Veterinary Clinical Pathology, Vol.14, No. 54, Summer 2020

"Research article" DOI: 10.30495/JVCP.2020.1889968.1254

# The effects of different levels of arginine on cecum microbial population and serum antioxidant properties of healthy and coccidia-challenged broiler chicks

**Izadi, F.[1], Moghaddam, Gh.[2*], Nematollahi, A.[3], Khodadmehr, M.[4], Abbasabadi, M.[5], Ghanbarzadeh, H.[6]**

1- PhD Student, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran.
2- Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran.
3- Professor of Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tabriz, Tabriz, Iran.
4- Associate Professor, Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tabriz, Tabriz, Iran.
5- Master Student, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Birjand, Birjand, Iran.
6- PhD Student, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Birjand, Birjand, Iran.
[*]Corresponding author's email: ghmoghaddam@tabrizu.ac.ir
(Received: 2020/1/4 Accepted: 2020/8/9)

## Abstract

Cocidiosis causes annual economic losses in industrial poultry farms and nutritional strategies can alleviate these losses. The present study was conducted to evaluate the effects of different levels of arginine on cecum microbial population and serum antioxidant properties of healthy and Eimeria-challenged broiler chicks. Experimental treatments included healthy and challenged broiler chicks fed with 85, 100, 125 and 150% of the recommended arginine. To conduct bacterial culture, samples were collected aseptically from cecum during slaughter (on days 21 and 42). The levels of antioxidant and oxidant factors and nitric oxide were also assessed in the serum of broiler chicks. The chicks which had received 125 and 150% of arginine showed lower *E. coli* population and higher population of lactobacillus, total bacteria, bifidiobacteria and pH in the cecum ($p<0.05$), but entrococous population was not influenced ($p>0.05$). Eimeria challenge decreased the level of glutathione peroxidase, super oxide dismutase, and total antioxidant capacity and increased the levels of malondialdehyde ($p<0.05$), but inclusion of arginine in the levels of 125 and 150% only increased the level of glutathione peroxidase ($p<0.05$), and did not have any effect on other parameters ($p<0.05$). In summary, consumption of arginine in higher levels (125 and 150%) decreased the pathogenic population and increased the beneficial bacteria and the level of glutathione peroxidase in Eimeria-challenged broiler chicks.

**Conflict of interest:** None declared.
**Keywords:** Arginine, Microbial population, Cecum, Broiler chicks, Eimeria, Antioxidant status.

"مقاله پژوهشی" DOI: 10.30495/JVCP.2020.1889968.1254

# اثرات مکمل‌سازی جیره با سطوح مختلف آرژینین بر جمعیت میکروبی رودۀ کور و خصوصیات آنتی‌اکسیدانی سرم جوجه‌های گوشتی سالم و چالش‌یافته با مخلوط آیمریاهای مختلف

فاطمه ایزدی یزدان آبادی[۱]، غلامعلی مقدم[۲*]، احمد نعمت الهی[۳]، منیره خردادمهر[٤]، مهدی عباس‌آبادی[٥]، هادی قنبرزاده[٦]

۱- دانشجوی دکترای تخصصی علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران.

۲- استاد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران.

۳- استاد گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تبریز، تبرز، ایران.

٤- دانشیار گروه پاتوبیولوژی ، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران.

٥- دانشجوی کارشناسی ارشد علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران.

٦- دانشجوی دکترای تخصصی علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران.

*نویسنده مسئول مکاتبات: ghmoghaddam@tabrizu.ac.ir

(دریافت مقاله: ۹۸/۱۰/۱٤ پذیرش نهایی: ۹۹/۵/۱۹)

## چکیده

**کوکسیدیوز سالانه باعث زیان‌های اقتصادی در واحدهای پرورش طیور می‌شود و استراتژی‌های تغذیه‌ای می‌تواند آن را تخفیف دهد. این مطالعه به‌منظور بررسی اثرات سطوح مختلف آرژینین بر جمعیت میکروبی رودهٔ کور و خصوصیات آنتی‌اکسیدانی سرم جوجه‌های گوشتی چالش‌یافته با آیمریا انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل جوجه‌های سالم و جوجه‌های چالش‌یافته تغذیه‌شده با جیره‌های مکمل‌سازی‌شده با مقادیر ۸۵، ۱۰۰، ۱۲۵ و ۱۵۰ درصد آرژینین قابل‌هضم توصیه‌شده، بودند. برای کشت باکتریایی، در زمان کشتار (۲۱ و ٤۲ روزگی) از محتویات روده کور تحت شرایط استریل نمونه‌برداری انجام شد. همچنین سطح فاکتورهای اکسیدانی و آنتی‌اکسیدانی و نیتریک‌اکسید در سرم جوجه‌ها اندازه‌گیری شد. روده کور جوجه‌هایی که جیره‌های حاوی سطوح ۱۲۵ و ۱۵۰ درصد آرژینین را دریافت کرده بودند، جمعیت *اشریشیای کولای* پایین‌تر و جمعیت لاکتوباسیل‌ها، بیفیدوباکتری‌ها و توتال باکتری‌های بالاتر و همچنین pH بالاتری را نشان دادند ($p<۰/۰۵$)، ولی جمعیت انتروکوکوس‌ها تحت تأثیر سطوح آرژینین و چالش کوکسیدیوز قرار نگرفت ($p>۰/۰۵$). همچنین چالش با آیمریا، سطح سرمی گلوتاتیون پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی را کاهش و سطح سرمی نیتریک اکسید و مالون‌دی‌آلدئید را افزایش داد ($p<۰/۰۵$). البته، افزودن آرژینین تنها در سطوح ۱۲۵ و ۱۵۰ درصد توانست سطح گلوتاتیون پراکسیداز را افزایش دهد ($p<۰/۰۵$) و تأثیر معنی‌داری بر دیگر پارامترها نداشت ($p>۰/۰۵$). مطالعه حاضر مشخص کرد که مصرف آرژینین در سطوح ۱۲۵ و ۱۵۰ درصد، تحت شرایط چالش با آیمریا، جمعیت باکتری‌های پاتوژن را کاهش و جمعیت باکتری‌های سودمند و نیز سطح گلوتاتیون پراکسیداز را افزایش داد.**

**کلیدواژه‌ها: آرژینین، جمعیت میکروبی، روده‌کور، جوجه‌گوشتی، آیمریا، وضعیت آنتی‌اکسیدانی.**

**مقدمه**

کوکسیدیوز یک بیماری روده‌ای است که توسط انگلی تک‌یاخته به نام کوکسیدیا (آیمریا) ایجاد می‌شود و حیوانات اهلی و وحشی را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Langrova *et al.*, 2019). انواع کوکسیدیا معمولاً در سالن‌های کوچک پرورش طیور و اغلب در شکل‌های تحت‌بالینی یافت می‌شود، ولی برخی گونه‌های آن در سالن‌های بزرگ نیز یافت می‌شوند و باعث ایجاد خسارت‌های مالی قابل توجه می‌گردند (Williams, 1999). در صنعت طیور، سویه‌های آیمریا با استفاده از روش‌های ترکیبی مدیریتی و واکسیناسیون کنترل می‌شوند، ولی از روش‌های صرفاً مدیریتی، همانند روش‌های تغذیه‌ای نیز برای مدیریت و کنترل آن‌ها استفاده می‌کنند (Macdonald *et al.*, 2017). گزارش شده است که سویه‌های کوکسیدیا تأثیرات خود را در دزهای $1\times10^4$ و بالاتر نشان می‌دهند (Langrova *et al.*, 2019). عفونت‌های ایجادشده توسط سویه‌های آیمریا باعث ایجاد تلفات از طریق ایجاد عفونت‌ها همراه با تظاهر شیزونت‌های مرحلهٔ دوم در بخش زیر اپیتلیومی رودهٔ کور می‌شوند (Allen, 1997). گونه‌های *آیمریا تنلا* (*Eimeria tenella*)، *آیمریا نکارتیکس* (*Eimeria necartix*)، *آیمریا ماکسیما* (*Eimeria maxima*) و *آیمریا آکروولینا* (*Eimeria acervulina*)، سلول‌های اپی‌تلیومی کریپت‌های رودهٔ کور را تحت تأثیر قرار می‌دهند و در نتیجه سبب القای تولید سیتوکین‌های پیش‌التهابی و التهابی می‌شوند (Wu *et al.*, 2016). شدت عفونت تحت تأثیر میزان انگل ورودی، سن پرنده، ژنوتیپ میزبان و پیشینهٔ قبلی عفونت می‌باشد، که ممکن است سبب ایجاد زخم‌هایی با درجات مختلف شود (Boulton *et al.*, 2017). همچنین وجود سویه‌های عفونی آیمریا می‌تواند عفونت همزمان با عوامل بیماری‌زای باکتریایی همانند *کلستریدیوم پرفرینجنس* (*Clostridium perfringens*) و *سالمونلا انتریکا* (*Salmonella enterica*) را افزایش دهد (Qin *et al.*, 1995). از طرف دیگر در شرایط عفونی، تغییرات قابل توجهی در جمعیت میکروبی روده به‌صورت افزایش تعداد کلی‌فرم‌ها، کاهش لاکتوباسیلوس‌ها و بیفیدوباکتری‌ها رخ می‌دهد (Giannenas *et al.*, 2012). میکروفلورای دستگاه گوارش پرندگان در هضم مواد مغذی، تخمیر سوبستراهای انرژی، تجزیهٔ پلی‌ساکاریدهای غیرنشاسته‌ای و پیشگیری از بیماری از طریق کاهش دادن و ممانعت از عمل کلونیزاسیون و تکثیر باکتری‌های بیماری‌زا نقش دارند (Sergeant *et al.*, 2014). همچنین مشخص‌شده است که حضور میکروفلور مفید سبب افزایش طول پرز، عمق کریپت و افزایش تکثیر سلول‌های اپی‌تلیوم روده می‌شود (Mahdavi and Nobakht, 2018). آسیب به میکروفلورای روده‌ای در شرایطی همانند عفونت با آیمریاها می‌تواند برخی از این سازوکارها را محدود سازد (Macdonald *et al.*, 2017). از طرفی دیگر، شرایط چالشی همانند بیماری و تنش سبب افزایش تولید گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن می‌شود. استرس اکسیداتیو نمایانگر عدم توازن میان رادیکال‌های فعال اکسیژن و سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی بوده و سبب اختلال در مکانیسم طبیعی سیگنال‌های سلولی می‌شود (Rasoulifard and Zargari, 2015). افزایش تولید واسطه‌های اکسیژنی فعال موجب برهم خوردن

تعادل بین اکسیدان‌ها و سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی و بروز شرایطی موسوم به تنش اکسیداتیو می‌شود. تنش اکسیداتیو با تغییر وضعیت اکسیداسیون و احیا در یک جز بیولوژیک مانند میتوکندری، سیتوزول و یا فضای خارج سلولی، آسیب اکسیداتیو ماکروملکول‌ها یعنی پروتئین‌ها، لیپیدها، نوکلئوتیدها و کربوهیدرات‌ها را در پی خواهد داشت (Chandra *et al.*, 2000). مجموع این رویدادها موجب تضعیف سیستم ایمنی، کاهش عملکرد تولید و کاهش کیفیت تولیدات طیور می‌شود (Azad *et al.*, 2010).

