



Original Research Paper

Effects of the *in ovo* feeding of *Lactobacillus* on the hatch percentag, growth performance, carcass characteristics, and immune response of broilersJavad Zakari ¹, Majid Motaghitlab ¹, Mehrdad Mohammadi ¹, Mohammad Khajeh Bami ², Omid Dayani ^{*2}¹Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Guilan, Rasht, Iran²Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran

Key Words

Antibody titer
Broilers
Carcass characteristics
Probiotic
Performance

Abstract

Introduction: This experiment was conducted to study the effects of the *in ovo* feeding of *Lactobacillus* on the hatch percentag, growth performance, carcass characteristics, and immune response of broilers.**Materials & Methods:** This experiment was conducted using 240 fertilized eggs from broiler in three treatments, four replicates and 20 eggs per each replicate with completely randomized design. The experimental treatments were included non-injected (control), injected with 0.1 mL of distilled water, and injected with 0.1 mL of *Lactobacillus* with a concentration of 10⁵ CFU/gr. On the 18th day of incubation, the position of the amniotic fluid of the eggs was determined using the candling method and then 0.1 mL of the experimental solution was injected using a syringe with a 22-gauge needle into the amniotic fluid of the fertile eggs. The injection spot was blocked with paraffin after injection, and the eggs were immediately transferred to the hatcher. All chickens in different treatments were freely fed with a common experimental diet.**Results:** The *in ovo* feeding of *Lactobacillus* caused a significant increase in hatchability compared to the group injected with distilled water and the control group ($P<0.05$). Injecting *Lactobacillus* increased significantly the weight of day-old chicks compared to distilled water injection ($P<0.05$). Injecting distilled water or *Lactobacillus* had no significant effect on feed intake, daily weight gain, and feed conversion ratio in different periods of rearing ($P>0.05$). Injecting *Lactobacillus* did not have significant effect on the relative weight of carcass, thigh, breast, abdominal fat, bursa, and thymus of chickens ($P>0.05$). Compared to the group injected with distilled water, *Lactobacillus* injection caused a significant decrease in intestinal pH ($P<0.05$). With *Lactobacillus* injection, antibody titer against Newcastle disease and influenza at the age of 42 days increased significantly compared to distilled water injection or the control group ($P<0.05$).**Conclusion:** According to the results of the present experiment, *in ovo* feeding of *Lactobacillus* could improve hatchability, weight of day-old chicks, and immune responses of broiler chickens.* Corresponding Author's email: odayani@uk.ac.ir

Received: 22 September 2024; Reviewed: 26 October 2024; Revised: 26 December 2024; Accepted: 26 January 2025

(DOI): [10.22034/AEJ.2024.431445.3080](https://doi.org/10.22034/AEJ.2024.431445.3080)

مقاله پژوهشی

بررسی اثر تغذیه درون تخم مرغی لاکتوباسیلوس بر درصد جوجه در آوری، عملکرد رشد، خصوصیات لاشه و پاسخ ایمنی جوجه های گوشتی

جواد ناکری^۱، مجید متقی طلب^۱، مهرداد محمدی^۱، محمد خواجه بومی^۲، امید دیانی^{۲*}

^۱ گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

^۲ گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران

چکیده

کلمات کلیدی

مقدمه: این آزمایش به منظور بررسی اثر تغذیه درون تخم مرغی لاکتوباسیلوس بر درصد جوجه در آوری، وزن جوجه یکروزه، عملکرد رشد، pH روده، خصوصیات لاشه و پاسخ ایمنی جوجه های گوشتی انجام شد.

مواد و روش ها: این پژوهش با استفاده از ۲۴۰ عدد تخم نطفه دار جوجه گوشتی با وزنی مشابه (میانگین وزن: $58/82 \pm 0/2$ گرم) در ۳ تیمار، ۴ تکرار و ۲۰ قطعه جوجه در هر تکرار، در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل: شاهد (بدون تزریق)، تزریق ۰/۱ میلی لیتر آب مقطر استریل و تزریق ۰/۱ میلی لیتر پروبیوتیک حاوی لاکتوباسیلوس به غلظت 10^9 کلنی در گرم بودند. در روز ۱۸ انکوباسیون ابتدا محل مایع آمنیوتیک تخم مرغ ها با استفاده از روش نوربینی مشخص و سپس ۰/۱ میلی لیتر از محلول های آزمایشی با سرنگ شماره ۲۲ به مایع آمنیوتیک تخم مرغ های بارور تزریق شد. پس از تزریق، محل آن با پارافین مذاب مسدود شده و تخم مرغ ها بلافاصله به دستگاه هچر انتقال داده شدند. تمام جوجه ها در تیمارهای مختلف به صورت آزادانه از یک جیره آزمایشی مشترک تغذیه شدند.

نتایج: تزریق پروبیوتیک لاکتوباسیلوس به تخم مرغ سبب افزایش معنی دار درصد هچ در مقایسه با گروه تزریق شده با آب مقطر و گروه بدون تزریق شد ($P < 0/05$). وزن جوجه یکروزه با تزریق پروبیوتیک به تخم مرغ در مقایسه با تزریق آب مقطر به طور معنی داری افزایش یافت ($P < 0/05$). تزریق آب مقطر یا پروبیوتیک به تخم مرغ بر مصرف خوراک، افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل خوراک در دوره های مختلف پرورش تاثیر معنی داری نداشت ($P > 0/05$). تزریق آب مقطر یا پروبیوتیک به تخم مرغ تاثیر معنی داری بر وزن نسبی لاشه، ران، سینه، چربی شکمی، بورس و تیموس جوجه ها نداشت ($P > 0/05$). تزریق لاکتوباسیلوس به تخم مرغ سبب کاهش معنی دار pH روده در مقایسه با گروه تزریق شده با آب مقطر شد ($P < 0/05$). تیتراکتی بادی علیه نیوکاسل و آنفولانزا در سن ۴۲ روزگی با تزریق لاکتوباسیلوس در مقایسه با تزریق آب مقطر یا گروه شاهد به طور معنی داری افزایش یافت ($P < 0/05$).

