حاوی پروبیوتیک بیوپلاس B2 افزایش معنی‌دار داشت (P<۰/۰۵). درصد تولید تخم‌مرغ، خوراک مصرفی و ضریب تبدیل غذایی تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت. استفاده از گالاکتوالیگوساکارید در سطوح ۰/۰۵، ۰/۱ و ۰/۲ درصد منجر به بهبود وزن پوسته خشک و سطوح ۰/۰۵، ۰/۱۵ و ۰/۲ درصد منجر به افزایش وزن واحد سطح پوسته در مقایسه با گروه شاهد شد (P<۰/۰۵). پروتئین کل و آلبومین سرم در تیمار پروبیوتیک بیوپلاس B2 افزایش نشان داد (P<۰/۰۵). سطح کلسترول خون در تیمار پروبیوتیک بیوپلاس B2 و ۰/۱۵ درصد گالاکتوالیگوساکارید به‌طور معنی‌دار کاهش یافت (P<۰/۰۵). به‌طورکلی نتایج نشان داد که استفاده از پری‌بیوتیک گالاکتوالیگوساکارید به میزان ۰/۱۵ درصد ضمن بهبود برخی صفات عملکردی منجر به بهبود معنی‌دار وزن واحد سطح پوسته تخم‌مرغ و کاهش سطح کلسترول سرم خون در مقایسه با گروه شاهد شد و می‌تواند جایگزین پروبیوتیک بیوپلاس B2 شود.

کلیدواژه‌ها: پروبیوتیک، پری بیوتیک، عملکرد، فراسنجه‌های لیپیدی خون، گالاکتوالیگوساکارید، مرغ تخم‌گذار.

Comparison of the effect of Bioplus B2 probiotic and galacto oligosaccharide prebiotic on performance, egg quality and some blood parameters of commercial laying hens

Mohammad Hossei Nemati[1*], Mostafa Hajilo[2], Seyed Abdollah Hosseini[3], Seyed Saead Mosavi[1]
1. Assistant Professor Animal Science Research Department, Zanjan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Zanjan, Iran.
2. Former Ph.D. Student, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Zanjan University, Zanjan, Iran.
3. Professor, Animal Science Research Institute of Iran, AREEO, Karaj, Iran.
Received: May 1, 2021 Accepted: June 27, 2021

Abstract
In this research the effect of Bioplus B2 probiotic and galactooligosaccharide prebiotic (GOS) on performance, egg quality, and some blood parameters of commercial laying hens were investigated in a sample of 216 hy-line laying hens (w36) with the same average weight aging 50 to 62 weeks for a period of 12 weeks in a completely randomized design with 6 treatments, 6 replications and 6 hens per each replication in the cage system. Experimental treatments included 1) without additives (as control), 2) diets containing 0.1% Bioplus B2 probiotic, 3) to 6) diets; containing, 0.05, 0.1, 0.15 and 0.20 % of galactooligosaccharides prebiotic, respectively. The results indicated that both egg weight and mass was increased significantly (P<0.05) in the Bioplus B2 probiotic treatment. Egg production percentage, feed intake and feed conversion ratio were not significantly influenced by treatments. Using galactooligosaccharide at the levels of 0.05, 0.1 and 0.2 percent improved dry eggshell weight significantly while the levels of 0.05, 0.15 and 0.2 percent increased eggshell weight per unit area compared to the control (P<0.05). Total protein and albumin of serum increased in the Bioplus B2 treatment (P<0.05). Using Bioplus B2 probiotic and 0.15% galactooligosaccharide significantly decreased blood cholesterol level (P<0.05). In general, the results showed that the using of prebiotic galactooligosaccharide at the level of 0.15 % increases the weight of eggshell per unit area, decreases the blood serum cholesterol, and improves some performance traits compared to control group, therefore it can be used instead of probiotic Bioplus B2.

Keywords: Blood lipid parameters, Galacto oligosaccharide, Laying hen, Performance, Prebiotics, Probiotics.

* نویسنده مسئول
Email: mh.nemati@areeo.ac.ir

مقدمه

پرورش طیور صنعتی همواره با شرایط تنش و بیماری همراه بوده که این امر زیان‌های اقتصادی زیادی را متوجه تولیدکنندگان می‌کند. برای مقابله با تنش، مواد افزودنی به همراه خوراک داده می‌شوند. این مواد نه تنها محرک رشد و بهبود دهنده بازده خوراک می‌باشند، بلکه سلامتی طیور نیز به‌واسطه این مواد بهبود می‌یابد [۱۶]. آنتی‌بیوتیک‌ها از جمله افزودنی‌های غذایی هستند که به‌منظور جلوگیری از رشد عوامل بیماری‌زای روده و بهبود عملکرد در تغذیه طیور به‌کار رفته‌اند لیکن به‌دلیل افزایش مقاومت باکتری‌های بیماری‌زای موجود در دستگاه گوارش و باقی‌ماندن این مواد در محصولات دامی مانند گوشت و تخم‌مرغ، استفاده از آن‌ها از سال ۲۰۰۶ میلادی در اتحادیه اروپا ممنوع شده است [۵]. امروزه از پروبیوتیک‌ها، پری‌بیوتیک‌ها و گیاهان دارویی به‌عنوان مواد افزودنی جایگزین آنتی‌بیوتیک‌ها در تغذیه طیور استفاده می‌شود.

امکان دست‌کاری دستگاه گوارش پرنده با استفاده از ترکیبات پروبیوتیکی و پری‌بیوتیکی برای کنترل عفونت‌های باکتریایی در طیور به اثبات رسیده است. پروبیوتیک‌ها میکروب‌های زنده خوراکی هستند که تعادل میکروبی روده را در حیوان میزبان بهبود می‌بخشند [۱ و ۵]. کاهش معنی‌دار جمعیت باکتری‌های اشرشیاکولای و کلستریدیوم و افزایش جمعیت باکتری‌های لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکترها در روده کور و بهبود عملکرد و برخی شاخص‌های کیفی تخم‌مرغ در مرغان تغذیه‌شده با پروبیوتیک نشان داده شده است [۲، ۲۱، ۲۴ و ۳۲]. در مقابل، گزارش‌هایی مبنی بر عدم تأثیرگذاری پروبیوتیک بر درصد و توده تخم‌مرغ تولیدی در مرغان تخم‌گذار وجود دارد [۲۵ و ۳۳].

