



MAGYAR AGRÁR- ÉS ÉLETTUDOMÁNYI EGYETEM  
GEORGIKON CAMPUS

**PRE- ÉS PROBIOTIKUS TAKARMÁNYKIEGÉSZÍTŐK  
HATÁSÁNAK KOMPLEX ÉRTÉKELÉSE BROJLERCSIRKE  
KÍSÉRLETEKBEN**

DOI: 10.54598/002960

**Such Nikoletta Amanda**

Keszthely

2022

## **A doktori iskola**

**megnevezése:** Festetics Doktori Iskola

**tudományága:** Állattenyésztési tudományok

**vezetője:** Dr. Anda Angéla DSc

egyetemi tanár, az MTA doktora

MATE, Georgikon Campus

Környezettudományi Intézet

**Témavezető:** Dr. Dublec Károly CSc

egyetemi tanár

MATE, Georgikon Campus

Élettani és Takarmányozástani Intézet

Takarmányozási és Takarmányozás-élettani Tanszék

.....

Dr. Anda Angéla, DSc

.....

Dr. Dublec Károly, CSc

## Tartalomjegyzék

<b>1. Bevezetés .....</b>	<b>4</b>
<b>2. Célkiűzések .....</b>	<b>6</b>
<b>3. Irodalmi áttekintés .....</b>	<b>7</b>
<b>3.1. Az antibiotikum felhasználás világszintű problémái .....</b>	<b>7</b>
<b>3.2. A baromfi bélmikrobiótájának sajátosságai.....</b>	<b>8</b>
3.2.1. A vékonybél mikrobióta jellemzése .....	9
3.2.2. A bél nyálkahártya mikrokönyezete, az ileum nyálkahártya mikrobiótájának jellemzése .....	10
3.2.3. Vakbél mikrobióta jellemzése .....	10
<b>3.3. A baromfi bél mikrobióta és gazdaszervezet közötti kapcsolat új kutatási területei.....</b>	<b>11</b>
3.3.1. A bél mikrobióta hatása a termelési paraméterekre .....	13
3.3.2. A bél mikrobióta hatása a bél morfológiai paramétereire .....	13
3.3.3. A bél mikrobióta hatása az immunológiai folyamatokra .....	14
3.3.4. A bél mikrobióta hatása az ürülék ammónia emissziójára.....	15
<b>3.4. Az antibiotikumok potenciális alternatívái.....</b>	<b>16</b>
3.4.1. Probiotikumok .....	17
3.4.2. Prebiotikumok .....	20
3.4.3. Szimbiotikumok .....	22
3.4.4. Vakbélből izolált kompetitív kizáráson alapuló készítmények.....	22
3.4.6. A bélflóra befolyásolásának hatása a mikrobióta fejlődésére .....	23
<b>4. Anyagok és módszerek.....</b>	<b>25</b>
<b>4.1. Első kísérlet.....</b>	<b>25</b>
4.1.1. Állatok és kezelések .....	25
4.1.2. Takarmányanalitikai módszerek .....	27
4.1.3. Termelési paraméterek .....	28
4.1.4. Béltartalomból végzett vizsgálatok.....	28
4.1.5. Hisztomorfológiai vizsgálatok.....	30
4.1.6. Ürülékminta vizsgálatok.....	30
4.1.7. Statisztikai és bioinformatikai analízis .....	31
<b>4.2. Második kísérlet .....</b>	<b>32</b>
4.2.1. Állatok és kezelések .....	32
4.2.2. Takarmányok analitikai elemzése.....	34
4.2.3. Termelési paraméterek .....	34
4.2.4. Béltartalom gyűjtés, valamint Gumboro betegség elleni vér-ellenanyag vizsgálatok .....	34
4.2.5. Béltartalomból végzett vizsgálatok.....	35
4.2.6. Ürülékminta vizsgálatok.....	35
4.2.7. Statisztikai és bioinformatikai analízis .....	36
<b>5. Eredmények és azok megbeszélése .....</b>	<b>37</b>

<b>5.1. Első kísérlet.....</b>	<b>37</b>
5.1.1. Termelési paraméterek .....	37
5.1.2. Hisztomorfológiai eredmények .....	38
5.1.3. Enzimaktivitás, rövid szénláncú zsírsavak (SCFA) és a vakbél pH mérési eredmények .....	39
5.1.3. Bél mikrobióta vizsgálati eredmények .....	42
5.1.4. Ürülékvizsgálat eredményei .....	50
<b>5.2. Második kísérlet .....</b>	<b>55</b>
5.2.1. Termelési paraméterek .....	55
5.2.2. A Gumboro betegség elleni ellenanyag szintek alakulása .....	57
5.2.3. A bél mikrobióta szekvenálási vizsgálatának eredményei.....	61
5.2.4. Ürülékvizsgálat eredményei .....	83
<b>6. Következtetések és javaslatok .....</b>	<b>87</b>
<b>7. Új tudományos eredmények.....</b>	<b>89</b>
<b>8. Összefoglalás .....</b>	<b>90</b>
<b>9. Summary .....</b>	<b>92</b>
<b>10. Mellékletek.....</b>	<b>94</b>
<b>M1. Irodalomjegyzék.....</b>	<b>94</b>
<b>M2. Táblázatok, ábrák .....</b>	<b>115</b>
<b>11. Köszönetnyilvánítás .....</b>	<b>127</b>

# 1. Bevezetés

A korábbi évtizedekben a hazai és nemzetközi sertéshús fogyasztás és előállítás megelőzte a baromfihúst, azonban az utóbbi 20 évben a baromfiipar jelentős mértékű mennyiségi és minőségi fejlődést mutatott. A legfrissebb kutatások és előrejelzések szerint a baromfiágazat átvette a vezetést a termelés, a fogyasztás és a jövedelmezőség tekintetében is (Gergely et al., 2019). A növekvő kereslet kielégítésére a világ baromfihústermelése 9-ről 132 millió tonnára növekedett 1961 és 2019 között. Ekkora a világ hústermelésének már mintegy 39 %-t tette ki (Faostat, 2021). A baromfiágazat a magyar állattenyésztés bruttó termelési értékének közel 29 százalékát tette ki 2020-ban (KSH, 2021). Az ágazat versenyképességének javítása érdekében kulcsfontosságú a klímaadaptáció, a környezetvédelmi, állategészségügyi és állatjóléti követelményeknek való megfelelés, valamint a genetikai potenciál ésszerű kihasználása. A nagyüzemi telepek, a nagy növekedési erély, az intenzív takarmányozás azonban az általános megbetegedések nagyobb számát eredményezte (Körösi, 2019). Az antibiotikumok növekedésserkentőként és hozamfokozóként történő alkalmazása sokáig gyakorlat volt az állati termék előállítás során. Túlzott használatuk azonban antibiotikum-rezisztens baktériumok kialakulásához vezetett (Jjemba, 2002). A hozamfokozóként használt antibiotikumok alkalmazását 2006-ban az Európai Unió betiltotta, ennek következményeként ma számos alternatív készítmény alkalmazhatóságát vizsgálják (Terényi, 2016). Ezek közé tartoznak a pre- és probiotikumok is. Baromfi esetében a bélflóra támogatása különös figyelmet érdemel, hiszen a keltetőben a tojásból kikelő csibéknek a tojóval nincs kapcsolatuk, aki a megfelelő bélflórát át tudná adni számukra. Így a csibék bélrendszerének bakteriális kolonizációja több környezeti tényező függvénye (Jha et al., 2019). A keltetett madaraknál ezért különösen fontos, hogy a fiatal állatok életük első napjaiban milyen mikroflórával kerülnek kapcsolatba.

A probiotikum görög eredetű szó, jelentése az életért, az élet számára. Ezeket a készítményeket az Egészségügyi Világszervezet olyan "mikroorganizmusokként" definiálja, amelyek – élő állapotban és megfelelő mennyiségben adva - javítják a gazdaszervezet egészségét." Pozitív élettani hatásukat a bélben azáltal érhetik el, hogy képesek elpusztítani a kórokozó mikroorganizmusokat antimikrobiális vegyületek, például bakteriocinek és szerves savak segítségével, javítják a gasztrointesztinális mikrobiális környezetet a bélnyálkahártyához való tapadással, ezzel megakadályozva a patogének kötődését és kolonizációját. Serkentik a bél indukálta immunválasz reakciókat, javítják az emésztést és a táplálóanyagok felszívódását. A bélflóra támogatása ezentúl lehetséges prebiotikus hatású takarmánykomponenseken keresztül is.

Ezek döntően olyan szénhidrátok, amelyeket az állatok nem képesek lebontani, de a kedvezőnek ítélt baktériumok számára tápanyagforrást jelentenek, kizorítva ezzel a patogéneket. (Andersson et al., 2001). A prebiotikumok így elősegítik a kedvezőnek ítélt baktériumok szaporodását.

A bél mikrobióta befolyásolásával javíthatjuk az állat egészségét és termelését, de a szervezetből az ürülékkel távozó mikrobiótát is befolyásoljuk. Az állati termelés környezetre gyakorolt hatásai közül az egyik legfontosabb terület az ammónia emisszió. Aránylag kevés információ áll rendelkezésre arra vonatkozóan, hogy a pre- és probiotikumok használata befolyásolja-e a bélsár mikroflóra ureáz aktivitását ezen keresztül az alomból elillanó N-tartalmú anyagok mennyiségét.

## 2. Célkiűzések

A PhD fokozat megszerzése érdekében elvégzett kísérleteimben arra kerestem a választ, hogy egyes pre- és probiotikumok önmagukban, kombinálva, valamint különböző módon etetve hogyan befolyásolják a brojlercsirkék termelési paramétereit, a bél mikrobióta összetételét, a csirkék immunválasz reakcióit és az ürülékből távozó ammónia mennyiségét.

1. Első kísérletünk során célunk annak megállapítása volt, hogy két különböző anyagcsereterméket előállító probiotikus tulajdonságú baktériumfaj (*Lactobacillus farciminis*, *Clostridium butyricum*) önmagában, vagy a működését támogató prebiotikus hatású takarmánykomponenssel (búzakorpa) képest e pozitív élettani változást előidézni a brojlercsirkék esetén állomány szinten. Ennek során a termelési paraméterekre, a vékonybél enzimaktivitásra és a vakbél illózsírsav koncentrációra gyakorolt hatás mellett, a csípőbél és vakbél morfológiai paramétereit, valamint a vakbél mikrobióta összetételét vizsgáltuk. A kísérlet során megvizsgáltuk a baromfi ürülék szárazanyag tartalmát, a különböző nitrogénformák arányát, valamint a kezelések ammónia emisszióra gyakorolt hatását is.

2. Ezt követően arra voltunk kíváncsiak, hogy befolyásolható-e a csirkék béltraktusában az életkor változásával összefüggésben a baktériumflóra összetétele. Ezúttal tyúkok vakbeléből izolált többszáz szelektált baktériumot tartalmazó készítménnyel végeztünk egyszeri kezelést napos állatokon. Emellett egy *Bacillus subtilis*, *Saccharomices cerevisae* és inulin tartalmú szimbiotikum kezelést állítottunk be. A hagyományos kukorica alapú tápsor mellett búza alapú és búzakorpát is tartalmazó tápot is etettünk az oldható arabinoxilán hatásának vizsgálata érdekében. A kísérlet során a termelési paraméterek vizsgálata mellett célunk volt a vakbél béltartalom, a csípőbél béltartalom és bélhám mikrobióta összetétel változásának tanulmányozása a csirkék életkorával. Célunk volt továbbá a kezelések hatásának vizsgálatát kiterjeszteni az immunfolyamatokra is, mely során a Gumboro betegség ellenanyag szintek változását mértük a vérben. A második kísérlet során szintén végeztünk baromfi ürülék vizsgálatot.

### 3. Irodalmi áttekintés

#### 3.1. Az antibiotikum felhasználás világszintű problémái

Korábban széles körben elterjedt volt az antibiotikumok hozamfokozóként történő használata az állattenyésztésben, mivel csökkentik a gazdasági állatok emésztőtraktusában a mikrobák szaporodását, valamint javítják a táplálóanyagok emészthetőségét (Dublecz, 2011). Ez azonban nemcsak a bél mikroökoszisztéma változását eredményezi, hanem a patogén baktériumok antimikrobiális rezisztenciájának kialakulását is (Aarestrup, 1999). Napjainkban kiemelkedő figyelmet kapnak azok a kórházi fertőzések, amelyeket egy vagy több antibiotikumra nézve rezisztens kórokozók okoznak. Egyre több gondot jelentenek a multi- és pánrezisztens enterococcusok, az *Escherichia coli*, a *Klebsiella pneumoniae*, a *Pseudomonas aeruginosa*, és az *Acinetobacter* fajok. A rezisztencia kialakulásában a felelőtlen antibiotikum felhasználás jelenti a legfontosabb tényezőt (Molnár, 2009). A mezőgazdaságban alkalmazott antibiotikumok növelhetik a humán gyógyászatban a rezisztens betegségek klinikai kockázatát is (Cheng et al., 2014). Az Európai Unióban 2000-től kezdődően csökkentették a hozamfokozó antibiotikumok felhasználási lehetőségét az állati termelésben (Dublecz, 2011). Az 1831/2003/EC rendeletben pedig 2006. január 1.-től meg is tiltották az antibiotikumok hozamfokozóként való alkalmazását (Terényi, 2016).

Az antibiotikumok terápiás használata sok esetben szükségszerű, ez azonban a bél, és a bélben élő mikroflóra állapotára jelentős hatást gyakorol. Egyes kutatások szerint, csökkentik a tejsav termelő-fajok számát és elősegítik a *Clostridium* fajok elszaporodását, miközben csökkentik a bélmikrobióta diverzitását (Lu et al., 2008). A mikrobiális közösség egyensúlya általában gyorsan visszaáll az antibiotikum-kezelés után, egyes taxonok azonban még 6 hónap alatt sem regenerálódnak (Dethlefsen et al., 2008). A bélhomeosztázis fenntartása azonban nagy jelentőséggel bír, hiszen a bélrendszer tulajdonképpen egy összetett ökoszisztéma, amelyben a táplálóanyagok, a mikrobióta és a gazdaszervezet sejtjei folyamatos kölcsönhatásban vannak egymással (Azad et al., 2018). Általános esetben a hasznos és a patogén baktériumok között egyensúly van az emésztőtraktusban, és sok szimbiotikus és versengő kölcsönhatás zajlik közöttük (Williams et al., 2001). Ha egy állat mikroflóra ökoszisztémája instabil, a táplálóanyagok anyagcserefolyamatai veszélybe kerülhetnek, és ezáltal nőhet az ásványi anyagok forgalma is. Ennek következtében a destabilizált enterális ökoszisztémához társuló hasmenés és a takarmányok táplálóanyagainak elégtelen emésztése növeli a lebontási folyamatok során keletkező káros gázok



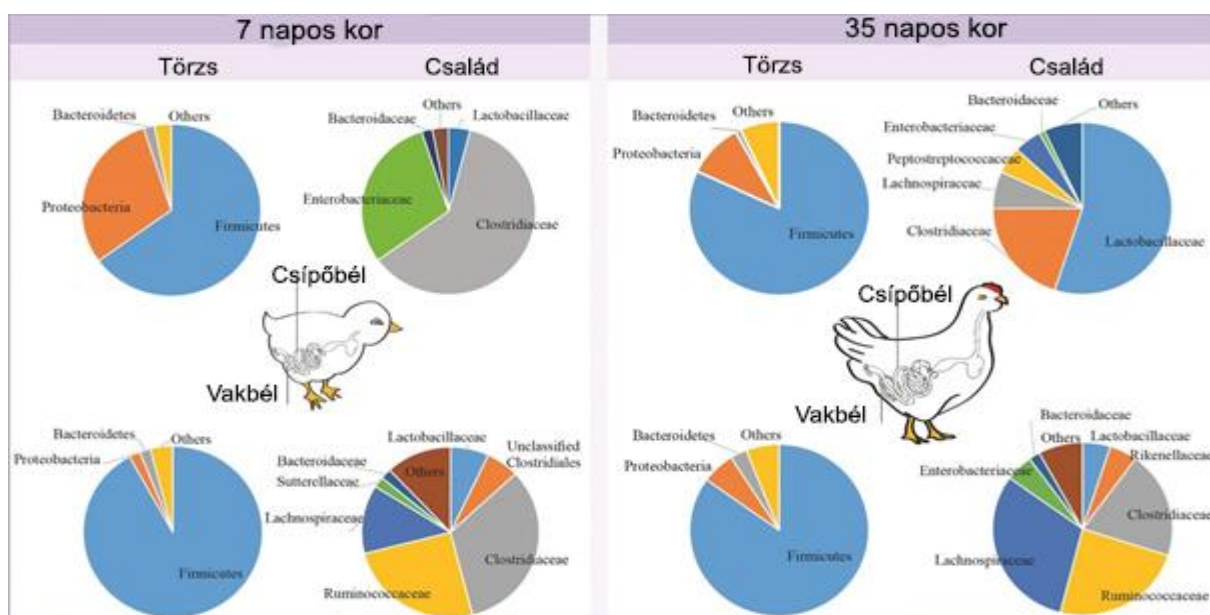
mennyiségét, valamint a trágya és az alom minőségével kapcsolatos problémákat (Ferket et al., 2002a).

### 3.2. A baromfi bélmikrobiótájának sajátosságai

A bélrendszer egészsége létfontosságú a haszonállatok teljesítménye szempontjából, a bélegészség az állattenyésztésben az állategészségügy szinonimájaként is használatos. A „bél mikrobióta” kifejezést először Joshua Lederberg használta 2001-ben, aki a kommenzalista, szimbiotikus és patogén mikroorganizmusok ökológiai közösségének nevezte azt (Azad et al., 2018). A mikrobióta kifejezés egy adott környezetben élő mikroorganizmusokra vonatkozik, és magában foglalja a vírusokat, baktériumokat, gombákat és protozoonokat. Ilyen környezet a bél is. Néhány kivételtől eltekintve azonban, amikor a bél mikrobiotájáról beszélünk, akkor tulajdonképpen csak a baktériumpopulációra gondolunk. Az olyan kifejezések, mint a kommenzalista baktériumok és a bélmikrobióta az erre vonatkozó helyes kifejezések. A bél egészsége számos fiziológiai, mikrobiológiai és fizikai funkciót foglal magában, amelyek együttműködnek a bél homeosztázisának fenntartása érdekében. Az „egészséges” bél nemcsak a lokális (bél)fiziológiai homeosztázist szabályozza, hanem szisztémásan más szervrendszerekre is kihatással van, ami támogatja a gazdaszervezet azon képességét, hogy ellenálljon a környezeti és fertőző stresszorokkal szemben (Roto et al., 2015; Kogut, 2019). A gazdaszervezet szimbiotikus baktériumai a bélhomeosztázis fenntartásával olyan alapvető élettani funkciókat töltenek be, mint például a táplálóanyagok emésztése, az immunválaszok modulálása és a bélhámsejtek fejlődésében való részvétel (Xing et al., 2021).

Ezek a gazdaszervezetben élő mikrobák jelentős hatást gyakorolnak az anyagcserére, az élettani folyamatokra, az immunrendszer fejlődésére és működésére is. Szimbiotikus funkciójuk közé tartozik a vitaminok szintézise, a patogének kolonizációja elleni védelem, az immunrendszer szabályozása a gasztrointesztinális hormonszintézis befolyásolásán keresztül, valamint az agyi neuronális jelátvitel szabályozása (Azad et al., 2018). A baromfi esetében keléskor az emésztőrendszer és a bélbolyhok fejlődése még nem fejeződött be. Ekkor bélcsövük még steril, a fiziológiás fejlődéssel párhuzamosan települ be mikroorganizmusokkal (Kőrösi, 2019).

A baromfi bélrendszere meglehetősen összetett mikrobiótával rendelkezik, több mint 600 különböző baktériumfajjal, és mintegy 100 baktériumnemzetségből is állhat. A leggyakoribb törzs általában a *Firmicutes*, majd ezt a *Proteobacteria* és *Bacteroidetes* követi (1. ábra). Ezen kívül az *Actinobacteria*, *Tenericutes*, *Cyanobacteria* és *Fusobacteria* tagjai is kis mennyiségben jelen lehetnek (Pourabedin and Zhao, 2015).



1. ábra. A baromfi bél mikrobióta összetétele törzs és család szinten 7 és 35 napos korban (Pourabedin and Zhao, 2015).

A baktériumközösségek a csirkék gyomor-bél traktusának helyétől függően jelentősen eltérnek egymástól. A begy, a zúzógyomor és a duodenum hasonló mikrobiótával rendelkezik. Ezeket a *Lactobacillus* nemzetség uralja, egyes madarak esetében akár 99%-os arányban is (Gong et al., 2007; Sekelja et al., 2012).

### 3.2.1. A vékonybél mikrobióta jellemzése

A vékonybél 3 szakaszból áll, ezek a duodenum, a jejunum és az ileum. Ezeknek a mikrobióta összetétele hasonló, azonban az ileális mikrobióta esetenként keveredhet vakbélből származó baktériumokkal is (Yan et al., 2019). A vékonybélben a mikrobióta abszolút száma csupán körülbelül  $10^5$  CFU/g (colony-forming unit = telepképző egység), diverzitása is meglehetősen alacsony, a teljes ileum mikrobióta 50%-át csak 1-5 nemzetség alkotja (Kollarcikova et al., 2019). A vékonybelet kolonizáló baktériumnemzetségek főként a *Firmicutes* törzsből származnak, ide tartoznak a *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Turicibacter*, *Clostridium sensu stricto* és a *Clostridium XI* klaszter (Peptostreptococcaceae család, *Romboutsia* nemzetség). A vékonybélben is megtalálható az *Escherichia coli* vagy a *Proteobacteria* törzsből származó *Helicobacter*, amelyek túlzott elszaporodása a csirke teljesítményének romlásával jár (Kollarcikova et al., 2019). A jejunumot is a *Lactobacillus* fajok uralják, elsősorban a *L. salivarius* és a *L. aviarius* (Gong et al., 2007; Feng et al., 2010). Az ileum mikrobiális összetétele kissé változatosabb és

kevésbé stabil, mint a duodenumé és a jejunumé. Az ileumot uraló főbb nemzetségek a *Lactobacillus*, *Candidatus Arthromitus*, *Enterococcus*, *Escherichia coli/Shigella* és a *Clostridium XI* (Pourabedin and Zhao, 2015).

### 3.2.2. A bél nyálkahártya mikrokörnyezete, az ileum nyálkahártya mikrobiótájának jellemzése

Az emésztő szervrendszer nyálkahártyája a madár legnagyobb, külvilággal érintkező felülete (Kőrösi, 2019). Az itt élő baktériumok nagymértékben eltérnek a béltartalomban található baktériumpopulációtól. Működésük erősen kutatott téma napjainkban. A bél nyálkahártya baktériumai szoros kapcsolatban állnak a lokális immunrendszerrel és idegrendszerrel. Fontos szerepük van a kórokozók elleni védekezésben és az immunrendszer fejlődésében (Ruiz et al., 2015). A béltartalom baktériumösszetételétől való különbözőség oka főként az, hogy az aerob és fakultatív aerob baktériumok felhasználják a jelen lévő oxigént és ezáltal anaerob közeget alakítanak ki. E mellett az itt termelődő mucin is fontos szerepet játszik a nyálkahártyán megtapadó mikrobióta közösség kialakításában, glikán tartalmát táplálóanyagként hasznosítják, valamint az antimikrobiális peptidok, és a nyálkahártyában szekretált IgA-típusú immunsejtek is befolyásolják működésüket. (Friedman et al., 2018). Wei és mtsai. (2016) a következő baktérium törzseket izolálták csirkék bél nyálkahártyájából: *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Cyanobacteria/Chloroplast*, *Firmicutes*, *Proteobacteria*, *Synergistetes* és *Saccharibacteria*. *Firmicutes*-ek és *Proteobaktérium*-ok voltak az ileum nyálkahártya uralkodó törzsei.

