17(2) 51-58, Summer 2025

Journal of Animal Environment
(AEJ)
Journal homepage: http://www.aejournal.ir

Original Research Paper

Effects of the in ovo feeding of *Lactobacillus* on the hatch percentag, growth performance, carcass characteristics, and immune response of broilers

Javad Zakari [1], Majid Motaghitalab [1], Mehrdad Mohammadi [1], Mohammad Khajeh Bami [2], Omid Dayani [*2]

[1]Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Guilan, Rasht, Iran
[2]Department 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 10^5 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): 10.70102/AEJ.2025.17.2.7

مقاله پژوهشی

بررسی اثر تغذیه درون تخم‌مرغی لاکتوباسیلوس بر درصد جوجه درآوری، عملکرد رشد، خصوصیات لاشه و پاسخ ایمنی جوجه‌های گوشتی

جواد ذاکری[۱]، مجید متقی‌طلب[۱]، مهرداد محمدی[۱]، محمد خواجه‌بمی[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

کلمات کلیدی

پروبیوتیک
تیتر آنتی‌بادی
جوجه‌های گوشتی
عملکرد
خصوصیات لاشه

چکیده

مقدمه: این آزمایش به‌منظور بررسی اثر تغذیه درون تخم‌مرغی لاکتوباسیلوس بر درصد جوجه درآوری، وزن جوجه یکروزه، عملکرد رشد، pH روده، خصوصیات لاشه و پاسخ ایمنی جوجه‌های گوشتی انجام شد.

مواد و روش‌ها: این پژوهش با استفاده از ۲۴۰ عدد تخم نطفه‌دار جوجه گوشتی با وزنی مشابه (میانگین وزن: ۰/۲±۵۸/۸۲ گرم) در ۳ تیمار، ٤ تکرار و ۲۰ قطعه جوجه در هر تکرار، در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل: شاهد (بدون تزریق)، تزریق ۰/۱ میلی‌لیتر آب مقطر استریل و تزریق ۰/۱ میلی‌لیتر پروبیوتیک حاوی لاکتوباسیلوس به‌غلظت 10^{8} کلنی در گرم بودند. در روز ۱۸ انکوباسیون ابتدا محل مایع آمنیوتیک تخم‌مرغ‌ها با استفاده از روش نوربینی مشخص و سپس ۰/۱ میلی‌لیتر از محلول‌های آزمایشی با سرنگ شماره ۲۲ به مایع آمنیوتیک تخم‌مرغ‌های بارور تزریق شد. پس از تزریق، محل آن با پارافین مذاب مسدود شده و تخم‌مرغ‌ها بلافاصله به دستگاه هچر انتقال داده شدند. تمام جوجه‌ها در تیمارهای مختلف به‌صورت آزادانه از یک جیره آزمایشی مشترک تغذیه شدند.

نتایج: تزریق پروبیوتیک لاکتوباسیلوس به تخم‌مرغ سبب افزایش معنی‌دار 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 تخم‌مرغ در مقایسه با تزریق آب مقطر به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ($P<0/05$). تزریق آب مقطر یا پروبیوتیک به تخم‌مرغ بر مصرف خوراک، افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل خوراک در دوره‌های مختلف پرورش تاثیر معنی‌داری نداشت ($P>0/05$). تزریق آب مقطر یا پروبیوتیک به تخم‌مرغ تاثیر معنی‌داری بر وزن نسبی لاشه، ران، سینه، چربی شکمی، بورس و تیموس جوجه‌ها نداشت ($P>0/05$). تزریق لاکتوباسیلوس به تخم‌مرغ سبب کاهش معنی‌دار pH روده در مقایسه با گروه تزریق‌شده با آب مقطر شد ($P<0/05$). تیتر آنتی‌بادی علیه نیوکاسل و آنفولانزا در سن ٤۲ روزگی با تزریق لاکتوباسیلوس در مقایسه با تزریق آب مقطر یا گروه شاهد به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ($P<0/05$).

بحث و نتیجه‌گیری: براساس نتایج پژوهش حاضر، تزریق پروبیوتیک لاکتوباسیلوس به تخم‌مرغ سبب بهبود درصد جوجه درآوری، وزن جوجه یک‌روزه و پاسخ ایمنی جوجه‌های گوشتی می‌گردد.