آرژینین برای پرندگان یک اسیدآمینهٔ ضروری می‌باشد و باید به جیره طیور اضافه شود (Duan *et al.*, 2015). آرژینین نه تنها در ساختار پروتئین‌ها مشارکت می‌کند، بلکه پیش‌سازی برای سنتز برخی از مولکول‌های فعال بیولوژیکی با وزن مولکولی پایین همانند نیتریک اکسید و کراتین نیز می‌باشد (Ren *et al.*, 2014). همچنین وجود این اسید آمینه سوخت‌وساز مواد غذایی و پاسخ‌های ایمنی را در پستانداران بهبود می‌بخشد (Ren *et al.*, 2013). آرژینین سطح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را هم افزایش می‌دهد (Bun *et al.*, 2011; Atakisi *et al.*, 2009). مشخص شده است که آرژینین سوخت‌وساز باکتری‌های روده‌ای را نیز تنظیم می‌کند (Dai *et al.*, 2012). برخی مطالعات هم نشان داده‌اند که آرژینین سطح آمونیوم را افزایش داده و از این طریق اسیدیته را کاهش داده و بر روی باکتری‌های زیادی تأثیر می‌گذارد (He *et al.*, 2016). طبق مطالعات انجام‌شده، ظاهراً این اسید آمینه می‌تواند تأثیر مثبتی بر جمعیت میکروبی دستگاه گوارش و بهبود وضعیت آنتی‌اکسیدانی جوجه‌های گوشتی چالش‌یافته با کوکسیدیوز داشته باشد (Atakisi *et al.*, 2009). علت استفاده از آرژینین به منظور کاهش استفاده از داروهای ضد کوکسیدیوزی و افزایش عملکرد سیستم ایمنی پرنده در برابر کوکسیدیا است که می‌تواند در نهایت به سود اقتصادی پرورش‌دهنده منجر شود (Duan *et al.*, 2015).

طبق جست‌وجوی انجام‌شده در منابع علمی، تاکنون در هیچ مطالعه‌ای به بررسی اثرات سطوح مختلف آرژینین بر فلور میکروبی دستگاه گوارش جوجه‌های گوشتی چالش‌یافته با کوکسیدیوز پرداخته نشده است. لذا، در این مطالعه برای اولین بار به بررسی اثرات سطوح مختلف آرژینین بر جمعیت میکروبی رودهٔ کور و خصوصیات آنتی‌اکسیدانی سرم جوجه‌های گوشتی سالم و چالش‌یافته با مخلوط آیمریاهای مختلف پرداخته شد.

## مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر بر اساس دستورالعمل کمیتهٔ اخلاق دانشگاه تبریز (شماره ۱۱۰۲، ۱۱ بهمن ۱۳۹۶) در زمستان ۱۳۹۶ در سالن تحقیقاتی مرغداری واحد دامپروری دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرجند اجرا شد که مجهز به دو هواکش با ابعاد ۶۰ ×۶۰ سانتی‌متر بود. همچنین یک دستگاه هیتر با قدرت ۲۰ هزار کیلوکالری در ساعت، تأمین‌کننده حرارت مورد نیاز سالن بود. مراحل ضدعفونی و اصول بهداشتی سالن پرورش قبل از جوجه‌ریزی انجام شد. جوجه‌های مورد آزمایش (در مجموع شامل ۳۸۴ قطعه) که مخلوطی از هر دو جنس نر و ماده نژاد گوشتی راس با وزن اولیهٔ ۲±۴۲ گرم بودند، از یکی از واحدهای جوجه‌کشی محلی به‌شکل

ساده تصادفی خریداری شده و در پن‌هایی با ابعاد ۱×۱ مترمربع پرورش یافتند. برنامهٔ نوردهی به‌صورت ۲۳ ساعت روشنایی و ۱ساعت تاریکی برای نگه‌داری جوجه‌ها استفاده شد. همچنین آب و غذا در تمام روزها به‌صورت اختیاری فراهم شد و درجه حرارت سالن پرورش نیز در محدودهٔ ۳۲-۳۰ درجهٔ سلسیوس برای سه روز اول تنظیم شده و سپس با کاهش روزانه، نهایتاً در ۲۱ روزگی در دمای حدود ۲۳/۹ درجهٔ سلسیوس تنظیم گردید (Olfati *et al.*, 2018). همه جوجه‌ها یک نوع جیره بر پایهٔ ذرت-سویا را که فاقد کوکسیدیواستات‌ها بود، در طول دورهٔ آزمایشی دریافت کردند. دوره‌های آزمایشی هم شامل آغازین (۱۰-۱ روزگی)، رشد (۲٤-۱۱ روزگی) و پایانی (٤۲-۲۵ روزگی) بود (جدول ۱). از ابتدای دوره پرورش تا ۲۱ روزگی، جوجه‌های مورد آزمایش به ٤ تیمار با ٦ تکرار که هر تیمار شامل ۱٦ پرنده بود، تقسیم شده و جیره‌های مکمل‌شده با مقادیر ۸۵، ۱۰۰، ۱۲۵ و ۱۵۰ درصد آرژینین توصیه‌شده توسط کاتالوگ نژاد راس ۳۰۸ (Ross 308 Broiler Nutrition Specifications, 2014) را از ۱ تا ۲۱ روزگی دریافت کردند. از روز ۲۱، جوجه‌ها در هر تیمار به دو بخش تقسیم شدند و نیمی از آن‌ها با مخلوطی از گونه‌های مختلف آیمریا شامل *آیمریا نگاتریکس*، *آیمریا ماکزیما*، *آیمریا آسروولینا* و *آیمریا تنلا* که از آزمایشگاه انگل‌شناسی دانشکده دامپزشکی تهران تهیه شده بود، عفونی شده و نیمی دیگر هم به‌طور عفونی‌نشده پرورش یافتند. همچنین تفاوت‌های فردی برای تقسیم بندی فوق در نظر گرفته شد و نسبت جنسی نیز رعایت شد.

دوره ۱۴، شماره ۲، پیاپی ۵۴، تابستان ۱۳۹۹، صفحات: ۱۴۵-۱۲۷

جدول ۱- فرمول و مشخصات جیره‌های مورد استفاده در مراحل مختلف دوره پرورشی جوجه‌های گوشتی مورد آزمایش

| ترکیبات جیره آزمایشی | دوره آغازین (۱۰-۱ روزگی) | | | دوره رشد (۲۴-۱۱ روزگی) | | | دوره پایانی (۴۲-۲۵ روزگی) | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | ۸۵ درصد آرژنین | ۱۰۰ درصد آرژنین | ۱۲۵ درصد آرژنین | ۱۵۰ درصد آرژنین | ۸۵ درصد آرژنین | ۱۰۰ درصد آرژنین | ۱۲۵ درصد آرژنین | ۱۵۰ درصد آرژنین | ۸۵ درصد آرژنین | ۱۰۰ درصد آرژنین | ۱۲۵ درصد آرژنین | ۱۵۰ درصد آرژنین |
| ذرت | ۵۵۱/۸۹ | ۵۰۶/۲ | ۵۱۰/۹۷ | ۵۱۵/۷۴ | ۵۹۲/۳۸ | ۵۴۱/۷۹۰ | ۵۴۶/۸۳ | ۵۵۱/۱۱ | ۶۳۸/۴۹ | ۵۸۷/۹ | ۵۹۲/۲۶ | ۵۹۵/۶۳ |
| کنجاله سویا | ۲۹۶/۵ | ۳۶۹/۵۴ | ۳۶۲/۸۱ | ۳۵۶/۱۱ | ۲۵۰/۳۳ | ۳۲۹/۸۱۰ | ۳۲۳/۸۸ | ۳۱۷/۷۸ | ۲۰۸/۵۹ | ۲۸۹/۲۶ | ۲۸۳/۳۹ | ۲۷۸/۴۴ |
| گلوتن ذرت | ۹۳/۱۵ | ۵۰ | ۵۰ | ۵۰ | ۹۶/۴۵ | ۵۰ | ۵۰ | ۵۰ | ۸۶/۹۸ | ۴۰ | ۴۰ | ۴۰ |
| روغن گیاهی | ۱۰/۳ | ۲۷/۵۵ | ۲۵/۴۷ | ۲۳/۳۹ | ۱۶/۷۹ | ۳۵/۶۴ | ۳۳/۸ | ۳۱/۹۱ | ۲۵/۱۷ | ۴۴/۳۲ | ۴۲/۶۷ | ۴۰/۹۶ |
| دی‌کلسیم فسفات | ۱۹/۵۳ | ۱۹/۴۲ | ۱۹/۴۷ | ۱۹/۵۱ | ۱۷/۲۴ | ۱۷/۸۸ | ۱۷/۱۲ | ۱۷/۱۶ | ۱۵/۲۱ | ۱۵/۰۹ | ۱۵/۱۲ | ۱۵/۱۶ |
| کربنات کلسیم | ۱۲/۵ | ۱۲/۰۷ | ۱۲/۱۴ | ۱۲/۱۹ | ۱۱/۷ | ۱۱/۲۷ | ۱۱/۲۹ | ۱۱/۳۰ | ۱۰/۹۶ | ۱۰/۵۳ | ۱۰/۵۴ | ۱۰/۵۵ |
| سدیم بیکربنات | ۱/۲ | ۱/۲ | ۱/۲ | ۱/۲ | ۱/۲ | ۱/۲ | ۱/۲ | ۱/۲ | ۱/۲ | ۱/۲ | ۱/۲ | ۱/۲ |
| دی ال متیونین | ۰/۹۵۵ | ۱/۳۴۹ | ۱/۳۸ | ۱/۴۰ | ۰/۶۹ | ۱/۱۰ | ۱/۱۳ | ۱/۱۶ | ۰/۶۰ | ۱/۰۲ | ۱/۰۴ | ۱/۰۷ |
| ال لیزین | ۴/۴۷۳ | ۲/۷۹۱ | ۲/۹۱ | ۳/۱۱ | ۴/۱۳ | ۲/۲۱۸ | ۲/۳۹ | ۲/۵۷ | ۳/۸۸ | ۱/۹۴ | ۲/۰۹ | ۲/۲۵ |

| | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| ال ترئونین | ۱/۷۱۲ | ۱/۵۰٦ | ۱/۵۸ | ۱/٦٦ | ۱/۲۸ | ۱/۰۵ | ۱/۱۲ | ۱/۱۹ | ۱/۰۸ | ۰/۸٤٦ | ۰/۹۱ | ۰/۹۸ |
| ال آرژنین | ۰ | ۰/٦۷٦ | ٤/۳۰ | ۷/۹۲ | ۰ | ۰/۲٤۲ | ۳/٤٤ | ٦/۷٤ | ۰ | ۰/۰۷٤ | ۲/۹۵ | ۵/۹۳ |
| نمک | ۲/۷۹ | ۲/۷۷ | ۲/۷۷ | ۲/۷۷ | ۲/۸۱ | ۲/۸۰ | ۲/۸۰ | ۲/۸۸ | ۲/۸٤ | ۲/۸۲ | ۲/۸۳ | ۲/۸۳ |
| مکمل ویتامینه و معدنی (۱ و ۲) | ۵ | ۵ | ۵ | ۵ | ۵ | ۵ | ۵ | ۵ | ۵ | ۵ | ۵ | ۵ |
| جمع جیره | ۱۰۰۰ | ۱۰۰۰ | ۱۰۰۰ | ۱۰۰۰ | ۱۰۰۰ | ۱۰۰۰ | ۱۰۰۰ | ۱۰۰۰ | ۱۰۰۰ | ۱۰۰۰ | ۱۰۰۰ | ۱۰۰۰ |
| **ترکیب مواد مغذی جیره‌ها (بر حسب درصد)** | | | | | | | | | | | | |
| انرژی متابولیسمی | ۳۰۰۰ | ۳۰۰۰ | ۳۰۰۰ | ۳۰۰۰ | ۳۱۰۰ | ۳۱۰۰ | ۳۱۰۰ | ۳۱۰۰ | ۳۲۰۰ | ۳۲۰۰ | ۳۲۰۰ | ۳۲۰۰ |
| پروتئین خام | ۲۳ | ۲۳ | ۲۳ | ۲۳ | ۲۱/۵ | ۲۱/۵ | ۲۱/۵ | ۲۱/۵ | ۱۹/۵ | ۱۹/۵ | ۱۹/۵ | ۱۹/۵ |
| کلسیم | ۰/۹٦ | ۰/۹٦ | ۰/۹٦ | ۰/۹٦ | ۰/۸۷ | ۰/۸۷ | ۰/۸۷ | ۰/۸۷ | ۰/۷۹ | ۰/۷۹ | ۰/۷۹ | ۰/۷۹ |
| فسفر قابل دسترس | ۰/٤۸ | ۰/٤۸ | ۰/٤۸ | ۰/٤۸ | ۰/٤۳۵ | ۰/٤۳۵ | ۰/٤۳۵ | ۰/٤۳۵ | ۰/۳۹۵ | ۰/۳۹۵ | ۰/۳۹۵ | ۰/۳۹۵ |
| پتاسیم | ۰/۸۰ | ۰/۹۱ | ۰/۹۰ | ۰/۸۸ | ۰/۷۲ | ۰/۸٤ | ۰/۸۳ | ۰/۸۲ | ۰/٦۵ | ۰/۷۷ | ۰/۷٦ | ۰/۷۵ |
| سدیم | ۰/۱۷ | ۰/۱۷ | ۰/۱۷ | ۰/۱۷ | ۰/۱۷ | ۰/۱۷ | ۰/۱۷ | ۰/۱۷ | ۰/۱۷ | ۰/۱۷ | ۰/۱۷ | ۰/۱۷ |
| کلر | ۰/۲۰ | ۰/۱۹ | ۰/۱۹ | ۰/۱۹ | ۰/۲۰ | ۰/۲۰ | ۰/۲۰ | ۰/۲۰ | ۰/۲۰ | ۰/۲۰ | ۰/۲۰ | ۰/۲۰ |

| | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **متیونین قابل‌هضم** | ۰/۵۱ | ۰/۵۱ | ۰/۵۱ | ۰/۵۱ | ۰/٤۷ | ۰/٤۷ | ۰/٤۷ | ۰/٤۳ | ۰/٤۳ | ۰/٤۳ | ۰/٤۳ |
| **متیونین + سیستئین قابل‌هضم** | ۰/۸۵ | ۰/۸۵ | ۰/۸۵ | ۰/۸۵ | ۰/۷۹ | ۰/۷۹ | ۰/۷۹ | ۰/۷۲ | ۰/۷۲ | ۰/۷۲ | ۰/۷۲ |
| **لیزین قابل‌هضم** | ۱/۲۸ | ۱/۲۸ | ۱/۲۸ | ۱/۲۸ | ۱/۱۵ | ۱/۱۵ | ۱/۱۵ | ۱/۰۳ | ۱/۰۳ | ۱/۰۳ | ۱/۰۳ |
| **آرژنین قابل‌هضم** | ۱/۱٦ | ۱/۳۷ | ۱/۷۱ | ۲/۰۵ | ۱/۸٤ | ۱/۵۳ | ۱/۲۳ | ۱/۰٤ | ۰/۹٦ | ۱/۱ | ۱/۳۷ | ۱/٦۵ |
| **ترئونین قابل‌هضم** | ۰/۸٦ | ۰/۸٦ | ۰/۸٦ | ۰/۷۷ | ۰/۷۷ | ۰/۷۷ | ۰/۷۷ | ۰/٦۹ | ۰/٦۹ | ۰/٦۹ | ۰/٦۹ |
| **تریپتوفان قابل‌هضم** | ۰/۲۰ | ۰/۲۰ | ۰/۲۲ | ۰/۲۱ | ۰/۲۰ | ۰/۲۰ | ۰/۱۸ | ۰/۱٦ | ۰/۱۸ | ۰/۱۸ | ۰/۱۸ |
| **اسید لینولئیک** | ۱/٦۸ | ۲/۲۳ | ۲/۱٦ | ۲/۰۸ | ۲/٤۸ | ۲/۵۵ | ۲/٦۱ | ۲/۰۱ | ۲/٤ | ۳/۰۱ | ۲/۹۵ | ۲./۸۹ |
| **چربی** | ۳/۲۸ | ٤/۷۸ | ٤/۵۹ | ٤/۳۹ | ۵/۳٤ | ۵/۵۲ | ۵/٦۹ | ٤/۰۵ | ۵ | ٦/٦ | ٦/۵۱ | ٦/۳۵ |
| **فیبر خام** | ۳/۳۵ | ۳/٦۷ | ۳/٦۳ | ۳/۵۹ | ۳/۳۹ | ۳/٤۳ | ۳/٤٦ | ۳/۱۱ | ۲/۸ | ۳/۲٤ | ۳/۲۱ | ۳/۱۸ |

۱- مکمل ویتامینه به ازای هر کیلوگرم جیره، ۱۲۰۰۰ واحد بین المللی ویتامین A، ٤۵۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین D3، ٦۲/۵ واحد بین المللی ویتامین E، ۳ میلی‌گرم ویتامین K، ۳ میلی‌گرم ویتامین $B_1$، ٦/٦ میلی‌گرم ویتامین $B_2$، ۵۵ میلی‌گرم ویتامین $B_3$، ۲۰ میلی‌گرم ویتامین $B_5$، ۵ میلی‌گرم ویتامین $B_6$، ۱/۹۲ میلی‌گرم ویتامین $B_9$، ۰/۲ میلی‌گرم بیوتین ، ۰/۰۱ میلی‌گرم ویتامین $B_{12}$، ۵۰۰ میلی‌گرم کولین کلراید و ۱۰۰ میلی‌گرم آنتی‌اکسیدان را تأمین می‌کند.

۲- مکمل مواد معدنی به ازای هر کیلوگرم جیره، ۱۲۰ میلی‌گرم منگنز، ۱۰۲ میلی‌گرم روی، ٤۰ میلی‌گرم آهن، ۱۰ میلی‌گرم مس، ۱/۵ میلی‌گرم ید، ۰/۳۵ میلی‌گرم سلنیم را تأمین می‌کند.