پری‌بیوتیک‌ها مواد غذایی غیرقابل‌هضمی هستند که به‌طور انتخابی سبب تحریک رشد و فعالیت تعدادی از باکتری‌های روده شده و از استقرار باکتری‌های بیماری‌زا ممانعت نمایند. پری‌بیوتیک‌ها به‌دلیل ویژگی ساختمانی خود توسط آنزیم‌های هضمی دستگاه گوارش هیدرولیز نشده و در روده کور تحت تأثیر آنزیم‌های باکتریایی هیدرولیز و تخمیر می‌شوند و در نهایت تولید اسیدهای چرب فرّار می‌نمایند. این اسیدهای چرب فرّار منجر به کاهش pH، کاهش رشد، کاهش باکتری‌های بیماری‌زا و افزایش تعداد باکتری‌های تولیدکننده لاکتات به‌ویژه بیفیدوباکترها و لاکتوباسیل‌ها می‌شوند [۲۲]. از سوی دیگر، تحریک پاسخ ایمنی و افزایش مقاومت پرنده در مقابل عوامل بیماری‌زا به‌واسطه افزودن پری‌بیوتیک‌ها گزارش شده که از این طریق اثرات محرک رشد خود را اعمال می‌نماید [۵]. در آزمایشی دیگر، بهبود توده تخم‌مرغ تولیدی به‌واسطه افزودن پروبیوتیک (پروتکسین و کلوستات) و سین‌بیوتیک (دیاموند) گزارش شده است لیکن استفاده از این ترکیبات تأثیری بر درصد تولید تخم‌مرغ، وزن تخم‌مرغ، خوراک مصرفی و ضریب تبدیل غذایی نداشته است [۶].

گالاکتوالیگوساکاریدها (GOS) ترکیباتی هستند که به شکل آزاد و یا ترکیب‌شده با دیگر مواد در شیر پستانداران یافت می‌شود. در حیوانات تک‌معده‌ای بسیاری از این الیگوساکاریدها در قسمت‌های فوقانی دستگاه گوارش توسط آنزیم‌های دستگاه گوارش تجزیه می‌شوند. اما برخی از الیگوساکاریدها مثل مانان‌الیگوساکارید یا گالاکتوالیگوساکارید به‌دلیل داشتن ساختار شیمیایی خاص، در مقابل آنزیم‌های هضمی مقاوم هستند و بدون تغییر به قسمت‌های انتهایی دستگاه گوارش منتقل می‌شوند و توسط میکروارگانیسم‌های موجود در قسمت انتهایی روده به‌ویژه لاکتوباسیل‌ها و بیفیدوباکترها تجزیه شده و تولید اسیدلاکتیک و اسیدهای چرب فرّار می‌نمایند [۱۳]. هم‌چنین باکتری‌ها با تولید آنزیم‌هایی هم‌چون بتافروکتوزیداز، بتاگلوکوزیدازو زایلاناز یا دیگر هیدرولازها موجب افزایش دسترسی به مواد مغذی و بهبود عملکرد فلور میکروبی روده پرنده می‌شود [۱۷].

گزارش شده است که افزودن پری‌بیوتیک‌هایی مثل الیگوفروکتوز، اینولین، گالاکتوالیگوساکارید، نشاسته مقاوم و لاکتوز تأثیر مثبتی بر متابولیسم کلسیم داشته و منجر به بهبود کیفیت پوسته تخم‌مرغ‌های تولیدی می‌شود [۱۸ و ۱۹].

پروبیوتیک‌ها و پری‌بیوتیک‌ها به‌عنوان افزودنی با تأثیر بر میکرو فلور روده و بهبود عملکرد طیور مهم هستند. پروبیوتیک‌ها با بهبود تعادل میکروبی روده و پروبیوتیک‌ها با تحریک انتخابی رشد و فعالیت یک یا تعداد محدودی از باکتری‌ها در روده بزرگ به میزبان سود می‌رسانند. این فرضیه مطرح شده است که چنین مکمل‌هایی بر جمعیت میکروبی روده تأثیر می‌گذارند و با بهبود فرایند جذب در روده، عملکرد حیوان را بهبود می‌بخشد [۵]. پژوهش حاضر با هدف بررسی اثر پری‌بیوتیک گالاکتوالیگوساکارید به‌عنوان یک محصول تولیدشده در داخل کشور در مقایسه با پروبیوتیک بیوپلاس B2 بر عملکرد، کیفیت تخم‌مرغ تولیدی و فراسنجه‌های بیوشیمیایی خونی مرغان تخم‌گذار انجام شد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش به‌منظور بررسی اثر پروبیوتیک بیوپلاس B2 (هر گرم حاوی $۳/۲\times۱۰^{۹}$ باکتری *Bacillus subtilis* و *Bacillus lecheniformis* بود، شرکت بیوشم، آلمان) در مقایسه با پری‌بیوتیک گالاکتوالیگوساکارید (GOS، شرکت سروش سبز البرز، ایران) بر عملکرد، کیفیت تولید تخم‌مرغ و فراسنجه‌های خونی مرغان تخم‌گذار تجاری انجام شد. برای این منظور تعداد ۲۱۶ قطعه مرغ تخم‌گذار های-لاین (w36) با میانگین وزنی مشابه در سن ۵۰ هفتگی انتخاب و در قالب طرح کاملاً تصادفی با شش تیمار، شش تکرار (هر تکرار شامل شش قطعه مرغ تخم‌گذار) به‌مدت ۱۲ هفته در شرایط محیطی یکسان در سیستم قفس مورد استفاده قرار گرفتند. تیمارهای آزمایشی شامل گروه شاهد (جیره پایه بدون افزودنی)، گروه جیره پایه به‌همراه ۰/۱ درصد پروبیوتیک بیوپلاس B2، گروه‌های سه تا شش شامل جیره پایه به همراه مقادیر ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۱۵ و ۰/۲ درصد پری‌بیوتیک گالاکتوالیگوساکارید بودند (سطح پیشنهادی توسط شرکت‌های تولیدکننده برای پروبیوتیک بیوپلاس B2 و پری‌بیوتیک گالاکتوالیگوساکارید ۰/۱ درصد جیره بود). جیره‌های آزمایشی بر پایه ذرت-کنجاله سویا و با توجه به احتیاجات مواد مغذی توصیه‌شده برای سویه‌های های-لاین (w36) و با استفاده از نرم‌افزار جیره نویسی UFFDA تنظیم و افزودنی‌ها به‌صورت سرک به جیره‌های آزمایشی اضافه شدند (جدول ۱).