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

تاریخ دریافت: ۱ مهر ۱۴۰۳؛ تاریخ داوری: ۵ آبان ۱۴۰۳؛ تاریخ اصلاح: ٦ دی ۱۴۰۳؛ تاریخ پذیرش: ۷ ۱۴۰۳
(DOI): 10.70102/AEJ.2025.17.2.7

مقدمه

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 به‌دلیل پایین‌تر بودن اسیدهای چرب مضر، رشد چشم‌گیری داشته است. درحالی‌که تنش‌های مختلف مانند تنش گرمایی و پرورش در شرایط متراکم با افزایش تولید رادیکال‌های آزاد و ایجاد اکسیداسیون در بافت‌های پرنده سبب تضعیف سیستم ایمنی پرنده و کاهش کیفیت گوشت می‌شوند (۱، ۲). هم‌چنین استفاده از آنتی‌بیوتیک‌های محرک رشد به‌دلیل به‌وجود آوردن سویه‌های مقاوم و امکان انتقال این مقاومت به سایر گونه‌ها به‌ویژه در سویه‌های مشترک بین انسان و دام، ماندگاری بقایای دارویی در فرآورده‌های دامی و به‌هم زدن فلور میکروبی طبیعی دستگاه گوارش، سبب نگرانی مصرف‌کنندگان شده‌است. این مشکلات منجر به انجام تحقیقات زیادی به‌منظور معرفی جایگزین‌های مناسب شده است (۳). در سال‌های اخیر استفاده از پروبیوتیک‌ها به‌عنوان جایگزین آنتی‌بیوتیک‌های محرک رشد مورد توجه زیادی قرار گرفته است. پروبیوتیک‌ها ترکیبات میکروبی زنده‌ای هستند که مستقیماً به جیره دام و طیور اضافه می‌شوند و اثر بسیار مطلوبی بر عملکرد و سلامت آن‌ها دارند. این میکروارگانیسم‌های مفید می‌توانند با برقراری تعادل در محیط روده از رشد باکتری‌های بیماری‌زا 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 به‌صورت تجاری در کشور در حال گسترش می‌باشد. روش‌های رایج استفاده از پروبیوتیک‌ها به‌صورت افزودن به خوراک یا آب آشامیدنی است. اما این فرضیه مطرح است که اگر استقرار سریع‌تر باکتری‌های مفید در روده و اتصال به گیرنده‌ها و درنتیجه جلوگیری از اتصال باکتری‌های بیماری‌زا به بافت پوششی روده صورت گیرد، کاربرد پروبیوتیک‌ها می‌تواند بسیار مفید واقع گردد (۴). یکی از روش‌های زودهنگام تجویز پروبیوتیک‌ها، تغذیه (تزریق) درون تخم‌مرغی است. تغذیه درون تخم‌مرغی فن‌آوری توسعه یافته‌ای است که به‌راحتی مواد مغذی خارجی را برای جنین درحال رشد فراهم می‌کند. گزارش شده است در اواخر دوره جنینی، مواد مغذی تزریق شده به مایع آمنیوتیک پیش از تفریخ توسط جنین هضم و جذب می‌شود. با توجه به این‌که اغلب جوجه‌ها از زمان تفریخ تا ۲۴ الی ۳۶ ساعت بعد به آب و غذا دسترسی ندارند (۵)، لذا زرده کشیده شده به‌داخل حفرهای شکمی جنین تا زمان دسترسی به مواد مغذی به‌عنوان تنها منبع انرژی پرنده محسوب می‌شود. اما پس از خروج از تخم به‌دلیل ناکافی بودن مواد مغذی و هم‌چنین ضعیف بودن سیستم ایمنی تلفات افزایش می‌یابد (۶). بهبود عملکرد رشد، کاهش مرگ‌ومیر پس از هچ، بهبود پاسخ ایمنی، افزایش رشد ماهیچه در اثر تغذیه درون تخم‌مرغی به تخم‌مرغ‌های بارور گزارش شده‌است (۷). در تحقیقی، تغذیه درون تخم‌مرغی پروبیوتیک حاوی چند سویه مختلف سبب کاهش مصرف خوراک، بهبود ضریب تبدیل خوراک و تقویت سیستم ایمنی جوجه‌های گوشتی شد (۵). درحالی‌که در آزمایشی دیگر تغذیه درون تخم‌مرغی باسیلوس سابتیلیس در غلظت‌های مختلف، تاثیر معنی‌داری 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 تخم‌مرغی بتائین، منجر به افزایش مصرف خوراک، افزایش وزن روزانه و وزن لاشه و هم‌چنین بهبود ضریب تبدیل غذایی در جوجه‌های گوشتی تحت تنش حرارتی می‌گردد (۸). با توجه به اهمیت تغذیه درون تخم‌مرغی در بهبود صنعت طیور و از سوی دیگر تناقض در نتایج حاصل از تغذیه درون تخم‌مرغی پروبیوتیک‌ها، لذا هدف از تحقیق حاضر بررسی اثر تغذیه درون تخم‌مرغی 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 نطفه‌دار جوجه گوشتی با وزنی مشابه (میانگین وزن: ۰/۲±۵۸/۸۲ 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 میلی‌لیتر آب مقطر استریل و تزریق ۰/۱ میلی‌لیتر پروبیوتیک حاوی لاکتوباسیلوس با غلظت ۱۰۵ کلنی در گرم در داخل آمنیون بودند. در این آزمایش هر تیمار دارای ۴ تکرار و هر تکرار دارای ۲۰ تخم‌مرغ نطفه‌دار بود. در روز ۱۸ انکوباسیون ابتدا محل مایع آمنیوتیک تخم‌مرغ‌ها با استفاده از روش نوربینی مشخص و سپس ۰/۱ میلی‌لیتر از محلول‌های تهیه‌شده با سرنگ شماره ۲۲ به مایع آمنیوتیک تخم‌مرغ‌های بارور تزریق شد. پس از اتمام تزریق، محل آن با الکل ضدعفونی و با پارافین مذاب مسدود شده و تخم‌مرغ‌ها بلافاصله به‌دستگاه هچر انتقال داده شدند. پس از گذشت سه روز تخم‌مرغ‌ها 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