جدول ۲- مقادیرآرژینین قابل هضم (گرم/کیلوگرم) محاسبه‌شده در دوره‌های مختلف پرورش جوجه‌های گوشتی مورد آزمایش

| مقدار آرژینین (استفاده‌شده در جیره) دوره پرورشی | ۸۵ درصد مقدار آرژینین قابل‌هضم | ۱۰۰ درصد مقدار آرژینین قابل‌هضم | ۱۲۵ درصد مقدار آرژینین قابل‌هضم | ۱۵۰ درصد مقدار آرژینین قابل‌هضم |
|---|---|---|---|---|
| آغازین | ۱/۱٦٤ | ۱/۳۷ | ۱/۷۱۲ | ۲/۰۵۵ |
| رشد | ۱/۰٤٥ | ۱/۲۳ | ۱/۵۳۷ | ۱/۸٤٥ |
| پایانی | ۰/۹۳۵ | ۱/۱ | ۱/۳۷۵ | ۱/٦۵۰ |

مشخصات تیمارهای آزمایشی از سن ۲۱ تا ٤۲ روزگی به‌شرح زیر بود:

- جوجه‌های چالش‌یافته با مخلوط آیمریاها که ۸۵ درصد مقدار آرژینین توصیه‌شده را دریافت کردند (چالش‌یافته‌های ۸۵ درصد- عفونی).
- جوجه‌های چالش‌یافته با مخلوط آیمریاها که ۱۰۰ درصد مقدار آرژینین توصیه‌شده را دریافت کردند (چالش یافته‌های ۱۰۰درصد- عفونی، کنترل مثبت).
- جوجه‌های چالش‌یافته با مخلوط آیمریاها که ۱۲۵ درصد مقدار آرژینین توصیه‌شده را دریافت کردند (چالش یافته‌های ۱۲۵ درصد- عفونی).
- جوجه‌های چالش‌یافته با مخلوط آیمریاها که ۱۵۰ درصد مقدار آرژینین توصیه‌شده را دریافت کردند (چالش یافته‌های ۱۵۰ درصد- عفونی).
- جوجه‌های چالش‌نیافته با مخلوط آیمریاها که ۸۵ درصد مقدار آرژینین توصیه‌شده را دریافت کردند (بدون چالش ۸۵ درصد- سالم).
- جوجه‌های چالش‌نیافته با مخلوط آیمریاها که ۱۰۰ درصد مقدار آرژینین توصیه‌شده را دریافت کردند (بدون چالش۱۰۰درصد- سالم، کنترل منفی).
- جوجه‌های چالش‌نیافته با مخلوط آیمریاها که ۱۲۵ درصد مقدار آرژینین توصیه‌شده را دریافت کردند (بدون چالش۱۲۵درصد- سالم).
- جوجه‌های چالش‌نیافته با مخلوط آیمریاها که ۱۵۰ درصد مقدار آرژینین توصیه‌شده را دریافت کردند (بدون چالش۱۵۰درصد- سالم).

لازم به ذکر است که برای القاء چالش، سوسپانسیونی ۱/۵ میلی‌لیتری حاوی مخلوط حدود ۲۰۰ هزار اووسیت اسپوردار گونه‌های *E. negatrix* (۷/۵ درصد)، *E. maxima* (۱۰ درصد)، *E. acervulina* (۷/۵ درصد) و *E. tenella* (۷۵ درصد) به ازای هر پرنده و با استفاده از درنچر اتوماتیک (Boeco, Germany) به‌صورت دهانی تلقیح شد. همچنین آرژینین از شرکت سی.جی (کره جنوبی) به‌صورت ال- آرژینین با خلوص ۹۸/۵ درصد، تهیه شد و میزان آن توسط دستگاه کروماتوگرافی مایع عملکرد بالا در دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرجند (LC_10AVP_shimadzu, Japan) مورد بررسی قرار گرفت.

جهت شمارش جمعیت باکتری‌های مورد نظر شامل *اشریشیا کولای*، لاکتوباسیلوس‌ها،

بیفیدوباکتری‌ها، انتروکوکوس‌ها و نیز توتال باکتری (هتروتروفیک باکتری‌ها) روده کور، در دو زمان متفاوت برای کشتار (۲۱ و ٤۲ روزگی)، از محتویات روده کور تمامی تیمارها، دو پرنده از هر تکرار (۱۲ پرنده از هر تیمار، ۹٦ پرنده در هر بار کشتار)، تحت شرایط استریل نمونه‌برداری صورت گرفته و ظروف حاوی نمونه‌های مذکور سریعاً به آزمایشگاه میکروب‌شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی منتقل شدند. در آزمایشگاه مذکور مواد دفعی موجود در روده کور تحت شرایط استریل به داخل محیط‌های کشت مخصوص برای هر باکتری انتقال یافتند و آنالیزهای میکروب‌شناسی با استفاده از روش شمارش پلیت انجام گردید (Langrova *et al.*, 2019). از نمونه اولیه ۱۳ سری رقت با ضریب رقیق‌سازی ۱۰ تهیه شد (Langrova *et al.*, 2019). شمارش بیفیدوباکتری‌ها و توتال باکتری‌ها تحت شرایط بی‌هوازی انجام شد. لاکتوباسیلوس‌ها تحت شرایط میکروآئروفیلیک گرمخانه‌گذاری شدند، ولی *اشریشیا کولای* و انتروکوکوس‌ها تحت شرایط هوازی کشت داده شدند. همچنین میزان pH محتویات روده کور توسط pHمتر (GLP22, CROSON, Spain) اندازه‌گیری شد (Langrova *et al.*, 2019). لازم به ذکر است که محیط کشت مورد استفاده برای شمارش توتال باکتری‌ها، محیط کشت آگار Wilkins- Chalgren anaerob (No: W1761, Merck, Germany) مکمل‌سازی‌شده با پپتون سویا (i2313, Ibresci, Iran) و سیستئین (No: 7048-04-6, Merk, Germany) بود. همچنین محیط کشت مورد استفاده برای بیفیدوباکتری‌ها، همان محیط کشت مورد استفاده برای شمارش توتال باکتری‌ها بود که با موپیروسین (Oxoid, USA) (صد میلی‌گرم/میلی‌لیتر) مکمل شده بود. محیط کشت مورد استفاده برای لاکتوباسیلوس‌ها هم، محیط Rogosa agar (No:105413, Merck, Germany) بود. همچنین محیط‌های کشت مورد استفاده برای انتروکوکوس‌ها، Slanetz-Bartley agar (No:-123112, Ibresco, Iran) و برای *اشریشیاکولای* محیط کشت (Tryptone Bile X-glucuronide, Merck, Germany) T.B.X بود.

در روز ۳۵ دوره آزمایش هم، ۲ نمونه خون از جوجه‌های هر تکرار از تیمارهای مختلف اخذ شده (۱۲ نمونه از هر تیمار)و سپس نمونه‌های سرم در آزمایشگاه دانشکده کشاورزی بیرجند با ۲۵۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۲ دقیقه سانتریفیوژ شدند (D7200-Hettich, Germany) و تا زمان انجام آزمایش در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند. ، میزان نیتریک اکسید سرم توسط کیت زل بایو (No: 430430, Zell Bio, Germany)، میزان مالون دی‌آلدئید سرم نیز توسط کیت زل بایو (No: 15023, Zell Bio, Germany)، همچنین مقادیر آنزیم‌های سوپراکسیددیسموتاز و گلوتاتیون‌پراکسیداز سرم توسط کیت‌های اختصاصی مربوطه (Randox Laboratories, Ardmore, Crumlin, UK) و نیز ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی سرم توسط کیت (No: NS2332, ZELLbio Germany) اندازه‌گیری شد.

-**تحلیل آماری داده‌ها**: این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی به صورت فاکتوریل ۲×٤ با ٤ سطح آرژینین (۸۵، ۱۰۰، ۱۲۵ و ۱۵۰ درصد) و دو سطح چالش (بدون چالش و با چالش) انجام گرفت. همچنین داده‌های به‌دست‌آمده با نرم افزار آماری SAS نسخه ۹/۱۰ مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. قبل از

آزمون‌های آماری هم، آزمون نرمالیته صورت گرفت. میانگین‌ها توسط آزمون چند دامنه‌ای دانکن با یکدیگر مقایسه شدند و ارزش معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ به‌عنوان اختلاف آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد. برای بررسی اختلاف گروه‌ها هم در ۲۱ روز اول از آزمون واریانس یک‌طرفه استفاده شد، تا مشخص شود سطوح آرژینین در دوره قبل از چالش می‌تواند تأثیر داشته باشد.

مدل آماری مطالعه به صورت زیر بود:

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + B_j + (AB)_{ij} + e_{ijk}$$

در این فرمول، $\mu$ میانگین کلّ مشاهدات، $A_i$ اثر چالش کوکسیدیوز، $B_j$ اثر سطح آرژینین، $(AB)_{ij}$ اثر متقابل و $e_{ijk}$ خطای آزمایش می‌باشد.

## یافته‌ها

نتایج مربوط به اثرات سطح آرژینین بر جمعیت میکروبی روده کور در طول ۲۱ روزگی در جدول ۳ ارائه شده است. یافته‌های ثبت‌شده در جدول مذکور نشان می‌دهد که افزودن سطوح مختلف آرژینین به جیره، نتوانست تأثیر معنی‌داری بر جمعیت باکتری‌های روده‌ٔ کور داشته باشد ($p$>۰/۰۵). همان‌گونه که نتایج نشان می‌دهد در دوره قبل از چالش، افزودن آرژینین به جیره هم نتوانسته است تأثیر معنی‌داری بر تعداد جمعیت باکتری‌های مختلف داشته باشد. همچنین یافته‌های مربوط به اثر سطح آرژینین بر pH محتویات روده‌ٔ کور نشان داد که استفاده از اسید آمینه مذکور تأثیر معنی‌داری بر این فراسنجه نداشته است ($p$>۰/۰۵).