در طول دوره آزمایش، شرایط محیطی برای همه گروه‌های آزمایشی یکسان بود. دمای محیط به‌صورت شبانه‌روزی کنترل می‌شد. تمامی مرغ‌ها به‌صورت آزاد به آب و خوراک دسترسی داشتند. برنامه نوردهی به‌صورت ۱۶ ساعت روشنایی و هشت ساعت تاریکی بود. مقدار خوراک مصرفی، وزن تخم‌مرغ‌ها، درصد تولید تخم‌مرغ و وزن توده تولید تخم‌مرغ به‌صورت هفتگی اندازه‌گیری می‌شد. در طول دوره آزمایش، هر دو هفته یک‌بار (در مجموع شش نوبت) پس از توزین تخم‌مرغ‌های تولیدی، تعداد دو عدد تخم‌مرغ از هر تکرار به‌طور تصادفی انتخاب و پس از شکستن بر روی سطح صاف، ارتفاع سفیده غلیظ با استفاده از میکرومتر اندازه‌گیری شد. واحد هاو از اندازه ارتفاع سفیده غلیظ و وزن تخم‌مرغ با استفاده از رابطه (۱) محاسبه شد [۲۷]:

$$\text{Haugh Unit (HU)} = 100 \log [\text{albumen height (mm)} + 7.57 - (1.7 \times \text{egg weight}^{0.37}(\text{g}))] \quad \text{(رابطه ۱)}$$

پوسته تخم‌مرغ از محتویات آن تمیز شد و پوسته‌ها به‌مدت ۴۸ ساعت برای خشک‌شدن در دمای اتاق نگهداری شدند. بعد از خشک‌شدن وزن آن‌ها با ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۱ گرم اندازه‌گیری شد. ضخامت پوسته تخم‌مرغ‌ها با استفاده از میکرومتر با دقت ۰/۰۰۱ میلی‌متر از سه ناحیه

مختلف (بالا، وسط و پایین تخم‌مرغ) اندازه‌گیری شد و میانگین آن‌ها به‌عنوان ضخامت پوسته در نظر گرفته شد.

جدول ۱. مواد خوراکی تشکیل‌دهنده و مواد مغذی جیره‌های آزمایشی در طول دوره انجام طرح آزمایشی

اجزای تشکیل‌دهنده	میزان (درصد)
ذرت	۵۳/۷۹
کنجاله سویا	۲۷/۲۵
کربنات کلسیم	۹/۷۲
روغن گیاهی	۳/۲۶
سبوس گندم	۳/۰۰
دی کلسیم فسفات	۱/۷۶
نمک	۰/۳۷
دی ال – متیونین	۰/۱۹
ال – ترئونین	۰/۰۳
مکمل ویتامینه[1]	۰/۳۰
مکمل معدنی[2]	۰/۳۰
جوش شیرین	۰/۰۳
ترکیب مواد مغذی	
انرژی قابل متابولیسم (کیلوکالری در کیلوگرم)	۲۷۵۰
پروتئین خام (درصد)	۱۶/۵۰
لیزین (درصد)	۰/۸۴۶
متیونین + سیستین (درصد)	۰/۷۳۰
ترئونین (درصد)	۰/۶۳۰
والین (درصد)	۰/۷۷۰
ایزولوسین (درصد)	۰/۶۷۶
آرژنین (درصد)	۱/۰۴۶
تریپتوفان (درصد)	۰/۱۹۱
کلسیم (درصد)	۴/۲
فسفر قابل دسترس (درصد)	۰/۴۴
سدیم (درصد)	۰/۱۷
کلر (درصد)	۰/۲۶
پتاسیم (درصد)	۰/۷۵۱
DCAD (میلی‌اکی‌والان در کیلوگرم)[3]	۱۹۷
اسید لینولئیک (درصد)	۲/۹۷

۱. ترکیب در هر کیلوگرم از جیره شامل ویتامین A ۲۲۰۰۰ میلی گرم (رتینال استات)؛ ویتامین D_3 ۶۲۵۰ میلی گرم (کوله کلسیفرول)؛ ویتامین E ۲۷/۵ میلی گرم (دی ال- آلفا توکوفرول استات)؛ B_{12} ۰/۰۲۵ میلی گرم؛ منادیون ۵/۵ میلی گرم؛ ریبو فلاوین ۱۰ میلی گرم؛ تیامین ۳/۷۵ میلی گرم؛ پانتوتنیک کلسیم ۲۰ میلی گرم؛ نیاسین ۵ ۸۷/۵ میلی گرم؛ فولیک اسید ۱/۲میلی گرم؛ بیوتین ۰/۳۷۵ میلی گرم؛ پیرو دوکسین ۶/۱۵ میلی گرم؛ آنتی اکسیدان ۲/۵ میلی گرم

۲. ترکیب هر کیلو گرم از جیره شامل: منگنز ($MnSO_4.H_2O$) ۱۸۷/۵میلی گرم؛ روی (ZnO) ۱۶۱/۵میلی گرم؛ آهن ($FeSO_4.7H_2O$) ۱۸۷/۵میلی گرم؛ مس ($CuSO_4.5H_2O$) ۱۵ میلی گرم؛ سلنیوم (Ni_2SeO_3) ۰/۵میلی گرم؛ ید (Iodized NaCl) ۲/۱۶۷میلی گرم؛ کولین ۵۰۰ میلی گرم

۳. اختلاف آنیون– کاتیون جیره (Na+K-Cl)

برای تخمین استحکام پوسته از معیار میلی‌گرم وزن پوسته به‌ازای هر سانتی‌مترمربع از سطح آن استفاده شد. سطح پوسته تخم‌مرغ با استفاده از رابطه (۲) محاسبه شد [۱۲].