### 3.2.3. Vakbél mikrobióta jellemzése

A baktériumok abszolút száma jelentősen megnő a vakbélben. Ez a rész messze a legsűrűbben kolonizált és legdiverzebb bélszakasz. A baktériumszám itt körülbelül  $10^{10}$  CFU/g. A csirke bél-mikrobiótával kapcsolatos legrészletesebb információk is ezzel kapcsolatosak. A vakbél a nem emészthető szénhidrátok bakteriális fermentációjának, és a kórokozók kolonizációjának is fő helyszíne. A baromfinak páros vakbele van, amelyekben egymáshoz hasonló baktériumközösség található (Stanley et al., 2015). A vékonybélben és a vakbélben is körülbelül 1000 különböző faj él. Ezek főleg a két fő törzshöz, a Gram-pozitív *Firmicutes*-hez és a Gram-negatív *Bacteroidetes*-hez tartoznak (Oakley et al., 2014), amelyeket két kisebb törzs követ; *Actinobacteria* (Gram-pozitív) és *Proteobacteria* (Gram-negatív). Korábbi feljegyzések szerint, az egészséges kifejlett tyúk vakbél-mikrobiótájában általában egyformán képviseltetik magukat a *Firmicutes*-ek és a *Bakteroidetes*-ek és egyenként mindegyik a teljes mikrobióta körülbelül 45%-át teszi ki. Az *Actinobaktériumok* és a *Proteobaktériumok* gyakorisága pedig a teljes mikrobióta 2-3%-a. Bár az

*Actinobaktériumok* gyakorisága kissé alábecsült a 16S rRNS szekvenálást alkalmazó vizsgálatok során (Candela et al., 2004). Ma a vizsgálati eredmények számának ugrásszerű növekedése eredményeként látható, hogy bár a fent említett mikrobióta-összetétel általánosnak tekinthető, nagy eltérések fordulhatnak elő állategyedenként. Különbségek vannak többek között a *Bacteroidetes* előfordulásában, aminek esetében akár 10-90% közötti különbség is lehet anélkül, hogy az egyedek erre utaló jeleket mutatnának. Hasonló módon lehetséges a 10%-nál több *Actinobacterium* és *Proteobaktérium* bőség is. A mennyiségi eltérések ellenére ennek a négy törzsnek a képviselői szinte minden felnőtt csirke vakbélében megtalálhatóak. Ezekon kívül vannak olyan törzsek és nemzetségek, amelyek megjelenhetnek a kifejlett tyúkok mikrobiótájában, azonban nem fordulnak elő minden egyes egyedben. Ide tartozik a *Fusobacterium* (*Fusobacterium sp.*), az *Elusimicrobia* (*Elusimicrobium sp.*), a *Synergistetes* (*Cloacibacillus sp.*), a *Spirochaetes* (*Treponema sp.*) vagy a *Verrucomicrobia* (*Akkermansia sp.*) (Rychlik, 2020). Gong és mtsai. (2007) szerint a vakbélben főként a *Clostridium* nemzetség az uralkodó, de jelen lehet a *Lactobacillus* és a *Ruminococcus* nemzetség is. A három fő család a *Clostridiaceae*, *Lachnospiraceae* és *Ruminococcaceae* (Danzeisen et al., 2011), továbbá jelen van még az *Enterococcaceae*, az *Enterobacteriaceae* és a *Bacteroidaceae* (Yin et al., 2009). Ezen kívül a vakbéltre jellemző, hogy sok eddig ismeretlen és besorolatlan baktériumok is nagy számban találhatóak benne. Faj szinten a *Bacteroides fragilis*, *L. crispatus*, *L. johnsonii*, *L. salivarius* és *L. reuteri* több mint 40% is kiteheti a vakbél mikrobiótának (Stanley et al., 2015).

A bél mikrobióta tanulmányozása érdekében néhány esetben előfordult, hogy a könnyebb mintavétel miatt ürülékmintát használtak. Az ürülék mikrobióta összetétele azonban nagymértékben változik a különböző bél szegmensekből származó mikrobióta eltérő részarányától (Sekelja et al., 2012), ezt főként a vakbél tartalom szakaszos ürülése okozza (Rychlik, 2020). Baromfi kísérletekben emiatt nem jellemző ennek használata. Azonban egy 2015-ben megjelent kutatás szerint az összes működő taxonómiai egység (OTU) körülbelül 88%-a, amely a szekvenciák 99,25%-át teszi ki, megegyezés mutatkozott a brojlercsirkék vakbél- és ürülékmintái között (Stanley et al., 2015).

### **3.3. A baromfi bél mikrobióta és gazdaszervezet közötti kapcsolat új kutatási területei**

A nagyüzemi körülmények között nevelt gazdasági állatok tekintetében számos környezeti stresszorzal, - mind a tartási, mind a takarmányozási körülményekhez kapcsolódóan - kell

számolnunk. A stresszorok a bél eubiotikus állapotának zavarát okozhatják, és patogén fertőzések kockázati tényezőivé válhatnak (Markowiak and Śliżewska, 2018).

Alapvető elvárás, hogy egy egészséges állatban a bélmikrobióta pozitívan járuljon hozzá a gazdaszervezet egészségéhez. Minden olyan mikroorganizmust, amely káros a gazdaszervezetre kórokozónak tekintünk, azonban sok esetben bebizonyosodott, hogy ez egy túlzott leegyszerűsítés. Az egyes mikroorganizmusok gazdaszervezetre gyakorolt hatása számos körülménytől függ, többek között az állatok genotípusától és fiziológiai állapotától, a bélben élő mikrobióta összetételétől és aktivitásától, valamint sok egyéb tényezőtől. Ez az összetettség jelentős ellentmondásokhoz vezetett ugyanazon témával foglalkozó tanulmányok között, ezáltal sokszor nehézségekbe ütközik a bél mikroorganizmusainak a gazdaszervezet egészségére gyakorolt hatásának megbízható előrejelzése (Douglas, 2018).

A keltetőben kibújt naposcsibe a természetes anyai forrás helyett mesterséges környezetben kolonizálódik, amire nagy hatással vannak a környezetben jelen lévő baktériumok (Pedroso et al., 2005; Donaldson et al., 2017). A kutatók egyetértenek abban, hogy a bél korai kolonizációja nagy jelentőséggel bír a baromfi egészsége és termelési paraméterei szempontjából egyaránt, mivel megváltoztathatja a belek morfológiáját és fiziológiai állapotát, valamint a fertőző betegségekre való fogékonyságot (Kers et al., 2018).

A bélmikrobióta szerepének mélyebb megértése szükséges a baromfi egészségügyi stratégiák kidolgozásához (Azad et al., 2018). Az új kutatási eredmények révén egyre több adat áll rendelkezésünkre a mikrobióta összetételéről, stabilitásáról, fejlődéséről. Az ezredfordulót követően, az újgenerációs szekvenálási technológiák segítségével a mikrobiális közösségekből kivont DNS és RNS-minták vizsgálata gyors és nagy áteresztőképességű (high-throughput) szekvenálással történik. Ezzel a módszerrel vizsgálni lehet a mintában lévő mikroorganizmusok (vírusok, baktériumok, archeák, gombák), beleértve a nem tenyésztető mikrobák genomját is. A bélmikrobióta-vizsgálatokat leíró kutatások elemzését, összehasonlíthatóságát nagyban megnehezítik a sok esetben ismeretlen vagy rejtett, a gazdaszervezettel (pl. kor, fajta, ivar) és környezeti tényezőkkel kapcsolatos (pl. takarmányozás, tartás, alom, stressz faktorok) különbségek. Az eredmények összehasonlíthatósága miatt ezért rendkívül fontos a gazdaszervezethez és környezeti tényezőkhöz kapcsolódó mikrobióta-összetételt befolyásoló változók széles körének részletes leírása (Farkas et al., 2019).

### 3.3.1. A bél mikrobióta hatása a termelési paraméterekre

A teljesítményt befolyásoló tényezők közül kiemelt jelentőségűnek tartják a bélrendszer általános egészségét, amely úgy definiálható, mint „a mikrobióta és a bélrendszer közötti szimbiotikus egyensúlyi állapot, mely során az állatok egészsége stabilnak tekinthető” (Celi *et al.*, 2019). Általánosan ismert tény, hogy a bél mikrobióta fontos szerepet játszik a gazdaállat metabolikus folyamataiban, egészségi állapotában, növekedési teljesítményben és a táplálóanyagok emésztésében (Wang *et al.*, 2017). Ez azonban fordítva is igaz, ugyanis a mikrobióta kialakulását és stabilitását a gazdaszervezet állapota, a szervezetre ható tényezők is hasonlóan nagymértékben befolyásolják. A takarmányok nem keményítő típusú összetett szénhidrát (NSP) anyagainak oldható rostfrakciói nagymértékben növelik a béltartalom viszkozitását, aminek hatására gyengébb lesz a béltartalom keveredése, lassul a passzázs és romlik a táplálóanyagok emészthetősége (Smits and Annison, 1996). Ez erőteljes mikrobiális tevékenységet eredményez a vékonybélben, ami a brojlercsirkék romló növekedési teljesítményéhez vezethet (Silva and Smithard, 2002). Ennek a kapcsolatnak a pozitív következményei közé tartozik a bél morfológiájának szabályozása, amely befolyásolja a táplálóanyagok emésztését és felszívódását. A baktériumok növelhetik a táplálóanyagok emészthetőségét, hasznosulását a gazdaszervezet számára, ami javítja a termelési eredményeket is. Ezenkívül a mikrobióta stabilitása befolyásolhatja az immunválasz reakciókat. Ez összességében hatással lehet a takarmányértékesítésre, ami végső soron a baromfiipar számára a legfontosabb mutatószám (Feye *et al.*, 2020). Számos tanulmányt végeztek baromfival a magas és alacsony teljesítménnyel összefüggő bél mikrobióta azonosítására, azonban az eredmények gyakran nem reprodukálhatóak vagy ellentmondásosak. Annak ellenére, hogy termelési paraméterek tekintetében nem lehet definiálni ideális mikrobióta összetételt az egyes bélszakaszokban, a jobb teljesítmény általában olyan baktériumközösségekkel korrelál, amelyek tagjairól ismert, hogy lebontják a különböző rostfrakciókat és a rezisztens keményítőt. Ide tartoznak a *Lachnospiraceae*, *Ruminococcaceae* és *Erysipelotrichaceae* család tagjai, vagy a *Bacteroides fragalis* és *Clostridium cellulosi* fajok. A teljesítménnyel negatívan korreláló baktériumközösségek például a *Clostridiaceae* tenyésztetlen tagjai (Stanley *et al.*, 2016).

### 3.3.2. A bél mikrobióta hatása a bél morfológiai paramétereire

A vékonybél falának fő feladatai közé tartozik a gazdaállat szervezetének védelme a nem kívánatos anyagokkal szemben, valamint a táplálóanyag-felszívódás. Alkotóelemei közül kiemelt

fontosságúak a bélboholyok és kripták, ahol az epitél sejtek proliferációja zajlik. (Scanes és Pierzchala-Koziec, 2014). A vakbél fala pedig a víz és az elektrolit felszívódásában játszik fontos szerepet (Svihus et al., 2019). Számos kutatás bizonyítja, hogy szoros kapcsolat van a bélbolyhok hisztomorfológiai változásai és a baromfi testtömege között (Awad et al., 2006). A bélboholy magasság és kripta mélység a bélfunkció és egészség megbízható mutatói. A táplálóanyagok felszívódása hatékonyabb, ha a bélbolyhok felülete nagyobb. Méretük és sűrűségük megfelelő mutatói a felszívódás mértékének, annak változásait jól jelzik. A hosszabb bélbolyhokat általában összekapcsolják a jobb táplálóanyag-felszívódással, míg a mélyebb kripták gyorsabb sejtermelést és szövetmegújulást mutatnak (Long et al., 2018). A bélfal szerkezetében történő változások összefüggenek a takarmányok fiziko-kémiai változásaival, valamint a bélmikrobióta összetételének változásaival (Awad et al., 2006; Buclaw, 2016). Számos tanulmány igazolta a mikrobióta befolyásolására használt készítmények, - mint például a probiotikumok és prebiotikumok - hatását a bélmorfológiai paraméterekre. A főbb hatások főként a kriptasejtek proliferációjában (Lutfullah *et al.*, 2011), a bélboholy magasságában (Awad, Ghareeb and Böhm, 2008) és a boholyfelület megnövekedett nagyságában mutatkoznak meg (Hassanpour *et al.*, 2013). A mikroflóra változása következtében fellépő boholy magasság növekedés a táplálóanyagok jobb felszívódását eredményezi (Awad, Ghareeb and Böhm, 2008).

### 3.3.3. A bél mikrobióta hatása az immunológiai folyamatokra

A mikroorganizmusok és a gazdaszervezet sejtjei közötti kapcsolatokat sokáig csak megbetegedések szempontjából vizsgálták, mivel a patogének által termelt toxinok behatolnak a bélnyálkahártyába, szétterjednek, és szisztémás fertőzéseket okoznak (Azad et al., 2018). A bélrendszerben található mikroflóra a fentiekén túl az állatok egyik legfontosabb „immunszerve” is. A bél indukálta immunfolyamatok meghatározó szerepet játszanak és komplex humorális, idegi válaszreakciókat indukálnak.

A mikrobióta immunmoduláló hatásáról számos tanulmányban olvashatunk. Mivel a bél a legfőbb helyszíne az immunrendszer és a potenciális kórokozó-antigének találkozásának, fontos az itt élő mikrobióta homeosztázisának támogatása. A bélmikrobióta összetételének befolyásolása jelentős hatással lehet az immunfaktorokra, az immunglobulinok mennyiségére és profiljára is (Ferket, 2004). Perdigon és mtsai. megfigyelték, hogy egerekben a lactobacillusok fokozott védelmet nyújtanak az *S. Typhimurium* és az *Escherichia coli* ellen az IgA-típusú antitest termelődésének növelésével (Perdigón et al., 1991). A veleszületett immunitás működéskor a bél nyálkahártyát a fertőzések elleni első védelmi vonalnak tekintik, amely megakadályozza a kórokozó baktériumok behatolását a bélhámsejtekbe (Carter et al., 2009). A bél mikrobióta szabályozza a bél epithelium

felületén jelenlévő antimikrobiális peptidok termelését, amelyek képesek elnyomni a patogén baktériumok aktivitását. A kommenzális baktériumok védelmet nyújtanak a nyálkahártya membránján a humorális immunválasz modulálásával is. Ezeket a hatásokat számos tanulmány vizsgálta, dokumentálta, azonban az ehhez kapcsolódó összefüggések még nem teljesen tisztázottak (Haghighi et al., 2005; Brisbin et al., 2010). Simon és mtsai. (2016) tanulmányukban bizonyították, hogy a korai életszakaszban bekövetkező, a bél mikrobióta normál fejlődését hátráltató tényezők hosszú távon befolyásolják a madarak immunválasz képességét. A felsorolt vizsgálatok alátámasztják, hogy a bél mikrobióta és az immunrendszer között kölcsönhatás van, amely nem csak az emésztőrendszerre hat. A legújabb kutatások szerint a mikrobióta kulcsszerepet játszik az egyes betegségek ellen adott vakcinák hatására kialakuló szisztémás immunválaszban is (Lynn és Pulendran, 2018). Ennek baromfi esetében is nagy a jelentősége, hiszen számos betegség ellen vakcinázunk, amelyek jelentős gazdasági károkat okozhatnak megjelenésükkor. Ilyen betegség a baromfi fertőző bursitis (infectious bursal disease, IBD), más néven Gumboro-betegség. Ez egy nagy terjedőképességű, immunszuppresszióval járó vírusos betegség, ami jelentős gazdasági károkat okoz a baromfitenyésztőknek világszerte. A betegség elsősorban a bursa Fabricii-ben okoz súlyos károsodást, ami az állat immunrendszerének legyengüléséhez vezet. Az IBD vírusa (IBDV) által okozott fertőzés következményei az immunrendszer károsodása folytán sok esetben szinte az állat egész életére kihatnak. A betegség kórokozója 55–60 nm átmérőjű, ellenálló, duplaszálú RNS-vírus, amit a *Birnaviridae* családba sorolnak (Wagari, 2021). Hiányos az irodalom azon a téren, hogy a Gumboro-betegség elleni vakcinázás hatására kialakuló immunválaszra milyen hatást gyakorol a mikrobióta, vagy mikrobiótát befolyó kezelések.

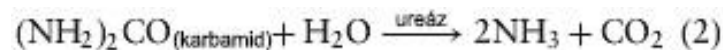
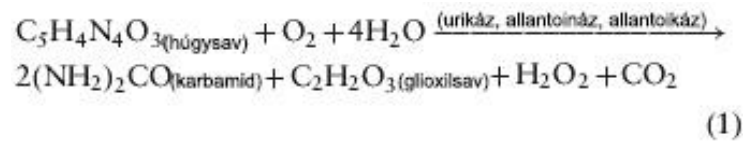
#### 3.3.4. A bél mikrobióta hatása az ürülék ammónia emissziójára

Az agráriumot számos Európai Unió által kiadott irányelv kényszeríti az ammóniakibocsátás csökkentésére (közös agrárpolitika (KAP), nitrátirányelv (91/676/EGK) és vízügyi keretirányelv (2000/60/EK). Az új nemzeti kibocsátási határértékekkel (NEC) megfogalmazott irányelvek előírják a 2020-as és 2030-as kibocsátás-csökkentési kötelezettségvállalásokat öt fő légszennyező anyag, köztük az NH<sub>3</sub> esetében is. Az irányelv előírja, hogy az EU tagállamai nemzeti légszennyezés -ellenőrzési programokat dolgozzanak ki. A mezőgazdaság, pontosabban az állattartás, az ammónia-kibocsátás legfőbb forrása. Ehhez a baromfifajok körülbelül 21%-kal járulnak hozzá (Sigurdarson et al., 2018). Irodalmi adatok szerint a baromfi a takarmányban lévő N kevesebb mint 30%-át hasznosítja, a maradék a bélsárral és a vizelettel ürül (Cook et al., 2011). Az állati trágya ammónia-kibocsátásának nagy része a húgysav és a karbamid hidrolíziséből származik. A felesleges N kiválasztási folyamata baromfinál eltér az emlősökétől, a nitrogén



anyagcsere végterméke esetükben a húgysav. A húgysavval sokkal több maradékenergia távozik a szervezetből, mint az emlősöknél. Abból a tényből kiindulva, hogy a baromfi vizeletében a N-forgalom végtermékei közül a húgysav fordul elő a legnagyobb mennyiségben (70-80%), a kevert ürülék húgysav tartalmából következtetni lehet a vizelettel ürülő nitrogén mennyiségére (O'dell et al., 1960; Juhász és Schmidt, 2002). A húgysav és az ammónia nitrogén tartalmának összege O'Dell és mtsai. (1960), valamint Tasaki és Okumura (1964) szerint is szoros korrelációt mutat a vizelet összes nitrogén tartalmával.

A húgysav és karbamid hidrolízisét mikrobiális eredetű ureáz enzim végzi (2. ábra), vagyis a trágyából az ammónia felszabadulása bakteriális tevékenység következménye (Zhang et al., 1991).



**2. ábra:** A húgysavból történő ammónia képződés lépései (Murakami et al., 2011).

Nahm (2007) munkájában leírta, hogy az oligoszacharidok etetése, - mint például a laktulóz, galakto-oligoszacharidok, frukto-oligoszacharidok (FOS), izomalto-oligoszacharidok, szójabab-oligoszacharidok, laktoszacharóz, mannán-oligoszacharidok (MOS), és xilán-oligoszacharidok - pozitív változásokat eredményeznek a vastagbél mikroflórában, a kedvező baktériumok, például a bifidobaktériumok és a lactobacillusok számának növekedését, valamint a patogén baktériumok számának csökkentését eredményezik. Továbbá Singh és Kim (2021) szerint a szénhidrátok a bélmikrobióta energiametabolizmusának előnyben részesített szubsztrátjai, amelyek ha kimerülnek, a mikrobiális fermentáció szacharolitikusról proteolitikusra vált át. Ennek következtében ammónia és más káros metabolitok termelődnek. Következésképpen a takarmányozás kulcsfontosságú eszköz lehet az ammóniakibocsátás csökkentésében.

### 3.4. Az antibiotikumok potenciális alternatívái

A hozamfokozásra használt antibiotikumok tilalmának köszönhetően az elhullás és a megbetegedések megelőzése érdekében számos alternatív készítményt tesztelnek. Ezek közé sorolhatóak az antibakteriális vakcinák, a bakteriofágok, az antimikrobiális peptidek (AMP-k), a prebiotikumok, a probiotikumok és szimbiotikumok, a növényi kivonatok, a bakteriális quorum sensing (QS) inhibitorok, a biofilm és virulencia inhibitorok, az exogén takarmány-enzimek,

valamint a baromfitojásból származó anitestek (Cook, 2004; Millet and Maertens, 2011; Cheng et al., 2014; Gadde et al., 2017). Bár számos kifejlesztett alternatíva jótékony hatása dokumentált, az általános konszenzus szerint ezek a termékek nem konzisztensek, és az eredmények telepenként és turnusonként eltérőek. A mai kutatások egyik legfőbb célja ezen anyagok hatásmechanizmusának pontosabb megismerése. A különféle alternatívák optimális kombinációi, a helyes gazdálkodási és tartási gyakorlatokkal együtt kulcsfontosságúak lehetnek az állati termékelőállítás fenntartásában és javításában (Gadde et al., 2017). Az állatállomány – köztük a baromfi - immunitásának és takarmány-felhasználásának javítása érdekében az antibiotikumok alternatívájaként szolgáló környezetkímélő takarmány adalékanyagok kutatása a 21. századi állattenyésztés egyik fő kihívásává vált (Wang et al., 2017).

### 3.4.1. Probiotikumok

A probiotikumokat az Egészségügyi Világszervezet olyan "mikroorganizmusokként" definiálja, amelyek – élő állapotban és megfelelő mennyiségben adva - javítják a gazdaszervezet egészségét.

A probiotikumokat általánosan 3 fő csoportba soroljuk:

1. Spóra képző baktériumok (pl. *Bacillus* fajok): a bélcsőben vegetatív formában kerülnek be, majd gyors osztódással kolonizálják azt. Egy részük a patogén szervezetek számára toxikus anyagokkal gátolják azok szaporodását.
2. Élő (főképp tejsavtermelő) baktériumok (*Lactobacillus*, *Enterococcus*): aktív telepalkotó fajok, tejsavtermelésük miatt csökkentik a bél pH értékét így képesek kiszorítani a patogén baktériumokat a bélhámsejtek kötő helyeiről. Továbbá serkentik a bélhámsejtek proliferációját és aktiválják az immunrendszert.
3. Élesztők (*Saccharomyces cerevisiae*): kompetitív hatásuk mellett, megfelelő környezetet biztosítanak az eubiotikus mikroflórának (Schmidt, 2015).