جدول ۳- اثرات سطوح مختلف آرژینین بر جمعیت باکتری‌ها (لگاریتم واحد تشکیل‌دهندهٔ پرگنه/گرم نمونه) و pH **روده‌ٔ کور** جوجه‌های مورد آزمایش در ۲۱ روزگی

| باکتری مورد نظر گروه‌های مورد آزمایش | *اشریشیاکولای* | لاکتوباسیل‌ها | توتال باکتری‌ها | بیفیدوباکتری‌ها | انتروکوکوس‌ها | pH روده کور |
|---|---|---|---|---|---|---|
| آرژینین ۸۵ درصد | ۷/۳۵ ± ۱/۳۰ | ۸/۹۸ ± ۰/۲٤ | ۹/۲ ± ۰/۱٤ | ۹/۲۵ ± ۰/۱۸ | ۷/۲۸ ± ۰/۱٤ | ٦/٤۳ ± ۰/۳۳ |
| آرژینین ۱۰۰ درصد | ۸/۳٤ ± ۰/۲۵ | ۹/۲۵ ± ۰/۱۸ | ۹/۱٦ ± ۰/۱۲ | ۹/۲۵ ± ۰/۱۹ | ۷/۲۳ ± ۰/۱٤ | ٦/٤۹ ± ۰/۱۵ |
| آرژینین ۱۲۵ درصد | ۸/۲۵ ± ۰/۱٦ | ۹/۲۹ ± ۰/۳۰ | ۹/۱۱ ± ۰/۲۵ | ۹/۲۵ ± ۰/۲۰ | ۷/۲ ± ۰/۱۲ | ٦/۵۳ ± ۰/۳ |
| آرژینین ۱۵۰ درصد | ۸/۲۷ ± ۰/۱٦ | ۹/۲۷ ± ۰/۲٤ | ۹/۲۱ ± ۰/۱۱ | ۹/۲۵ ± ۰/۲۱ | ۷/۲۷ ± ۰/۱٤ | ٦/٦۹ ± ۰/۱۹ |
| خطای استاندارد | ۷/۳۵ ± ۱/۳۰ | ۸/۹۸ ± ۰/۲٤ | ۹/۲ ± ۰/۱٤ | ۹/۲۵ ± ۰/۱۸ | ۷/۲۸ ± ۰/۱٤ | ٦/٤۳ ± ۰/۳۳ |
| ارزش معنی‌داری | ۸/۳٤ ± ۰/۲۵ | ۹/۲۵ ± ۰/۱۸ | ۹/۱٦ ± ۰/۱۲ | ۹/۲۵ ± ۰/۱۹ | ۷/۲۳ ± ۰/۱٤ | ٦/٤۹ ± ۰/۱۵ |

تأثیر سطوح مختلف آرژینین بر جمعیت‌های میکروبی روده کور در ٤۲ روزگی نیز در جدول ٤ نشان داده شده است. اثر چالش با کوکسیدیوز بر جمعیت *اشریشیای کولای*، لاکتوباسیلوس‌ها، توتال باکتری‌ها، بیفیدوباکتری‌ها و pH روده‌ٔ کور در مقایسه با عدم چالش معنی‌دار بود ($p<۰/۰۵$). همچنین جوجه‌های چالش‌یافته با کوکسیدیوز، جمعیت *اشریشیا کولای* بالاتر و جمعیت لاکتوباسیلوس‌ها، توتال باکتری‌ها و بیفیدوباکتری‌های پائین‌تری را در مقایسه با گروه سالم نشان دادند ($p<۰/۰۵$). میزان pH روده‌ٔ کور هم به‌طور معنی‌داری در جوجه‌های چالش‌یافته در مقایسه با جوجه‌های چالش‌نیافته کمتر بود ($p<۰/۰۵$). از طرف دیگر جمعیت انتروکوکوس‌ها تحت تأثیر سطوح آرژینین و چالش کوکسیدیوز قرار نگرفت ($p>۰/۰۵$). سطوح آرژینین تأثیر معنی‌داری بر جمعیت *اشریشیا کولای*، لاکتوباسیلوس‌ها، توتال باکتری‌ها، بیفیدوباکتری‌ها و pH روده‌ٔ کور داشت ($p<۰/۰۵$). جوجه‌هائی که جیره‌های حاوی سطوح ۱۲۵ و ۱۵۰ درصد آرژینین را دریافت کردند، جمعیت *اشریشیاکولای* پایین‌تر و جمعیت بالاتری از توتال باکتری‌ها و بیفیدوباکتری‌ها را در مقایسه با جوجه‌هائی که سطوح ۸۵ و ۱۰۰ درصد اسیدآمینه مذکور را دریافت کردند، نشان دادند ($p<۰/۰۵$). جمعیت لاکتوباسیل‌ها به‌طور معنی‌داری در تیمار ۱۵۰ درصد آرژینین در مقایسه با دیگر گروه‌ها به‌طور معنی‌داری بالاتر بود ($p<۰/۰۵$). همچنین میزان pH روده‌ٔ کور به‌طور معنی‌داری در جوجه‌های دریافت‌کننده‌ٔ جیره‌های حاوی سطوح بالاتر آرژینین (۱۲۵ و ۱۵۰ درصد) در مقایسه با گروه‌هایی با سطوح پایین‌تر (۸۵ و ۱۰۰ درصد) بیشتر بود ($p<۰/۰۵$).

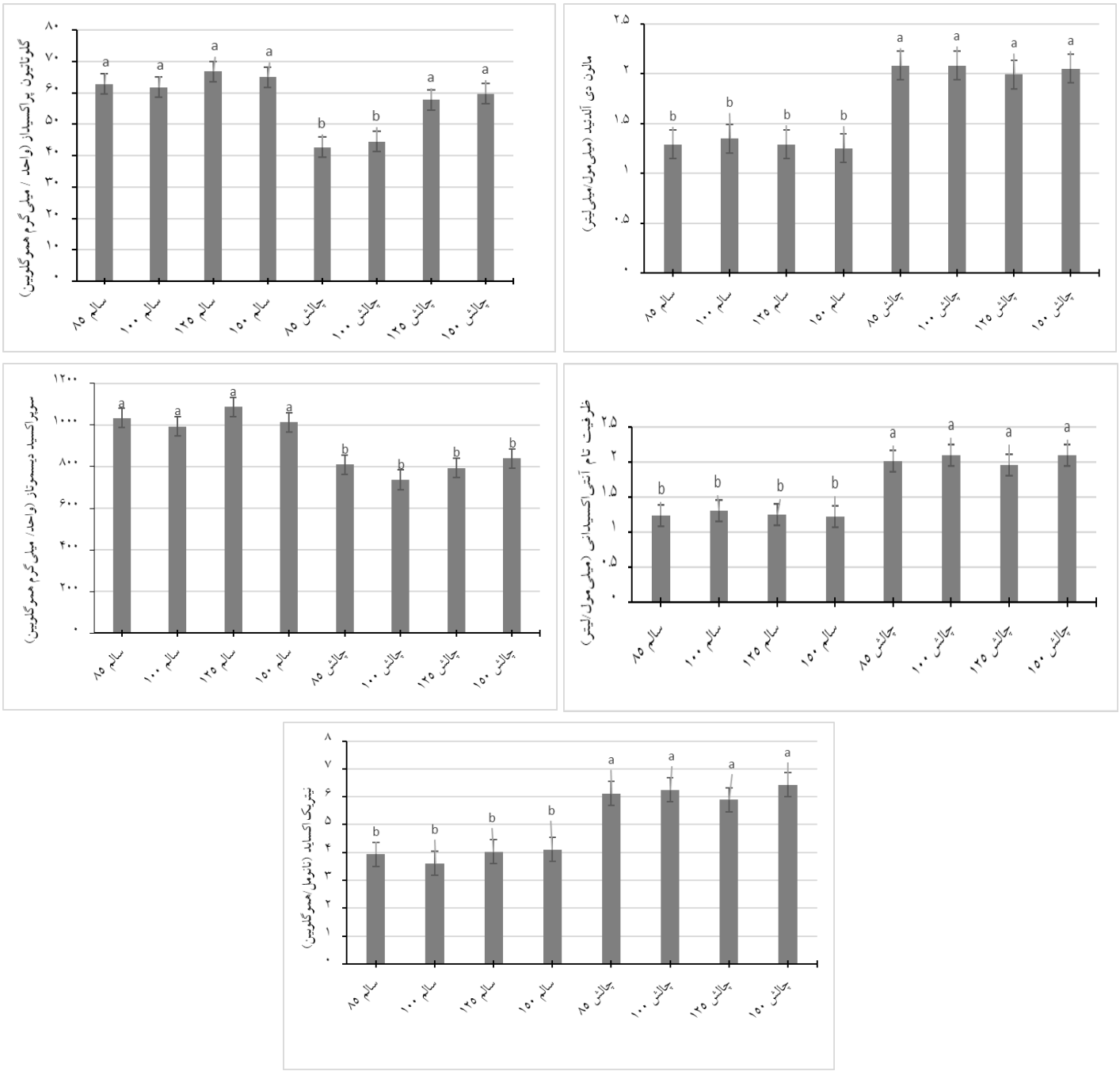
**جدول ٤**- اثرات ساده و متقابل سطوح مختلف آرژینین و کوکسیدیوز بر جمعیت باکتری‌های رودهء کور برحسب لگاریتم واحد تشکیل‌دهنده پرگنه/گرم نمونه در ٤٢ روزگی