(۹). برنامه‌نوری 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 (۴۲الی ۲۱)
دانه ذرت	۵۷/۸۵	۶۴/۰۷
کنجاله‌سویا	۳۳/۸۷	۲۸/۴۳
روغن سویا	۳/۸۰	۳/۳۴
کربنات‌کلسیم	۱/۰۵	۱/۲۵
دی‌کلسیم فسفات	۲/۳۵	۱/۹۰
نمک	۰/۴۰	۰/۴۰
DL- متیونین	۰/۱۸	۰/۱۱
مکمل ویتامینی۱	۰/۲۵	۰/۲۵
مکمل معدنی۲	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 (پیرودوکسین)، 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 کولین‌کلراید بود. ۲ به‌ازای هر کیلوگرم جیره غذایی: ۱۲۰میلی‌گرم منگنز، ۴۰ میلی‌گرم آهن، ۱۶میلی‌گرم 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 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 به‌کمک 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:

$$Yij = \mu + Ti + Eij$$

در این مدل: Yij= میانگین مشاهده j ام از تیمار i ام، μ= میانگین جامعه، Ti= اثر i امین تیمار و Eij= اشتباه تصادفی بود.

نتایج

درصد هچ و وزن جوجه یک‌روزه: اثر تیمارهای آزمایشی بر درصد هچ و وزن جوجه یک‌روزه در جدول ۳ گزارش داده شده است. نتایج نشان داد تغذیه درون تخم‌مرغی پروبیوتیک لاکتوباسیلوس سبب افزایش معنی‌دار درصد هچ در مقایسه با گروه تزریق‌شده با آب مقطر و گروه بدون تزریق شد (P<۰/۰۵). وزن جوجه یک‌روزه با تغذیه درون تخم‌مرغی لاکتوباسیلوس در مقایسه با تزریق آب مقطر به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (P<۰/۰۵). درحالی‌که تفاوت معنی‌داری

در وزن جوجه یک روزه بین گروه تزریق‌شده با آب مقطر و گروه بدون تزریق وجود نداشت (P>۰/۰۵).