بحث و نتیجه گیری: براساس نتایج پژوهش حاضر، تزریق پروبیوتیک لاکتوباسیلوس به تخم مرغ سبب بهبود درصد جوجه در آوری، وزن جوجه یکروزه و پاسخ ایمنی جوجه های گوشتی می گردد.

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: odayani@uk.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱ مهر ۱۴۰۳؛ تاریخ داوری: ۵ آبان ۱۴۰۳؛ تاریخ اصلاح: ۶ دی ۱۴۰۳؛ تاریخ پذیرش: ۷ بهمن ۱۴۰۳

(DOI): 10.22034/AEJ.2024.431445.3080

مقدمه

بهبود عملکرد رشد، کاهش مرگومیر پس از هج، بهبود پاسخ ایمنی، افزایش رشد ماهیچه در اثر تغذیه درون تخم مرغی به تخم مرغ‌های بارور گزارش شده است (۷). در تحقیقی، تغذیه درون تخم مرغی پروبیوتیک حاوی چند سویه مختلف سبب کاهش مصرف خوراک، بهبود ضریب تبدیل خوراک و تقویت سیستم ایمنی جوجه‌های گوشتی شد (۵). در حالی که در آزمایشی دیگر تغذیه درون تخم مرغی باسیلوس سابتیلیس در غلظت‌های مختلف، تاثیر معنی داری بر مصرف خوراک، افزایش وزن و ضریب تبدیل خوراک در کل دوره پرورش نداشت اما سبب کاهش پاسخ ایمنی شد (۳). طی پژوهشی، Dadvar و همکاران مشاهده کردند که تغذیه درون تخم مرغی بتائین، منجر به افزایش مصرف خوراک، افزایش وزن روزانه و وزن لاشه و هم چنین بهبود ضریب تبدیل غذایی در جوجه‌های گوشتی تحت تنش حرارتی می گردد (۸). با توجه به اهمیت تغذیه درون تخم مرغی در بهبود صنعت طیور و از سوی دیگر تناقض در نتایج حاصل از تغذیه درون تخم مرغی پروبیوتیک‌ها، لذا هدف از تحقیق حاضر بررسی اثر تغذیه درون تخم مرغی پروبیوتیک حاوی سویه لاکتوباسیلوس (*Lactobacillus*) بر درصد جوجه درآوری، عملکرد رشد، pH روده، خصوصیات لاشه و پاسخ ایمنی جوجه‌های گوشتی بود.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در ایستگاه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه گیلان انجام شد. در این آزمایش تعداد ۲۴۰ عدد تخم نطفه دار جوجه گوشتی با وزنی مشابه (میانگین وزن: $58/82 \pm 0/2$ گرم) خریداری و پس از ضدعفونی با گاز فرمالدهید در داخل دستگاه جوجه کشی خوابانیده شدند. تیمارهای آزمایشی شامل: شاهد (بدون تزریق)، تزریق ۰/۱ میلی لیتر آب مقطر استریل و تزریق ۰/۱ میلی لیتر پروبیوتیک حاوی لاکتوباسیلوس با غلظت ۱۰۵ کلنی در گرم در داخل آمیون بودند. در این آزمایش هر تیمار دارای ۴ تکرار و هر تکرار دارای ۲۰ تخم مرغ نطفه دار بود. در روز ۱۸ انکوباسیون ابتدا محل مایع آمیوتیک تخم مرغ‌ها با استفاده از روش نوربینی مشخص و سپس ۰/۱ میلی لیتر از محلول‌های تهیه شده با سرنگ شماره ۲۲ به مایع آمیوتیک تخم مرغ‌های بارور تزریق شد. پس از اتمام تزریق، محل آن با الکل ضدعفونی و با پارافین مذاب مسدود شده و تخم مرغ‌ها بلافاصله به دستگاه هچر انتقال داده شدند. پس از گذشت سه روز تخم مرغ‌ها هچ شده و جوجه‌ها به سالن پرورش انتقال داده شدند. پروبیوتیک مورد استفاده در آزمایش حاضر حاوی باکتری لاکتوباسیلوس رامنوسوس (*Lactobacillus rhamnosus*) بود که با شناسایی و جداسازی این سویه از روده جوجه‌های گوشتی تهیه شد.