(رابطه ۲) $^{۰/۷۰۵۶}$(وزن تخم‌مرغ) × ۳/۹۷۸۲=سطح پوسته

سطح پوسته برحسب سانتی‌مترمربع، وزن تخم‌مرغ برحسب گرم و وزن پوسته در واحد سطح برحسب میلی‌گرم بر سانتی‌مترمربع محاسبه شد. برای محاسبه وزن پوسته در واحد سطح که شاخصی از استحکام پوسته است، وزن پوسته تخم‌مرغ بر سطح پوسته محاسبه شده آن تقسیم شد.

در انتهای آزمایش و به‌منظور مطالعه فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون (گلوکز، آلبومین، گلوبولین، تری گلیسرید، کلسترول، LDL، HDL، کلسیم و فسفر) تعداد دو قطعه پرنده از هر تکرار انتخاب و نمونه‌های خون اخذ شد و با استفاده از کیت‌های تجاری پارس‌آزمون و دستورالعمل مربوطه و دستگاه اتوآنالایزر هیتاچی (Auto Analyzer Hitachi 911 Model Leica RM 2145, USA) به‌روش اسپکتروفتومتری مقدار این فراسنجه‌ها اندازه‌گیری شد. در پایان داده‌های حاصل با استفاده از رویه GLM نرم‌افزار SAS (نسخه ۹/۱) برای رابطه (۳) تجزیه و میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵ درصد مقایسه شدند. مدل ریاضی طرح آزمایشی به‌صورت رابطه (۳) بود:

$$Y_{ij} = \mu + t_i + e_{ij}$$ (رابطه ۳)

که در آن، Y_{ij}= مقدار هر مشاهده، μ= میانگین مشاهدات، t_i= اثر تیمار و e_{ij}= خطای آزمایشی می‌باشد.

نتایج و بحث

وزن تخم‌مرغ و توده تخم‌مرغ در مرغ‌هایی که با جیره پروبیوتیک بیوپلاس B2 تغذیه شدند به‌ترتیب ۳ و ۵/۴۵ درصد نسبت به گروه شاهد افزایش نشان داد ($P<0/05$؛ جدول ۲).

جدول ۲. اثر تیمارهای آزمایشی بر عملکرد مرغان تخم‌گذار در طول دوره آزمایش (سن ۵۰ تا ٦٢ هفتگی تولید)

تیمار آزمایشی	وزن تخم‌مرغ (گرم)	تولید تخم‌مرغ (درصد)	توده تخم‌مرغ (گرم)	خوراک مصرفی روزانه (گرم)	ضریب تبدیل غذایی
گروه شاهد	٦١/٧٩^{bc}	٨٢/٤٢	٥٠/٩٦ ^{b}	١٠٨/٣٢	٢/١٤
بیوپلاس B2	٦٣/٦٤ ^{a}	٨٤/٤٢	٥٣/٧٤ ^{a}	١٠٩/٤٩	٢/٠٤
گالاکتوالیگوساکارید ۰/۰۵ درصد	٦١/٤٧ ^{c}	٨٣/٧١	٥١/٥١ ^{b}	١٠٥/٩٦	٢/٠٧
گالاکتوالیگوساکارید ۰/۱ درصد	٦٢/١٨ ^{bc}	٨١/٥٨	٥٠/٧٥ ^{b}	١٠٦/٦١	٢/١١
گالاکتوالیگوساکارید ۰/۱۵ درصد	٦٢/٩٧ ^{ab}	٨٣/٨٦	٥٢/٨٢ ^{ab}	١٠٩/٣٩	٢/٠٨
گالاکتوالیگوساکارید ۰/۲ درصد	٦١/٩٥ ^{bc}	٨٢/٥٩	٥١/٠٦ ^{b}	١٠٨/٦٣	٢/١٣
SEM	۰/٤۰	١/٠٩	۰/٧٦	١/٣٥	۰/۰٣
p-value	۰/۰۰١	۰/٤٤	۰/۰٣	۰/٣٢	۰/١٩

a-c: تفاوت ارقام با حروف غیر مشابه در هر سطر معنی‌دار است (P<۰/۰۵).

وزن تخم‌مرغ و توده تخم‌مرغ در مرغ‌های تغذیه‌شده با جیره ۰/۱۵ درصد GOS در مقایسه با جیره پروبیوتیک بیوپلاس B2 تفاوت معنی‌دار نداشتند. درصد تولید تخم‌مرغ، خوراک مصرفی روزانه و ضریب تبدیل غذایی تحت تأثیر تیمارهای مختلف آزمایشی قرار نگرفت.

بهبود عملکرد ناشی از استفاده از پروبیوتیک‌ها [۲، ۹، ٢٦ و ٢٨] و پری‌بیوتیک‌ها [٤ و ٨] در جیره غذایی مرغان تخم‌گذار توسط تعدادی از پژوهش‌گران گزارش شده است که هم‌راستا با نتایج پژوهش حاضر است. در مقابل گزارش شده است که استفاده از پروبیوتیک‌ها [٢٥ و ٣٣] و پری‌بیوتیک [٣١] در جیره غذایی مرغان تخم‌گذار تأثیر معنی‌دار بر عملکرد پرنده ندارد. گزارش شده که توده تخم‌مرغ، ضریب تبدیل غذا، وزن تخم‌مرغ و میزان تخم‌مرغ تولیدی با افزودن *B. subtilis*، اینولین یا سین‌بیوتیک‌ها بهبود داشته است. در همین پژوهش مشخص شد که وزن تخم‌مرغ تولیدی در گروه تغذیه‌شده با اینولین یا سین‌بیوتیک‌ها نسبت به گروه شاهد ۳/۸-۱/٦گرم سنگین‌تر بود [۲]. هم‌چنین در مطالعه دیگر افزودن *B. subtilis* سبب بهبود ۱/۳ درصدی وزن تخم‌مرغ و ٤ درصدی توده تخم‌مرغ شده است [٢٦].

یافته‌های دیگری نشان داد که افزودن مخلوطی از گونه‌های مختلف میکروبی به جیره مرغ تخم‌گذار سبب افزایش وزن تخم‌مرغ‌ها به میزان ۰/٦ گرم نسبت به گروه شاهد شده است [۹].