جدول ۳: تاثیر تغذیه درون تخم‌مرغی لاکتوباسیلوس بر درصد هچ و وزن جوجه یک‌روزه

تیمارها	درصد هچ	وزن جوجه یکروزه (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<۰/۰۵).
SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها.

عملکردرشد: اثر تیمارهای آزمایشی بر مصرف خوراک جوجه‌های گوشتی در دوره‌های مختلف پرورش در جدول ۴ نشان داده شده است. تغذیه درون تخم‌مرغی آب مقطر یا پروبیوتیک به تخم‌مرغ هیچ‌گونه تأثیر معنی‌داری بر مصرف خوراک در دوره‌های مختلف پرورش جوجه‌ها نداشت(P>۰/۰۵).اثر تغذیه درون تخم‌مرغی لاکتوباسیلوس بر افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل خوراک جوجه‌های گوشتی در دوره‌های مختلف به‌ترتیب 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>۰/۰۵).

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

تیمارها	۱الی۲۱ روزگی (گرم/پرنده/ روز)	۲۲الی ۴۲ روزگی (گرم/ پرنده/ روز)	۱الی۴۲روزگی (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 تخم‌مرغی لاکتوباسیلوس بر افزایش وزن روزانه جوجه‌های گوشتی

تیمارها	۱ الی ۲۱ روزگی (گرم/ پرنده/روز)	۲۲ الی ۴۲ روزگی (گرم/ پرنده/ روز)	۱ الی ۴۲ روزگی (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 تخم‌مرغی لاکتوباسیلوس بر ضریب تبدیل خوراک جوجه‌های گوشتی

تیمارها	۱ الی ۲۱ روزگی	۲۲الی۴۲ روزگی	۱ الی ۴۲ روزگی
شاهد (بدون تزریق)	۱/۹۲	۲/۲۷	۲/۰۸
تزریق آب مقطر	۱/۹۷	۲/۴۲	۲/۲۱
تزریق‌پروبیوتیک‌لاکتوباسیلوس	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 تخم‌مرغی لاکتوباسیلوس به تخم‌مرغ سبب کاهش معنی‌دار pH روده در مقایسه با گروه تزریق‌شده با آب مقطر شد (P<۰/۰۵).

جدول ۷: تاثیر تغذیه درون تخم‌مرغی لاکتوباسیلوس بر pH روده جوجه‌های گوشتی

تیمارها	pH روده
شاهد (بدون تزریق)	۵/۸۸^{ab}
تزریق آب مقطر	۶/۰۵^{a}
تزریق پروبیوتیک لاکتوباسیلوس	۵/۶۲^{b}
SEM	۰/۲۱۹
P-value	۰/۰۳

a-b: میانگین‌های با حروف متفاوت در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار هستند (P<۰/۰۵). 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>۰/۰۵).

جدول ۸: تاثیر 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 تیتر 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 تیتر آنتی‌بادی علیه نیوکاسل و آنفولانزا در سن ۱ روزگی شد (P<۰/۰۵). هم چنین تغذیه درون تخم‌مرغی لاکتوباسیلوس در مقایسه با آب مقطر یا گروه شاهد سبب افزایش معنی‌دار تیتر آنتی‌بادی علیه نیوکاسل و آنفولانزا در سن ۴۲ روزگی گردید (P<۰/۰۵).

جدول ۹: تاثیر تغذیه درون تخم‌مرغی *لاکتوباسیلوس* بر تیتر آنتی‌بادی علیه نیوکاسل و آنفولانزا

تیمارها	تیتر علیه نیوکاسل		تیتر 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}	۴/۹۲^{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<۰/۰۵). SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها.