پرورش طیور گوشتی در سال‌های اخیر با توجه به نقش و اهمیت خاص آن در تامین پروتئین حیوانی مورد نیاز انسان و کیفیت بالاتر گوشت به دلیل پایین تر بودن اسیدهای چرب مضر، رشد چشم گیری داشته است. در حالی که تنش‌های مختلف مانند تنش گرمایی و پرورش در شرایط متراکم با افزایش تولید رادیکال‌های آزاد و ایجاد اکسیداسیون در بافت‌های پرند سبب تضعیف سیستم ایمنی پرند و کاهش کیفیت گوشت می شوند (۱، ۲). هم چنین استفاده از آنتی بیوتیک‌های محرک رشد به دلیل به وجود آوردن سویه‌های مقاوم و امکان انتقال این مقاومت به سایر گونه‌ها به ویژه در سویه‌های مشترک بین انسان و دام، ماندگاری بقایای دارویی در فرآورده‌های دامی و به هم زدن فلور میکروبی طبیعی دستگاه گوارش، سبب نگرانی مصرف کنندگان شده است. این مشکلات منجر به انجام تحقیقات زیادی به منظور معرفی جایگزین‌های مناسب شده است (۳). در سال‌های اخیر استفاده از پروبیوتیک‌ها به عنوان جایگزین آنتی بیوتیک‌های محرک رشد مورد توجه زیادی قرار گرفته است. پروبیوتیک‌ها ترکیبات میکروبی زنده‌ای هستند که مستقیماً به جیره دام و طیور اضافه می شوند و اثر بسیار مطلوبی بر عملکرد و سلامت آن‌ها دارند. این میکروارگانیسم‌های مفید می توانند با برقراری تعادل در محیط روده از رشد باکتری‌های بیماری زا جلوگیری کنند و در نتیجه سبب بهبود جمعیت میکروبی دستگاه گوارش، بهبود هضم و بهره‌وری از مواد مغذی و تحریک سیستم ایمنی شوند (۲، ۳). استفاده از پروبیوتیک‌ها به صورت تجاری در کشور در حال گسترش می باشد. روش‌های رایج استفاده از پروبیوتیک‌ها به صورت افزودن به خوراک یا آب آشامیدنی است. اما این فرضیه مطرح است که اگر استقرار سریع تر باکتری‌های مفید در روده و اتصال به گیرنده‌ها و در نتیجه جلوگیری از اتصال باکتری‌های بیماری زا به بافت پوششی روده صورت گیرد، کاربرد پروبیوتیک‌ها می تواند بسیار مفید واقع گردد (۴). یکی از روش‌های زودهنگام تجویز پروبیوتیک‌ها، تغذیه (تزریق) درون تخم مرغی است. تغذیه درون تخم مرغی فن آوری توسعه یافته‌ای است که به راحتی مواد مغذی خارجی را برای جنین در حال رشد فراهم می کند. گزارش شده است در اواخر دوره جنینی، مواد مغذی تزریق شده به مایع آمیوتیک پیش از تفریح توسط جنین هضم و جذب می شود. با توجه به این که اغلب جوجه‌ها از زمان تفریح تا ۲۴ الی ۳۶ ساعت بعد به آب و غذا دسترسی ندارند (۵)، لذا زرده کشیده شده به داخل حفرهای شکمی جنین تا زمان دسترسی به مواد مغذی به عنوان تنها منبع انرژی پرند محسوب می شود. اما پس از خروج از تخم به دلیل ناکافی بودن مواد مغذی و هم چنین ضعیف بودن سیستم ایمنی تلفات افزایش می یابد (۶).

گردید (جدول ۲). جهت بررسی عملکرد ایمنی جوجه‌ها، در روزهای ۱ و ۴۲ روزگی، از هر تکرار پنج قطعه جوجه انتخاب و از ورید بال حدود یک میلی‌لیتر خون گرفته شد. پس از لخته شدن خون، سرم به کمک سانتریفیوژ (سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه و زمان ۱۵ دقیقه) جمع‌آوری و تا زمان اندازه‌گیری تیتر آنتی‌بادی در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد ذخیره گردید. سطح آنتی‌بادی علیه بیماری‌های نیوکاسل و آنفولانزا به‌روش ممانعت از هماگلوتیناسیون HI مشخص گردید (۱۱).

جدول ۲: برنامه واکسیناسیون جوجه‌های گوشتی

نوع واکسن	زمان (روز پرورش)	نحوه واکسیناسیون
برونشیت	۷	آشامیدنی
نیوکاسل (B1)	۱۰	قطره چشمی
نیوکاسل روغنی	۱۰	تزریق در سینه
گامبورو	۱۴	آشامیدنی
نیوکاسل لاسوتا	۱۸	آشامیدنی
آنفولانزا	۲۱	تزریق در سینه
گامبورو	۲۴	آشامیدنی

در پایان آزمایش (۴۲ روزگی) پنج قطعه جوجه از هر تکرار با وزن نزدیک به میانگین آن تکرار انتخاب و سپس کشتار شد. وزن نسبی لاشه، سینه، ران، بال، چربی شکمی و دو اندام مربوط به سیستم ایمنی شامل تیموس و بورس فابریسیوس با استفاده از ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۱ گرم اندازه‌گیری و به‌صورت درصدی از وزن بدن بیان شدند. به‌منظور اندازه‌گیری pH روده ابتدا محتویات آن‌ها با آب مقطر به نسبت ۱ به ۲ مخلوط گردید و سپس pH با دستگاه pH متر دیجیتال (Elmetron، مدل CP103) قرائت شد. داده‌های آزمایش با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS تجزیه و مقایسه میانگین‌ها به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد. مدل آماری آزمایش به‌صورت زیر بود:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + E_{ij}$$

در این مدل: Y_{ij} = میانگین مشاهده زام از تیمار i ام، μ = میانگین جامعه، T_i = اثر i امین تیمار و E_{ij} = اشتباه تصادفی بود.

نتایج

درصد هج و وزن جوجه یک‌روزه: اثر تیمارهای آزمایشی بر

درصد هج و وزن جوجه یک‌روزه در جدول ۳ گزارش داده شده است. نتایج نشان داد تغذیه درون تخم‌مرغی پروبیوتیک لاکتوباسیلوس سبب افزایش معنی‌دار درصد هج در مقایسه با گروه تزریق‌شده با آب مقطر و گروه بدون تزریق شد ($P < 0.05$). وزن جوجه یک‌روزه با تغذیه درون تخم‌مرغی لاکتوباسیلوس در مقایسه با تزریق آب مقطر به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ($P < 0.05$). درحالی‌که تفاوت معنی‌داری