| گروه‌های مورد آزمایش | *اشریشیاکولای* | لاکتوباسیل‌ها | توتال باکتری‌ها | بیفیدوباکتری‌ها | انتروکوکوس‌ها | pH روده کور |
|---|---|---|---|---|---|---|
| اثرات چالش | | | | | | |
| چالش | ۸/۹۲ ± ۰/٦۷ a | ۸/۰۹ ± ۰/٤۲ b | ۸/٤٤ ± ۰/۲۹ b | ۸/۸۵ ± ۰/۳۱ b | ۷/۳٤ ± ۰/۱٤ | ۵/٦۷ ± ۰/۵۵ b |
| س | ۸/۲۹ ± ۰/۲۱ b | ۹/۲۳ ± ۰/۲٦ a | ۹/۲۱ ± ۰/۲۵ a | ۹/۲۹ ± ۰/۱۵ a | ۷/۲۵ ± ۰/۱۳ | ٦/۲۵ ± ۰/۱۸ a |
| **اثرات سطوح مختلف آرژینین** | | | | | | |
| ۸۵ درصد | ۸/۹۵ ± ۰/۷۲ a | ۸/٤۵ ± ۰/۷۰ b | ۸/۸۰ ± ۰/۵۰ b | ۸/۸۵ ± ۰/۳۹ c | ۷/۳۲ ± ۰/۱۳ | ۵/۹۳ ± ۰/٦۷ b |
| ۱۰۰ درصد | ۸/۸٦ ± ۰/٦۸ a | ۸/۵۱ ± ۰/۸۸ b | ۸/۷۵ ± ۰/۵٦ b | ۹/۰۱ ± ۰/۳۸ b | ۷/۳ ± ۰/۱۳ | ۵/۸۵ ± ۰/۷۲ b |
| ۱۲۵ درصد | ۸/۳۱ ± ۰/۲۳ b | ۸/۸۱ ± ۰/۵٤ a | ۸/۷۳ ± ۰/٤۸ b | ۹/۲۰ ± ۰/۱۹ a | ۷/۳۰ ± ۰/۱۷ | ٦/۳۸ ± ۰/۱۸ a |
| ۱۵۰ درصد | ۸/۲۸ ± ۰/۲۰ b | ۸/۸۷ ± ۰/٤٦ a | ۹/۰۳ ± ۰/۲۲ a | ۹/۲۱ ± ۰/۱٦ a | ۷/۲٤ ± ۰/۱۲ | ٦/٤۰ ± ۰/۲۱ a |
| **ارزش معنی‌داری** | | | | | | |
| چالش | ۰/۰۰۸ | ۰/۰۰۱ | ۰/۰۰۹ | ۰/۰۰۲ | ۰/۰۱۸ | ۰/۰۰۲ |
| آرژینین | ۰/۰۰۲ | ۰/۰۰۲ | ۰/۰۰۷ | ۰/۰۰۰۱ | ۰/٤۰٦ | ۰/۰۰۱ |
| اثرات متقابل | ۰/۰۰۱ | ۰/۰۲۵ | ۰/۰۰۱ | ۰/۰۰۵ | ۰/۰٤۱ | ۰/۰۰۱ |
| خطای استاندارد | ۰/۰۸۵ | ۰/۰۹۷ | ۰/۰٦۹ | ۰/۰٤۷ | ۰/۰۲۰ | ۰/۰۳۸ |
| **اثرات تیمارها** | | | | | | |
| ۸۵-چالش | ۹/٦ ± ۰/۳۵ a | ۷/۸۲ ± ۰/۲۹ c | ۸/۲۸ ± ۰/۱۱ b | ۸/۵۱ ± ۰/۲۲ c | ۷/۳٦ ± ۰/۱۲ a | ۵/۳۰ ± ۰/۱۷ c |
| ۱۰۰-چالش | ۹/٤۳ ± ۰/٤۳ a | ۷/۷٦ ± ۰/۵۱ c | ۸/۲۳ ± ۰/۱۵ b | ۸/۷۱ ± ۰/۲۹ c | ۷/۳۸ ± ۰/۰۹ a | ۵/۱۵ ± ۰/۰۷ c |
| ۱۲۵-چالش | ۸/۳٤ ± ۰/۲۱ b | ۸/۳۳ ± ۰/۱۵ b | ۸/٤۱ ± ۰/۲۷ b | ۹/۰٦ ± ۰/۱۲ b | ۷/٤۱ ± ۰/۱٦ a | ٦/۳۳ ± ۰/۱٦ b |
| ۱۵۰-چالش | ۸/۳٤ ± ۰/۲۰ b | ۸/٤٦ ± ۰/۱۵ b | ۸/۸۵ ± ۰/۱۲ b | ۹/۱۰ ± ۰/۰۸ b | ۷/۲۰ ± ۰/۰۸ b | ٦/۲۵ ± ۰/۱۳ b |
| ۸۵-سالم | ۸/۳۰ ± ۰/۱۹ b | ۹/۰۹ ± ۰/۲۲ a | ۹/۳۱ ± ۰/۱۷ a | ۹/۲۰ ± ۰/۱٤ a | ۷/۲۸ ± ۰/۱٤ b | ٦/۵٦ ± ۰/۰۸ a |
| ۱۰۰-سالم | ۸/۲۹ ± ۰/۲٦ b | ۹/۲۷ ± ۰/۳۰ a | ۹/۲۸ ± ۰/۱٤ a | ۹/۳۱ ± ۰/۱٦ a | ۷/۲۳ ± ۰/۱۲ b | ٦/۵۱ ± ۰/۲۷ a |
| ۱۲۵-سالم | ۸/۲۹ ± ۰/۲٦ b | ۹/۲۹ ± ۰/۳۰ a | ۹/۰۵ ± ۰/٤٤ a | ۹/۳۳ ± ۰/۱۵ a | ۷/۲۰ ± ۰/۱۲ b | ٦/٤۳ ± ۰/۲۰ a |
| ۱۵۰-سالم | ۸/۲۲ ± ۰/۱۹ b | ۹/۲۷ ± ۰/۲٤ a | ۹/۲۱ ± ۰/۱۱ a | ۹/۳۳ ± ۰/۱۵ a | ۷/۲۸ ± ۰/۱٤ b | ٦/۵٦ ± ۰/۱۵ a |
| ارزش معنی‌داری | ۰/۰۰۱ | ۰/۰۰۱ | ۰/۰۰۱ | ۰/۰۰۱ | ۰/۰۲۷ | ۰/۰۰۰۱ |

a-c: حروف مختلف در هر ستون اختلاف آماری معنی‌دار را در سطح ۵ درصد نشان می‌دهد.

یافته‌های مربوط به تاثیر سطوح مختلف آرژینین و چالش کوکسیدیوز بر سطح سرمی فاکتورهای آنتی‌اکسیدانی، اکسیدانی و نیتریک اکسید جوجه‌های گوشتی در ۳۵ روزگی در نمودار ۱ ارائه شده است. چالش با کوکسیدیوز سطح نیتریک اکسید و مالون‌دی‌آلدئید را به‌طور معنی‌داری افزایش ($p<۰/۰۵$) و میزان گلوتاتیون پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی را به‌طور معنی‌داری کاهش داد

($p$<۰/۰۵). همچنین آرژینین در سطوح ۱۲۵ و ۱۵۰ درصد میزان گلوتاتیون‌پراکسیداز را به‌طور معنی‌داری افزایش داد ($p$<۰/۰۵) ولی تأثیر معنی‌داری بر سطح سرمی نیتریک اکسید، سوپراکسید دیسموتاز و ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی و میزان مالون‌دی‌آلدئید نداشت ($p$>۰/۰۵).




**نمودار ۱**- اثرات سطوح مختلف آرژینین و کوکسیدیوز بر سطوح سرمی فاکتورهای اکسیدانی و آنتی‌اکسیدانی و نیتریک اکسید (نانومول/هموگلوبین) جوجه‌های گوشتی مورد آزمایش در ۳۵ روزگی.

a-b: حروف مختلف اختلاف آماری معنی‌دار را در سطح ۵ درصد نشان می‌دهد.

## بحث و نتیجه‌گیری

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که جمعیت میکروبی و میزان pH رودهٔ کور در ۲۱ روز اول دوره پرورشی جوجه‌های گوشتی مورد آزمایش، تحت تأثیر سطوح مختلف آرژینین قرار نگرفت. در ۲۱ روزگی، میزان pH رودهٔ کور در جوجه‌های تغذیه‌شده با جیره‌های حاوی سطوح ۱۲۵ و ۱۵۰ درصد (به‌ترتیب ٦/٥٣ و ٦/٦٩) در مقایسه با جوجه‌های تغذیه‌شده با سطوح ۸۵ و ۱۰۰ درصد (به‌ترتیب ٦/٤٣ و ٦/٤٩) بالاتر بود، ولی این اختلاف نیز از نظر آماری معنی‌دار نبود ($p$=۰/۱۰۵)، بااین‌حال، اختلافات مذکور در ٤٢ روزگی معنی‌دار بود و نتایج حاکی از آن بود که کوکسیدیوز اثرات منفی بر جمعیت میکروبی رودهٔ کور دارد، ولی مکمل‌سازی جیره با آرژینین توانست به‌طور معنی‌داری این اثرات منفی را کاهش دهد (جدول ٤) همچنین نتایج نشان داد که چالش با آیمریا میزان pH رودهٔ کور را کاهش داد، ولی سطوح بیشتر آرژینین توانست میزان pH مذکور را افزایش دهد . همچنین یافته‌های تحقیق حاضر نشان داد که مکمل‌سازی آرژینین تأثیر معنی‌داری بر جمعیت میکروبی و میزان pH رودهٔ کور در جوجه‌های سالم نداشت، ولی اثرات معنی‌داری را بر جمعیت میکروبی و میزان pH رودهٔ کور جوجه‌های چالش یافته نشان داد (جدول ٤). این نتایج بر تأثیر آرژینین بر جمعیت میکروبی و میزان pH رودهٔ کور تحت شرایط چالشی حکایت می‌کند و نشان می‌دهد که آرژینین تحت شرایط چالشی مذکور اثر خود را نشان می‌دهد. از طرف دیگر مقایسهٔ جوجه‌های چالش‌یافته و چالش‌نیافته نشان می‌دهد که مواجهه فوق اثرات منفی بر جمعیت‌های میکروبی دارد (جدول ٤). در این ارتباط گزارش شده است که اصولاً کلیه عفونت‌های کلستریدیایی که منجر به تورم روده‌ها می‌شوند نیز زمینه را برای بروز کوکسیدیوز و تشدید ضایعات پاتولوژیک ناشی از آن فراهم می‌سازند (Graat *et al.*, 1996). همچنین بیماری‌های تضعیف‌کننده سیستم ایمنی مانند بیماری مارک و گامبورو، مقاومت طیور را در برابر کوکسیدیوز به شدت کاهش می‌دهند و عفونت‌های رئوویروسی در گله‌های طیور، عفونت‌های ناشی از *آیمریا آسروولینا* و *آیمریا میتیس* را تشدید می‌کند (Vadlejch *et al.*, 2013). در طیور عدم حضور فلور میکروبی طبیعی در روده کور به‌عنوان مهم‌ترین فاکتور در مستعدبودن جوجه‌ها به عفونت‌های باکتریایی در نظر گرفته می‌شود (Graat *et al.*, 1996). همخوان با یافته‌های مطالعهٔ حاضر، در مطالعه‌ای به بررسی اثرات کوکسیدیا روی جمعیت باکتریایی رودهٔ کور پرداخته و نشان داده‌اند که کوکسیدیا به‌شکل معنی‌داری جمعیت *اشریشیا کولای* را افزایش و جمعیت توتال‌باکتری‌ها و بیفیدوباکتری‌ها را کاهش می‌دهد (Langrova *et al.*, 2019). عقیده براین است که حفظ سلامت روده، امری پیچیده بوده و به عوامل متعددی نظیر تعادل در جیره، میکروفلور روده و نیز موکوس اپی‌تلیوم بخش‌های هضمی آن بستگی دارد. همچنین تعادل روده توسط عواملی مانند حضور انگل‌ها و باکتری‌های روده‌ای و عوامل بیماری‌زای دیگر تحت تأثیر قرار می‌گیرد (Langrova *et al.*, 2019). فعالیت‌های متابولیکی و تکثیری عوامل بیماری‌زا هم ممکن‌است عمل هضم را تحت تأثیر قرار دهد و باعث اسهال و حتی مرگ شود (Montagne *et al.*, 2003). میکروفلورای روده‌ای برای سلامت و پیشگیری از بیماری‌های این بخش از دستگاه گوارش ضروری است