Az elmúlt években új meghatározásokkal is lehet találkozni a probiotikumokkal kapcsolatban, ilyenek például a „paraprobiotikumok” (probiotikumok elhalt/inaktív sejtjei) és a „posztbiotikumok” (probiotikumok metabolitjai), mivel kutatási eredmények szerint, az elhalt sejtek is képesek lehetnek jelentős hatást gyakorolni az egészségre (Zendeboodi et al., 2020).

Ahhoz, hogy egy mikroorganizmet probiotikum legyen, számos kritériumnak kell eleget tennie, amelyek az alábbiak:

- Ellenállás a gyomornedveknek és az epesavaknak.
- Jó tapadás a bélnyálkahártya felszínhez.
- Élelmiszeripari és klinikai használata biztonságos.
- Klinikai vizsgálatok alapján az egészségügyi hatása dokumentált.
- Jó technológiai tulajdonsággal rendelkeznek (Havas, 2015).

A probiotikumok az általános élelmiszerjogban szereplő előírások hatálya alá tartoznak, és a felsoroltak alapján látható, hogy biztonságosnak kell lenniük az emberek és az állatok egészségére nézve. Európában az EFSA bevezette a Qualified Presumption of Safety (QPS) kifejezést. A QPS koncepció magában foglal néhány további kritériumot a baktérium-kiegészítők biztonsági értékelésében, beleértve a biztonságos használat történeti leírását, valamint az antibiotikumokkal szemben szerzett rezisztencia kockázatának hiányát (Anadón et al., 2006; Gaggia et al., 2010).

A probiotikumok szervezetre gyakorolt pozitív hatásai az alábbiak lehetnek fajtól függően: képesek elpusztítani a kórokozó mikroorganizmusokat antimikrobiális vegyületek, például bakteriocinek és szerves savak segítségével. Javíthatják a gasztrointesztinális mikrobiális környezetet a bélnyálkahártyához való tapadással, ezzel megakadályozva a kórokozók kötődését és a táplálóanyagokért történő versengését. Serkenthetik a bél immunválaszt, javíthatják az emésztést és a táplálóanyagok felszívódását (Anadón et al., 2006). A probiotikum definíciók legtöbbször a bél mikroflórára gyakorolt hatásra összpontosítanak, azonban egyre több olyan tudományos vizsgálat lát napvilágot, melyekben nem közvetlenül az ezzel kapcsolatos hatást bizonyítják. Ilyen például az immunmoduláló képesség (Sánchez et al., 2017). A legfrissebb kutatások ezek mellett humán vonatkozásban említik még a szérum koleszterinszint szabályozását és csökkentését, a laktóz intolerancia tüneteinek csökkentését, a vastagbélrák kockázatának csökkentését, valamint a gliadin emésztésének javítását lisztérzékenység esetén (Zendeboodi et al., 2020).

A probiotikumként forgalmazott készítmények egy vagy akár több mikroba törzset is tartalmazhatnak. Az EU-ban takarmány-kiegészítőként használt mikroorganizmusok többnyire baktériumok. A leggyakrabban használt fajok közül Gram-pozitívak: *Bacillus*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*. Néhány élesztő (*Saccharomyces cerevisiae*) és gomba (*Kluyveromyces*) faj is lehet probiotikum. A felsoroltak közül egyesek, mint például a *Lactobacillus* és *Enterococcus* fajok a természetes mikrobióta részét képezik az állat emésztőcsövében. Ezeknek általános mennyisége  $10^7$ - $10^8$ , illetve  $10^5$ – $10^6$  CFU/g. Az élesztő és a

*Bacillus* nemzetség baktériumai rikábban vannak jelen a gyomor-bél rendszerben (Anadón et al., 2006). Azokat a készítményeket, amelyek több fajt is tartalmaznak, többkomponensűnek nevezik. Ezeknek a termékeknek a hatékonyságát számos tényező befolyásolja, többek között a törzsek megfelelő kiválasztása, valamint az a dózis, ami megfelelő számú életképes sejtet tartalmaz. A probiotikumok tulajdonságainak megőrzése érdekében ezeket a gyártók ajánlása szerint kell tárolni és felhasználni. A probiotikum készítmények a gazdaállat fajától és korától függően alkalmazhatóak por, szuszpenzió, kapszula, pellet, gél vagy paszta formájában is, időszakosan vagy folyamatosan, közvetlenül vagy takarmányadalékként (Markowiak and Śliżewska, 2018). Sajnos a probiotikumok alkalmazásával kapcsolatos kutatási eredmények sokszor ellentmondóak és nem egyöntetűek. Ennek hátterében több ok is húzódik, az eltérések sok esetben az alkalmazott kísérleti protokoll különbözőségéből adódnak (Gaggia et al., 2010). A probiotikumként leggyakrabban alkalmazott mikroorganizmusokat az 1. táblázat foglalja össze.

**1. táblázat: Probiotikumként alkalmazott mikroorganizmusok (Ranadheera et al., 2017; Kerry et al., 2018; Yaqoob et al., 2021)**

Probiotikum nemzetség	
<i>Lactobacillus</i>	<i>L. plantarum</i> , <i>L. paracasei</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>L. casei</i> , <i>L. rhamnosus</i> , <i>L. crispatus</i> , <i>L. gasseri</i> , <i>L. reuteri</i> , <i>L. bulgaricus</i>
<i>Bifidobaktérium</i>	<i>B. teencentis</i> , <i>B. animalis</i> , <i>B. bifidum</i> , <i>B. infantis</i> , <i>B. lactis</i> , <i>B. longum</i> , <i>B. catenulatum</i>
<i>Propionibacterium</i>	<i>P. jensenii</i> , <i>P. freudenreichii</i>
<i>Peptostreptococcus</i>	<i>P. productus</i>
<i>Pediococcus</i>	<i>P. acidilactici</i>
<i>Leuconostoc</i>	<i>Lc lactis subsp. cremoris</i> , <i>Lc. mesenteroides</i>
<i>Enterococcus</i>	<i>E. faecium</i>
<i>Streptococcus</i>	<i>S. oralis</i> , <i>S. uberis</i> , <i>S. rattus</i> , <i>S. salivarius</i> , <i>S. sanguis</i> , <i>S. mitis</i> , <i>S. thermophilus</i>
<i>Bacillus</i>	<i>B. coagulans</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>B. laterosporus</i>
<i>Bacteroides</i>	<i>B. uniformis</i>
<i>Akkermansia</i>	<i>A. muciniphila</i>
<i>Saccharomyces</i>	<i>S. cerevisiae</i> , <i>S. boulardii</i>
<i>Clostridium</i>	<i>C. butyricum</i>
<i>Aspergillus</i>	<i>A. oryzae</i> , <i>A. niger</i>

A közelmúltban megjelent irodalmak rámutatnak, hogy egyes fiziológiai folyamatok nem csak a mikróba populációk összetételének változásától függenek, hanem a baktériumflóra metabolikus

változásától is (Sánchez et al., 2017). A bakteriális kölcsönhatásokat mind a gazdaszervezet (életkor, immunállapot, stressz), mind az takarmány modulálhatja, és ez által az egész flóra változását eredményezheti (Williams et al., 2001). Az egészséges csirke bélrendszerének mikroflórája számos metabolitot és anyagcsereterméket állít elő, például gázokat és szerves savakat (Onrust et al., 2015). A probiotikus baktériumtörzsek jótékony hatásainak felfedezésekor először a tejsavtermelő baktériumtörzsek előnyeire figyeltek fel, hiszen élelmiszerek tartósítása céljából régóta használjuk ezeket, mivel ezek a tejsav segítségével meggátolják a nemkívánatos mikroorganizmusok növekedését. Manapság egyre nagyobb figyelmet kapnak azonban egyéb törzsek is, amelyek tejsavon kívül más anyagcsere termékeket is előállítanak (Soomro et al., 2001). Ilyenek például a vajsavtermelő baktériumok. A kapcsolat a tejsav- és a vajsavtermelő baktériumok között jelentős, mivel utóbbiak szubsztrátként hasznosítják a tejsavat (Belenguer et al., 2011). A patogének kontrollja szempontjából a probiotikumok hatásmechanizmusa eltér az antibiotikumokétól, annak ellenére, hogy mindkettő hatására javulhatnak az állatok termelési eredményei. A probiotikumokból származó baktériumok versengenek a bélben lévő patogénekkal a táplálóanyagokért. Sikeres kolonizációjuk esetén a belekben, kiszorítják a káros baktériumokat, továbbá emésztőenzimeket is kiválasztanak (pl.  $\beta$ -galaktozidáz,  $\alpha$ -amiláz stb.), ami segíti a tápanyagok fokozott felszívódását és javítja az állatok növekedési teljesítményét (Jadhav *et al.*, 2015). Kutatások során használatuk azonban nem minden esetben hozt egységesen pozitív eredményt. A kezelés időtartama, koncentrációja és a probiotikumban lévő választott baktériumfaj befolyásolja az eredményességet, ezek függvényében az kezelések eltérően teljesíthetnek. Ennek jó példája, hogy egy összehasonlító vizsgálat kimutatta, hogy a *B. licheniformis* és a *B. subtilis* probiotikumként egyaránt javította a testtömeggyarapodást és a takarmányértékesítést (Zaghari et al., 2020), azonban számos vizsgálat ennek éppen az ellenkezőjét írja le (Fathi *et al.*, 2017; U. D. Gadde *et al.*, 2017).

### 3.4.2. Prebiotikumok

A nem emésztődő, de a baktériumok által hasznosítható szénhidrátokat, döntően oligoszacharidokat hívjuk prebiotikumoknak. A kedvező hatású baktériumok táplálóanyagként hasznosítják őket, felszaporodnak, kiszorítva ezzel a patogéneket (Dublecz, 2011). A legfontosabb prebiotikus hatású szénhidrátok a fruktooligoszacharidok, az oligofruktóz, az inulin, a galaktóz és a xilóz (Azad et al., 2018). A prebiotikumok közé tartoznak még a különböző természetes növényi kivonatok, fehérje hidrolizátumok és polioloik is (Cheng et al., 2014). A hüvelyesek, a gyümölcsök és a gabonafélék a prebiotikumok természetes forrásai (Markowiak and Śliżewska, 2018). Az

ezekben található rostalkotók, a nem keményítő típusú összetett szénhidrátok (NSP) a vastagbélben lévő mikroorganizmusok számát növelik (Schneeman, 2002), ezen felül kedvezően befolyásolják a bél mikroflóra összetételét, megakadályozzák a patogének bélhámhoz kötődését (Dublec, 2011). Korábbi irodalmi adatok szerint a baromfi fiatal korban 3-4%, kifejlett korban pedig 4-6% nyersrostot igényel a bél normális működéséhez és a perisztaltika fenntartásához (Reece, 2004).

A kalászos gabonamagvak és a búzakorpa szintén tartalmaznak prebiotikus hatású szénhidrátokat (Vermeulen, 2017). A búza (*Triticum aestivum*) számos országban fontos alapélelmiszer, általánosan használt takarmány a brojlercsirke takarmányozása során is (Smits and Annison, 1996). A magnak három fő szerkezeti része van: a csíra, az endospermium és a külső héj, a korpa. A korpaanyag sejtfalai jellemzően vastagok, hidrofóbok, cellulózból, komplex xilánokból valamint ligninből állnak. Az endospermium sejtfalai ezzel szemben vékonyak, hidrofilek, és főként arabinoxilánból és kevert kötésű  $\beta$ -glükánokból állnak. A feldolgozási folyamat során az endospermium kis hányada mindig rajta marad a korpafrakción. A búzakorpa a fermentálható és nem fermentálható rostoknak a koncentrált forrása (Leitch *et al.*, 2007), legnagyobb mennyiségben arabinoxilánt tartalmaz, emellett pedig cellulózt, fruktánt és vegyes kötésű  $\beta$ -D-glükánt (Saulnier *et al.*, 2007). Az összetett szénhidrátok, például az arabinoxilán lebontásához több, gyakran különböző baktériumfaj által termelt enzim együttes jelenlétére van szükség (Flint *et al.*, 2008; Martens *et al.*, 2011). A bél-mikrobióta kiterjedt arabinoxilán-bontó enzimekkel rendelkezik. A *Lactobacillus*, *Prevotella*, *Bacteroides*, *Bifidobacterium* és *Clostridium* nemzetségekhez tartozó számos faj képes az arabinoxilán bontásra (Rivière *et al.*, 2014; Turroni, Berry and Ventura, 2017; Vermeulen, 2017), melyek ennek során vajsavat állítanak elő. A búzakorpa vajsavtermelő baktériumpopulációra gyakorolt hatását azonban nagy mértékben befolyásolja a búzakorpa szemcsemérete. A 280  $\mu$ m-est finomra darált korpát hatékonyabbnak találták durvább 1690  $\mu$ m-es átlagos szemcseméretével szemben (Vermeulen, 2017).

A vajsav, másnéven butirát főleg az élelmi rostok mikrobiális bontásának a fő végterméke. A madarak vakbelében jelentős számú vajsavtermelő baktérium él, ezek a *Firmicutes*, *Clostridium IV* és *XIVa* klaszterekhez tartoznak (Hamer *et al.*, 2008). Számos tanulmány foglalkozik hatásaival (Guilloteau *et al.*, 2010; Canani *et al.*, 2011). Bizonyították, hogy pozitív hatású az állatok növekedésére és bélmorfológiájára (Hu and Guo, 2008). A bélhámsejtek számára fontos energiaforrásként szolgál, és szerepet játszik a bélhám regenerációban. Jótékony hatással van a különböző vastagbél nyálkahártya-funkciókra, gyulladás- és karcinogenezis gátló hatása van, megerősíti a vastagbél védelmi gátat és csökkenti az oxidatív stresszt mivel ezek a savas kémhatású anyagcsere termékek csökkenthetik a béltartalom pH-ját (Hamer *et al.*, 2008). Széles

spektrumú biológiai hatásai alapján a butirát javítja a brojlercsirkék növekedését (Mátis *et al.*, 2019).

A prebiotikumok hatásának értékelésekor figyelembe kell venni azt a tényt, hogy a gazdasági állatok mindegyike különbözik anatómiai, emésztés-fiziológiai és a bélmikrobióta összetétel szempontjából (Markowiak and Śliżewska, 2018). A prebiotikum kiegészítések esetén elengedhetetlen a megfelelő adagolás meghatározása, ugyanis túladagolásuk emésztési zavarokhoz vezethet. Ugyanakkor nagy előnyük, hogy hosszú ideig és megelőző jelleggel használhatók az enterális megbetegedések megelőzésére (Markowiak and Śliżewska, 2018).

### 3.4.3. Szimbiotikumok

Gibson és Roberfroid 1995-ben vezette be a „szimbiotikum” kifejezést (Markowiak and Śliżewska, 2018). Szimbiotikumokról egymással szinergikus kapcsolatban álló probiotikumok és a prebiotikumok együttes alkalmazásakor beszélünk (Andersson *et al.*, 2001; Sobolewska *et al.*, 2017). A kifejezést azokra a termékekre használhatjuk, amelyekben egy prebiotikus komponens szelektíven előnyben részesít egy probiotikus mikroorganizmust (Markowiak and Śliżewska, 2018). Ez alapján a cél a bélhomeosztázis fenntartása és javítása azáltal, hogy szubsztrátot biztosítunk a probiotikumként alkalmazott baktériumtörzsek fermentációjához (Sobolewska *et al.*, 2017). Hatékonyságuk nagymértékben függ a pre- és probiotikumok egyéni kombinációjától (De Vrese and Schrezenmeir, 2008; Śliżewska *et al.*, 2020), aminek következtében számos kutatás során nem tudtak szinergikus hatást kimutatni (Cheng *et al.*, 2014; Kollarcikova *et al.*, 2019). Több olyan vizsgálatban azonban, ahol összehasonlították a pre- és probiotikumok hatását az együttes adagolással, a kombináció több esetben mégis felülmúlta a csupán pro- és prebiotikus kezelések eredményeit (Tayeri *et al.*, 2018).

### 3.4.4. Vakbélből izolált kompetitív kizáráson alapuló készítmények

Probiotikumnak csupán azokat a készítményeket nevezhetjük, amelyek esetében feltüntetik a baktériumkultúra pontos összetételét. A kompetitív kizáráson alapuló készítmények így nem sorolhatóak ebbe a kategóriába, elvárt hatásuk azonban a probiotikum definíciójához hasonlítható.

Ezeknek a készítményeknek a működési elve Coates és Fuller 1963-as kísérleti eredményein alapulnak. Jelzett szerzők kísérleteiben megfigyelték, hogy a csíramentes környezetben nevelt brojlercsirkék gyorsabb ütemben fejlődtek, mint a hagyományos környezetben neveltek, ahol az egyedek mikrobiális kihívásoknak voltak kitéve. Ugyanakkor a csíramentes környezetben nevelt

állatok számos élettani rendellenességét is megfigyelték, mint a csökkent bélmotilitás, alacsonyabb testhőmérséklet és gyengén fejlett immunrendszer. Ezek az élettani jellemzők azonban javíthatók voltak miután az állatokat normál körülmények között nevelt csirkék bélizolátumával kezelték (Niba et al., 2009). Varmuzova és mtsai. (2016) vizsgálták, hogy módosítható-e a naposcsibék bélbakterióta-összetétele orálisan alkalmazott, 1-, 3-, 16-, 28-, és 42-hetes donor csirkéktől származó vakbél-tartalommal (Varmuzova et al., 2016). A kísérletbe vont állatok vakbél tartalmának vizsgálatára a kezelést követő 8. és 12. életnapon került sor. A kísérlet során a szerzők azt tapasztalták, hogy a naposcsibék bármilyen összetételű vakbél-tartalomizolátummal kolonizálhatók és a recipiens naposcsibékben meghatározó szerepe van a donor csirkéktől származó baktériumoknak, amelyek az elemzés során külön csoportokat képeztek.

A „Competitive Exclusion” (CE), vagyis kompetitív kizárás kifejezést először 1969-ben Greenberg használta, ezzel arra a jelenségre utalva, amelyben egy baktériumtörzs más baktériumtörzsekkel versenyez a bélhám kolonizációjáért. Korábban már Nurmi és Rantala (1947) is használt azonban CE kultúrát a *Salmonella infantis* felszaporodásának szabályozására. Ennek során brojlerállományok vizsgálatával kimutatták, hogy a stabil mikroflóra megvédi a madarakat a *Salmonella*-fertőződéstől. A CE technológia megjelenése lehetővé tette, hogy a baromfi betegségeket könnyebben megfékezzék, megelőzzék már a korai életszakaszban. Emellett a CE kiegészítés csökkentette a madarak mortalitását, javította a takarmányértékesítést és az ürülék viszkozitását. Ezt követően több tanulmány is kimutatta, hogy a kompetitív gátlás módszere megvédheti a gazdaszervezetet olyan kórokozók ellen, mint az *E. coli*, a *Yersinia enterocolitica*, a *Campylobacter jejuni* és a *Clostridium perfringers* (Dankowiakowska et al., 2013).

#### 3.4.6. A bélflóra befolyásolásának hatása a mikrobióta fejlődésére

A kutatók egyetértenek abban, hogy a bél korai kolonizációja nagy jelentőséggel bír a baromfi egészsége és termelékenysége szempontjából. Ez a folyamat már kelés előtt megkezdődhet a mikroorganizmusok átjutásával a tojáshéj pórusain. Kezdetben a béltraktusba betelepülő mikrobióta folyamatosan változik, aminek a fajtagazdagsága és összetettsége az életkorral nő. Az úgynevezett érettségi állapot, amikor stabilizálódik, körülbelül 3 hetes korban figyelhető meg. Ez a folyamat azonban a madarak genetikája és tartási körülményei függvényében változhat (Carrasco et al. 2019). A közvetlenül a tojáson vagy a tojáson belül alkalmazott prebiotikumokkal, probiotikumokkal és szimbiotikumokkal történő beoltást olyan stratégiaként értékelik, amely elősegíti a madarak korai bélrendszeri kolonizációját „egészséges” mikrobiótával a kikelés pillanatától kezdve (Rubio, 2019). A CE-termékek *in ovo* vagy közvetlenül a kikeléskor történő



adása jó módszer lehet a mikrobapopuláció korai fejlődésének elősegítésére és a kórokozók bélrendszeri megtelepedésének megakadályozására (Meijerink *et al.*, 2020). Ellentétben a madarak korai életkorban történő egyszeri beoltásával, a pro- és prebiotikumok folyamatos etetése a teljes hizlalási időszak alatt egy másik lehetséges módja az emésztőrendszerben a hasznos mikrobióta fejlődésének elősegítésére (Oakley *et al.*, 2014). Mindkét stratégia esetében végeztek már számos kutatást, azonban hiányosak az eredmények azzal kapcsolatban, hogy a mikrobióta fejlődésére melyik stratégia van erőteljesebb hatással.

## 4. Anyagok és módszerek

Doktori munkám során a kísérleti célkitűzések megválaszolása érdekében összesen két kísérletet végeztem el. Az első kísérletben probiotikum, valamint búzakorpa kiegészítés hatását vizsgáltam a brojlercsirkék termelési eredményeire, a vékonybél hisztomorfológiai paramétereire, enzimaktivására, a vakbél hisztológiájára, bakterióta-összetételére, a vakbél tartalom rövid szénláncú zsírsav (SCFA) koncentrációjára, valamint az ürülékminták tulajdonságaira. Ezt követően a második kísérletem során egy CE kultúra, prebiotikum, probiotikum és szimbiotikum kezelések hatását vizsgáltam a termelési paraméterek mellett az immunológiai folyamatokra, az ürülékminták tulajdonságaira, a vékonybél nyálkahártya és bél tartalom, valamint vakbél bél tartalom bakterióta összetételére, valamint a különböző bakteriumcsoportok változásának dinamikájára.

### 4.1. Első kísérlet

#### 4.1.1. Állatok és kezelések

Az állatkísérletet az Intézményi Etikai Bizottság (Állatvédelmi Bizottság, Georgikon Kar, Pannon Egyetem) a MÁB-5/2018 engedélyszám alatt hagyta jóvá. A kísérletet összesen 574 darab Ross 308 típusú szexált kakassal végeztük. A napos állatokat a Gallus Kft. devecseri keltetőjéből szereztük be. Itt a keltetés 18. napján *in ovo* vakcinázták az állatokat Gumboro-betegség ellen (Cevac Transmune IBD), valamint a kelést követően bronchitis (Cevac Bron 120 L) és baromfipestis ellen (Cevac Vitapest, Ceva-Phylaxia, Budapest). Szállítást követően az állatokat automata, számítógéppel vezérelt optimális környezeti feltételeket biztosító zárt helyiségben helyeztük el. Az állatokat 6 kezelési csoportba osztottuk, kezelésként 4 ismétléssel, 24 állat/kecsec sűrűséggel (10 állat/m<sup>2</sup>). A csoportos tartás szecskezott búzaszalma mélyalommal ellátott, horganyzott lemezből és huzalból készített fülkékben történt. A dercés formátumú kísérleti tápokot úgy állítottuk össze, hogy azonos energia- és fehérjetartalommal rendelkezzenek, valamint, hogy megfeleljenek a választott genotípus igényeinek a tenyésztő ajánlása alapján (Aviagen, 2018). A tápok összetételét és táplálóanyag- valamint aminosavtartalmát az 2. és 3. táblázat tartalmazza. Az alkalmazott kezelések: Kontroll kezelés (K), *Clostridium butyricum*, vajsavtermelő baktérium kezelés (K+VB), *Lactobacillus farciminis*, tejsavtermelő baktérium

kezelés (K+TB), búzakorpa kiegészítés (BK), búzakorpa + *C. butyricum* kezelés (BK+VB), búzakorpa + *L. farciminis* (BK+TB) kezelés. A kontroll táp kukorica és szója alapú volt. A tápokat három fázisban etettük, az indító szakasz az 1. naptól a 10. napig, a nevelő a 11. naptól a 24. napig és a befejező a 25. naptól a 40. napig tartott. Az állatoknak ad libitum hozzáférést biztosítottunk a takarmányhoz és az ivóvízhez a kísérlet teljes ideje alatt.