(۹). برنامه‌نوی به‌صورت ۲۴ ساعت روشنایی بود و شرایط استاندارد سالن (دما، تهویه و واکسیناسیون) رعایت شد. تمام جوجه‌ها در تیمارهای مختلف به‌صورت آزادانه از یک جیره آزمایشی مشترک تغذیه شدند. آب آشامیدنی به‌طور آزاد در اختیار جوجه‌ها گذاشته شد. جیره‌های آزمایشی بر پایه ذرت و کنجاله سویا و با توجه به نیازهای توصیه شده در کاتالوگ سویه راس-۳۰۸ سال ۲۰۱۴ (۱۰)، برای دوره‌های مختلف آغازین (۲۱-۱ روزگی) و پایانی (۴۲-۲۲ روزگی) تنظیم شد (جدول ۱). وزن‌کشی به‌صورت گروهی با استفاده از ترازوی دیجیتال صورت گرفت. در کل دوره پرورش اضافه وزن روزانه بدن، مصرف خوراک و ضریب تبدیل خوراک اندازه‌گیری شد و تلفات نیز به‌طور روزانه ثبت گردید.

جدول ۱: اجزاء و ترکیب شیمیایی جیره‌های پایه مورد استفاده در سنین مختلف پرورش جوجه‌های گوشتی

اجزای جیره (درصد)	جیره آغازین (۱۱ الی ۲۱)	جیره رشد (۴۲ الی ۲۱)
دانه ذرت	۵۷/۸۵	۶۴/۰۷
کنجاله‌سویا	۳۳/۸۷	۲۸/۴۳
روغن سویا	۳/۸۰	۳/۳۴
کربنات کلسیم	۱/۰۵	۱/۲۵
دی‌کلسیم فسفات	۲/۳۵	۱/۹۰
نمک	۰/۴۰	۰/۴۰
DL-متیونین	۰/۱۸	۰/۱۱
مکمل ویتامینی ۱	۰/۲۵	۰/۲۵
مکمل معدنی ۲	۰/۲۵	۰/۲۵

ترکیب شیمیایی

انرژی قابل سوخت‌وساز (کیلوکالری در کیلوگرم)	۳۰۲۵	۳۱۵۰
پروتئین خام (درصد)	۲۲/۵۰	۱۸/۰۰
لایزین (درصد)	۱/۲۷	۰/۹۸
متیونین + سیستئین (درصد)	۰/۹۲	۰/۸۰
کلسیم (درصد)	۰/۹۵	۰/۸۲
فسفر فراهم (درصد)	۰/۴۵	۰/۳۶

۱ به‌ازای هر کیلوگرم جیره غذایی: ۱۲۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین A (رتینول)، ۵۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین D3 (کوله کلسیفرول)، ۳ میلی‌گرم ویتامین B1 (تیامین)، ۷/۵ میلی‌گرم ویتامین B2 (ریبوفلاوین)، ۵۱ میلی‌گرم ویتامین B3 (نیاسین)، ۴/۵ میلی‌گرم ویتامین B6 (پیریدوکسین)، ۰/۰۲ میلی‌گرم ویتامین B12 (سیانوکوبالامین)، ۲/۵۵ میلی‌گرم ویتامین K3، ۱/۵ میلی‌گرم ویتامین B9 (اسد فولیک)، ۱۳/۵ میلی‌گرم ویتامین B5 (پانتوتنیک اسید)، ۰/۲ میلی‌گرم ویتامین B7 (بیوتین)، ۲۵۰ میلی‌گرم کولین کلراید بود. ۲ به‌ازای هر کیلوگرم جیره غذایی: ۱۲۰ میلی‌گرم منگنز، ۴۰ میلی‌گرم آهن، ۱۶ میلی‌گرم مس، ۱ میلی‌گرم ید و ۱۰۰ میلی‌گرم روی بود.

برنامه واکسیناسیون گله بر اساس کارت بهداشتی و بیماری‌های شایع در منطقه توسط دامپزشک متخصص بیماری‌های طیور تجویز

در وزن جوجه یک روزه بین گروه تزریق شده با آب مقطر و گروه بدون تزریق وجود نداشت ($P > 0.05$).

جدول ۳: تاثیر تغذیه درون تخم مرغی لاکتوباسیلوس بر درصد هج و

تیمارها	وزن جوجه یک روزه	درصد هج	وزن جوجه یک روزه (گرم)
شاهد (بدون تزریق)	۹۲/۵۰ ^b	۴۴/۱۴ ^{ab}	
تزریق آب مقطر	۹۱/۵۰ ^b	۴۳/۶۷ ^b	
تزریق پروبیوتیک لاکتوباسیلوس	۹۸/۷۵ ^a	۴۵/۰۸ ^a	
SEM	۰/۱۱۸	۰/۱۳۰	
P-value	۰/۰۲	۰/۰۳	

a-b: میانگین‌های باحروف متفاوت در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار هستند ($P < 0.05$).

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها.

جدول ۴: تاثیر تغذیه درون تخم مرغی لاکتوباسیلوس بر مصرف خوراک جوجه‌های گوشتی

تیمارها	۱۱ الی ۲۱ روزگی	۲۲ الی ۴۲ روزگی	۱۱ الی ۴۲ روزگی
	(گرم/پرنده/روز)	(گرم/پرنده/روز)	(گرم/پرنده/روز)
شاهد (بدون تزریق)	۴۶/۹۲	۱۳۷/۳۰	۹۱/۹۱
تزریق آب مقطر	۴۹/۸۵	۱۳۹/۷۱	۸۴/۱۷
تزریق پروبیوتیک لاکتوباسیلوس	۴۶/۲۶	۱۳۵/۸۵	۹۱/۳۰
SEM	۳/۶۷	۳/۶۷	۱۱/۷۴
P-value	۰/۲۲	۰/۳۰	۰/۳۴

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها.