با وجود این که وراثت‌پذیری صفت وزن تخم‌مرغ بالا است، اما بهبود وزن تخم‌مرغ و کیفیت پوسته تخم‌مرغ ناشی از تغذیه مکمل پروبیوتیک و یا پری‌بیوتیک ممکن است ناشی از ایجاد یک محیط مطلوب در دستگاه گوارش باشد که به جذب بیش‌تر مواد مغذی کمک کند [٢٤]. پروبیوتیک‌ها به‌ویژه لاکتوباسیل‌ها در رقابت با میکروارگانیسم‌های مضر قادر به اتصال به بافت اپیتلیوم روده بوده و با کاهش پتانسیل رشد باکتری‌های بیماری‌زا، جمعیت میکروب‌های مفید روده را افزایش و سلامت غشای مخاطی روده را تضمین می‌کنند. پروبیوتیک‌ها از طریق بهبود ارتفاع پرزها و کاهش عمق کریپت، وسعت منطقه جذبی روده را افزایش داده و راندمان غذایی را بهبود می‌بخشند [٢١]. از سوی دیگر مطالعات آزمایشگاهی (in vitro) و درون‌تنی (*in vivo*) نشان داده شده است که استفاده از GOS باعث ایجاد رشد حداکثری

در جمعیت باکتری‌های لاکتوباسیل‌ها و بیفیدوباکترها می‌شود [۱٤].

عدم بهبود عملکرد ناشی از مصرف پروبیوتیک‌ها یا پری‌بیوتیک در جیره غذایی مرغان تخم‌گذار می‌تواند از وجود اختلاف بین سویه‌های باکتری‌های مفید در انواع مکمل پروبیوتیک، غلظت‌های مختلف مصرف پروبیوتیک یا پری‌بیوتیک در جیره، فرم استفاده از این مکمل‌ها و سن مرغ ناشی شود [۱].

وزن سفیده، ارتفاع سفیده و وزن زرده تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت (جدول ۳). واحد هاو در نتیجه افزودن پروبیوتیک بیوپلاس B2 نسبت به سطح ۰/۲ درصد GOS افزایش معنی‌دار نشان داد (P<۰/۰۵). واحد هاو در جیره‌های حاوی سطوح مختلف GOS با گروه شاهد اختلاف معنی‌دار نداشت.

گزارش‌هایی مبنی بر عدم تأثیرگذاری پروبیوتیک [۳ و ۲۹] و پری‌بیوتیک [۱۹] بر ارتفاع سفیده و واحد هاو وجود دارد که یافته‌های پژوهش حاضر را تأیید می‌کند. مشخص شده است که عواملی چون ترکیب گونه‌های میکروبی پروبیوتیک، مقدار اضافه شده، روش و دفعات افزودن آن، ترکیب جیره، سن پرنده، ژنوتیپ و استرس‌های محیطی می‌تواند باعث تفاوت در نتایج پژوهش‌های مختلف شود [۲۱].

ضخامت پوسته تخم‌مرغ در تیمارهای مختلف آزمایشی تفاوت معنی‌دار نشان نداد. وزن پوسته خشک تخم‌مرغ در مرغ‌های تغذیه‌شده با جیره‌های حاوی ۰/۰۵، ۰/۱ و ۰/۲ درصد GOS و وزن واحد سطح پوسته تخم‌مرغ (استحکام پوسته) در مرغ‌های تغذیه‌شده با جیره حاوی ۰/۰۵، ۰/۱۵ و ۰/۲ درصد GOS در مقایسه با گروه شاهد افزایش نشان داد (P<۰/۰۵؛ جدول ٤). بیش‌ترین وزن پوسته خشک و وزن واحد سطح پوسته به‌ترتیب مربوط به تیمار ۰/۱ و ۰/۰۵ درصد گالاکتوالیگوساکارید و کم‌ترین وزن پوسته خشک و وزن واحد سطح پوسته مربوط به تیمار شاهد بود.

یکی از معیارهای مهم در ارزیابی ضخامت پوسته تخم‌مرغ، وزن هر میلی‌متر از سطح پوسته می‌باشد. وزن مخصوص و درصد پوسته تخم‌مرغ از جمله شاخص‌های دیگر برای ارزیابی کیفیت پوسته تخم‌مرغ است و هر چه این دو شاخص بالاتر باشد، نشان‌دهنده رسوب بیش‌تر کلسیم در پوسته و افزایش کیفیت پوسته است.

جدول ۳. اثر تیمارهای آزمایشی بر صفات کیفی تخم‌مرغ (سن ۵۰ تا ٦۲ هفتگی تولید)

تیمار آزمایشی	وزن سفیده (گرم)	ارتفاع سفیده (میلی‌متر)	وزن زرده تخم (گرم)	واحد هاو
گروه شاهد	۳٦/۷٦	۷/۲۸	۱۸/۸٦	۸۳/٤۷ ^{ab}
بیوپلاس B2	۳۷/۰۵	۷/۵۸	۱۹/۰۲	۸۵/۲٤ ^{a}
گالاکتوالیگوساکارید ۰/۰۵ درصد	۳٦/۹٤	۷/۱٦	۱۹/۲۳	۸۲/۳٦ ^{ab}
گالاکتوالیگوساکارید ۰/۱ درصد	۳۷/٦٤	۷/۱۳	۱۹/۵۱	۸۲/۰٤ ^{ab}
گالاکتوالیگوساکارید ۰/۱۵ درصد	۳٦/۷۹	۷/٤۲	۱۸/۸۱	۸٤/۲۱ ^{ab}
گالاکتوالیگوساکارید ۰/۲ درصد	۳٦/۷٦	٦/۸۲	۱۹/۳٦	۸۰/۲۲ ^{b}
SEM	۰/۵٦	۰/۲۱	۰/۲۵	۱/۲۰
p-value	۰/۸۷	۰/۰۷	۰/۲۹	۰/۰۳

a-b: تفاوت ارقام با حروف غیر مشابه در هر سطر معنی‌دار است (P<۰/۰۵).