**2. táblázat: A kísérleti tápok összetétele (g/kg)**

Összetétel	Indító		Nevelő		Befejező	
	(1 - 10 nap)		(11 - 24 nap)		(25 - 40 nap)	
	Kontroll	Korpa	Kontroll	Korpa	Kontroll	Korpa
Kukorica	466	434	534	469	589	524
Búzakorpa	0	30	0	60	0	60
Extrahált szójadara	338	333	361	352	310	300
Napraforgó olaj	63	70	62	76	60	74
Takarmánymész	19	19	15	15	15	15
Monokalcium-foszfát	80	80	0	0	0	0
L-lizin	5	5	2	2	2	2
DL-metionin	4	4	3	3	3	3
L-threonin	1	1	1	1	0	1
L-valin	1	1	0	0	0	0
NaCl	3	3	3	3	3	3
NaHCO <sub>3</sub>	1	1	1	1	1	1
Premix <sup>1</sup>	4	4	4	4	3,5	3,5
Fitáz <sup>2</sup>	0	0	0,1	0,1	0,1	0,1
NSP bontó enzim <sup>3</sup>	0	0	0,1	0,1	0,1	0,1
<b>Összes</b>	<b>1000</b>	<b>1000</b>	<b>1000</b>	<b>1000</b>	<b>1000</b>	<b>1000</b>

<sup>1</sup> Premix összetétel: (/kg takarmány; UBM Kft. Pilisvörösvár, Magyarország): Indító és nevelő premix—retinol acetát—5,0 mg, kolikalciferol—130 µg, dl-alfa-tokoferol-acetát—91 mg, menadion—2,2 mg, tiamin—4,5 mg, riboflavin—10,5 mg, piridoxin HCL—7,5 mg, cianokobalamin—80 µg, niacin—41,5 mg, pantoténsav—15 mg, folsav—1,3 mg, biotin—150 µg, betain—670 mg, monensin-Na—110 mg (csak nevelő), narazin—50 mg (csak indító), nicarbazin—50 mg (csak indító), antioxidáns—25 mg, Zn (ZnSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O)—125 mg, Cu (CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O)—20 mg, Fe (FeSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O)—75 mg, Mn (MnO)—125 mg, I (KI)—1,35 mg, Se (Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub>)—270 µg; Befejező premix—retinol acetát—3,4 mg, kolikalciferol—97 µg, dl-alfa-tokoferol-acetát—45,5 mg, menadion—2,7 mg, tiamin—1,9 mg, riboflavin—5,0 mg, piridoxin HCL—3,2 mg, cianokobalamin—19 µg, niacin—28,5 mg, pantoténsav—10 mg, folsav—1,3 mg, biotin—140 µg, L-askorbinsav—40 mg, betain—193 mg, antioxidáns—25 mg, Zn (ZnSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O)—96 mg, Cu—9,6 mg, Fe (FeSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O)—29 mg, Mn (MnO)—29 mg, I (KI)—1,2 mg, Se (Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub>)—350 µg. <sup>2</sup> Fitáz (Quantum Blue®; AB Vista, Marlborough, UK). <sup>3</sup> NSP enzim (Econase XT®; AB Vista, Marlborough, UK).

**3. táblázat: A kísérleti tápok mért táplálóanyag tartalma (g/kg)**

Összetétel	Indító (1 - 10 nap)		Nevelő (11 - 24 nap)		Befejező (25 - 40 nap)	
	Kontroll	Korpa	Kontroll	Korpa	Kontroll	Korpa
<b>AMEn (MJ/kg)</b>	12,1	12,2	13,1	13,0	13,0	13,1
<b>Száranyag</b>	888	890	885	888	882	888
<b>Nyersfehérje</b>	229	230	207	212	188	191
<b>Nyerszsír</b>	83	92	91	101	89	100
<b>Nyersrost</b>	40,2	45,7	37,7	41,8	36,3	43,3
<b>Nyershamu</b>	66,9	68,3	56,1	59,6	54,3	56,9
<b>Ca</b>	10,7	10,8	9,4	9,4	8,9	8,9
<b>P</b>	8,0	8,1	6,7	7,1	6,6	7,0
<b>Keményítő</b>	305	294	369	336	387	364

A búzakorpát fogyasztó csoportok takarmányához az indító fázisban 3, a nevelő és befejező fázisban 6-6% búzakorpát kevertünk. A kontroll kezelés állataival etetett takarmány búzakorpa, valamint probiotikum kiegészítést nem tartalmazott. A két kiválasztott probiotikum a *Clostridium butyricum*, ecetsav és vajsav termelő (Miya-Gold®, Huvepharma, Sofia, Bulgária  $2,5 \times 10^9$  CFU/kg), valamint *Lactobacillus farciminis* CNMA67-4R, tejsavtermelő baktériumtörzset tartalmazott (Biacton,  $5 \times 10^9$  CFU/kg).

#### 4.1.2. Takarmányanalitikai módszerek

A kísérleti tápoknak meghatároztuk a szárazanyag (ISO 6496), nyersfehérje (ISO 5983-1: 2005), nyerszsír (ISO 6492), nyersrost (ISO 6865: 2001), teljes P (ISO 6491: 2001) és Ca (ISO 6869: 2001) tartalmát. A keményítőtartalom mérésére a 152/2009 európai irányelvnek megfelelően polarimetriai módszert alkalmaztunk. A búzakorpa vízzel extrahálható arabinoxilán tartalmát a Rakszegi és mtsai. (2017) által leírt kolorimetriás módszerrel elemeztük. Minden kísérleti takarmányból öt különböző mintát vettünk, majd ennek keveréke került elemzésre. Laboratóriumi mérés alapján a kiegészítéshez felhasznált búzakorpa összes arabinoxilán tartalma 90,3 mg/g, míg a vízzel extrahálható arabinoxilán-tartalom 10,8 mg/g volt. A búzakorpa részecskeméret eloszlását is meghatároztuk, az átlag 1,11 mm volt. A búzakorpa szemcseméretének megoszlását a 4. táblázat tartalmazza.

4. táblázat: A búzakorpa szemcseméret megoszlása (%).

Szemcseméret (%)	
3,15 mm felett	2,25
2 mm – 3,15 mm	1,79
1 mm – 2 mm	50,90
500 µm – 1 mm	22,21
500 µm alatt	22,82
Összes	100

#### 4.1.3. Termelési paraméterek

A nevelési időszak alatt, a takarmányozási fázisok utolsó napján egyedileg megmértük az állatok súlyát és a fülkénként elfogyasztott takarmány mennyiségét. A mért adatokból kiszámítottuk az átlagos súlygyarapodást és a fajlagos takarmány értékesítést.

#### 4.1.4. Béltartalomból végzett vizsgálatok

A nevelés 40. napján ketrecenként 2 állatot (kezelésenként 8 egyed, tehát 8 minta) CO<sub>2</sub>-os kábítás alatt nyaki véna átvágásával kivéztettünk. Ezt követően az elvézített állatok testüregét megnyitottuk, és a bélsövet eltávolítottuk. Az enzimaktivitás vizsgálatához a jejunum Meckel-diverticulumhoz közeli, disztális részéből gyűjtöttünk mintát. A baktériumtenyésztéshez az ileum proximális részéből, az illózsírsav vizsgálatához és a pH méréshez a vakbél bal oldali zsákjából vettünk mintát. A vakbélből steril körülmények között mintát gyűjtöttünk szekvenálási vizsgálatához is. A pH mérést friss béltartalomból végeztük. A további vizsgálatokhoz a minták egyedi homogenizálást követően -20 °C-on, szekvenáláshoz -80 °C-on kerültek tárolásra.

A pH méréshez a friss béltartalmat desztillált vízzel (1: 5) hígítottuk közvetlenül a mintavétel után, és kézzel ráztuk 1 percig. A pH-mérést SNEX elektródával (pH200A) végeztük, hordozható pH -mérővel, CS1068 SNEX pH -érzékelővel felszerelve (CLEAN Instruments, Shanghai, Kína). A rövid szénláncú zsírsavak méréséhez gázkromatográfiás (TRACE 2000, Thermo Scientific, Waltham, MA, USA) módszert alkalmaztunk (Molnár et al., 2018). A módszer rövid leírása: a fagyasztott mintákat felolvasztottuk és alaposan összekevertük. Ezt követően 250 µl béltartalmat vettünk, és összekevertük 600 µl 1,11 M sósavval. A gázkromatográfot 30 m (0,25 mm belső átmérőjű) olvasztott szilikagél oszloppal (Nukol oszlop, Supelco Inc., Bellefonte, PA, USA) szereltük fel. Lángionizációs detektort (FID) használtunk osztott split-tel (1:50), az injektálási térfogat 1 µL volt 220 °C-on, a detektálás 250 °C-on történt. A hordozógáz hélium volt 83 kPa

nyomással. A kalibráláshoz szabványos SCFA-k (1, 4, 8 és 20 mM) keverékeit használtuk, amelyek külső standardként acetátot, propionátot, n-butirátot és n-valerátot tartalmaztak.

A mikroflóra vizsgálatához részben a klasszikus agartenyésztéses módszert alkalmaztunk, amikor a lactobalillusok és a coliform mikrobák arányának változását határoztuk meg. Baktérium tenyésztési vizsgálatokat vékonybél és vakbél tartalomából is végeztünk. A mintákat vizsgálatokig -20 °C hőmérsékleten fagyaszttva tároltuk. A vékonybél és vakbél lactobacillus szám meghatározáshoz MRS (de Man, Rogosa és Sharpe, Scharlab Magyarország) táptalajt használtunk. A coliformszámot a vakbélből határoztuk meg EMB (Eosin Methylene Blue Agar, Scharlab Magyarország) táptalaj használatával. Kimérünk 1 g béltartalom mintát és Erlenmeyer lombikban hozzáadtuk 90 ml Ringer oldathoz. Ebből hígítási sort készítettünk, ileum minta esetén  $10^5$ , caecum minta esetén  $10^7$  nagyságrendig. A megfelelő hígításokból (ileum:  $10^1$ ,  $10^3$ ,  $10^4$ ,  $10^5$ , caecum  $10^3$ ,  $10^5$ ,  $10^6$ ,  $10^7$ ) 1-1 ml-t Petri-csészébe pipettáztunk, erre a megfelelő táptalajból 15 ml-t öntöttünk, annak 50 °C-ra való hűlése után, és finoman elegyítettük vele. Majd még egy réteg táptalajt öntöttünk a penészedés megakadályozására. A mintákat állandó hőmérsékleten inkubáltuk, (27 °C) és a telepeket 2 nap után számoltuk meg. Az enzimaktivitás vizsgálatokat a mintavétel másnapján végeztük el. Az  $\alpha$ -amiláz aktivitás meghatározását Dahlqvist (1962), a lipáz aktivitást Schön et al. (1961), a tripszin aktivitást Kakade et al. (1969) módszere alapján végeztük.

A tenyésztés mellett a vakbél teljes mikrobiális genom meghatározását is elvégeztük 4 kezelés esetében: K, K+VB, BK, BK+VB. A vizsgálatot a Xenovea Kft. végezte. (6726 Szeged, Jobb fasor 23. B. ép.). Kezelésenként 8 állatból vettünk mintát, majd azokat pooloztuk, így kezelésenként 4 ismétlésben történtek a vizsgálatok. A szekvenálási vizsgálatokhoz a vakbél tartalomából steril tárolóba vettünk mintát. A bakteriális DNS kivonása 15 mg-os mintákból az AquaGenomic Kit (MoBiTec GmbH, Göttingen, Németország) segítségével, és a KAPA PureBeads (Roche. Basel. Svájc) segítségével történt, majd további tisztításra kerültek a gyártó protokollja szerint. A genomiális DNS koncentrációját Qubit 3.0 fluorométerrel és Qubit dsDNA HS Assay Kit segítségével mértük (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA). A bakteriális DNS-t jelzett primerekkel amplifikáltuk (F 5'TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGCCTACGGGNGGCWGCAG és R 5'GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGGACTACHVGGGTAT CTAATCC), amely a bakteriális 16S rRNS gén V3 – V4 régióját fedi le (Klindworth et al., 2013). A PCR könyvtárakat számszerűsítettük és minősítettük a High Sensitivity D1000 ScreenTape segítségével a TapeStation 2200 készüléken (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA). A könyvtárak ekvimoláris koncentrációit egyesítettük és szekvenáltuk IlluminaMiSeq platformon,

aMiSeq Reagent Kit v3 (600 ciklus; Illumina Inc., San Diego, CA, USA) 300 bázispár olvasási hosszúságú párosított protokoll használatával.

A nyers szekvenciák analíziséhez a Quantitative Insights Into Microbial Ecology (QIIME2) 2020.2 verziószámú szoftverét használtuk. (Caporaso et al., 2010). Az operatív taxonómiai egységek (Operational Taxonomy Unit; OTU) klaszterezését nyílt referencia-stratégia segítségével végeztük, az OTU-k csoportosítása 97%-os hasonlósági szinten történt Greengenes adatbázis (13.8 verzió) felhasználásával. A taxonómiai azonosítást Ribosomal Database Project (RDP) Naïve Bayes-i osztályozóval (Naïve Bayesian Classifier) 0,8-as konfidencia küszöbértékkel végeztük (Wang et al., 2007).

#### 4.1.5. Hisztomorfológiai vizsgálatok

Csípőből szövetmintákat vettünk a Meckel-diverticulum-tól 1 cm-re a vakbél irányában, valamint a vakbélből a bal vakbélzsák csúcs közeli részéből. A szövetrészeket 2% -os foszfát pufferelt sóoldattal (PBS) mostuk, majd 5% -os foszfáttartalmú formalinnal fixáltuk további tárolás céljából. A feldolgozás sorozatos dehidratálásból, tisztításból és viasz -impregnálásból állt. A szövetmetszeteket 5 µm vastagságban 3 ismétlésben szeleteltük kezelésként 8 madár mintáját felhasználva, így kezelésként 24 metszettel dolgoztunk tovább. A metszeteket mikrotommal vágtuk és tárgylemezre rögzítettük. Rutinszerű festési eljárást végeztünk hematoxylinnel és eozinnal. A lemezeket digitális videokamerával felszerelt Leica DMi8 mikroszkóp alatt (Leica Microsystems CMS GmbH, Wetzlar, Németország) fényképeztük. A képeket a National Institutes of Health (Bethesda, MD, USA) által kifejlesztett ImageJ szoftverrel (1.47 -es verzió) elemeztük. Összesen 10 ép, jól minőségű boholy-kriptaegységet választottunk ki három ismétlésben minden bélmetsetből. Ez csípőből esetén paraméterenként nagyságrendileg 1400, vakbél esetén 700 mérést eredményezett, ami egyedenként  $30 \pm 2$  mérést jelent.

#### 4.1.6. Ürülék minta vizsgálatok

A kísérlet végén minden kezelésből 4 állatot egyedi ketrecbe telepítettünk, ahol az állatok ezt követően ugyanazt a takarmányt fogyasztották, amit a kísérlet teljes ideje alatt. Az ürülék mintavételt 3 napos szoktatási szakasz után végeztük, ezalatt a madarak hozzászoktak a csepegtető itató használatához. Minden állattól 200 g ( $\pm 1$  g) mintát gyűjtöttünk, amit megfelelő homogenizálás után  $-20$  °C-on fagyasztva tároltunk a további vizsgálatokig.

Meghatároztuk az ürülék minták szárazanyag, pH, összes N, ammónium-N ( $\text{NH}_4^+$ -N) és húgysav-N tartalmát, valamint megmértük az ammónia képződés dinamikáját. Az összes N meghatározása

magyar szabvány szerint (MSZ EN ISO 5983-2) Kjeldahl, blokkroncsolásos/vízgőz-desztillációs módszerrel végeztük Foss-Kjeltec 8400-as fehérjemeghatározó készülékkel. Az ammónium-N meghatározást a Peters és mtsai. (2003) által leírt módszer alapján, a húgysav-N meghatározás Marquardt és mtsai. (1983) módszere alapján, az ammónia mérési vizsgálat pedig Santoso és mtsai. (1999) módszere alapján történt. Az ammónium-N és húgysav-N összegét vettük vizelet nitrogénnek. Az in vitro ammónia felszabadulás méréséhez Draeger X-am 5600 (Drägerwerk AG & Co. KGaA, Lübeck, Németország) készüléket használtunk. Mérés előtt 19 órával a mintákat felolvasztottuk. Ezt követően 50 g ürülmintát mértünk be 1 liter ürtartalmú duplán záródó tartályokba, melyek alsó fedelét átlukasztottuk. A készülék levegőmintavevő csövét a megfelelő időben a tartályba vezettük, majd a lyukat lezártuk. A tartályokba a minták 20 °C-os hőmérséklettel kerültek. Két időpontban végeztünk méréseket: a tartályba kerülés után 1,5 órával, majd 4 órával. A műszer érzékelőjének ammónia mérési tartománya 0-300 ppm. A mintákat a mérések között állandó, 25 °C hőmérsékleten inkubáltuk.

Az ürülékben jelen lévő ureáz enzim termelő baktérium számot a Fujita (2010) munkája alapján a MPN módszerrel (Most Probable Number) becsültük meg ureáz táptalaj (Urea Broth Base, Scharlab) segítségével. Három párhuzamos ismétlésben 10-szeres hígítási sorokat használtunk ( $10^1$ - $10^8$ ) steril foszfáttal pufferolt sóoldat használatával. A vizsgálatot mikrolemezekkel végeztük. A mikrolemezeket szobahőmérsékleten három napig inkubáltuk, mielőtt pozitív vagy negatív karbamid-hidrolízist állapítottunk meg. A reakció miatti színváltozást fluoreszcens mikrolemezleolvasóval (Perkin Elmer Enspire 2300, PerkinElmer, Inc; Waltham, MA, USA) rögzítettük. Sajnos két mintacsoport (BK+VB, BK+TB) kísérleti hiba miatt tönkrement, így ezeket nem tudtuk értékelni.

#### 4.1.7. Statisztikai és bioinformatikai analízis

A termelési paraméterek, az SCFA-k, a pH, a hisztomorfológia, valamint az ürülék vizsgálati eredményeket kéttényezős varianciaanalízissel értékeltük az SPSS 24.0 szoftver segítségével (IBM Corp. 2015). A különbségeket  $p < 0,05$  szinten tekintettük szignifikánsnak, és trendnek tekintettük a  $0,1 > p \geq 0,05$  értékeket. A mikrobiális diverzitást QIIME2 program segítségével értékeltük, majd MicrobiomAnalyst webalapú programmal vizualizáltuk (Dhariwal et al., 2017). A minták fajgazdagságának (alfa-diverzitás) elemzéséhez az ún. ritkítási görbét és különböző diverzitási indexeket (Simpson, Shannon) használtuk.

A vizsgált minták taxonómiai analízise során az eredményeket taxonómiai szintenként értékeltük (törzs, osztály, rend, család, nemzetség). A minták mikrobiális összetételének statisztikai



elemzése MicrobiomAnalyst program segítségével történt. A felül- vagy alulreprezentált OTU-k azonosítására az takarmánykezelések között a edgeR algoritmust alkalmaztuk a differenciál-bőség elemzési módszert használva. A mintákat az OTU-k átlagos gyakorisága alapján alacsony szűrési szekvenciákra (<4) és alacsony variabilitásra (<10%) szűrtük, interkvantilis tartományértékeléssel. Szűrés után az OTU-bőségeket relatív log expresszióval transzformáltuk. A hamis felfedezési arányt (FDR) Benjamini és Hochberg módszerrel számítottuk ki, és a 0,05-nél kisebb q-értékeket tekintettük statisztikailag szignifikánsnak. A mikrobiális taxonok számát az összes 16S rRNS génszekvencia százalékában fejeztük ki.

## **4.2. Második kísérlet**

### **4.2.1. Állatok és kezelések**

Az állatok tartási és kísérleti körülményei megegyeztek az előző kísérletben leírtakkal. A kísérlet engedélyszáma MÁB-9/2019. Ennek során egy kontroll és három kezelési csoportot alkalmaztunk, kezelésként 6 ismétléssel, ami 6 ketrecet jelent, amelyekben 24 állat került elhelyezésre. Az alkalmazott kezelések: kukorica-, szójaalapú kontroll táp (K), búzaalapú + búzakorpa-kiegészítést tartalmazó táp (B), kontroll táp Broilact kiegészítéssel (BR), kontroll táp szimbiotikus kiegészítővel (SZ). Az indító, nevelő és befejező etetési fázisok időtartama a következő volt: 1-10., 11-24. és 25-40. A tápok összetételét és táplálóanyag tartalmát a 5. és 6. táblázat tartalmazza.