جدول ۵: تاثیر تغذیه درون تخم مرغی لاکتوباسیلوس بر افزایش وزن روزانه جوجه‌های گوشتی

تیمارها	۱ الی ۲۱ روزگی	۲۲ الی ۴۲ روزگی	۱ الی ۴۲ روزگی
	(گرم/پرنده/روز)	(گرم/پرنده/روز)	(گرم/پرنده/روز)
شاهد (بدون تزریق)	۱۶/۰۳	۵۸/۱۵	۳۷/۰۹
تزریق آب مقطر	۱۵/۰۶	۵۷/۷۳	۳۶/۳۹
تزریق پروبیوتیک لاکتوباسیلوس	۱۵/۰۴	۶۰/۵۱	۳۷/۷۸
SEM	۰/۶۷	۰/۶۷	۱/۵۹
P-value	۰/۴۳	۰/۳۵	۰/۲۷

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها.

جدول ۶: تاثیر تغذیه درون تخم مرغی لاکتوباسیلوس بر ضریب تبدیل

تیمارها	۱ الی ۲۱ روزگی	۲۲ الی ۴۲ روزگی	۱ الی ۴۲ روزگی
شاهد (بدون تزریق)	۱/۹۲	۲/۲۷	۲/۰۸
تزریق آب مقطر	۱/۹۷	۲/۴۲	۲/۲۱
تزریق پروبیوتیک لاکتوباسیلوس	۱/۸۲	۲/۳۳	۲/۰۶
SEM	۰/۱۱۶	۰/۱۱۶	۰/۱۱۶
P-value	۰/۵۱	۰/۲۵	۰/۲۱

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها.

pH روده: اثر تیمارهای آزمایشی بر pH روده جوجه‌های گوشتی

در جدول ۷ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که تغذیه درون

عملکرد رشد: اثر تیمارهای آزمایشی بر مصرف خوراک جوجه‌های گوشتی در دوره‌های مختلف پرورش در جدول ۴ نشان داده شده است. تغذیه درون تخم مرغی آب مقطر یا پروبیوتیک به تخم مرغ هیچ گونه تأثیر معنی‌داری بر مصرف خوراک در دوره‌های مختلف پرورش جوجه‌ها نداشت ($P > 0.05$). اثر تغذیه درون تخم مرغی لاکتوباسیلوس بر افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل خوراک جوجه‌های گوشتی در دوره‌های مختلف به ترتیب در جداول ۵ و ۶ آورده شده است. افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل خوراک در دوره‌های مختلف پرورش تحت تاثیر معنی‌دار گروه‌های آزمایشی قرار نگرفت ($P > 0.05$).

تخم مرغی لاکتوباسیلوس به تخم مرغ سبب کاهش معنی‌دار pH روده در مقایسه با گروه تزریق شده با آب مقطر شد ($P < 0.05$).

جدول ۷: تاثیر تغذیه درون تخم مرغی لاکتوباسیلوس بر

pH روده جوجه‌های گوشتی	تیمارها	pH روده
شاهد (بدون تزریق)	۵/۸۸ ^{ab}	
تزریق آب مقطر	۶/۰۵ ^a	
تزریق پروبیوتیک لاکتوباسیلوس	۵/۶۳ ^b	
SEM	۰/۲۱۹	
P-value	۰/۰۳	

a-b: میانگین‌های با حروف متفاوت در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار هستند ($P < 0.05$). SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها.

وزن نسبی اجزای لاشه و برخی اندام‌های داخلی: اثر

تیمارهای آزمایشی بر وزن نسبی اجزای لاشه و برخی اندام‌های داخلی جوجه‌های گوشتی در جدول ۸ نشان داده شده است. تغذیه

درون تخم‌مرغی آب مقطر یا پروبیوتیک هیچ گونه تأثیر معنی‌داری بر وزن نسبی لاشه، ران، سینه، چربی شکمی، بورس و تیموس جوجه‌ها نداشت ($P > 0.05$).

جدول ۸: تأثیر تغذیه درون تخم‌مرغی لاکتوباسیلوس بر وزن نسبی اجزای لاشه و برخی اندام‌های داخلی جوجه‌های گوشتی (درصدی از وزن زنده)

تیمارها	لاشه	ران	سینه	چربی شکمی	بورس	تیموس
شاهد (بدون تزریق)	۷۱/۶۴	۳۱/۴۱	۲۹/۸۳	۳/۴۹	۰/۲۰	۰/۵۹
تزریق آب مقطر	۷۰/۷۱	۳۰/۶۶	۲۹/۷۶	۳/۰۵	۰/۱۶	۰/۵۱
تزریق پروبیوتیک	۷۰/۹۸	۳۰/۹۸	۲۹/۸۲	۳/۰۸	۰/۲۰	۰/۵۷
SEM	۰/۰۰۳	۰/۰۰۲	۰/۰۰۳	۰/۰۰۱	۰/۰۵۶	۰/۹۱۲
P-value	۰/۴۱	۰/۳۵	۰/۵۱	۰/۱۱	۰/۲۰	۰/۳۱

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها.

پاسخ ایمنی: اثر تیمارهای آزمایشی بر تیترا آنتی‌بادی علیه

نیوکاسل و آنفولانزا در جدول ۹ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که تغذیه درون تخم‌مرغی لاکتوباسیلوس در مقایسه با آب مقطر سبب افزایش معنی‌دار تیترا آنتی‌بادی علیه نیوکاسل و آنفولانزا در

سن ۱ روزگی شد ($P < 0.05$). هم چنین تغذیه درون تخم‌مرغی لاکتوباسیلوس در مقایسه با آب مقطر یا گروه شاهد سبب افزایش معنی‌دار تیترا آنتی‌بادی علیه نیوکاسل و آنفولانزا در سن ۴۲ روزگی گردید ($P < 0.05$).