(McCracken and Lorenz 2019)، چرا که مانع از کلونیزاسیون عوامل بیماری‌زا می‌شود. در این خصوص توانایی لاکتوباسیل‌ها برای ممانعت از کلونیزاسیون عوامل بیماری‌زا همانند *اشریشیا کولای* گزارش شده است (Craven and Williams, 1998; Perez *et al.*, 2001; Tierney *et al.*, 2004). همخوان با یافته‌های مطالعهٔ بالا، نتایج مطالعهٔ حاضر نیز نشان داد که جمعیت لاکتوباسیل‌ها در گروه‌های دریافت‌کننده آرژینین ۱۲۵ و ۱۵۰ درصد به‌طور معنی‌داری بیشتر بود، ولی جمعیت *اشریشیا کولای* پایین‌تر بود (جدول ۳). این نتایج تأیید می‌کند که آرژینین جمعیت *اشریشیا کولای* را در روده کور جوجه‌های گوشتی از طریق افزایش دادن جمعیت باکتری‌های اسید لاکتیک (لاکتوباسیل‌ها) کاهش می‌دهد. البته سازوکار عمل آرژینین در افزایش جمعیت باکتری‌های سودمند مذکور کاملاً شناخته شده نیست. با این‌حال، به‌نظر می‌رسد که آرژینین این عمل را از طریق افزایش pH روده انجام می‌دهد (جدول ۳)، چون در گروه‌های سطح بالای آرژینین، سطح pH بالاتر و جمعیت باکتری‌های سودمند بالاتر می‌باشد. (He *et al.*, 2016). لیوپیس و همکاران در سال ۲۰۰۵ بیان نموده‌اند که شرط اساسی برای سلامت طیور، pH ایده‌آل در روده است که سبب تعادل جمعیت میکروفلورای آن می‌شود. تعادل جمعیت میکروبی زمانی بهم می‌خورد که pH روده بر اثر عوامل مختلف تغییر یابد که نتیجهٔ آن ایجاد اختلالات گوارشی و به خطر افتادن سلامت میزبان می‌باشد (Liopis *et al.*, 2005). همچنین در تحقیق دیگری که مخلوطی از سویه‌های باکتریایی به‌عنوان پروبیوتیک به جیرهٔ جوجه‌های گوشتی افزوده شد، نشان داده شد که به شکل معنی‌داری جمعیت لاکتوباسیلوس‌ها و بیفیدوباکتری‌ها افزایش و جمعیت *اشریشیا کولای* کاهش می‌یابد و در توجیه یافته‌های مذکور اعلام شد که افزایش pH روده و تولید اسیدهای چرب غیرفرار و فرار باعث می‌شود که جمعیت باکتری‌های مضر به شکل معنی‌داری کاهش یافته و نیز باکتری‌های سودمند هم با آن‌ها رقابت کنند (Mookiah *et al.*, 2013). به نظر می‌رسد که در مطالعه حاضر نیز آرژینین در سطوح بالاتر (۱۲۵و ۱۵۰ درصد)، با افزایش pH روده، بالطبع جمعیت باکتری‌های سودمند را افزایش داده و از این طریق زمینه را برای رقابت با باکتری‌های بیماری‌زا فراهم آورد.

از طرف دیگر یافته‌های تحقیق حاضر نشان داد که چالش با کوکسیدیوز، سطح نیتریک‌اکسید و مالون‌دی‌آلدئید سرم جوجه‌های مورد آزمایش را افزایش و سطح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را کاهش می‌دهد (نمودار ۱). همچنین نتایج پژوهش حاضر نشان داد که آرژینین در مقادیر ۱۲۵ و ۱۵۰ درصد سطح گلوتاتیون‌پراکسیداز را افزایش می‌دهد ولی تأثیر معنی‌داری بر سطح نیتریک اکسید سرم ندارد. لازم به ذکر است که نیتریک اکسید یکی از واسطه‌های مهم برای ایمنی اکتسابی و ذاتی است و میزان آن در پاسخ به عفونت افزایش می‌یابد. در شرایط طبیعی نیمه‌عمر رادیکال‌های آزاد کوتاه و در حدود ٤ تا ۱۰ ثانیه است و به این ترتیب رادیکال آزاد اکسیژن یا $H_2O_2$، هیچ‌کدام به تنهایی فعالیت بسیار بالایی ندارند. اما تغییرات فیزیولوژیک و بیولوژیک ایجادشده به‌دنبال قرار گرفتن در برخی شرایط تنش‌زا مانند تنش گرمایی، چالش‌های ایمنی، تمرینات شدید، دیابت و عفونت‌های مزمن، موجب افزایش تولید رادیکال‌های آزاد و یا کاهش

فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدانی می‌گردد (Bun *et al.*, 2011). کوکسیدیوز غلظت سرمی آرژنین را کاهش می‌دهد که این کاهش به‌علت افزایش نیاز برای تولید نیتریک اکسید می‌باشد (Allen and Fetterer, 2000). بر این اساس، آرژنین به سلامتی طیور از طریق افزایش دادن نیتریک اکسید کمک می‌کند. در واقع آرژنین سوبسترایی برای نیتریک اکسید سنتتاز القایی می‌باشد و می‌تواند سبب افزایش تولید نیتریک اکسید گردد، که یک رادیکال آزاد است و در سوخت‌وساز و مصرف گلوکز در ماهیچهٔ اسکلتی مداخله می‌کند (Jiang *et al.*, 2013). همچنین اطلاعات روز افزون نشان می‌دهد که آرژنین ممکن است قادر به پاک‌سازی رادیکال‌های آزاد همانند آنیون‌های سوپراکسید باشد (Wu and Meininger, 2000)، ولی نتایج مطالعه حاضر نشان نمی‌دهد که آرژنین تأثیر قابل توجهی بر خصوصیات آنتی‌اکسیدانی داشته باشد. البته به نظر می‌رسد که افزایش نیتریک اکسید در گروه‌های چالش‌یافته، به‌علت افزایش پاسخ به عفونت می‌باشد و این‌که سطوح بالاتر آرژنین نتوانسته تأثیر داشته باشد، ممکن است به این علت باشد که ذخایر آرژنینی در تمام گروه‌ها تا ۳۵ روزگی کافی بوده باشد و با افزایش روزهای چالش و میزان آن در روزهای آتی (۴۲ روزگی) بتواند تأثیر خود را بر میزان نیتریک اکسید بگذارد. گزارش شده است که افزایش تولید واسطه‌های اکسیژنی فعال موجب برهم خوردن تعادل بین اکسیدان‌ها و سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی و بروز شرایطی موسوم به تنش اکسیداتیو می‌شود. لازم به ذکر است که آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز و کاتالاز مهم‌ترین خط دفاعی بدن در برابر عوامل پراکسیدان را تشکیل می‌دهند (Milinkovik-Thur *et al.*, 2007). شرایط عفونی و بیماری‌ها سطح آنتی‌اکسیدانی را کاهش می‌دهند. با در نظر گرفتن عوامل آنتی‌اکسیدانی و اکسیدانی، مطالعات قبلی هم همانند مطالعهٔ حاضر، بر بهبود وضعیت آنتی‌اکسیدانی هنگام مکمل‌سازی آرژنین تأکید کرده‌اند (Atakisi *et al.*, 2009; Bun *et al.*, 2011). در مطالعه‌ای بر روی مرغان مادر تخم‌گذار در سال ۲۰۱۵، دوان و همکاران هم بیان کرده‌اند که مکمل‌سازی آرژنین به جیره، بافت‌ها را از آسیب اکسیداتیو محافظت کرده و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی را افزایش می‌دهد (Duan *et al.*, 2015). همچنین در مطالعه‌ای جیانگ و همکاران در سال ۲۰۱۳ گزارش نمودند که افزودن آرژنین به جیره به شکل معنی‌داری فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز را افزایش داد (Jiang *et al.*, 2013). در مطالعه حاضر آرژنین تنها بر سطح سرمی گلوتاتیون پراکسیداز تأثیر داشته است و آن را افزایش داد.

در تحقیق دیگری هم گزارش نموده‌اند که افزودن آرژنین به جیره به‌طور معنی‌داری میزان مالون‌دی‌آلدئید را در سرم و ماهیچهٔ اسکلتی خوک‌ها کاهش داده است (Ma *et al.*, 2015). مالون‌دی‌آلدئید در اثر اکسیداسیون اسیدهای چرب غیراشباع تولید می‌شود (Arak *et al.*, 2013) و افزایش بیش از حد آن موجب بو و طعم نامطلوب گوشت قبل از پختن، از دست دادن طعم، مزه، رنگ و استحکام گوشت و محصولات تولیدی آن و در نهایت کاهش ارزش غذایی آن می‌شود. قرار گرفتن در شرایط تنشی یکی از مهم‌ترین عواملی است که موجب افزایش غلظت ترکیب مذکور در ماهیچه و دیگر بافت‌های پرندگان نیز می‌شود (Dröge, 2002).