5. táblázat: A kísérleti tápok összetétele (g/kg)

Összetétel	Indító (1 - 10 nap)			Nevelő (11 - 24 nap)			Befejező (25 - 40 nap)		
	K és Br	B	SZ	K és Br	B	SZ	K és Br	B	SZ
Kukorica	431	140	425	488	166	480	547	229	540
Búza	-	300	-	-	300	-	-	300	-
Búzakorpa	-	30	-	-	60	-	-	60	-
Extrahált szójadara	464	410	464	412	353	412	358	307	358
Napraforgó olaj	56	68	56	58	77	58	55	65	55
Takarmánymész	18	18	18	15	15	15	14	14	14
Monokalcium-foszfát	16	16	16	15	14	15	14	13	14
L-lizin	2	3	2	1	2	1	1	2	1
DL-metionin	4	4	4	3	3	3	3	2	3
L-threonin	-	1	-	1	1	1	0,5	0,5	0,5
L-valine	-	1	-	-	0,5	-	-	0,5	-
NaCl	3	3	3	3	3	3	3	3	3
NaHCO <sub>3</sub>	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Premix <sup>1</sup>	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Fitáz <sup>2</sup>	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
NSP bontó enzim <sup>3</sup>	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Probiotikum <sup>4</sup>	-	-	0,4	-	-	0,4	-	-	0,4
Inulin <sup>5</sup>	-	-	5	-	-	5	-	-	5
Élesztő <sup>6</sup>	-	-	0,05	-	-	0,05	-	-	0,05
<b>Összes</b>	<b>1000</b>	<b>1000</b>	<b>1000</b>	<b>1000</b>	<b>1000</b>	<b>1000</b>	<b>1000</b>	<b>1000</b>	<b>1000</b>

(K) kontroll kezelés, (Br) Broilact kezelés, (B)-búzás kezelés, (Sz)-szimbiotikum kezelés<sup>1</sup> Premix összetétel: (/kg takarmány; UBM Kft. Pilisvörösvár, Magyarország): retinol acetát – 5,0 mg, kolikalciferol – 130 µg, dl-alfa-tokoferol-acetát – 91 mg, menadion – 2,2 mg, tiamin – 4,5 mg, riboflavin – 10,5 mg, piridoxin HCL – 7,5 mg, cianokobalamin – 80 µg, niacin – 41,5 mg, pantoténsav – 15 mg, folsav – 1,3 mg, biotin – 150 µg, betain – 670 mg, Ronozyme® NP – 150mg, monensin-Na – 110 mg (csak nevelő), narazin – 50 mg (csak indító), nikarbazin – 50 mg (csak indító), antioxidáns – 25 mg, Zn (ZnSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O) – 125 mg, Cu (CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O) – 20 mg, Fe (FeSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O) – 75 mg, Mn (MnO) – 125 mg, I (KI) – 1,35 mg, Se (Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub>) – 270 µg; <sup>2</sup> Quantum Blue® 5G (AB Vista, Marlborough, Wiltshire, SN8 4AN, Anglia) <sup>3</sup> Econase® XT 25P (AB Vista, Marlborough, Wiltshire, SN8 4AN, Anglia) <sup>4</sup> GalliPro® 200 (Bacillus subtilis, DSM17299 bacteriumtörzs; 1,6x10<sup>6</sup> CFU/g, Biochem Ltd., Küstermeyerstrasse 16. 49393 Lohne, Németország) <sup>5</sup> Orafti® HSI (Beneo Ltd., Aandorenstraat 1, B. 3300 Tienen, Belgium) <sup>6</sup> Levucell® SB20 (Saccharomyces cerevisiae boulardii, 2x10<sup>10</sup> CFU/g, Lallemand Ltd., Ottakringer Str. 89, A-1160 Bécs, Ausztria)

**6. táblázat: A kísérleti tápok mért táplálóanyag tartalma (g/kg)**

Összetétel	Indító (1 - 10 nap)			Nevelő (11 - 24 nap)			Befejező (25 - 40 nap)		
	K és Br	B	SZ	K és Br	B	SZ	K és Br	B	SZ
AMEn (MJ/kg)	12,1	12,2	12,1	12,4	12,4	12,1	12,4	12,0	12,5
Száranyag	903	905	903	898	902	898	897	897	897
Nyersfehérje	243	239	242	223	220	220	197	206	200
Nyerszsír	72	83	75	77	91	78	72	63	84
Nyersrost	38,0	42,3	39,3	31,6	38,9	32,7	33,5	32,8	38,2
Nyershamu	69,6	70,0	69,0	63,9	63,2	64,2	57,5	58,8	58,7
Ca	10,4	10,7	10,4	9,5	9,7	9,5	9,0	9,7	8,2
P	6,9	7,6	7,1	6,8	7,1	6,7	6,7	6,7	7,1
Keményítő	314	308	313	347	323	334	381	372	363

A B kezelés esetében az indító 3%, a nevelő és a befejező táp 6% búzakorpát tartalmazott. A Broilact készítmény (Broilact, Europharmavet Kft., Budapest) SPF-tyúkok vakbélflórájából származó élőcsírás, liofilizált probiotikum-készítmény volt, amelyet a csibék egy és két napos korban begybe fecskendezve kaptak 2 részletben, összesen  $1,25 \times 10^7$  CFU/0,5 ml adagban. A szimbiotikus kezelés 3 készítményt tartalmazott: *Bacillus subtilis*, DSM17299 probiotikus baktériumtörzset (0,4 g/kg,  $1,6 \times 10^6$  CFU/g; Gallipro, Biochem GmbH, Lohne, Németország), inulint (5g/kg, Oratfi HSI, Beneo GmbH, Tienen, Belgium) és élesztőtölgombát (*Saccharomyces cerevisiae boulardii*,  $1 \times 10^9$  CFU/kg Levucell SB 20, Lallemand GmbH., Bécs, Ausztria). A takarmányhoz minden kezelés esetében Econase XT (béta 1-4, endo-xilanáz) enzimet adtunk (AB Vista Ltd., Marlborough, Anglia).

#### 4.2.2. Takarmányok analitikai elemzése

A tápok elemzése megegyezett az első kísérletben leírtakkal.

#### 4.2.3. Termelési paraméterek

A vizsgálat menete megegyezett az első kísérletben leírtakkal.

#### 4.2.4. Béltartalom gyűjtés, valamint Gumboro betegség elleni vér-ellenanyag vizsgálatok

A nevelés 7., 14., 21. és 40. napján kezelésenként 12 állatot CO<sub>2</sub>-gázzal történő kábítását követően a nyak átvágásával kivéztettünk és béltartalom, valamint vérmintát gyűjtöttünk elemzésre. A vért centrifugacsövekben fogtuk fel, 20 percen keresztül állni hagytuk, majd a szérumot hűtött

centrifugában 10 °C-on 10 percen keresztül 5000/perc fordulatszámra elkülönítettük. A szérumot a vizsgálatokig hűtőszekrényben 5 °C-on tároltuk. A gyűjtött szérumminták ellenanyag-titer-meghatározását a VIRION Kereskedelmi és Szolgáltató Bt. végezte ELISA-módszerrel ID Screen – IBD Indirect Kit (IDVet, Grabels, Franciaország) alkalmazásával, ami IgG és IgM antitesteket mér.

#### 4.2.5. A béltartalomról végzett vizsgálatok

Az ileális béltartalom (ileal chymus; IC) és az ilealis nyálkahártya (ileal mucosa, IM) mintákat egy 10 cm hosszú vékonybél szakaszból vettük, 3 cm -rel a Meckel diverticulum után. A vakbél béltartalom mintát (caecal chymus; CC) a bal oldali zsákból vettük. A csípő- és vakbél-tartalmat óvatosan, a bél szerkezetének károsodása nélkül toltuk ki steril tárolóba körülbelül 2 g mennyiségben, majd steril szélesztőbotokkal homogenizáltuk. Ezt követően az ileális szakaszt steril, jéghideg foszfátpuffer oldattal (PBS) lemostuk a béltartalom eltávolítása érdekében, majd a nyákot sterilizált üveglappal lekapartuk a bélhám belső faláról. A mintákat homogenizáltuk, majd az összes mintát azonnal lefagyasztottuk folyékony nitrogénben, és körülbelül - 80 °C-on tároltuk a vizsgálatokig. A DNS kivonás előtt mintavételi helyenként a 12 mintából ugyanazon ketrec két madarának mintáját egyesítettük. Ennek eredményeként az egyes bélszegmensek mikrobióta elemzését 6 ismétlésben végeztük (Xenovea Kft., 6726 Szeged, Jobb fasor 23. B. ép.). Emellett a Broilact készítmény tényleges mikroba összetételét is meghatároztuk. A vizsgálat menete az első kísérletben leírtaknak megfelelően történt. A 16S rRNS metagenomikai elemzés nyers szekvenciaadatait a Nemzeti Biotechnológiai Információs Központ (NCBI) szekvenciaolvasási archívumában helyeztük el, a PRJNA723698 BioProject azonosító alatt.

#### 4.2.6. Ürülék-minta vizsgálatok

A ketrecek aljára nejlonfóliát terítettünk. Ilyen módon minden ketrecből körülbelül 200 g friss ürüléket gyűjtöttünk, amit megfelelő homogenizálás után -20 °C-on fagyasztva tároltuk a további vizsgálatokig. Meghatároztuk az ürülék minták szárazanyag, összes N, ammónium-N és húgysav-N tartalmát, valamint megmértük az ammónia képződést. A mérések az első kísérletnek megfelelően történtek. Az ammónia felszabadulás mérését friss mintákból végeztük, mely során 50 g ürülék-mintát mértünk be 1 liter ürtartalmú duplán záródó tartályokba. Öt időpontban végeztünk méréseket, a tartályba kerülés után 1, 2, 4, 15 és 17 órával.

#### 4.2.7. Statisztikai és bioinformatikai analízis

A termelési paraméterek valamint ürülékminták vizsgált paramétereit kéttényezős varianciaanalízissel elemeztük SPSS 24.0 szoftver (IBM Corp. Released 2015) segítségével, mely során Tukey tesztet használtunk. A szekvenciákat a Quantitative Insights Into Microbial Ecology 2 (QIIME2), 2020.2 verziójú szoftvercsomag (Bolyen et al., 2019) segítségével elemeztük, további feldolgozásunk megegyezett az első kísérlet során leírtakkal. A szekvenciákat operatív taxonómiai egységekbe (OTU) csoportosítottuk vsearch algoritmus nyílt referencia klaszterezéssel, 97% -os hasonlóság alapján a SILVA (132. kiadás) referencia-adatbázissal (Quast et al, 2013). Az alfa-diverzitás-mutatókat (Chao1, Shannon és Simpson) és a béta-diverzitás-mutatókat (Bray – Curtis dissimilarity) a QIIME2-diverzitás és a Calypso (San Francisco, CA, USA) online szoftver (8.84. Verzió; Zakrzewski et al., 2017) segítségével becsültük meg, ami mintánként 1000 szekvenciára ritkult. A Chao1 indexet a fajgazdagság becslésére; a Shannon és Simpson indexeket pedig a fajok sokféleségének jelzésére használtuk. A béta-diverzitás-elemzést a mintacsoportok faji sokféleség béli különbségeinek összehasonlítására használják. A minták közötti bakteriótaközösség szerkezetének különbségeinek vizsgálatához a Calypso online szoftver segítségével végeztünk fő koordináta-elemzést (PCoA) Bray–Curtis módszerrel. A baktériumközösségek közötti eltérések vizsgálatához hasonlósági számítás elemzést végeztünk el (ANOSIM) 999 permutációval. A statisztikai elemzést az SPSS statisztikai szoftver 24.0 verziójával (IBM Corp. Released 2015) és a Calypso programmal végeztük. Az alfa diverzitás mutatóit és a bakterióta összetételt különböző taxonómiai szinteken és különböző bélmintákban (IC, IM és CC) kéttényezős varianciaanalízis segítségével hasonlítottuk össze Tukey HSD teszt használatával, ahol a fő tényezőkként a takarmánykezeléseket (K, B, Br és Sz) és a madarak életkorát (7, 14, 21 és 40 napos) alkalmaztuk. Az egyes mintavételi időpontokat alkalmazó takarmánykezeléseket egytényezős varianciaanalízissel is értékeltük. Az adatok normalitását (Shapiro – Wilk -teszt) és a varianciák homogenitását (Levene -teszt) a statisztikai tesztek lefuttatása előtt ellenőriztük, amihez Benjamini – Hochberg hamis felfedezési arány (BH-FDR) korrekciót (FDR p-érték) használtuk. A szignifikáns különbségnek az FDR  $p < 0,05$  értéket, míg az 0,05 és 0,10 közötti értéket trendnek tekintettük.

## 5. Eredmények és azok megbeszélése

### 5.1. Első kísérlet

#### 5.1.1. Termelési paraméterek

A termelési paraméterek egyikében sem okoztak változást a kísérleti kezelések az sem indító, sem a nevelő, sem a befejező takarmányozási fázisban (7. táblázat).

7. táblázat: A kezelések hatása a termelési paraméterekre.

Kezelés	Testtömeg	Takarmány- fogyasztás	Testtömeg- gyarapodás	Tak. értékesítés (kg/kg)	N
<i>kg</i>					
<b>K</b>	2,468	4,036	2,427	1,66	4
<b>K+VB</b>	2,515	4,141	2,474	1,67	4
<b>K+TB</b>	2,460	4,037	2,419	1,66	4
<b>BK</b>	2,481	3,982	2,440	1,63	4
<b>BK+VB</b>	2,516	4,070	2,475	1,64	4
<b>BK+TB</b>	2,493	4,016	2,452	1,63	4
<b>Takarmány hatása</b>					
<b>K</b>	2,481	4,071	2,440	1,66	12
<b>BK</b>	2,497	4,023	2,456	1,63	12
<b>Probiotikumok hatása</b>					
<b>K</b>	2,474	4,009	2,434	1,64	8
<b>VB</b>	2,515	4,105	2,474	1,66	8
<b>TB</b>	2,476	4,027	2,436	1,65	8
Átlag szórása	0,069	0,138	0,014	0,02	
<i>p-érték</i>					
<b>Takarmány</b>	0,605	0,289	0,608	0,253	
<b>Probiotikum</b>	0,482	0,279	0,487	0,867	
<b>Takarmány x probiotikum</b>	0,909	0,872	0,911	0,978	

(K) kontroll, (K+VB) vajsavtermelő probiotikum -  $2,5 \times 10^9$  CFU/kg, (K+TB) tejsavtermelő probiotikum -  $5 \times 10^9$  CFU/kg, (BK) búzakorpa, (BK+VB) búzakorpa+ vajsavtermelő probiotikum, (BK+TB) búzakorpa+ tejsavtermelő probiotikum

Ez az eredmény összhangban van több, korábbi búzakorpa, vagy búzakorpából származó arabinoxilánok (Li et al., 2018) és *C. butyricum* (Zhao et al., 2017; Takahashi et al., 2018) valamint *L. farciminis* (Durna Aydın et al., 2021) kiegészítést alkalmazó kísérletek eredményeivel, amiket baromfival végeztek. Azonban ezzel ellentétes eredményeket is publikáltak *L. farciminis* (El-

Kelawy *et al.*, 2017) és *C. butyricum* esetében is, ahol a kezelések kísérletünkkel ellentétben javították a termelési paramétereket (Zhang *et al.*, 2011a; Yang *et al.*, 2012). Hasonlóan búzakorpa esetén is vannak e tekintetben olyan eredmények, ahol a kezelés javította a takarmányértékesítést (Courtin *et al.*, 2008).

### 5.1.2. Hisztomorfológiai eredmények

A búzakorpa etetése minden kombinációban növelte az csípőbél kripta mélységet (P=0,002), az izomréteg vastagságot (P=0,002) és csökkentette a bélboholy:kripta arányt (P=0,037). A búzakorpa kiegészítés továbbá megnövelte a vakbélben is a kripta mélységét (p = 0,001), míg a *C. butyricum* és *L. farciminis* kiegészítés nem befolyásolta azt (8. táblázat).

**8. táblázat: A kísérletben alkalmazott kezelések hatása a csípőbél és a vakbél hisztomorfológiai paramétereire.**

Kezelés	Vékonybél				Vakbél		
	Boholy hossz	Kripta mélység	Boholy:kripta arány	Izomréteg vastagság	N	Kripta mélység	N
<i>μm</i>							
<b>K</b>	765,8	137,5	5,6	119,6	6	65,6	8
<b>K+VB</b>	874,2	141,3	6,3	111,3	5	74,4	8
<b>K+TB</b>	745,0	129,0	5,8	109,2	6	68,9	8
<b>BK</b>	753,0	170,3	4,4	161	6	93,7	8
<b>BK+VB</b>	869,4	151,4	5,8	127	5	95,5	8
<b>BK+TB</b>	745,6	159,2	4,7	132	5	102,3	8
<b>Takarmány hatása</b>							
<b>K</b>	787,0	136,3 <sup>b</sup>	5,9 <sup>a</sup>	113,6 <sup>b</sup>	17	69,7 <sup>b</sup>	24
<b>BK</b>	797,9	160,9 <sup>a</sup>	4,9 <sup>b</sup>	141,3 <sup>a</sup>	16	94,6 <sup>a</sup>	24
<b>Probiotikumok hatása</b>							
<b>K</b>	759,4	153,9	5,0	140,3	12	79,7	16
<b>VB</b>	872,0	145,9	6,0	118,4	11	85,7	16
<b>TB</b>	745,3	144,1	5,25	120,6	10	85,6	16
<b>Átlag szórása</b>	29,76	4,08	0,22	4,56		3,304	
<i>p-érték</i>							
<b>Takarmány</b>	0,927	<b>0,002</b>	<b>0,037</b>	<b>0,001</b>		<b>0,000</b>	
<b>Probiotikum</b>	0,203	0,496	0,165	0,102		0,612	
<b>Takarmány x probiotikum</b>	0,996	0,369	0,758	0,323		0,650	

(K) kontroll, (K+VB) vajsavtermelő probiotikum -  $2,5 \times 10^9$  CFU/kg, (K+TB) tejsavtermelő probiotikum -  $5 \times 10^9$  CFU/kg, (BK) búzakorpa, (BK+VB) búzakorpa+ vajsavtermelő probiotikum, (BK+TB) búzakorpa+ tejsavtermelő probiotikum. Az <sup>a,b</sup> jelzések az átlagok közötti szignifikáns különbséget jelölik ( $p < 0,05$ ). A statisztikailag szignifikáns értékek félkövér betűvel vannak szedve.

A takarmányban és a bél mikroflórájában bekövetkezett bármilyen változás megváltoztathatja a brojlerecsirkék gyomor-bél traktusának morfológiáját (Yang et al., 2007). Jelen kísérletben egyik probiotikum sem befolyásolta a bél morfológiát. Ennek oka legalább részben az optimális tartási körülmények mellett az lehetett, hogy egy baktériumfaj nem okoz lényeges változást a mikróbaösszetételben. Jelen vizsgálatunkban a brojlerek búzakorpával történő kiegészítése jelentősen csökkentette a bélboholy:kripta arányt, növelte a kripta mélységét és növelte az izomréteg vastagságát a csípőbélben ( $P < 0,05$ ). A jelenlegi eredményekkel ellentétben egy korábbi tanulmányban még a 10%-os búzakorpa kiegészítés sem befolyásolta a bélmorfológiára vonatkozó eredményeket (Li et al., 2018). Hasonló eredményt kaptak Chen és mtsai. (2013) is, akik nem tudtak kimutatni szignifikáns hatást a bélmorfológiában 10%-os búzakorpa kiegészítés esetén sertésekben. A mélyebb kripták a bélszövetek intenzívebb regenerálódási folyamatait jelezhetik annak érdekében, hogy lehetővé tegyék a bolyhok szükség szerinti megújulását a kórokozók vagy toxinjaik által okozott normális leválás vagy gyulladás, valamint a szövetek nagy igénybevétele és kopása esetén (Yason et al., 1987). A mélyebb kripták gyorsabb szöveti regenerálódásra utalnak (Awad et al., 2009). Montagne és mtsai. (2003) szerint a táplálékban lévő rostok hatása a bélhám anatómiájára és szerkezeti fejlődésére attól függ, hogy az élelmi rostok képesek-e növelni az emésztőrendszer viszkozitását. A nagy rosttartalmú béltartalom a lumenben növelheti a bélbolyhok felületén lévő epitél sejtek kopását. Ez a jelenség kapcsolatban van a megnövekedett kriptamélységgel. Chiou és mtsai. (1996) kísérletet végeztek a különböző élelmi rostforrások libák bélmorfológiájára gyakorolt hatására vonatkozóan. Az ileális és a vakbél izomréteg vastagsága szignifikánsan vastagabb volt a cellulóz tartalmú takarmánnyal etetett libákban, mint a lucernaliszttal, árpahéjjal, rizshéjjal, ligninnel vagy pektinnel etetett állatokban. Han és mtsai. (2017) szerint a 7,52%-os takarmány rosttartalom vastagabb izomréteget okozott, mint az 1,46%-os vagy 9,03%-os rostot tartalmazó táp a kacsákban. A takarmány áthaladási sebessége általában nő a takarmány rosttartalom növekedésével (Ferket and Veldkamp, 1999). Vékonyabb izomréteget figyeltek meg hozamfokozó antibiotikum-kiegészítés esetén (Ferket et al., 2002b), továbbá különböző eredetű rostok alkalmazásakor (Molnár et al., 2015). Kísérletünkben a 6%-os búzakorpa-kiegészítés vastagabb izomréteget eredményezett a vékonybélben. Ez utalhat a bélperisztaltika fokozódására. Eredményeink szerint a búzakorpa-kiegészítés mélyebb vakbél-kriptákat is eredményezett, ami intenzívebb bélhám regenerálódásra utal.

### 5.1.3. Enzimaktivitás, rövid szénláncú zsírsavak (SCFA) és a vakbél pH mérési eredmények

Sem a búzakorpa, sem a *C. butyricum* és *L. farciminis* kiegészítés nem befolyásolta szignifikánsan a vékonybélben az enzimaktivitást (9. táblázat). Hasonlóan egyik kezelés sem eredményezett



változást a vakbél pH értékében, az acetát, a butirát, a valeriánsav, az összes SCFA koncentrációjának tekintetében, valamint az acetát/butirát arányban. Korábbi tanulmányok kimutatták, hogy a *C. butyricum* kiegészítés növekedést serkentő hatása legalább részben a megnövekedett vakbél SCFA termelésnek tulajdonítható (Yang et al., 2012). Ez a megállapítás magyarázhatja azt a tényt, hogy a *C. butyricum* kiegészítés növekedést serkentő hatása miért nem jelentkezett kísérletünkben. A probiotikumokkal végzett kísérletek eredményeit befolyásolja, hogy a probiotikus készítményekben található baktériumok milyen mértékben hatnak a vékonybélben és milyen arányban jutnak el a vakbélbe.

**9. táblázat: A kísérlet során alkalmazott kezelések hatása a éhbél enzimaktivására.**

<b>Kezelés</b>	<b>Tripszin</b>	<b>Lipáz</b>	<b>Amiláz</b>	<b>N</b>
	<i>mE/mg fehérje<sup>1</sup></i>			
<b>K</b>	81,546	0,112	5,725	8
<b>K+VB</b>	52,750	0,083	4,093	8
<b>K+TB</b>	83,479	0,187	5,536	8
<b>BK</b>	79,941	0,168	7,187	8
<b>BK+VB</b>	63,166	0,135	3,396	8
<b>BK+TB</b>	95,797	0,168	3,585	7
<b>Takarmány hatása</b>				
<b>K</b>	72,591	0,127	5,117	24
<b>BK</b>	78,932	0,156	4,771	23
<b>Probiotikumok hatása</b>				
<b>K</b>	80,743	0,139	6,455	16
<b>VB</b>	57,958	0,108	3,744	16
<b>TB</b>	89,227	0,178	4,625	15
<b>Átlag szórása</b>	5,83	0,01	0,63	
<i>p-érték</i>				
<b>Takarmány</b>	0,548	0,320	0,758	
<b>Probiotikum</b>	0,084	0,168	0,084	
<b>Takarmány x probiotikum</b>	0,868	0,509	0,548	

(K) kontroll, (K+VB) vajsavtermelő probiotikum -  $2,5 \times 10^9$  CFU/kg, (K+TB) tejsavtermelő probiotikum -  $5 \times 10^9$  CFU/kg, (BK) búzakorpa, (BK+VB) búzakorpa+ vajsavtermelő probiotikum, (BK+TB) búzakorpa+ tejsavtermelő probiotikum; mE: mili Egység

A vakbél fontos szerepet játszik a víz- és elektrolit felszívódásban. A bakteriális fermentáció fő helyszíne is az utóbél, valamint itt a legnagyobb baktériumsűrűség is a bélszakaszok közül (Svihus et al., 2019). Az utóbélben zajló bakteriális fermentáció fő végtermékei a rövid szénláncú zsírsavak, amelyek számos módon befolyásolják a bél mikroflórát. Ezek a vegyületek antimikrobiális és gyulladásgátló tulajdonságokkal rendelkeznek, és elősegítik a hámsejtek

prolifrációját (Rinttilä and Apajalahti, 2013). Csak néhány tanulmány vizsgálta a *C. butyricum* kiegészítés hatását a vakbél SCFA koncentrációjára csirkékben. Han és mtsai. (2018) megemelkedett vakbél-acetát-koncentrációt írtak le brojlerek *C. butyricummal* kiegészített táppal történő etetésekor. A vakbélben megnövekedett acetát-, butirát- és teljes SCFA koncentrációról számoltak be Zhang és mtsai. (2011b). Ebben a két kísérletben a csirkéket rácspadozaton tartották, ami lényegesen különbözött a saját kísérletünktől, ahol búzaszalma almot használtunk.