بحث

درصد هچ و وزن جوجه یکروزه: نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تغذیه درون تخم‌مرغی لاکتوباسیلوس سبب افزایش معنی‌دار درصد هچ در مقایسه با گروه تزریق‌شده با آب مقطر و گروه شاهد (بدون تزریق) شد. هم چنین وزن جوجه یک روزه با تغذیه درون تخم‌مرغی پروبیوتیک در مقایسه با تزریق آب‌مقطر به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. در توافق با نتایج آزمایش حاضر، تغذیه درون تخم‌مرغی پروبیوتیک در روز ۱۸ انکوباسیون سبب افزایش معنی‌دار درصد هچ شد (۱۲، ۱۳). برخلاف نتایج تحقیق حاضر، در آزمایشی تغذیه درون تخم‌مرغی پروبیوتیک حاوی چند سویه مختلف سبب کاهش درصد هچ جوجه‌های گوشتی در مقایسه با گروه تزریق‌شده با آب مقطر شد (۵). در تحقیقی تغذیه درون تخم‌مرغی باسیلوس سابتیلیس در غلظت‌های مختلف، تاثیر معنی‌داری بر درصد هچ و وزن جوجه یک روزه نداشت (۳). سایر محققین نیز نشان دادند که استفاده از پروبیوتیک حاوی چند سویه مختلف تاثیر معنی‌داری بر درصد هچ جوجه‌های گوشتی نداشت (۱۴). هم چنین در تحقیقی تزریق سین‌بیوتیک به‌داخل تخم بلدرچین تاثیری بر درصد هچ نداشت (۱۵). این نتایج مختلف ممکن است ناشی از تفاوت‌ها در سویه‌های مختلف و یا سطح مورد استفاده باشد (۱۴).

عملکرد رشد: تزریق آب‌مقطر یا پروبیوتیک به تخم‌مرغ تاثیر 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. هم‌چنین در تحقیق دیگری تغذیه درون تخم‌مرغی باسیلوس سابتیلیس در غلظت‌های مختلف، تاثیر معنی‌داری بر مصرف خوراک، افزایش وزن و ضریب تبدیل خوراک در کل دوره پرورش مشاهده نشد (۳). درحالی که برخلاف نتایج حاضر، در آزمایشی با تغذیه درون تخم‌مرغی پروبیوتیک حاوی چند سویه مختلف کاهش معنی‌دار مصرف خوراک و بهبود ضریب تبدیل خوراک جوجه‌های گوشتی تا سن ۷ روزگی مشاهده شد (۵). Dadvar و همکاران گزارش کردند که تغذیه درون تخم‌مرغی بتائین، منجر به افزایش مصرف خوراک، افزایش وزن روزانه و هم‌چنین بهبود ضریب تبدیل خوراک در ۲۱-۷ روزگی گردید (۸). تفاوت نتایج آزمایشات اخیر می‌تواند به‌علت تفاوت‌ها 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 تخم‌مرغی لاکتوباسیلوس سبب کاهش معنی‌دار pH روده در مقایسه با گروه تزریق‌شده با آب مقطر شد. گزارش شده تغذیه درون تخم‌مرغی پروبیوتیک سبب تغییر جمعیت میکروبی روده می‌شود که این فرآیندها بر رشد فیزیولوژیکی دستگاه گوارش جوجه در ۲۱ روز اول پس از تولد از جمله pH روده تأثیر می‌گذارد (۱۹). در آزمایش حاضر، تغذیه درون تخم‌مرغی آب مقطر یا پروبیوتیک تاثیر معنی‌داری بر وزن نسبی لاشه، ران، سینه، چربی شکمی، بورس و تیموس جوجه‌ها نداشت. تحقیقات زیادی در زمینه عدم تأثیر پروبیوتیک‌ها بر خصوصیات لاشه انجام شده است. به‌طور مثال، در توافق با نتایج آزمایش حاضر، در تحقیقی تغذیه درون تخم‌مرغی پروبیوتیک باسیلوس سابتیلیس در غلظت‌های مختلف، تاثیر معنی‌داری بر وزن نسبی بورس و تیموس جوجه‌ها در ۲۱ روزگی نداشت (۳). تزریق سین‌بیوتیک به داخل تخم بلدرچین مورد آزمایش تاثیری بر وزن نسبی لاشه، سینه، ران، قلب، کبد، سنگدان و روده بلدرچین‌های گوشتی نداشت (۱۵). محققیق تاثیر تغذیه درون تخم‌مرغی عصاره بره موم بر خصوصیات لاشه جوجه‌های گوشتی بررسی نمودند (۶). نتایج نشان داد که تغذیه درون تخم‌مرغی عصاره بره موم تاثیری بر وزن نسبی لاشه، قلب، طحال و بورس فابرسیوس در سن ۴۲ روزگی نداشت. طی تحقیقی، Dadvar و همکاران گزارش کردند تغذیه درون تخم‌مرغی بتائین، تأثیر معنی‌داری بر وزن اجزای لاشه در ۴۲ روزگی نداشت (۸).