به‌طور کلی نتایج مطالعه حاضر نشان داد که آرژینین نمی‌تواند تأثیر مثبتی بر جمعیت باکتری‌های روده‌ای در شرایط بدون چالش داشته باشد. با این‌حال، آرژینین در سطوح بالاتر از مقدار توصیه شده، توانست جمعیت باکتری بیماریزای *اشریشیا کولای* را کاهش داده و موجب افزایش جمعیت باکتری‌های مفید روده مانند لاکتوباسیل‌ها و بیفیدوباکتری‌ها گردد، ولی تأثیر قابل توجهی بر خصوصیات آنتی‌اکسیدانی به غیر از افزایش سطح گلوتاتیون پراکسیداز نداشت. لذا مکمل‌سازی آرژینین در سطوح ۱۲۵ و ۱۵۰ درصد، برای بهبود وضعیت جمعیت میکروبی مفید روده در شرایط چالش با کوکسیدیوز، توصیه می‌شود.

## سپاسگزاری

مقاله حاضر مستخرج از رساله دکتری خانم ایزدی یزدان‌آبادی بوده و توسط دانشگاه تبریز حمایت مالی شده است که بدین وسیله از مسئولین محترم این دانشگاه قدردانی می‌گردد.

## تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچ‌گونه تعارض منافعی ندارند.

## منابع


- Allen, P. (1997). Nitric oxide production during *Eimeria tenella* infections in chickens. Poultry Science, 76(6): 810-813.
- Allen, P.C. and Fetterer, R.H. (2000). Effect of *Eimeria acervulina* infections on plasma L-arginine. Poultry Science, 79(10): 1414–1417.
- Arak, H., Karimi Torshizi, M.A. and Rahimi, Sh. (2013). Study on the effect of Savory (*Satureja khuzestanica*) essential oil and Polysorb toxin-binder against experimental aflatoxicosis in Japanese quail. Veterinary Clinical Pathology, 7(27): 249-260. [In Persian]
- Atakisi, O., Atakisi, E. and Kart, A. (2009). Effects of dietary zinc and L-arginine supplementation on total antioxidants capacity, lipid peroxidation, nitric oxide, egg weight and blood biochemical values in Japanese quails. Biological Trace Element Research, 132(1-3): 136-143.
- Azad, M.A.K., Kikusato, T., Maekawa, H., Shirakawa, M. and Toyomizu, M. (2010). Metabolic characteristics and oxidative damage to skeletal muscle in broiler chickens exposed to chronic heat stress. Comparative Biochemistry and Physiology, 155(3): 401-406.
- Boulton, K., Nolan, M. J., Harman, K., Psifidi, A., Wu, Z. and Bishop, S., (2017). Resistance and Tolerance are separable traits in the innate immune response of chickens to *Eimeria tenella* induced coccidiosis. Veterinary Clinical Pathology, 44 (2): 28-35.
- Bun, S.D., Guo, Y.M., Guo, F.C., Ji, F.J. and Cao, H. (2011). Influence of organic zinc supplementation on the antioxidant status and immune responses of broilers challenged with *Eimeria tenella.* Poultry Science, 90(6): 1220-1226.
- Chandra, J., Samali, A. and Orrenius, S. (2000). Triggering and modulation of apoptosis by oxidative stress. Free Radical Biology and Medicine, 29(3-4): 323-333.
- Craven, S.E. and Williams, D.D. (1998). In vitro attachment of *Salmonella typhimurium* to chicken cecal mucus: effect of cations and pretreatment with Lactobacillus spp. isolated from the intestinal tracts of chickens. Journal of Food Protection, 61(3): 265-271.
- Dröge, W. (2002). Free radicals in the physiological control of cell function. Physiology Review, 82(1): 47-95.
- Duan, X., Li, F., Mou, S., Feng, J., Liu, P. and Xu, L. (2015). Effects of dietary L-arginine on laying performance and anti-oxidant capacity of broiler breeder hens, eggs, and offspring during the late laying period. Poultry Science, 94(12): 2938-2943.
- Giannenas, I., Papadopoulos, E., Tsalie, E., Triantafillou, E., Henikl, S., Teichmann, K. and Tontis, D. (2012). Assessment of dietary supplementation with probiotics on performance, intestinal morphology and microflora of chickens infected with *Eimeria tenella*. Veterinary Parasitology, 188(1-2): 31-40.
- Graat, E.A., Ploeger, H.W., Henken, A.M., De Vries Reilingh, G., Noordhuzien, J.P. and Van Beek, P.N. (1996). Effect of initial litter contamination level with *Eimeria acervulina* on population dynamics and production characteristics in broilers. Veterinary Parasitolgy, 65(3-4): 223-232.
- He, J., Hwang, G., Liu, Y., Gao, L., Kilpatrick-Liverman, L., Santarpia, P., *et al*. (2016). L-Arginine modifies the exopolysaccharide matrix and thwarts *Streptococcus mutans* outgrowth within mixed-species oral biofilms. Journal of Bacteriology, 198(19): 2651-2661.
- Langrová, I., Chodová, D., Tůmová, T., Horáková, B., Krejčířová, R., Šašková, M., *et al*. (2019). Assessment of low doses of *Eimeria tenella* sporulated oocysts on the biochemical parameters and intestinal microflora of chickens. Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences, 43(1): 76-81.
- Liopis, M., Antolin, M., Guarner, F., Salas, A. and Malagelada, J.R. (2005). Mucosal colonisation with *Lactobacillus casei* mitigates barrier injury induced by exposure to trinitronbenzene sulphonic acid. Gut, 54(7): 955-959.

- Ma, X.Y.Y.C., Lin, Z.Y., Jiang, C.T., Zheng, G.L., Zhou, D.Q., Yu, T., *et al*. (2010). Dietary arginine supplementation enhances anti-oxidative capacity and improves meat quality of finishing pigs. Amino Acids, 38(1): 95-102.
- Mahdavi, S. and Nobakht, A. (2018). Evaluation of the effect of Thyme (*Thymus vulgaris L*.) and Ziziphora (*Ziziphora tenuior L*.) essential oils on intestinal microflora of broilers. Veterinary Clinical Pathology, 11(44): 305-312. [In Persian]
- Milinkovik-Thur, S., Stogective, Z., Prisljin, J., Zdelar-Tuk, M., Poljicak-Milas, N., Ljubic, B.B., *et al*. (2007). Effect of refeeding on the antioxidant system in cockerels and pullets. Acta Veterinaria Hungarica, 55(2): 181-188.
- Montagne, L., Pluske, J.R. and Hampson, D.J. (2003). A review of interactions between dietary fiber and the intestinal mucosa, and their consequences on digestive health in young non-ruminant animals. Animal Feed Science and Technology, 108(1-4): 95-117.
- Mookiah, S., Sieo, C.C., Ramasamy, K., Abdullah, N. and 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 Science Food Agriculture, 94(2): 341-348.
- Olfati, A., Mojtahedin, A., Sadeghi, T. Akbari, M. and Martínez-Pastor, F. (2018). Comparison of growth performance and immune responses of broiler chicks reared under heat stress, cold stress and thermoneutral conditions. Spanish Journal of Agriculture Research, 16(2): 1-7.
- Perez, P.F., Minnaard, J., Rouvet, M., Knabenhans, C., Brassart, D., De Antoni, G.L., *et al*. (2001). Inhibition of *Giardia intestinalis* by extracellular factors from lactobacilli: an in vitro study. Applied Environment Microbiology, 67(11): 5037-5042.
- Qin, Z.R., Fukata, T., Baba, E. and Arakawa, A. (1995). Effect of *Eimeria tenella* infection on *Salmonella enteritidis* infection in chickens. Poultry Science, 74(1): 1-7.
- Rasoulifard, M.H. and Zargari, F. (2015). The effects of aqueous extract of white tea on serum antioxidant enzymes in rats exposed to arsenic. Veterinary Clinical Pathology, 9(34): 153-178. [In Persian]
- Ren, W., Chen, S., Yin, J., Duan, J., Li, T., Liu, G., *et al*. (2014). Dietary arginine supplementation of mice alters the microbial population and activates intestinal innate immunity. The Journal of Nutrition, 144(6): 988-995.
- Ren, W., Zou, L., Li, N., Wang, Y., Liu, G., Peng, Y., *et al*. (2013). Dietary arginine supplementation enhances immune responses to inactivated Pasteurella multocida vaccination in mice. British Journal of Nutrition, 109(5): 867-72.
- Sergeant, M.J., Constantinidou, C., Cogan, T.A., Bedford, M.R., Penn, C.W. and Pallen, M.J. (2014). Extensive Microbial and Functional Diversity within the Chicken Cecal Microbiome, Plos One, 9(3): 18-21.
- Tierney, J., Gowing, H., Van Sinderen, D., Flynn, S., Stanley, L., McHardy, N., *et al*. (2004). In vitro inhibition of *Eimeria tenella* invasion by indigenous chicken *Lactobacillus* species. Veterinary Parasitology, 122(3): 171-182.
- Williams, R.B. (1999). A compartmentalised model for the estimation of the cost of coccidiosis to the world's chicken production industry. International Journal of Parasitology, 29(8): 1209-1229.
- Wu, G. and Meininger, C.J. (2000). Arginine nutrition and cardiovascular function. Journal of Nutrition, 130(11): 2626-2629.
- Wu, Z.G., Hu, T.J., Rothwell, L., Vervelde, L., Kaiser, P., Boulton, K., *et al.* (2016). Analysis of the function of IL-10 in chickens using specific neutralising antibodies and a sensitive capture ELISA. Developmental and Comparative Immunology, 63(1): 206-212.