**10. táblázat: A kísérlet során alkalmazott kezelések hatása a vakbél tartalom pH értékére, valamint SCFA tartalmára.**

Kezelés	vakbél pH	Ecetsav	Propion-sav	Vajsav	Valerián-sav	Összes SCFA	Acetát/Vajsav arány	N
<i>μmol/g</i>								
<b>K</b>	6,61	38,9	8,90	11,6	1,03	61,5	3,71	7
<b>K+VB</b>	6,57	41,1	8,07	12,8	1,06	64,0	3,37	7
<b>K+TB</b>	6,63	39,8	8,90	12,5	1,07	63,2	3,40	6
<b>BK</b>	6,50	43,5	10,7	11,3	1,11	67,8	4,22	8
<b>BK+VB</b>	6,52	37,5	6,58	11,1	0,95	57,0	3,65	6
<b>BK+TB</b>	6,64	44,5	9,45	14,2	1,20	70,5	3,26	6
<b>Takarmány hatása</b>								
<b>K</b>	6,58	40,0	8,49	12,2	1,04	62,8	3,54	20
<b>BK</b>	6,51	41,9	8,49	10,6	0,99	62,9	3,96	20
<b>Probiotikumok hatása</b>								
<b>K</b>	6,54	42,2	9,45	10,9	1,03	64,7	3,97	15
<b>VB</b>	6,55	39,5	7,39	12,0	1,01	60,8	3,50	13
<b>TB</b>	6,64	42,1	9,2	13,38	1,13	66,92	3,33	12
<b>Átlag szórása</b>	0,05	2,20	0,55	1,00	0,07	3,3	0,19	
<i>p-érték</i>								
<b>Búzakorpa probiotikum</b>	0,535	0,589	0,763	0,966	0,725	0,689	0,481	
<b>Búzakorpa x probiotikum</b>	0,960	0,807	0,082	0,598	0,618	0,625	0,226	
<b>Búzakorpa x probiotikum</b>	0,883	0,550	0,334	0,686	0,623	0,490	0,692	

(K) kontroll, (K+VB) vajsavtermelő probiotikum -  $2,5 \times 10^9$  CFU/kg, (K+TB) tejsavtermelő probiotikum -  $5 \times 10^9$  CFU/kg, (BK) búzakorpa, (BK+VB) búzakorpa+ vajsavtermelő probiotikum, (BK+TB) búzakorpa+ tejsavtermelő probiotikum;

### 5.1.3. Bélmikrobióta vizsgálati eredmények

#### 5.1.3.1. Baktérium tenyésztési vizsgálat eredményei

Sem a vékonybélben, sem a vakbélben nem eredményezett statisztikailag kimutatható változást egyik takarmánykezelés sem a *Lactobacillus* és coliform számok tekintetében (11. táblázat).

**11. táblázat: A kísérlet során alkalmazott kezelések hatása a csípőbél *Lactobacillus* valamint vakbél *Lactobacillus* és coliform baktériumszámra.**

Kezelés	Vékonybél <i>Lactobacillus</i> szám	Vakbél <i>Lactobacillus</i> szám	Vakbél coliformszám	N
<i>log CFU/g</i>				
<b>K</b>	5,65	7,37	4,89	6
<b>K+VB</b>	6,12	7,85	5,08	8
<b>K+TB</b>	5,37	8,03	5,00	8
<b>BK</b>	5,79	7,75	4,63	8
<b>BK+VB</b>	5,82	8,00	5,36	8
<b>BK+TB</b>	5,86	8,01	5,26	8
<b>Takarmány hatása</b>				
<b>K</b>	5,71	7,79	5,00	22
<b>BK</b>	5,82	7,92	5,09	24
<b>Probiotikumok hatása</b>				
<b>K</b>	5,72	7,59	4,74	14
<b>VB</b>	5,97	7,93	5,22	16
<b>TB</b>	5,62	8,02	5,13	16
<b>Átlag szórása</b>	0,13	0,12	0,13	
<i>p-érték</i>				
<b>Búzakorpa</b>	0,685	0,497	0,735	
<b>Probiotikum</b>	0,547	0,296	0,386	
<b>Búzakorpa x probiotikum</b>	0,494	0,806	0,684	

(K) kontroll, (K+VB) vajsavtermelő probiotikum -  $2,5 \times 10^9$  CFU/kg, (K+TB) tejsavtermelő probiotikum -  $5 \times 10^9$  CFU/kg, (BK) búzakorpa, (BK+VB) búzakorpa+ vajsavtermelő probiotikum, (BK+TB) búzakorpa+ tejsavtermelő probiotikum.

Korábbi, *C. butyricummal* végzett kísérletekben brojlercsirkék esetében pozitív eredményeket kaptak a súlygyarapodás, a csípőbél *Lactobacillus* száma, a hisztomorfológiai mutatók, a hús minősége, a zsírsavprofil és az immunrendszer tekintetében. Ezek során azt tapasztalták, hogy hatására csökkent a coliform szám és növekedett a lactobacillusok száma a vakbélben. (Zhang et al., 2011a; b; Yang et al., 2012; Gao et al., 2012; Zhao et al., 2013). Ez esetben a kiegészítés koncentrációja  $3 \times 10^7$  CFU/kg volt. Kimutatták, hogy a *C. butyricum* növeli az n-vajsav koncentrációját a madarak vakbelében (Zhang et al., 2011a), tolerálja az alacsony pH-t, így

takarmány-kiegészítőként hatékonyan alkalmazható (Kong et al., 2010). Ez egy gram-pozitív anaerob baktérium, amely egészséges állatok bélrendszerében és a talajban egyaránt megtalálható. Vizsgálatunkban a *C. butyricum* kiegészítés kis mértékben csökkentette az emésztőenzim aktivitást. Számos kutatás bemutatta, hogy egyes probiotikumként használt lactobacillus fajok növelik az egyes bélszakaszok lactobacillus számát (Li et al., 2020). A *L. farciminis* probiotikus baktériumfaj ilyen hatására nem találtunk kutatási eredményeket. Egy fürjekkel folytatott kísérletben megvizsgálták a *L. farciminis* kiegészítés hatását a teljesítményre, a vér antioxidáns kapacitására és a vakbél rövid szénláncú zsírsav (SCFA) koncentrációjára. A termelési paraméterek esetében szintén nem találtak változást, azonban az ecetsav, izokapronsav valamint összes SCFA tekintetében jelentős javulást detektáltak (Durna Aydin et al., 2021). Ezzel ellentétben egy brojlerekkel végzett kísérlet során kapott eredmények azt mutatták, hogy a *L. farciminis* javította a testtömeggyarapodást, a takarmányértékesítést, valamint a nyersfehérje, nyersrost emészthetőségét is (El-Kelawy et al., 2017). A jelen tanulmányban ezt nem sikerült kimutatni, a kiegészítésként alkalmazott *L. farciminis* sem a termelési paramétereket, sem az ileális *Lactobacillusok* számát, sem a bélmorfológiai paramétereket nem befolyásolta. Az eredmények közötti különbség részben abból adódik, hogy különbségek vannak a probiotikus baktériumfajok koncentrációjában. Kísérletünkben a gyakorlatban alkalmazott koncentrációt használtuk.

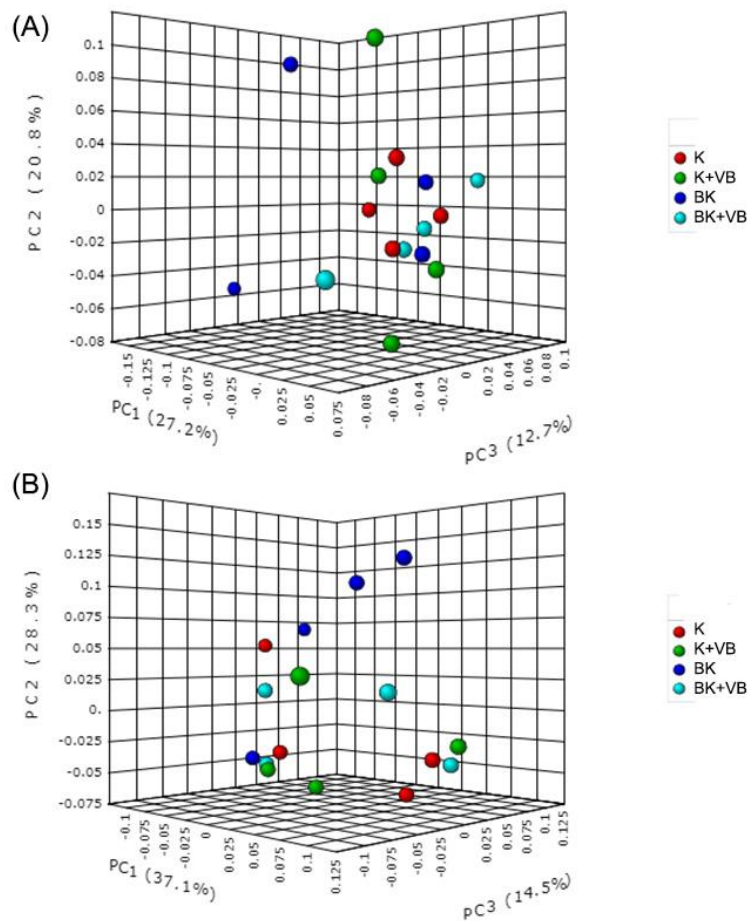
#### 5.1.3.2. A bél mikrobióta szekvenálási vizsgálatának eredményei

A 16 minta szekvenálása 667 737 minőség-ellenőrzött szekvenciát eredményezett, átlagos mintánként 41 733 szekvenciaszámmal. A szekvenciákat 655 taxonómiai egységbe (OTU) csoportosítottuk. Az átlagos szekvenciaszám a kontroll (K) csoport esetében 43.192, a *C. Butyricum* (K+VB) kezelés esetében 40.636, a búzakorpa (BK) kezelés esetében 38.512 és a búzakorpa + *C. butyricum* (BK+VB) kezelés esetében 44.594 voltak. A filterezést követően 343 OTU-val dolgoztunk tovább, amelyeket 7 törzsbe, 11 osztályba, 15 rendbe, 21 családba és 19 nemzetségbe soroltunk be. Az ACE a Shannon és Simpson indexek felhasználásával hasonló fajgazdagságot állapítottunk meg a négy csoport esetében (12. táblázat). Takarmánykezelések közötti eltéréseket ( $p \geq 0,172$ ) nem lehetett kimutatni. OTU szinten a vakbél tartalom mikrobiális közösségének összetételében nem találtunk különbséget a kezelések súlyozatlan (3A. ábra,  $p < 0,975$ ) vagy súlyozott (3B. ábra,  $p < 0,378$ ) UniFrac távolságelemzésével sem.

**12. táblázat: A 40 napos brojlercsirkék vakbél tartalmából mintáiból származó OTU számok és diverzitási indexek.**

Kezelés	OTU szám	ACE index	Shannon index	Simpson index
K	296	297	3,13	0,82
K+VB	300	300	3,12	0,82
BK	274	275	3,05	0,84
BK+VB	297	299	3,14	0,84
Átlag szórása	4,66	4,62	0,05	0,01

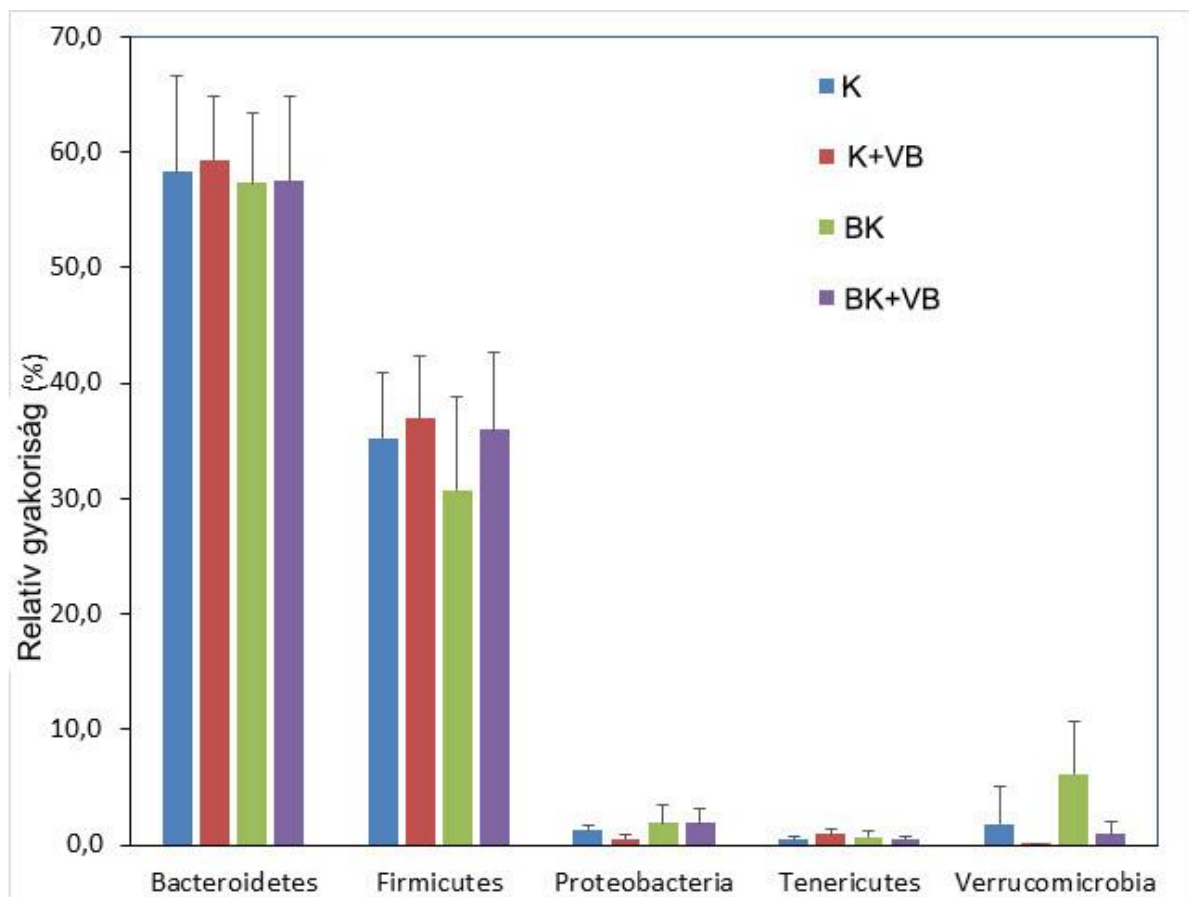
(K) kontroll, (K+VB) vajsavtermelő probiotikum –  $2,5 \times 10^9$  CFU/kg, (BK) búzakorpa, (BK+VB) búzakorpa+vajsavterelő probiotikum.



**3. ábra.** A béta diverzitás alakulása a búzakorpával és probiotikummal kiegészített takarmányokon nevelt brojlercsirkék bélcsövében.

Az ábrák a súlyozatlan (A) és súlyozott (B) UniFrac elemzést mutatják be. (K) kontroll, (VB) vajsavtermelő probiotikum –  $2,5 \times 10^9$  CFU/kg, (BK) búzakorpa, (BK+VB) búzakorpa+vajsavterelő probiotikum.

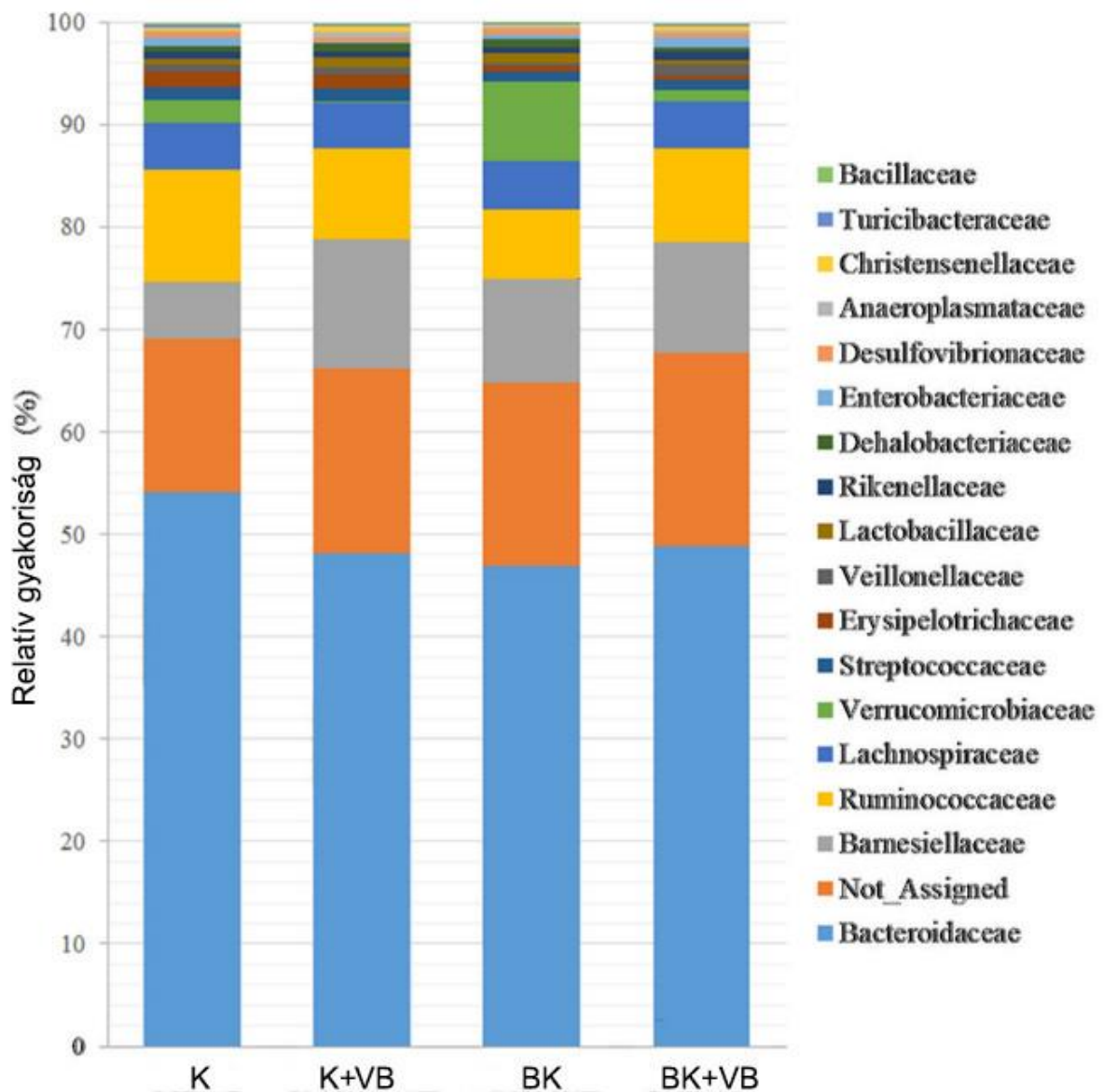
Minden takarmányozási kezelés esetében hét baktériumtörzset azonosítottunk, amelyek közül a *Bacteroidetes*, a *Firmicutes*, a *Proteobacteria*, a *Verrucomicrobia* és a *Tenericutes* volt a leggyakoribb (4. ábra). Az öt törzs a vizsgált baktériumpopuláció több mint 95,1% -át képviselte. A *Firmicutes* és *Bacteroidetes* arány 0,37 és 0,69 között változott a mintákban, ebben ez a négy takarmánykezelés összehasonlításakor nem volt különbség. A *Verrucomicrobia* törzs esetében megfigyelhető volt a takarmánykezelés hatása. A törzs relatív gyakorisága a *C. butyricum* kiegészítést fogyasztó csoportban kisebb volt, mint az összes többi csoport esetében ( $p=0,001$ ), ami arra utal, hogy gátló hatást gyakorolhatott erre a baktériumtörzsrre. A búzakorpa kiegészítés azonban láthatóan ellensúlyozta azt.



**4. ábra.** A 40 napos brojlercsirkék vakbélben előforduló baktériumtörzsek relatív gyakorisága (%) a vizsgált takarmányozási csoportokban.

Az ábra adatok az átlagértékeket és a hozzá tartozó szórást mutatják. (K) kontroll, (K+VB) vajsavtermelő probiotikum –  $2,5 \times 10^9$  CFU/kg, (BK) búzakorpa, (BK+VB) búzakorpa + *C. Butyricum* probiotikum.

Hasonlóképpen, a bakteriális összetétel család szinten sem különbözött a kezelések hatására, kivéve a *Verrucomicrobiaceae* családot ( $p = 0,001$ ). A három leggyakoribb család a *Bacteroidaceae* (49,5%), a *Barnesiellaceae* (9,8%) és a *Ruminococcaceae* (8,9%) volt (5. ábra). Az 1%-ot meghaladó relatív gyakoriságot mutató családok közé tartozott a *Lachnospiraceae* (4,6%) és a *Verrucomicrobiaceae* (2,8%) is.



**5. ábra.** A baktériumcsaládok relatív gyakorisága a brojlercsirkék vakbél tartalmában 40 napos korban.

(K) kontroll, (K+VB) vajsavtermelő probiotikum –  $2,5 \times 10^9$  CFU/kg, (BK) búzakorpa, (BK+VB) búzakorpa+vajsavtermelő probiotikum.

Nemzetség szintjén áttekintve a 16 minta 19 nemzetségből állt, amelyek közül hat relatív gyakorisága haladta meg az 1%-ot. Ez a hat nemzetség a kontrollcsoport teljes

baktériumpopulációjának több mint 64,0%-át, a takarmánykiegészítőt tartalmazó csoportok 56,7% -át képviselte. Nemzetség szintjén a *Bacteroides*, *Oscillospira*, *Akkermansia*, *Faecalibacterium*, *Ruminococcus* és *Streptococcus* baktériumok voltak jelen a legnagyobb gyakorisággal a kontroll, búzakorpa és búzakorpa + *C. butyricum* csoportokban, míg az *Akkermansia* nemzetség szinte eltűnt a *C. butyricum* csoportból (6. táblázat). Az *Akkermansia* nemzetség relatív gyakorisága alacsonyabb volt a VB csoportban, mint a többi csoportban ( $p=0,003$ ), és gyakorisága csökkent a BK+VB csoportban a BK csoporthoz képest ( $p = 0,043$ ). Más nemzetségek között nem találtunk szignifikáns eltérést ( $p \geq 0,05$ ). A kezelések tendenciálisan befolyásolták az *Anaerotruncus* nemzetség relatív bőségét, ami a kontrollcsoportnál volt a legmagasabb, a VB csoportnál pedig a legalacsonyabb (13. táblázat).