جدول٤. اثر تیمارهای آزمایشی بر صفات پوسته تخم‌مرغ (سن ٥٠ تا ٦٢ هفتگی تولید)

تیمار آزمایشی	ضخامت پوسته (میلی‌متر)	وزن پوسته خشک (گرم)	وزن واحد سطح پوسته (میلی‌گرم/سانتی‌مترمربع)
گروه شاهد	۰/٤٥٦	۵/۵۹ [b]	۷٤/٦۰ [b]
بیوپلاس B2	۰/٤۷٦	۵/۷۹ [ab]	۷٦/۵٦ [ab]
گالاکتوالیگوساکارید ۰/۰۵ درصد	۰/٤۸۷	۵/۹۵ [a]	۷۸/٤۵ [a]
گالاکتوالیگوساکارید ۰/۱ درصد	۰/٤۸۷	٦/۰۰ [a]	۷۸/۳٦ [ab]
گالاکتوالیگوساکارید ۰/۱۵ درصد	۰/٤۹٦	۵/۷٦ [ab]	۷٦/۷٤ [a]
گالاکتوالیگوساکارید ۰/۲ درصد	۰/٤۷۷	۵/۹۰ [a]	۷۷/۸۷ [a]
SEM	۰/۰۱۳	۰/۹۳۰	۰/۹۹
p-value	۰/۳۲	۰/۰۳	۰/۰۵

a-b: تفاوت ارقام با حروف غیر مشابه در هر سطر معنی‌دار است (P<۰/۰۵).

بهبود کیفیت پوسته تخم‌مرغ‌ها ناشی از کاربرد پروبیوتیک‌ها و پری‌بیوتیک‌ها توسط پژوهش‌گران گزارش شده است [۲، ۲۱ و ۳٤]. افزایش وزن پوسته و وزن هر میلی‌متر از سطح پوسته تخم‌مرغ در نتیجه استفاده از مکمل پروبیوتیک (بیوپلاس) در جیره مرغان تخم‌گذار گزارش شده است [۲۳]. افزایش ابقای کلسیم در مرغ‌های تخم‌گذار می‌تواند توضیحی بر بهبود کیفیت پوسته پس از افزودن پروبیوتیک باشد. میکروب‌های روده سرعت تخمیر را تحریک کرده و سبب افزایش تولید اسیدهای چرب زنجیر کوتاه شده و باعث کاهش pH روده می‌شوند. محیط اسیدی ایجادشده در دستگاه گوارش به‌وسیله باکتری‌های اسید لاکتیک، یونیزه‌سازی مواد معدنی را تسهیل کرده و جذب آن‌ها را بهبود می‌بخشد [۲ و ۲۱].

پروتئین کل و آلبومین پلاسما در مرغ‌های تغذیه‌شده با جیره پروبیوتیک بیوپلاس B2 نسبت به جیره شاهد و جیره حاوی ۰/۰۵ درصد GOS افزایش نشان داد (P<۰/۰۵؛ جدول ۵). پروتئین کل و آلبومین پلاسما در مرغ‌های تغذیه‌شده با پروبیوتیک بیوپلاس B2 و سطح ۰/۱۵ درصد GOS تفاوت معنی‌دار نداشتند. سطح گلوبولین، کلسیم و فسفر سرم خون مرغ‌های تخم‌گذار تحت تأثیر جیره‌های آزمایشی قرار نگرفت.

افزایش میزان پروتئین تام و آلبومین در نتیجه افزودن ۰/۱ درصد پروبیوتیک به جیره مرغان تخم‌گذار گزارش شده است [۲۰ و ۲۸]. در مقابل نشان داده شده که افزودن پری‌بیوتیک دایناميون به جیره مرغان تخم‌گذار در سن ۵۲ هفتگی تأثیری بر فراسنجه‌های خوتی (پروتئین کل، آلبومین، گلوبولین اسید اوریک و گلوکز) و فراسنجه‌های لیپیدی خون نداشت [۱۳]. پروتئین کل نشان‌گر کل پروتئین‌های موجود در سرم از جمله آلفا، بتا، گاما گلوبولین‌ها، آلبومین و ایمینوگلوبولین‌ها می‌باشد. 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 [۷]. گزارش شده است که استفاده از پروبیوتیک تأثیر معنی‌دار بر غلظت پلاسمایی کلسیم نداشت [۲۰ و ۲۸] که هم‌راستا با نتایج پژوهش حاضر است.

سطح کلسترول خون در مرغ‌های تغذیه شده با پروبیوتیک بیوپلاس B2 و ۰/۱۵ درصد GOS نسبت به گروه شاهد کاهش یافت (P<۰/۰۵؛ جدول ٦). غلظت تری‌گلیسیرید، لیپو پروتئین با چگالی پایین (LDL) و لیپو پروتئین با چگالی بالا (HDL) در سرم خون مرغ‌های تخم‌گذار و غلظت کلسترول زرده تخم‌مرغ تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت.

جدول ۵. اثر تیمارهای آزمایشی بر غلظت (میلی‌گرم/ دسی لیتر) فراسنجه‌های خونی (سن ٦٢ هفتگی)

تیمار آزمایشی	پروتئین کل	آلبومین	گلوبولین	کلسیم	فسفر
گروه شاهد	۵/۵۹ [b]	۲/٤٦ [b]	۳/۱۳	۲۵/۳۲	۵/۳۲
بیوپلاس B2	٦/٦۳ [a]	۲/۸۸ [a]	۳/۷۵	۲۷/٦۵	۵/۵۰
گالاکتوالیگوساکارید ۰/۰۵ درصد	۵/۳٦ [b]	۲/۳۰ [b]	۳/۰٦	۲٤/۱۲	۵/٦۳
گالاکتوالیگوساکارید ۰/۱ درصد	۵/۸۳ [ab]	۲/۵۰ [b]	۳/۳۳	۲۵/۹۵	٤/۷۵
گالاکتوالیگوساکارید ۰/۱۵ درصد	٦/۲٦ [ab]	۲/۵۵ [ab]	۳/۷۱	۲٦/۳٦	٤/٦۸
گالاکتوالیگوساکارید ۰/۲ درصد	۵/٤٦ [b]	۲/۲۵ [b]	۳/۲۱	۲٦/٤۱	۵/۲۲
SEM	۰/۲۰۳	۰/۰۸۵	۰/۱۸	۱/۳۵	۰/٤۱
p-value	۰/۰۳	۰/۰۳	۰/۳۷	۰/٤۲	۰/٦۳

a-b: تفاوت ارقام با حروف غیر مشابه در هر سطر معنی‌دار است (P<۰/۰۵).