جدول ۹: تأثیر تغذیه درون تخم‌مرغی لاکتوباسیلوس بر تیترا آنتی‌بادی علیه نیوکاسل و آنفولانزا

تیمارها	تیترا علیه نیوکاسل		تیترا علیه آنفولانزا	
	۱ روزگی	۴۲ روزگی	۱ روزگی	۴۲ روزگی
شاهد (بدون تزریق)	۵/۶۶ ^a	۴/۲۵ ^b	۶/۰۰ ^a	۴/۱۰ ^b
تزریق آب مقطر	۵/۰۰ ^b	۴/۳۰ ^b	۱/۲۵ ^b	۴/۱۰ ^b
تزریق پروبیوتیک	۵/۹۷ ^a	۴/۹۳ ^a	۶/۵۰ ^a	۴/۸۶ ^a
SEM	۲/۹۷۶	۰/۴۹۴	۳/۲۱۲	۰/۶۰۰
P-value	۰/۰۱	۰/۰۳	۰/۰۰۱	۰/۰۲

a-b: میانگین‌های با حروف متفاوت در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار هستند ($P < 0.05$). SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها.

بحث

درصد هج و وزن جوجه یک‌روزه: نتایج تحقیق حاضر نشان

داد که تغذیه درون تخم‌مرغی لاکتوباسیلوس سبب افزایش معنی‌دار درصد هج در مقایسه با گروه تزریق‌شده با آب مقطر و گروه شاهد (بدون تزریق) شد. هم چنین وزن جوجه یک‌روزه با تغذیه درون تخم‌مرغی پروبیوتیک در مقایسه با تزریق آب مقطر به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. در توافق با نتایج آزمایش حاضر، تغذیه درون تخم‌مرغی پروبیوتیک در روز ۱۸ انکوباسیون سبب افزایش معنی‌دار درصد هج شد (۱۲، ۱۳). برخلاف نتایج تحقیق حاضر، در آزمایشی تغذیه درون تخم‌مرغی پروبیوتیک حاوی چند سویه مختلف سبب کاهش درصد هج جوجه‌های گوشتی در مقایسه با گروه تزریق‌شده با آب مقطر شد (۵). در تحقیقی تغذیه درون تخم‌مرغی باسیلوس سابتیلیس

در غلظت‌های مختلف، تأثیر معنی‌داری بر درصد هج و وزن جوجه یک‌روزه نداشت (۳). سایر محققین نیز نشان دادند که استفاده از پروبیوتیک حاوی چند سویه مختلف تأثیر معنی‌داری بر درصد هج جوجه‌های گوشتی نداشت (۱۴). هم چنین در تحقیقی تزریق سین‌بیوتیک به‌داخل تخم بلدرچین تأثیری بر درصد هج نداشت (۱۵). این نتایج مختلف ممکن است ناشی از تفاوت‌ها در سویه‌های مختلف و یا سطح مورد استفاده باشد (۱۴).

عملکرد رشد: تزریق آب مقطر یا پروبیوتیک به تخم‌مرغ تأثیر

معنی‌داری بر مصرف خوراک، افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل خوراک در دوره‌های مختلف پرورش نداشت. مطابق با نتایج ارائه شده در تحقیق حاضر، تعدادی از مطالعات (۱۶، ۱۷، ۱۸) هیچ اثر قابل توجهی در زمان استفاده از پروبیوتیک‌ها به شیوه‌های مختلف (در خوراک، داخل آب، یا در تخم‌مرغ) بر عملکرد رشد جوجه‌های

گوشتی گزارش نکردند. هم چنین در تحقیق دیگری تغذیه درون تخم مرغی باسیلوس سابتیلیس در غلظت های مختلف، تاثیر معنی داری بر مصرف خوراک، افزایش وزن و ضریب تبدیل خوراک در کل دوره پرورش مشاهده نشد (۳). در حالی که برخلاف نتایج حاضر، در آزمایشی با تغذیه درون تخم مرغی پروبیوتیک حاوی چند سویه مختلف کاهش معنی دار مصرف خوراک و بهبود ضریب تبدیل خوراک جوجه های گوشتی تا سن ۷ روزگی مشاهده شد (۵). Dadvar و همکاران گزارش کردند که تغذیه درون تخم مرغی بتائین، منجر به افزایش مصرف خوراک، افزایش وزن روزانه و هم چنین بهبود ضریب تبدیل خوراک در ۲۱-۷ روزگی گردید (۸). تفاوت نتایج آزمایشات اخیر می تواند به علت تفاوت ها در شرایط محیط پرورش، مقدار تزریق پروبیوتیک، نوع پروبیوتیک تزریق شده، توانایی زنده ماندن پروبیوتیک و محل تزریق باشد (۳).