**13. táblázat: A baktérium nemzetségek relatív gyakorisága 40 napos brojlersirkék vakbél tartalmában.**

	K	K+VB	BK	BK+VB	St. Hiba	p-érték	q-érték
<i>Bacteroides</i>	54,1	48,1	46,8	48,9	2,37	0,865	0,956
<i>Oscillospira</i>	2,57	1,91	1,43	2,12	0,201	0,521	0,956
<i>Akkermansia</i>	2,17 <sup>a,b</sup>	0,02 <sup>c</sup>	7,77 <sup>a</sup>	1,17 <sup>b</sup>	1,071	<0,001	<b>0,004</b>
<i>Faecalibacterium</i>	2,09	1,88	0,77	1,72	0,25	0,936	0,956
<i>Ruminococcus</i>	1,83	1,5	1,33	1,78	0,143	0,667	0,956
<i>Streptococcus</i>	1,24	1,37	0,9	0,91	0,181	0,813	0,956
<i>Lactobacillus</i>	0,55	0,89	0,94	0,42	0,142	0,469	0,956
<i>Dehalobacterium</i>	0,52	0,71	0,77	0,51	0,1	0,606	0,956
<i>Anaeroplasma</i>	0,11	0,6	0,24	0,31	0,086	0,016	0,106
<i>Clostridium</i>	0,2	0,17	0,31	0,32	0,04	0,895	0,956
<i>Coprococcus</i>	0,24	0,16	0,22	0,22	0,022	0,43	0,956
<i>Butyricicoccus</i>	0,31	0,16	0,18	0,19	0,027	0,133	0,663
<i>Turicibacter</i>	0,27	0,23	0,14	0,17	0,028	0,856	0,956
<i>Anaerotruncus</i>	0,41	0,06	0,2	0,09	0,065	0,007	0,072
<i>Blautia</i>	0,2	0,19	0,12	0,15	0,019	0,956	0,956

Az <sup>a,b</sup> jelzések az átlagok közötti szignifikáns különbséget jelölik. (K) kontroll, (K+VB) vajsavtermelő probiotikum, (BK) búzakorpa, (BK+VB) búzakorpa+vajsavtermelő probiotikum –  $2,5 \times 10^9$  CFU/kg. A q-érték a hamis felfedezési arány (FDR), a p-érték korrekciója Benjamini-Hochberg módszerrel ( $q < 0,05$ ).

A statisztikailag szignifikáns értékek félkövér betűvel vannak szedve.

A jelen tanulmányban alkalmazott szekvenciaanalízis szerint a csirke vakbél tartalmában igen magas (50-62%) *Bacteroidetes* dominanciát találtunk törzs szinten. Számos, a csirke vakbél



mikrobiótával foglalkozó tanulmány írt le *Firmicutes* dominanciát (49,0–96,0%) (Oakley et al., 2014; Waite and Taylor, 2015; Mohd Shaufi et al., 2015; Awad et al., 2016; Crisol-Martínez et al., 2017; Siegerstetter et al., 2017), de Xiao és mtsai. (2017) a kísérletünkhöz hasonló eredményeket közöltek. Nemzetség szinten Xiao és mtsai. (2017) és a jelen tanulmány eredményei egyaránt a *Bacteroides* nemzetség dominanciáját mutatják (40-50% relatív gyakoriság, törzs: *Bacteroidetes*). Más tanulmányokkal (Oakley et al., 2014; Mohd Shaufi et al., 2015; Awad et al., 2016; Siegerstetter et al., 2017) összevetve ez a dominancia jelentősnek tűnik, tekintettel a csirke vakbél-mikrobióta nagy változatosságára vágási életkorban. A tartási körülmények részben magyarázhatják az eltérő eredményeket, mivel a fent említett kísérleteket rácspadozatos, faforgácsos vagy ismeretlen alomanyaggal rendelkező ketrecekben végezték. A *Bacteroides* nemzetség tagjai általában egészséges állatok bélrendszerében, felső légúti és nemi szerveiben található meg, amelyek rendelkeznek immunstimuláló hatással is. Egyes *Bacteroides* nemzetséghez tartozó fajok új potenciális probiotikum jelöltek (Tan et al., 2019). A bél vérkeringésének parciális oxigén nyomása és redox potenciálja szintén magyarázatul szolgálhat a *Bacteroidetes/Bacteroides* magas előfordulására. Wei és mtsai. (2013) arra a következtetésre jutottak, hogy az alacsonyabb parciális oxigén nyomást és redoxpotenciált eredményező tényezők hozzájárultak a szigorú anaerob baktériumok, például a *Bacteroides* és a *Faecalibacterium* magasabb kolonizációs arányához. Érdekes módon az *Oscillospira* nemzetség nem szerepel a legdominánsabb nemzetségek között a csirke vakbélben (Wei et al., 2013; Mohd Shaufi et al., 2015; Pandit et al., 2018). Kolonizációja a lassú áthaladási sebességgel hozható összefüggésbe, mivel az *Oscillospira* fajok lassan növekvő baktériumok (Gophna et al., 2017). A jelen tanulmányban megfigyelt további domináns nemzetségek mellett a *Ruminococcus*-ról ismert, hogy részt vesz a poliszacharidok lebontásában és hasznosításában (Xiao et al., 2017), míg a *Faecalibacterium* jól ismert butiráttermelő, és gyulladásgátló hatást is mutat (Miquel et al., 2013). Megállapították, hogy a *Ruminococcus* és a *Faecalibacterium* a csirke vakbél domináns nemzetségei közé tartoznak (Wei et al., 2013). Korábbi *in vitro* vizsgálatokból (D'hoë et al., 2018) és *in vivo* csirkekísérletekből (Feng et al., 2020) ismert, hogy a búzakarpa bifidogén hatású. Kísérletünkkel ellentétben mindkét vizsgálat olyan mikrobióta közösséget vizsgált, ahol inkább a *Firmicutes* törzs volt az uralkodó, kevésbé a *Bacteroidetes*. Kísérletünkben a *Bacteroides* nemzetség volt a *Bacteroidetes* törzs fő képviselője. Ez a nemzetség erőteljes táplálóanyag-hasznosítási képességekkel rendelkezik, különösen a komplex poliszacharidok tekintetében. Ezenkívül antimikrobiális peptid szekréciója, szintén támogatja a *Bacteroidetes* törzs jobb ökológiai alkalmazkodó képességét a *Firmicutes* törzshöz képest (Tan et al., 2019). Míg a *Firmicutes* tagjai L-fruktóz-izomeráz enzimet expresszálnak, addig a *Bacteroidetes* tagjai döntően

xilóz-izomezázt (Polansky et al., 2016). A bélmikrobióta összetétele köztudottan befolyásolja a különféle takarmány összetevők használatának sikerességét, biológiai hozzáférhetőségét (Vázquez-Baeza et al., 2018). Így a *Bacteroidetes* törzs dominanciája valószínűleg korlátozta a búzakorpa és a *C. butyricum* kiegészítés korábban publikált lehetséges pozitív hatását a vakbél mikrobiomra. Ezen túlmenően a jelen vizsgálat eredményei azt mutatták, hogy a *C. butyricum* kiegészítésben részesült csirkékben a *Verrucomicrobia* törzs és azon belül is az *Akkermansia* nemzetség relatív gyakorisága csökkent a csirke vakbél tartalomában. Ugyanakkor a búzakorpa kiegészítés ellensúlyozta a *C. butyricum* gátló hatását. Kísérletünkben az *Akkermansia* nemzetség volt a *Verrucomicrobia* törzs egyetlen tagja a csirke vakbélben. Ez a baktérium a közelmúltban azonosított, gyakori tagja az emlősök bélmikrobiomjának, és pozitív egészségügyi hatásokhoz kötik (Zhou, 2017; Pruss et al., 2020). Egereken végzett vizsgálatok azt mutatják, hogy az *Akkermansia* bősége fordítottan korrelál számos betegséggel, és takarmányozási technikákkal fokozható a gyakorisága (Zhou, 2017; Geerlings et al., 2018). Az *Akkermansia* behatol és megtelepszik a bél nyálkahártyában, így fontos szerepet játszik a nyálkaréteg integritásának fenntartásában. Fő fermentációs termékei az acetát és a propionát (Geerlings et al., 2018). Kísérletünkben a vakbél propionát koncentrációja a búzakorpa csoportban volt a legnagyobb, a *C. butyricum* csoportban pedig kisebb, ami megfelelt az *Akkermansia* fermentációs aktivitásának. Egereken végzett vizsgálatok során pozitív korrelációt (Jia et al., 2017) vagy korrelációt egyáltalán nem mutató (Chen et al., 2019) eredményeket kaptak *C. butyricum* és az *Akkermansia* előfordulása között bélsár mintákban. Néhány közlemény tartalmaz adatokat az *Akkermansia* jelenlétéről csirke vakbélben; azonban keveset tudunk a bél egészségével való kapcsolatáról. Az *Akkermansia* csirke vakbélben való megtelepedése és a súlygyarapodás (Han et al., 2016) vagy a csirkék takarmányozásértékesítése (Yan et al., 2017) közötti összefüggéseket két vizsgálatban írták le, eredményeik azonban ellentmondásosak. Tudomásunk szerint csak egy csirkével végzett vizsgálat mutatott ki változást a vakbél *Akkermansia* gyakoriságában (Lin et al., 2017). Ez a tanulmány *Bacillus licheniformis* kiegészítést tartalmazott a *Clostridium perfringens* fertőzést követően. Az *Akkermansia* gyakorisága 1% alatt volt, míg kísérletünkben magasabb *Akkermansia* gyakoriságot figyeltünk meg (átlagosan 2,8%), ami jobban hasonlított az emlősöknél tapasztaltakhoz (Li et al., 2020; Pruss et al., 2020). Kísérletünkben a búzakorpás kezelést tartalmazó takarmánnyal etetett csirkékben volt a legmagasabb az *Akkermansia* gyakorisága, azonban a különbség nem volt szignifikáns. A búzakorpa-kiegészítésnek az *Akkermansia* gyakoriságára gyakorolt jótékony hatását egerekben leírták (Suriano et al., 2017), csirkékben azonban a dolgozat szerzőjének tudomása szerint még nem. Összevetve a baktérium tenyésztés és szekvenálás eredményeit látható, hogy a két vizsgálat eredményei megegyeznek abban a tekintetben, hogy a vakbélben a

*Lactobacillus* és coliform fajok számát sem a búzakorpa, sem a *C. butyricum* kiegészítéssel nem lehetett befolyásolni.

#### 5.1.4. Az ürülékvizsgálat eredményei

Az egyes kezelések nem befolyásolták szignifikánsan a csirkék összes N ürítését. Hasonlóan Jeong és mtsai. eredményeihez (2014) akik *B. subtilis*-sel kiegészített takarmányt etettek brojlercsirkékkel, nem tudtunk kimutatni szignifikáns különbségeket a húgysav-N és az összes N-tartalom esetében a kezelések között. A kontroll és búzakorpa (BK) tartalmú táp etetése után statisztikailag szignifikáns különbségeket csak az ürülék  $\text{NH}_4^+$ -N tartalmában találtunk ( $p = 0,024$ ), mely szerint a BK kezelés alacsonyabb  $\text{NH}_4^+$ -N koncentrációt eredményezett az ürülékben (14. táblázat). Santos és mtsai. (2019) hasonló eredményeket értek el az  $\text{NH}_4^+$ -N csökkenésére vonatkozóan, rizs és szójababhéj etetésekor. Az ammónium-N ammóniává történő átalakulását a pH is befolyásolja, mivel savas pH-n az ammónia nagy része ammóniumionokká alakul (Aarnink and Verstegen, 2007). Az táplálékban lévő rost mennyiségének növelése a takarmányban növeli az SCFA képződését a vakbélben, ami csökkentheti a béltartalom pH-ját (Wathes, 1998), azonban kísérletünkben az ürülék pH-ja nem magyarázza ezt az eredményt. A tejsavtermelő (TB,  $p < 0,099$ ) és vajsavtermelő (VB) probiotikum kezelés pedig szignifikánsan növelte ( $p = 0,012$ ) az ürülék szárazanyag-tartalmat a kontroll kezeléshez képest. A két fő tényező között (probiotikum-takarmány hatás) egyik paraméternél nem volt szignifikáns kölcsönhatás. Korábbi, lovakkal végzett vizsgálatainkban (Such et al., 2017) hasonló eredményt kaptunk a bélsár szárazanyag-tartalmára vonatkozóan probiotikummal történő kezelést követően. Ez lényeges eredmény ammónia felszabadulás szempontjából, hiszen az istállóban az ammónia képződését közvetlenül olyan tényezők szabályozzák, mint a pH, a hőmérséklet és az alom nedvességtartalma (Elliott and Collins, 1982). Az ürülék szárazanyag-tartalmának növekedése pozitív hatással van az alom minőségére, ami baromfi esetén csökkentheti a talpfekély előfordulását, valamint nagymértékben befolyásolja az ammónia felszabadulását (Brouček and Čermák, 2015).

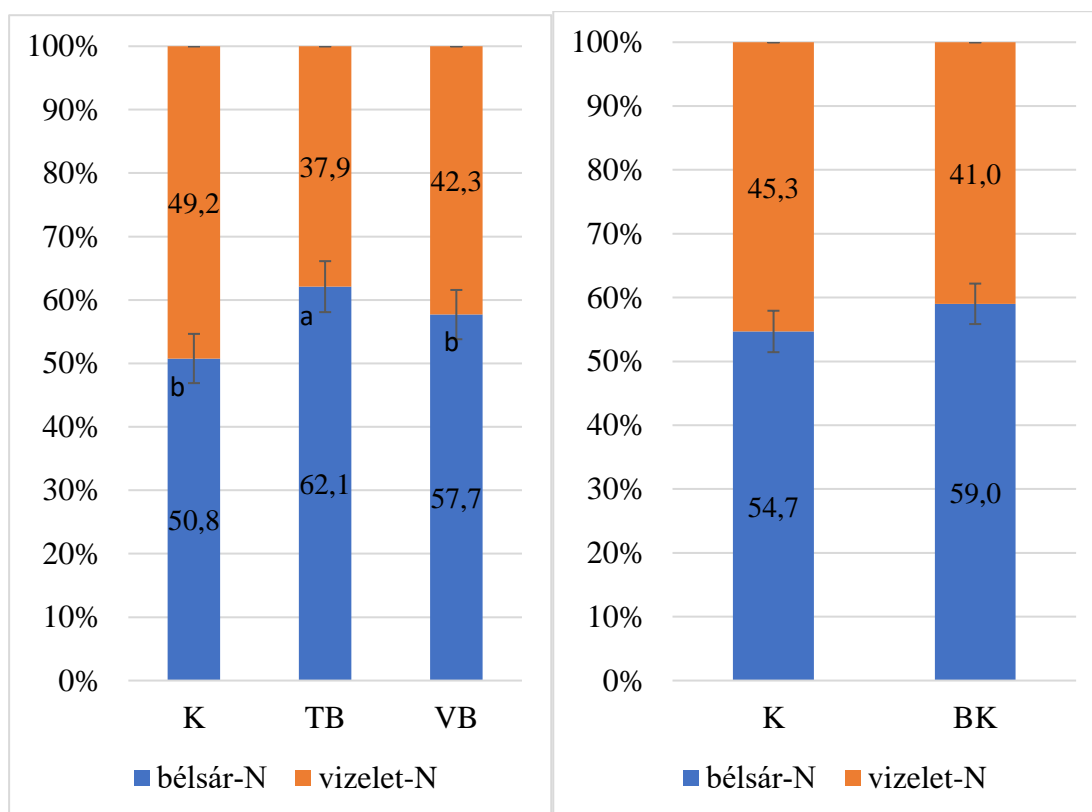
**14. táblázat: Az ürülékminták pH-ja és az ürített N kémiai formáinak alakulása brojlercsirkékben.**

Kezelés	Összes N	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N	húgysav-N	pH	Szárz- anyag	N
	mg/g szárazanyag				%	
K	47,02	5,03	18,10	6,43	22,07	8
K+TB	55,05	6,08	14,48	6,07	25,20	7
K+VB	50,35	4,51	17,63	6,24	25,78	8
BK	53,13	4,69	16,96	6,21	20,74	8
BK+TB	48,53	3,68	13,85	6,20	25,88	8
BK+VB	50,58	3,62	13,18	6,31	28,86	8
Probiotikumok hatása						
K	50,07	4,86	17,53	6,32	21,45 <sup>a</sup>	16
TB	51,57	4,80	14,14	6,14	25,56 <sup>ab</sup>	15
VB	50,46	4,06	15,41	6,28	27,32 <sup>b</sup>	16
Takarmány hatása						
K	50,62	5,17 <sup>a</sup>	16,83	6,26	24,31	23
BK	50,75	4,00 <sup>b</sup>	14,66	6,24	25,35	24
<i>Átlag szórása</i>	<i>2,74</i>	<i>0,27</i>	<i>0,84</i>	<i>0,03</i>	<i>0,85</i>	
<i>p-érték</i>						
Takarmány	0,992	<b>0,024</b>	0,226	0,915	0,313	
Probiotikum	0,979	0,273	0,224	0,168	<b>0,012</b>	
Takarmány x probiotikum	0,827	0,128	0,875	0,170	0,412	

Az <sup>a,b</sup> jelzések az átlagok közötti szignifikáns különbséget jelölik ( $p < 0,05$ ). A statisztikailag szignifikáns értékek félkövér betűvel vannak szedve. (K) kontroll, (K+VB) vajsavtermelő probiotikum -  $2,5 \times 10^9$  CFU/kg, (K+TB) tejsavtermelő probiotikum -  $5 \times 10^9$  CFU/kg, (BK) búzakorpa, (BK+VB) búzakorpa + vajsavtermelő probiotikum, (BK+TB) búzakorpa + tejsavtermelő probiotikum

A 6. ábra azt mutatja, hogy mindkét probiotikum növelte az ürülékben a bélsár, és csökkentette vizelet N -tartalmát, de csak a tejsavtermelő baktérium és a kontroll kezelések közötti különbség volt szignifikáns. A kontrollcsoporthoz képest a különbség 11% és 7% volt a tejsavtermelő és a vajsavtermelő probiotikumot tartalmazó kezeléseknél. A búzakorpa tartalmú takarmány etetése nem változtatta meg az ürülék és a vizelet N arányát a kontrollkezelés madaraihoz képest, ami azt sugallja, hogy a sertéshez képest a N-tartalmú vegyületek aránya az baromfi ürülékben kevésbé változik. Roberts és mtsai. (2007) kimutatták, hogy tojótáp kiegészítése DDGS-sel (Distillers Dried Grains with Soluble), búzával vagy szójabab héjjal, csökkentette a trágyából felszabaduló ammónia mennyiségét, de nem befolyásolta a kiválasztott vizelet és bélsár-N arányát. Kísérletükben ezek a kiegészítések többnyire strukturális rostot tartalmaztak. A madaraknak viszonylag rövid a vastagbelük és rövid tartalmának retenciós ideje is, ami azt jelenti, hogy rövidebb az idő a bakteriális bontáshoz. Továbbá csak az oldható, és csak kis mennyiségű

rostfrakció jut el a vakbélbe, így az ott zajló fermentációnak az ürülék N -összetételére gyakorolt hatása az említett vizsgálatban nem okozott változást. Tudomásunk szerint vizsgálatunk az első, amely bizonyítja, hogy a *L. farciminis* tejsavtermelő probiotikum a bélsár N arányát a baromfifajoknál megnövelheti a vizeletnitrogénhez viszonyítva. Kísérletünkben a probiotikum kezelések csökkentették a vizelet N arányát az ürülékben. Ennek az eredménynek a háttere az lehet, hogy mind a vajsav, mind a tejsav csökkenti a vakbél pH értékét, és ily módon gátolja a vakbél mikroflóra proteázaktivitását. Ez kisebb mértékű NH<sub>3</sub> képződést jelent a vakbélben és ezáltal kevesebb ammónia recirkulációt a májba. Ez kisebb mértékű húgysavszintézist és vizelet N ürítést eredményez (Macfarlane and Cummings J.H., 1991; Wutzke et al., 2010; Cloetens et al., 2013), amely jól alátámasztja az ide vonatkozó eredményeinket. Az alacsonyabb vizelet-N kiválasztás együtt jár a kisebb vízfelvétellel, ami magasabb szárazanyag-tartalmat okoz az ürülékben (Dirk Van Der Klis and De Lange, 2013). Brojlercsirkék esetében még nem publikáltak ilyen probiotikum kölcsönhatást.



**6. ábra.** A kezelések hatása a bélsár és vizelet N arányára.

Az <sup>a,b</sup> jelzések az átlagok közötti szignifikáns különbséget jelölik ( $p < 0,05$ ). (K) kontroll, (K+VB) vajsavtermelő probiotikum -  $2,5 \times 10^9$  CFU/kg, (K+TB) tejsavtermelő probiotikum -  $5 \times 10^9$  CFU/kg, (BK) búzaborpa, (BK+VB) búzaborpa+ vajsavtermelő probiotikum, (BK+TB) búzaborpa+ tejsavtermelő probiotikum.

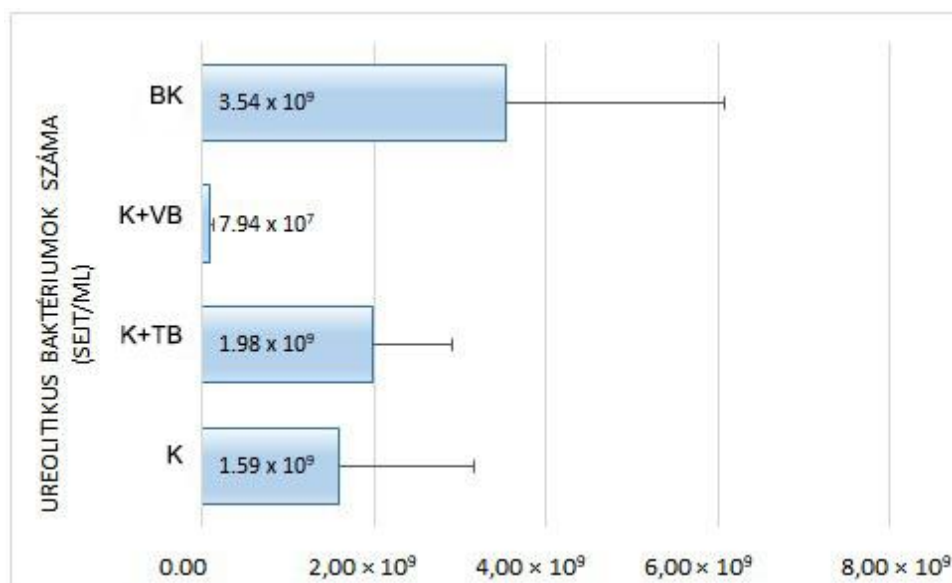
A kezelések nem befolyásolták jelentősen az NH<sub>3</sub> felszabadulását az ürülékből 1,5 óra elteltével, a probiotikumok és a búzakorpa azonban tendenciálisan növelte azt (15. táblázat). Szignifikáns kölcsönhatás volt megfigyelhető a probiotikumot és búzakorpás kezelést tartalmazó takarmányokkal etetett madarak között. Ennek oka az volt, hogy a tejsavtermelő probiotikum etetése a kontroll takarmányhoz adva növelte, a búzakorpa kiegészítéshez adva csökkentette az ammónia termelődését az ürülékből. A 4 órás mérési időpontnál a búzakorpa hatás már szignifikáns volt. Ennek oka lehetett az, hogy a búzakorpa nagy mennyiségben tartalmaz oldható, nem keményítő típusú szénhidrátokat, legnagyobb részben arabinoxilánokat. Ezek enzimatikus bontását követően olyan xilán-oligoszacharidok jönnek létre, amelyek prebiotikus hatásúak, a vakbélbe jutva növelik a butirátermelést és csökkentik a vakbél tartalom pH-ját (Molnár et al., 2015). A kísérletünkben történt szignifikáns növekedést a következőkben bemutatott ureáztermelő baktériumszám vizsgálata magyarázhatja.