جدول ٦. اثر تیمارهای آزمایشی بر غلظت فراسنجه‌های لیپیدی سرم خون وکلسترول زرده تخم‌مرغ (سن ٦٢ هفتگی)

تیمار آزمایشی	کلسترول	تری گلیسیرید	LDL	HDL	کلسترول زرده
	میلی‌گرم/ دسی‌لیتر				(میلی‌گرم/ گرم)
گروه شاهد	۱٤٦/۱۵ [a]	۱۸۳٦/۳	۵۳/۵٦	۲۵/٦۵	۱۰/۷٤
بیوپلاس B2	۱۲۲/٦۵ [b]	۱٤۹۵/۸	٤۲/٤٦	۳٦/۹٤	۱۰/۲۵
گالاکتوالیگوساکارید ۰/۰۵ درصد	۱۵۰/۳٤ [a]	۱۹٤۳/۵	٤٦/۵۱	۲۲/۵٤	۱۰/۸۳
گالاکتوالیگوساکارید ۰/۱ درصد	۱۳۸/۷٦ [ab]	۱۷۰۰/۵	۵٦/۱۵	۲۹/٤٦	۱۰/٦٦
گالاکتوالیگوساکارید ۰/۱۵ درصد	۱۲٤/۱۲ [b]	۱۵۸۰/۸	٤۸/۱۲	۲٦/۳۹	۱۰/٤۳
گالاکتوالیگوساکارید ۰/۲ درصد	۱۳۹/۱۹ [ab]	۱٦٤۲/۳	۳۸/۱٦	۳٤/۵۵	۱۰/۷۵
SEM	۷/۰۳	۱۰۱/٦	۳/۳٦	۳/۷۵	۰/۱۸
p-value	۰/۰٤	۰/۱۵	۰/۲٦	۰/۳۳	۰/۳۲

a-b: تفاوت ارقام با حروف غیر مشابه در هر سطر معنی‌دار است (P<۰/۰۵).

کاهش سطح کلسترول سرم خون در نتیجه استفاده از مکمل‌های پروبیوتیکی [۱۰ و ۳٤] و پری‌بیوتیکی [۱۱] و عدم تأثیر پروبیوتیک بر میزان تری‌گلیسرید خون [۲۸] گزارش شده است که هم‌راستا با یافته‌های پژوهش حاضر است. 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 [۲]. گزارش شده است که سطح لیپوپروتئین با چگالی بالای سرم پرندگان، تحت تأثیر مکمل سازی با پری بیوتیک قرار نگرفت، درحالی‌که غلظت لیپوپروتئین با چگالی پایین کاهش پیدا کرد [۱۵].

کاهش سطح کلسترول زرده تخم‌مرغ در نتیجه استفاده از پروبیوتیک‌های مختلف توسط تعدادی از پژوهش‌گران [۱۵، ۲۱ و ۲٤] گزارش شده است. یکی از مکانیسم‌های‌بیان شده در خصوص اثرات هیپوکلسترومی پروبیوتیک‌ها از طریق ممانعت از بازجذب اسیدهای

صفراوی در روده است. به این‌صورت که اسیدهای صفراوی کولیک و دی‌اکسی‌کولیک به‌وسیله سلول‌های کبدی از کلسترول تولید شده و به‌ترتیب با گلیسین و تائورین کونژوکه می‌شوند. این اسیدها وارد روده کوچک شده و پس از جذب به سمت کبد هدایت می‌شوند، کاهش بازیافت اسیدهای صفراوی در نهایت منجر به کاهش غلظت کلسترول سرم خون می‌شود. چون کلسترول برای سنتز اسیدهای صفروای استفاده می‌شود [۳۰]. برخی از باکتری‌های خاص نظیر باسیلوس سابتیلیس می‌توانند از بازجذب نمک‌های صفراوی ممانعت کرده و آن‌ها را به نمک‌های صفراوی نوع دوم تبدیل کنند. هم‌چنین آن‌ها قادرند آنزیم‌های استراز تبدیل‌کننده اسیدهای چرب آزاد به اشکال استریفیه‌شده اسیدهای چرب را تولید کنند، که با تری‌گلیسریدها در روده تفاوت دارند. بنابراین کلسترول و تری‌گلیسرید کم‌تر احتمال جذب‌شدن به سرم خون را خواهند داشت و در نتیجه از مقدار آن‌ها در سرم خون کاسته می‌شود [۳٤].

به‌طورکلی، نتایج نشان داد که استفاده از پری‌بیوتیک گالاکتوالیگوساکارید به میزان ۰/۱۵ درصد موجب بهبود عملکرد کمی و کیفی تخم‌مرغ تولیدی مرغان تخم‌گذار شده و می‌تواند جایگزین پروبیوتیک بیوپلاس B2 در جیره مرغان تخم‌گذار شود.

تشکر و قدردانی

از همکاران محترم بخش تحقیقات علوم دامی مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی زنجان که در اجرای این پروژه ما را یاری رساندند، تشکر و قدردانی می‌گردد.

تعارض منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان وجود ندارد.

منابع مورداستفاده

1. Abdelqader A (2017) Egg Innovations and Strategies for Improvements. Edited by: Patricia Y Hester Chapter 27: Use of Dietary Probiotics to Improve Laying Hen Performance. Academic Press, 283-295.
2. Abdelqader A, Irshaid R and Al-Fataftah AR (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.
3. Afsari M, Mohebbifar A and Torki M (2014) Effects of dietary inclusion of olive pulp supplemented with probiotics on productive performance, egg quality and blood parameters of laying hens. Annual Research and Review in Biology, 4(1): 198-211.
4. Aghaii A, Chaji M, Mohammadabadi T and Sari M (2010) The effect of probiotic supplementation on production performance, egg quality and serum and egg chemical composition of lying hens. Journal of Animal and Veterinary Advances, 9(21), 2774-2777.
5. Al-Khalaifah HS (2018) Benefits of probiotics and/or prebiotics for antibiotic-reduced poultry. Poultry Scienc, 97: 588–593.
6. Amani WY, Hassan HMA, Ali HM, Mohamed MA (2013) Effect of probiotic, prebiotic and organic acid on layer performance and egg quality. Asian Journal of Poultry Science, 7(2): 66-74.
7. Baba E, Nagaishi S, Fukata T and Arakava A (1996) The role of intestinal microflora on the prevention of salmonelle colonization in gnobiotic chicks. Poultry Science, 70: 1902-1907.
8. Chen YC, Nakthong C and Chen TC (2005) Improvement of laying hen performance by dietary prebiotic chicory oligofructose and inulin. International Journal of Poultry Science, 4(2): 103-108.
9. Davis GS and Anderson KE (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(6): 755-759.
10. Farouk deraz S (2018) Synergetic effects of multispecies probiotic supplementation on certain blood parameters and serum biochemical profile of broiler chickens. Journal of Animal Health and Production, 6: 1-27.
11. Hosseini Mansoub N (2011) Comparative effect of butyric acid, probiotic and garlic on performance and serum composition of broiler chickens. American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Sciences, 11: 507-511.