خصوصیات لاشه و pH روده: نتایج این تحقیق نشان داد که تغذیه درون تخم مرغی لاکتوباسیلوس سبب کاهش معنی دار pH روده در مقایسه با گروه تزریق شده با آب مقطر شد. گزارش شده تغذیه درون تخم مرغی پروبیوتیک سبب تغییر جمعیت میکروبی روده می شود که این فرایندها بر رشد فیزیولوژیکی دستگاه گوارش جوجه در ۲۱ روز اول پس از تولد از جمله pH روده تأثیر می گذارد (۱۹). در آزمایش حاضر، تغذیه درون تخم مرغی آب مقطر یا پروبیوتیک تأثیر معنی داری بر وزن نسبی لاشه، ران، سینه، چربی شکمی، بورس و تیموس جوجه ها نداشت. تحقیقات زیادی در زمینه عدم تأثیر پروبیوتیک ها بر خصوصیات لاشه انجام شده است. به طور مثال، در توافقی با نتایج آزمایش حاضر، در تحقیقی تغذیه درون تخم مرغی پروبیوتیک باسیلوس سابتیلیس در غلظت های مختلف، تأثیر معنی داری بر وزن نسبی بورس و تیموس جوجه ها در ۲۱ روزگی نداشت (۳). تزریق سین بیوتیک به داخل تخم بلدرچین مورد آزمایش تأثیری بر وزن نسبی لاشه، سینه، ران، قلب، کبد، سنگدان و روده بلدرچین های گوشتی نداشت (۱۵). محققان تأثیر تغذیه درون تخم مرغی عصاره بره موم بر خصوصیات لاشه جوجه های گوشتی بررسی نمودند (۶). نتایج نشان داد که تغذیه درون تخم مرغی عصاره بره موم تأثیری بر وزن نسبی لاشه، قلب، طحال و بورس فابریوس در سن ۴۲ روزگی نداشت. طی تحقیقی، Dadvar و همکاران گزارش کردند تغذیه درون تخم مرغی بتائین، تأثیر معنی داری بر وزن اجزای لاشه در ۴۲ روزگی نداشت (۸).

پاسخ ایمنی: نتایج آزمایش حاضر نشان داد که تغذیه درون تخم مرغی لاکتوباسیلوس در مقایسه با تزریق آب مقطر یا گروه شاهد سبب افزایش معنی دار تیترا آنتی بادی علیه نیوکاسل و آنفلوانزا در

سن ۴۲ روزگی شد. بیماری های نیوکاسل و آنفلوانزا از بیماری های بسیار مهم و واگیردار در پرندگان هستند که خسارات اقتصادی زیادی به صنعت طیور وارد می کنند. تست ممانعت از هماگلوتیناسیون یکی از تست های رایج و عمومی برای تشخیص تیترا آنتی بادی علیه ویروس نیوکاسل و آنفلوانزا در پرندگان است. در گزارشی تغذیه درون تخم مرغی پروبیوتیک حاوی چند سویه مختلف با افزایش سطح لنفوسیت ها سبب تقویت سیستم ایمنی جوجه های گوشتی شد که در توافقی با نتایج مطالعه حاضر است (۵). گزارش شده است که بهبود وضعیت ایمنی جوجه های گوشتی در زمان تغذیه درون تخم مرغی می تواند به علت بهبود جمعیت میکروبی روده پرندگان باشد (۵). هم چنین پژوهشگران نشان دادند تغذیه درون تخم مرغی پروبیوتیک سبب کاهش باکتری های مضر و افزایش باکتری های مفید در روده پرندگان در دوره پس از هچ شد. گزارش شده است که بافت لنفاوی نابالغ مرتبط با روده تحت تحریک آنتی ژنی توسط میکروب های محیطی قرار گرفته و در نتیجه باعث توسعه ایمنی ذاتی و اکتسابی در طول رشد جنینی و پس از هچ خواهد شد (۲۰). تغییر جمعیت میکروبی روده جوجه ها در طول رشد جنینی اولیه می تواند مقاومت آن ها را به دلیل تعدیل هدفمند مکانیسم های ایمنی سلولی یا هومورال افزایش دهد (۱۹). هم چنین گزارش شده است که تغذیه درون تخم مرغی پروبیوتیک های مبتنی بر باکتری های اسید لاکتیک سبب تحریک سنتز آنتی بادی ها در دوره پس از جوجه ریزی می شود که نشان دهنده اثرات مفید این باکتری ها بر ایمنی اکتسابی و تحریک پاسخ های ایمنی هومورال است (۲۱). در مطالعات تغذیه درون تخم مرغی پروبیوتیک، از طریق افزایش پاسخ ایمنی هومورال سبب تقویت سیستم ایمنی جوجه ها شد (۲۱). برخلاف نتایج تحقیق حاضر، تغذیه درون تخم مرغی پروبیوتیک باسیلوس سابتیلیس در غلظت های مختلف سبب کاهش پاسخ ایمنی در سن ۲۱ روزگی گردید (۳). با توجه به یافته های پژوهش حاضر می توان نتیجه گیری کرد که تغذیه درون تخم مرغی پروبیوتیک لاکتوباسیلوس سبب بهبود درصد جوجه درآوری، وزن جوجه یک روزه و پاسخ ایمنی جوجه های گوشتی می گردد.

منابع

1. Goo, D., Kim, J.H., Park, G.H., Delos Reyes, J.B. and Kil, D.Y., 2019. Effect of heat stress and stocking density on growth performance, breast meat quality, and intestinal barrier function in broiler chickens. *Animals*. 9(3): 107. doi: 10.3390/ani9030107