پاسخ ایمنی: نتایج آزمایش حاضر نشان داد که تغذیه درون تخم‌مرغی لاکتوباسیلوس در مقایسه با تزریق آب مقطر یا گروه شاهد سبب افزایش معنی‌دار تیتر آنتی‌بادی علیه نیوکاسل و آنفولانزا در سن ۴۲ روزگی شد. بیماری‌های نیوکاسل و آنفلوانزا از بیماری‌های بسیار مهم و واگیردار در پرندگان هستند که خسارات اقتصادی زیادی به صنعت طیور وارد می‌کنند. تست ممانعت از هماگلوتیناسیون یکی از تست‌های رایج و عمومی برای تشخیص تیتر آنتی‌بادی علیه ویروس نیوکاسل و آنفلوانزا در پرندگان است. در گزارشی تغذیه درون تخم‌مرغی پروبیوتیک حاوی چند سویه مختلف با افزایش سطح لنفوسیت‌ها سبب تقویت سیستم ایمنی جوجه‌های گوشتی شد که در توافق با نتایج مطالعه حاضر است (۵). گزارش شده است که بهبود وضعیت ایمنی جوجه‌های گوشتی در زمان تغذیه درون تخم‌مرغی می‌تواند به‌علت بهبود جمعیت میکروبی روده پرندگان باشد (۵). هم‌چنین پژوهشگران نشان دادند تغذیه درون تخم‌مرغی پروبیوتیک سبب کاهش باکتری‌های مضر و افزایش باکتری‌های مفید در روده پرندگان در دوره پس از هچ شد. گزارش شده است که بافت لنفاوی نابالغ مرتبط با روده تحت تحریک آنتی‌ژنی توسط میکروب‌های 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 جوجه‌ها در طول رشد جنینی اولیه می‌تواند مقاومت آن‌ها را به‌دلیل تعدیل هدفمند مکانیسم‌های ایمنی سلولی یا هومورال افزایش دهد (۱۹). هم‌چنین گزارش شده است که تغذیه درون تخم‌مرغی پروبیوتیک‌های مبتنی بر باکتری‌های اسید لاکتیک سبب تحریک سنتز آنتی‌بادی‌ها در دوره پس از جوجه‌ریزی می‌شود که نشان‌دهنده اثرات مفید این باکتری‌ها بر ایمنی اکتسابی و تحریک پاسخ‌های ایمنی هومورال است (۲۱). در مطالعه‌ای تغذیه درون تخم‌مرغی پروبیوتیک، از طریق افزایش پاسخ ایمنی هومورال سبب تقویت سیستم ایمنی جوجه‌ها شد (۲۱). برخلاف نتایج تحقیق حاضر، تغذیه درون تخم‌مرغی پروبیوتیک باسیلوس سابتیلیس در غلظت‌های مختلف سبب کاهش پاسخ ایمنی در سن ۲۱ روزگی گردید (۳). با توجه به یافته‌های پژوهش حاضر می‌توان نتیجه‌گیری کرد که تغذیه درون تخم‌مرغی پروبیوتیک لاکتوباسیلوس سبب بهبود درصد جوجه درآوری، وزن جوجه یک‌روزه و پاسخ ایمنی جوجه‌های گوشتی می‌گردد.

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

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. S**eifi, 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: 10.2 2092/vj.2011.101106

5. **Ciszewski, A., Jarosz, Ł., 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 probiotric on broilers performance. Journal of Animal Environment. 14(2): 65-72. (In Persian) doi: 10.22034/AEJ.2021.275725.2474

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

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/ani 11123491

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