12. Hughes RJ (1984) Estimation of Shell Surface Area from Measurements of Length, Breadth, and Weight of Hen Eggs. Poultry Science, 63: 2471-2474
13. Javheri Z, Shahbazi HR and Moradi S (2018) Effects of different levels of dinamion prebiotic and Biotronic organic acid on immune response and blood parameters in laying hens. Veterinary Researches and Biological Products, 118: 153-161. (In Persian).
14. Jung SJ, Houde R, Baurhoo B, Zhao X and Lee BH (2008) Effects of galacto-oligosaccharides and a bifidobacteria lactis-based probiotic strain on the growth performance and fecal microflora of broiler chickens. Poultry Science, 87: 1694-1699
15. Kalavathy R, Abdullah N, Jalaludin S and Ho YW (2003) Effects of Lactobacillus cultures on growth performance, abdominal fat deposition, serum lipids and weight of organs of broiler chickens. British Poultry Science, 44(1):139-144.
16. Leeson S and Summers JD (2008) Commercial poultry nutrition. 3rd edition. Pp: 1-10 (Nottingham University Press).
17. Lotfi K, Mahdavi A, Jebelli Javan A, Staji H and Darabighane B (2019) Effects of different level of resistant starch on growth performance and ileum morphology in broiler. A comparition to fructooligosaccharide and zinc bacitracin. Iranian journal of Applied Animal Science, 9: 315-322.
18. Luoma A, Markazi A, Shanmugasundaram R, Murugesan GR, Mohnl M and Selvaraj R (2017) Effect of synbiotic supplementation on layer production and cecal Salmonella load during a Salmonella challenge. Poultry Science, 96(12): 4208-4216.
19. Marelli SP, Mangiagalli MG, Giardini A, Carteri S, Galimberti P and Guidobono Cavalchini L (2008) *Lactobacillus acidophilus* D2/CSL in different milk-based diets: Effect on egg characteristics. Proc. 1st Mediterr. Summit Porto Carras, Chalkidiki, Greece. World's Poultry Science Journal, 64: 26.
20. Matéova S, Gaalova M, Saly J and Fialkovicova M (2009) Investigation of the effect of probiotics and potentiated probiotics on productivity of laying hens. Czech Journal of Animal Science, 54: 24-30.
21. Mikulski D, Jankowski J, Naczmanski J, Mikulska M and 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.
22. Mohseni Gharechopogh A, Fakhraei J, Hosseini SA, Mansoori Yarahmadi H, Lotfollahian H (2021) Performance, immune response and blood biochemistry of broiler chickens fed with plant growth compound. Tropical Animal Science Journal, 44(1): 62-70.
23. Nobakht A and Mehmannavz Y (2010) Effects of different levels of probiotics (bioplus) on performance, egg quality traits and serum biochemical parameters of laying hens. Journal of New Veterinary Research, Islamic Azad University, Shahrekord Branch, 4: 33-40. (In Persian).
24. Panda AK, Rama Rao SS, Raju MV and Sharma SS (2008) Effect of probiotic (*Lactobacillus sporogenes*) feeding on egg production and quality, yolk cholesterol and humoral immune response of White Leghorn layer breeders. Journal of the Science of Food and Agriculture, 88(1): 43-47.
25. Ramasamy K, Abdullah N, Jalaludin S, Wong, M, Ho YW (2009) Effects of Lactobacillus cultures on performance of laying hens, and total cholesterol, lipid and fatty acid composition of egg yolk. Journal of the Science of Food and Agriculture, 89: 482-486.
26. Ribeiro JV, Albino LFT, Rostagno HS, Barreto SLT, Hannas MI, Harrington D, Araujo FA, Ferreira JHC and Ferreira MA (2014) Effects of the dietary supplementation of *Bacillus subtilis* levels on performance, egg quality and excreta moisture of layers. Animal Feed Science and Technology, 195: 142-146.
27. Roberts JR (2019) Egg Quality Reference Manual. A resource to further inform producers about egg and egg shell quality. First Edition, Australian Eggs Limited.
28. Shahir MH, Mohammadi M, Ghazi Sh, Afsarian O and Moradi S (2012) The effect of probiotics and calcium butyrate on production performance, egg quality, blood parameters and immune response of laying hens. Journal of Veterinary Research, 67(4): 313-323. (In Persian).
29. Sobczak A and Kozłowski K (2015) The effect of a probiotic preparation containing *Bacillus subtilis* ATCC PTA-6737 on egg production and physiological parameters of laying hens. Annals of Animal Science, 15(3): 711-723.
30. St-Onge MP, Farnworth ER and Jones PJH (2000) Consumption of fermented and nonfermented dairy products: Effects on cholesterol concentrations and metabolism. Amimal Journal of Clinical Nutrition, 71: 674-681.

31. Swiatkiewicz S, Koreleski J and Arczewska A (2010). Laying performance and eggshell quality in laying hens fed diets supplemented bith prebiotics and organic acid. Czech Journal of Animal Science, 55: 294-304.
32. Yang CM, Cao GT, Ferket PR, Liu TT, Zhou L, Zhang L, Xiao YP and Chen AG (2012) Effects of probiotic, *Clostridium butyricum*, on growth performance, immune function, and cecal microflora in broiler chickens. Poultry Science, 91: 2121-2129.
33. Zarei M, Ehsani M and Torki M (2011) Dietry inclusion of probiotics and symbiotic and evaluating performance of laying hen. American Journal of Agricultural and Biological Science, 6: 249-255.
34. Zhang JL, Xie QM, Ji J, Yang WH, Wu YB, Li C and Bi YZ (2012) Different combinations of probiotics improve the production performance, egg quality, and immune response of layer hens. Poultry Science, 91(11): 2755-2760.