10. **Aviagen. 2014.** Nutrition Specifications Manual: Ross 308. Aviagen Ltd., Scotland, UK.
11. **Fanimakki, O., Ebrahimzade, A., Ansarinik, H. and Ghazaghi, M., 2013.** Effect of Milk thistle (*Silybum marianum* L.) and Thyme (*Thymus vulgaris* L.) herbs on immunity and some blood metabolites in broiler chicks. *Vet Clin Path Quart Sci J.* 7(26): 1836-1843. doi: 20.1001.1.27171388.1398.11.2.16.8 (In Persian)
12. **El-Moneim, A.E.M., El-Wardany, I., Abu-Taleb, A.M., Wakwak, M.M., Ebeid, T.A. and Saleh, A.A., 2020.** Assessment of in ovo administration of Bifidobacterium bifidum and Bifidobacterium longum on performance, ileal histomorphometry, blood hematological, and biochemical parameters of broilers. *Probiotics Antimicrob Proteins.* 12: 439-450. doi: 10.1007/s12602-019-09549-2
13. **Rizk, Y.S., 2018.** Effect of in-ovo injection with probiotic on hatching traits and subsequent growth and physiological response of hatched sinai chicks. *Egypt Poult Sci J.* 38(2): 439-450.
14. **Pender, C.M., Kim, S., Potter, T.D., Ritzi, M.M., Young, M. and Dalloul, R.A., 2017.** In ovo supplementation of probiotics and its effects on performance and immune-related gene expression in broiler chicks. *Poult Sci.* 96(5): 1052-1062. doi: 10.3382/ps/pew381
15. **Asaadi, S., Daneshyar, M. and Alijoo, Y.A., 2021.** The effects of in ovo injection of synbiotic on hatchability, chick quality, blood indices and performance of newly hatched chicks of Japanese Quail. *Iran J Anim Sci Res.* 13(3): 389-404. (In Persian) doi: 10.22067/IJASR.V13I3.81538
16. **Bustillo, C.D.C., 2020.** Early Administration of Probiotics through in ovo Inoculation and Their Impact on Gut Microflora, Immune Response, and Growth Performance of Broiler Chicks. Mississippi State University.
17. **Castañeda, C.D., Gamble, J.N., Wamsley, K.G., McDaniel, C.D. and Kiess, A.S., 2021.** In ovo administration of Bacillus subtilis serotypes effect hatchability, 21-day performance, and intestinal microflora. *Poult Sci.* 100(6): 101125. doi: 10.1016/j.psj.2021.101125
18. **Khajeh Bami, M., Afsharmanesh, M. and Ebrahimnejad, H., 2020.** Effect of dietary *Bacillus coagulans* and different forms of zinc on performance, intestinal microbiota, carcass and meat quality of broiler chickens. *Probiotics Antimicrob Proteins.* 12: 461-472. doi: 10.1007/s12602-019-09558-1
2. **Hasani Sorkhani, E., Afsharmanesh, M., Salarmoini, M., Ebrahimnejade, H. and Khajeh Bami, M., 2021.** Evaluation of the effects of different levels of Pennyroyal essential oil and probiotic containing Bacillus coagulens on performance, carcass characteristics, and meat quality of broiler chickens. *Journal of Animal Environment.* 13(1): 163-172. (In Persian) doi: 10.22034/AEJ.2021.133201
3. **Oladokun, S. and Adewole, D., 2023.** The effect of *Bacillus subtilis* and its delivery route on hatch and growth performance, blood biochemistry, immune status, gut morphology, and microbiota of broiler chickens. *Poult Sci.* 102(4): 102473. doi: 10.1016/j.psj.2022.102473
4. **Seifi, K.A.Z.E. and Torshizi, K., 2011.** Efficiency of early (in Hatchery) probiotic administration methods against Salmonella colonization in Japanese quail. *Vet Res Biol Prod.* 24(1): 40-47. (In Persian) doi: 10.22092/vj.2011.101106
5. **Ciszewski, A., Jarosz, L., Marek, A., Michalak, K., Grądzki, Z., Kaczmarek, B. and Rysiak, A., 2023.** Effect of combined in ovo administration of zinc glycine chelate (Zn-Gly) and a multistrain probiotic on the modulation of cellular and humoral immune responses in broiler chickens. *Poult Sci.* 102823. doi: 10.1016/j.psj.2023.102823
6. **Seifdavati, J., Seyfzadeh, S., Ramazani, M., Bakhshayesh, S., Abdi Benamar, H. and Seyedsharifi, R., 2019.** Effect of in-ovo injection oil-extracted propolis on hatchery performance, number of blood cell count and carcass characteristics of broiler chicks. *Journal of Animal Environment.* 11(2): 133-138. (In Persian) doi: 20.1001.1.27171388.1398.11.2.16.8
7. **Freitas, J.A., Vanat, N., Pinheiro, J.W., Balarin, M.R.S., Sforcin, J.M. and Venancio, E.J., 2011.** The effects of propolis on antibody production by laying hens. *Poult Sci.* 90(6): 1227-1233. doi: 0.3382/ps.2010-01315
8. **Dadvar, P., Maddahian, A. and Dayani, O., 2022.** In ovo and dietary feeding of betaine to broiler chickens under heat stress conditions: Effects on hatchability, performance, body temperature and blood parameters. *J Livest Sci Technol.* 10(2): 37-46. doi: 10.22103/JLST.2022.20017.1422
9. **Allameh, S.K., Boroumand Jazi, M., Nabinejad, A. and Karimi Torshizi, M.A., 2022.** Investigation of Lactobacillus rhamnosus role in diet as a probiotic on broilers performance. *Journal of Animal Environment.* 14(2): 65-72. (In Persian) doi: 10.22034/AEJ.2021.275725.2474

19. Shehata, A.M., Paswan, V.K., Attia, Y.A., Abdel Moneim, A.M.E., Abougabal, M.S., Sharaf, M. and Alagawany, M., 2021. Managing gut microbiota through *in ovo* nutrition influences early-life programming in broiler chickens. *Animals*. 11(12): 3491. doi: 10.3390/ani11123491
20. Alizadeh, M., Shojadoost, B., Astill, J., Taha Abdelaziz, K., Karimi, S.H., Bavananthasivam, J. and Sharif, S. 2020. Effects of *in ovo* inoculation of multi Strain Lactobacilli on cytokine gene expression and antibody-mediated Immune responses in chickens. *Front Vet Sci*. 7: 105. doi: 10.3389/fvets.2020.00105
21. Wilson, K.M., Rodrigues, D.R., Briggs, W.N., Duff, A.F., Chasser, K.M. and Bielke, L.R., 2019. Evaluation of the impact of *in ovo* administered bacteria on microbiome of chicks through 10 days of age. *Poult Sci*. 98(11): 5949-5960. doi: 10.3382/ps/pez388