**15. táblázat: A probiotikum és búzakorpa kezelések hatása az ürülékből képződő ammónia emissziójára 1,5 és 4 óra elteltével 40 napos brojlercsirkék esetében.**

Kezelések	1,5 óra	4 óra	N
	mg/l		
K	3,71	30,28	7
TB	9,87	38,75	7
VB	5,92	33,21	4
BK	8,91	43,58	6
BK+TB	4,1	42,44	6
BK+VB	9,33	42,41	5
Probiotikumok hatása			
K	6,31	36,93	13
TB	6,98	39,92	13
VB	7,63	37,81	9
Takarmány hatása			
K	6,50	34,08 <sup>a</sup>	18
BK	7,40	42,36 <sup>b</sup>	17
<i>Átlag szórása</i>	<i>0,89</i>	<i>1,85</i>	
<i>p-érték</i>			
Probiotikum	0,805	0,803	
Takarmány	0,593	<b>0,029</b>	
Probiotikum×Takarmány	<b>0,048</b>	0,493	

Az <sup>a,b</sup> jelzések az átlagok közötti szignifikáns különbséget jelölik ( $p < 0,05$ ). A statisztikailag szignifikáns értékek félkövér betűvel vannak szedve. (K) kontroll, (K+VB) vajsavtermelő probiotikum -  $2,5 \times 10^9$  CFU/kg, (K+TB) tejsavtermelő probiotikum -  $5 \times 10^9$  CFU/kg, (BK) búzakorpa, (BK+VB) búzakorpa+ vajsavtermelő probiotikum, (BK+TB) búzakorpa+ tejsavtermelő probiotikum;

Az ureáztermelő baktériumszám tekintetében bár nagy eltéréseket tapasztalhatunk az átlagok között, ezek a különbségek nem voltak szignifikánsak a magas szórások miatt (7. ábra). Látható azonban, hogy a búzakorpat fogyasztó csoportban az ureáztermelő baktériumok száma körülbelül kétszer akkora volt, mint a kontroll vagy tejsavtermelő probiotikumot fogyasztó kezelési csoportokban. A vajsavtermelő probiotikum kezelés statisztikailag nem igazolhatóan csökkentette ezt a paramétert.



**7. ábra.** A probiotikum és búzakorpa kezelések hatása az ürülékben jelen lévő ureolitikus baktériumok számára 40 napos brojlersírkék esetében.

(K) kontroll, (VB) vajsavtermelő probiotikum –  $2,5 \times 10^9$  CFU/kg, (TB) tejsavtermelő probiotikum –  $5 \times 10^9$  CFU/kg, (BK) búzakorpa

A korábbi vizsgálatokkal ellentétben (Santoso, U.;Ohtani, S.;Tanaka, K.;Sakaida et al., 1999; Yoon et al., 2004; Hassan and Ryu, 2012; Jeong and Kim, 2014), a kísérletünkben használt probiotikumoknak nem volt statisztikailag szignifikáns hatása az ürülékből felszabaduló ammónia mennyiségére, a búzakorpa kiegészítés azonban jelentősen megnövelte azt. A búzakorpa kiegészítés során megnövekedett ammóniakibocsátást a baktériumflóra anyagcsere-változása okozhatta. A 16S rRNS szekvenálási módszerrel végzett vizsgálatunk szerint a vakbél baktériumflórájának diverzitása hasonlóan mások eredményeihez (Cook et al., 2011; Molnár et al., 2020), nem változott szignifikánsan a búzakorpa hatására, de nemzetség szintjén számos eltérést észleltünk. Ebből messzemenő következtetéseket ugyan nem lehet levonni, mivel Stanley és mtsai. (2015) kimutatták, hogy a baromfi ürülék és vakbél tartalom mikrobiális összetétele nem egyezik meg. Vermeulen és mtsai. (2018) vizsgálatában a búzakorpa-kiegészítés szignifikánsan

növelte a vakbél mikrobióta mennyiségét, Kieffer és mtsai. (2016) azonban leírták, hogy a baktériumflóra metabolikus változása relevánsabb információt szolgáltat, mint annak mennyiségi változása. Tanulmányunkban a búza arabinoxilánjából enzimatis bontás során képződő xilán-oligoszacharidok befolyásolhatták a vakbél mikrobióta mennyiségének és összetételének változását, és ezáltal a trágya flórájának ureázaktivitását. Bár a különbségek nem voltak szignifikánsak, az ürülékben az ureolitikus baktériumflóra száma kétszer magasabb volt a búzakorpa kiegészítéssel kezelt (BK) csoportban. Sok bélben élő baktérium rendelkezik ureázaktivitással, ilyen például a *Bacteroides*, *Bifidobacteria*, *Clostridia*, *Proteus spp.* vagy *Klebsiella spp.* Kimutatták, hogy a takarmányhoz adott probiotikumok elnyomhatják az ureáztermelő baktériumok növekedését (Yeo and Kim, 1997), akár antimikrobiális anyagok termelésével, akár a pH csökkentésével (Endo et al., 1999). Ahmed (2014) és mtsai. kutatásai szerint a *Bacillus amyloliquefaciens* például csökkenti a gasztrointesztinális traktusban az ureáztermelő baktériumok számát.

## **5.2. Második kísérlet**

### **5.2.1. Termelési paraméterek**

E kísérletünkben a búzaalapú és a búzakorpa-kiegészítést tartalmazó táp etetése javította a csirkék termelési eredményeit a kontroll, Broilact és szimbiotikum kezeléssel összehasonlítva. A takarmányfogyasztásban nem volt eltérés a kezelések között, a testtömeggyarapodásban és a fajlagos takarmányértékesítésben azonban a búza alapú kezelés eredményei kedvezőbbek voltak (16-17. táblázat).



**16. táblázat: A kezelések hatása a brojlercsirkék testtömegére és testtömeggyarapodására.**

Kezelés	Testtömeg				Testtömeggyarapodás				N
	0. nap	7. nap	21. nap	40. nap	Indító	Nevelő	Befejező	Teljes	
	g/madár								
K	43	260 <sup>b</sup>	1057 <sup>b</sup>	2397 <sup>b</sup>	217 <sup>b</sup>	797	1340 <sup>b</sup>	2354 <sup>b</sup>	6
B	43	283 <sup>a</sup>	1126 <sup>a</sup>	2553 <sup>a</sup>	239 <sup>a</sup>	843	1427 <sup>a</sup>	2509 <sup>a</sup>	6
Br	43	256 <sup>b</sup>	1065 <sup>b</sup>	2398 <sup>b</sup>	213 <sup>b</sup>	808	1333 <sup>b</sup>	2355 <sup>b</sup>	6
Sz	43	260 <sup>b</sup>	1073 <sup>b</sup>	2441 <sup>b</sup>	217 <sup>b</sup>	812	1369 <sup>b</sup>	2398 <sup>b</sup>	6
Standard hiba	0,07	2,78	9,58	18,57	2,76	7,83	12,69	18,57	
<i>p</i> -érték	0,711	<b>0,000</b>	<b>0,035</b>	<b>0,002</b>	<b>0,000</b>	0,196	<b>0,025</b>	<b>0,002</b>	

(K) kontroll kezelés, (Br) Broilact kezelés -  $1,25 \times 10^7$  CFU/0,5 ml; (B)-búzas kezelés – indító, nevelő, befejező fázis 3, 6, 6%; (Sz)-szimbiotikum kezelés – *B. subtilis*  $1,6 \times 10^6$  CFU/g; inulin 5g/kg; *S. cerevisiae boulardii*  $1 \times 10^9$  CFU/kg; <sup>a, b</sup> Az eltérő betűvel jelzett értékek szignifikáns különbséget jelölnek.

**17. táblázat: A kezelések hatása a brojlercsirkék takarmány-fogyasztására és takarmányértékesítésére.**

Kezelés	Takarmányfogyasztás				Takarmányértékesítés				N
	Indító	Nevelő	Befejező	Teljes	Indító	nevelő	Befejező	Teljes	
	g/madár				kg/kg				
K	302	1420	2299	4020	1,30 <sup>a</sup>	1,58	1,64 <sup>a</sup>	1,59 <sup>a</sup>	6
B	298	1452	2164	3913	1,18 <sup>b</sup>	1,52	1,42 <sup>b</sup>	1,43 <sup>b</sup>	6
Br	304	1451	2284	4038	1,34 <sup>a</sup>	1,59	1,61 <sup>a</sup>	1,58 <sup>a</sup>	6
Sz	290	1443	2293	4026	1,26 <sup>a</sup>	1,57	1,59 <sup>a</sup>	1,55 <sup>a</sup>	6
Standard hiba	2,30	10,41	38,25	42,51	0,01	0,009	0,03	0,10	
<i>p</i> -érték	0,16	0,702	0,574	0,734	<b>0,003</b>	0,090	<b>0,058</b>	<b>0,026</b>	

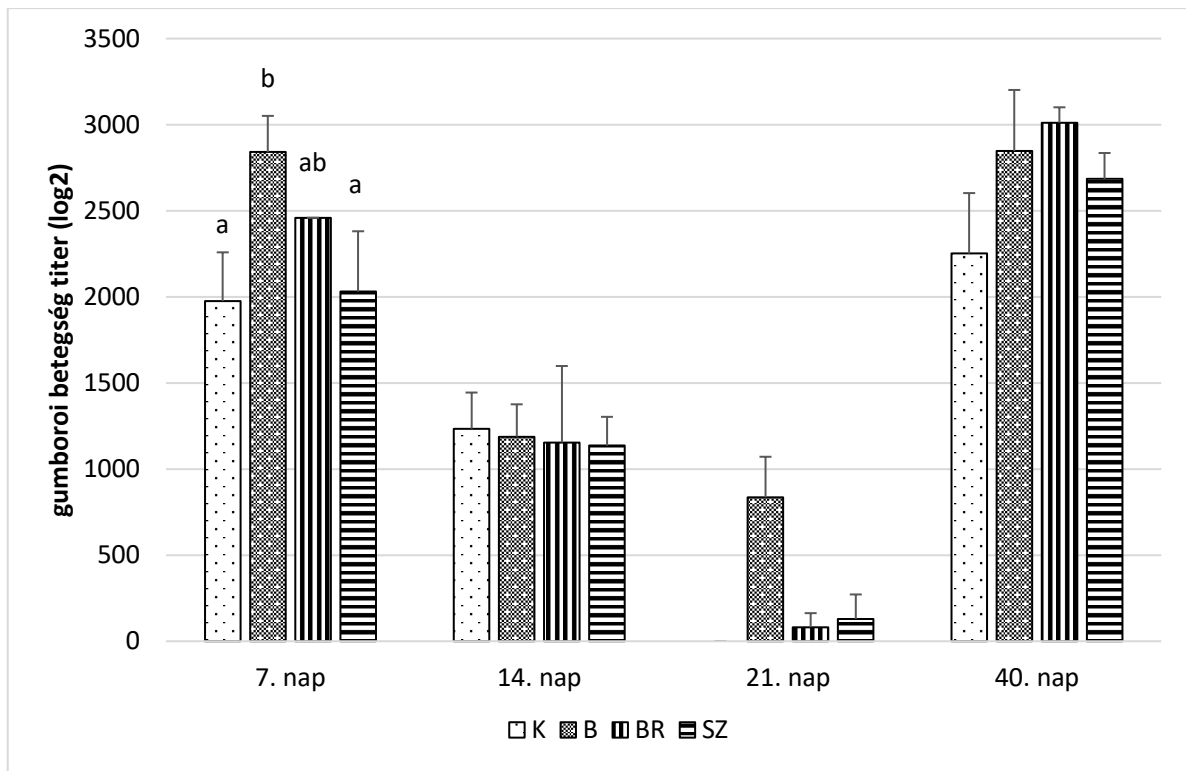
(K) kontroll kezelés, (Br) Broilact kezelés -  $1,25 \times 10^7$  CFU/0,5 ml; (B)-búzas kezelés – indító, nevelő, befejező fázis 3, 6, 6%; (Sz)-szimbiotikum kezelés – *B. subtilis*  $1,6 \times 10^6$  CFU/g; inulin 5g/kg; *S. cerevisiae boulardii*  $1 \times 10^9$  CFU/kg; <sup>a, b</sup> Az eltérő betűvel jelzett értékek szignifikáns különbséget jelölnek.

A termelési paraméterekben, hasonlóan korábbi tanulmányokhoz (Bilal et al., 2000) a Broilact kezelés nem okozott szignifikáns változást a kontroll csoporthoz képest, azonban ellentétben számos kutatással a szimbiotikumot tartalmazó kezelés sem (Gadde et al., 2017). A búza alapú és búzakorpát tartalmazó kezelés javító hatása feltételezhetően annak köszönhető, hogy a búza nagy mennyiségben tartalmaz nem keményítő típusú poliszacharidokat az endospermiumban és a

héjban egyaránt. Ezek döntően arabinoxilánok,  $\beta$ -glükánok, cellulóz és arabinogalaktán-peptidek. A búzában a vízben oldhatatlan és oldódó arabinoxilánok jelentik a legnagyobb rostfrakciót (Parsaie et al., 2007). A vízben oldódó arabinoxilán kedvezőtlen hatása, hogy növeli a béltartalom viszkozitását, rontja a táplálóanyagok emészthetőségét és növeli az ürülék víztartalmát. Exogén enzimekkel, pl. a xilanázzal azonban ezek a negatív hatások nagymértékben csökkenthetők. Az arabinoxilán enzimatis bontását követően a bélben prebiotikus hatású xilán-oligoszacharidok (XOS) is képződnek, amelyek befolyásolják mind a csípőbél, mind a vakbél mikrobiótáját, és növelik a vakbélben a fermentációs tevékenységet (Van Immerseel et al., 2017; Bedford, 2018). A bakteriális fermentációból képződő rövid szénláncú zsírsavak, köztük a vajsav csökkentik a béltartalom pH-ját (Canani et al., 2011). Részben ez lehet az oka, hogy a búzaalapú táp befolyásolta a mikrobióta összetételt, az SCFA termelést és a brojlercsirkék termelési paramétereit (Steenfeldt et al., 1998). Zhenping és mtsai. (2013) vizsgálatában xilán-oligoszacharidok (XOS) hatását mérték a termelési paraméterekre, valamint a H5N1 madárinfluenza-vírus elleni vakcinázás után mérhető antitest szérumszintekre. A termelési paraméterek és a szérum antitestértékek is szignifikánsan javultak a kezelt csoportban a kontroll csoporthoz képest.

#### 5.2.2. A Gumboro betegség elleni ellenanyag szintek alakulása

Az első, a második, valamint harmadik mintavétel időpontjában a vérszérumban mért Gumboro-titer értékek jól mutatják a maternális immunitás mértékét és annak csökkenő tendenciáját (8. ábra). A maternális ellenanyag-titer értékek 7 napos korban medián teszttel vizsgálva szignifikánsan különböztek ( $p = 0,046$ ) a kezelések között. A búza alapú kezelés esetében szignifikánsan nagyobb értékeket kaptunk, mint a kontroll csoportban. A kezelések közötti különbségek 14 napos korban kiegyenlítődtek. A maternális ellenanyagokat ebben az időpontban a vizsgált egyedek 27%-ban már nem lehetett mérni. A 21. napos, 3. mérés időpontjában az egyedek 87%-ában nem volt kimutatható az ellenanyag. Ebben az időpontban is a B kezelésnél tapasztaltuk a legmagasabb értéket, ez a különbség azonban nem volt szignifikáns.



8. ábra. A kezelések hatása a vérplazma Gumboro ellenanyag titer alakulására.

(K) kontroll kezelés, (Br) Broilact kezelés -  $1,25 \times 10^7$  CFU/0,5 ml; (B)-búzas kezelés – indító, nevelő, befejező fázis 3, 6, 6%; (Sz)-szimbiotikum kezelés – *B. subtilis*  $1,6 \times 10^6$  CFU/g; inulin 5g/kg; *S. cerevisiae boulardii*  $1 \times 10^9$  CFU/kg; Az <sup>a,b</sup> jelzések az átlagok közötti szignifikáns különbséget jelölik.

A 40 napos mintavételkor már a humoralis immunválasz hatására kialakult denzitási titerértékeket láthatjuk. A mért értékek minden csoportban a minimális 2000-es érték felett voltak. A legkisebb értékeket a kontroll csoportban kaptuk (2252), a legmagasabb szinteket pedig a Broilact készítménnyel kezelt csoportban mértük (3011). Az átlagok közötti különbségek nem voltak szignifikánsak ( $p = 0,198$ ). A búza, Broilact és szimbiotikum kezelések esetében a 40. napon mért titerértékek variációs koefficiens értékei 19,4 és 20,3% között mozogtak, míg a kontroll csoport esetében a CV meghaladta az 53%-ot (18. táblázat). Ebben a csoportban egy mintában nem volt kimutatható a titerérték, egy esetben pedig jelentősen az átlag alatti szintet kaptunk. Így nem jelenthetjük ki, hogy a kezelés minden egyede szeropozitív volt, ellentétben a három másik csoport állataival. Eredményeink alapján a pre- és probiotikus takarmánykezelések pozitívan befolyásolják az egyedi immunválasz reakciók kiegyenlítetttségét, az állomány védettségének homogenitását.

**18. táblázat: A 40 napos korban vett vérminták Gumboro ellenanyag titer értékei és azok varianciája brojlercsirkék esetében.**

Kezelés	Átlag	Szórás	N	CV%
<b>K</b>	2252	1214	12	53,9
<b>B</b>	2846	579	12	20,3
<b>BR</b>	3011	493	12	16,3
<b>SZ</b>	2684	521	12	19,4
<b>Átlag</b>	2698	791,07	48	29,3

(K) kontroll kezelés, (Br) Broilact kezelés -  $1,25 \times 10^7$  CFU/0,5 ml; (B)-búzas kezelés – indító, nevelő, befejező fázis 3, 6, 6%; (Sz)-szimbiotikum kezelés – *B. subtilis*  $1,6 \times 10^6$  CFU/g; inulin 5g/kg; *S. cerevisiae boulardii*  $1 \times 10^9$  CFU/kg;

Az immunrendszer a szervezet elsődleges védvonalát a betegségekkel szemben. Mind a humoralis, mind a sejtközvetített immunitás fokozása növeli az állat ellenálló képességét. A nagyobb titerértékek esetenként indikátorai lehetnek a hatékonyabb ellenállóképességnek. Takarmányozási szempontból sokkal gazdaságosabb a magasabb titerértékek elérésére törekedni, hiszen a gyulladáshoz vezető válaszreakciók során a szervezet nagy mennyiségű többletenergiát használ fel (Humphrey et al., 2002). Kísérletünk eredményei azt mutatják, hogy takarmányozással is befolyásolhatjuk a veleszületett és a szerzett immunitást. Korábban problémát jelentett a Gumboro-betegség elleni vakcinázás időpontjának megválasztása, ugyanis az élő vírussal végzett vakcinázás után a szerológiai válasz a jelenlévő maternális eredetű ellenanyagoktól is függött. A túl korai, vagy túl késői vakcinázás esetén sem lett tökéletes a szerológiai válasz (Van Leerdam et al., 2001). Brojlerek esetében a maternális ellenanyagok 3–4 hetes kor körül tűnnek el, az ezt követő növekedés már az aktív immunválasznak tulajdonítható (Kecskeméti, 2002). A kísérletünk során alkalmazott Cevac Transmune IBD vakcina tulajdonságai lehetővé teszik, hogy minden madárban a megfelelő időben alakuljon ki a védelem a lépben való felhalmozódása által. A fehérjeburok lebomlásakor felszabadul, és a vérbe jut. A kikelő csibék maternális ellenanyagai ezt semlegesítik, amíg annak mértéke le nem csökken. Ekkor a lépből felszabaduló, védő fehérjével nem fedett vakcinavírus eléri a bursát, felszaporodik és immunválaszt indukál. A jelenleg alkalmazott technológia esetén a magasabb maternális ellenanyagszintekkel kikelő csibéknél ez kb. 24 napos, az alacsonyabb ellenanyagszinteknél kb. 18 napos kor körül történik (Medveczky és Szabó, 2015). Azonban Palya és mtsai. (2009) vizsgálata alapján láthatjuk, hogy az ebben az időszakban mért ellenanyagok mégsem tisztán csak a maternális ellenanyagok mennyiségét mutatják, hiszen a 18. napon történő *in ovo* vakcinázás már a csibe kelése utáni kezdeti időszakban is vált ki immunreakciót, mielőtt az anyai immunitás alacsony szintre csökkenne.

Ismereteink szerint eddig nem végeztek olyan Gumboro-betegséggel kapcsolatos vizsgálatot, ahol xilán-oligoszacharidok hatását vizsgálták az *in ovo* vakcinázás eredményességére. A búzát és búzakorpát fogyasztó csoportnál a maternalis eredetű antitestek lassabb csökkenése azt jelentheti, hogy a kezelés befolyásolta az ellenanyagok felezési idejét (Talebi et al., 2008), valamint feltehetőleg a TLR transzmembrán fehérjék aktivitását (Nawaz et al., 2018). Eszerint az eredmény szerint, a nagyobb oligoszacharid-tartalomnak hatása lehet a veleszületett immunitás időbeni változására. Kísérletünkben az inulint és élesztőt tartalmazó szimbiotikum-kezelésnek nem volt szignifikáns hatása a termelési paraméterekre, az immunológiai folyamatok kiegyenlítetttségét azonban kis mértékben támogatta a kontroll csoport állataival összehasonlítva. Ennek oka az lehet, hogy a fruktóz-polimerek, mint pl. az inulin-típusú fruktánok az állatokban elősegítik az immunsejtek aktivitását (Peshev and Van den Ende, 2014). A kísérletünkben alkalmazott *B. subtilis* DSM17299 baktériumtörzsről Reis és mtsai. leírták, hogy vizsgálatuk során javította a teljesítményt és csökkentette a termelési költségeket (Reis et al., 2017). Más kutatók megállapították, hogy fertőzött állatokban a *B. subtilis* kiegészítés csökkentette a szalmonella mennyiségét, amit a csípőbél és vakbél nyálkahártyában vizsgált immunsejtek megnövekedett infiltrációjával hoztak összefüggésbe (Lourenco et al., 2012). A kísérletünk során a BR elnevezésű takarmányozási csoportnál alkalmazott Broilact készítmény tyúk vakbélből kitenyésztett baktériumokat tartalmazott. Rantala és Nurmi (1973) tanulmánya volt az előfutára számos, a későbbi probiotikumokkal kapcsolatos, a tenyésztett madáreredetű bélflóra felhasználásával készült tanulmánynak a csibék szalmonella-kolonizációjának csökkentése érdekében. Már ekkor leírták, hogy ez a kezelés csökkentheti a gazdaszervezet patogénterhelését. A legújabb vizsgálatok szerint a fiatalkori béltartalom mikrobióta-transzplantációnak hatása van az immunrendszer kialakulására is. Tojó típusú jércékkel végzett vizsgálatok során a mikrobióta-transzplantációt az állatok két héttel a kelést követően kapták, majd a természetes ellenanyagtitereket 5, 10 és 15 hetes korban mérték. A kezelés a bélmikrobiótára nem volt jelentős hatással, de az immunválaszok kialakulására igen. Eredményeik szerint a mikrobióta-transzplantáció potenciálisan befolyásolja az agy, az immunrendszer és a szerotonin-rendszer működését is (Eijk et al., 2020). Ez az eredmény összhangban van vizsgálatainkkal, hiszen 40 napos korban mi is a Broilact-tal kezelt csoport esetében kaptuk a legnagyobb titerértékeket.

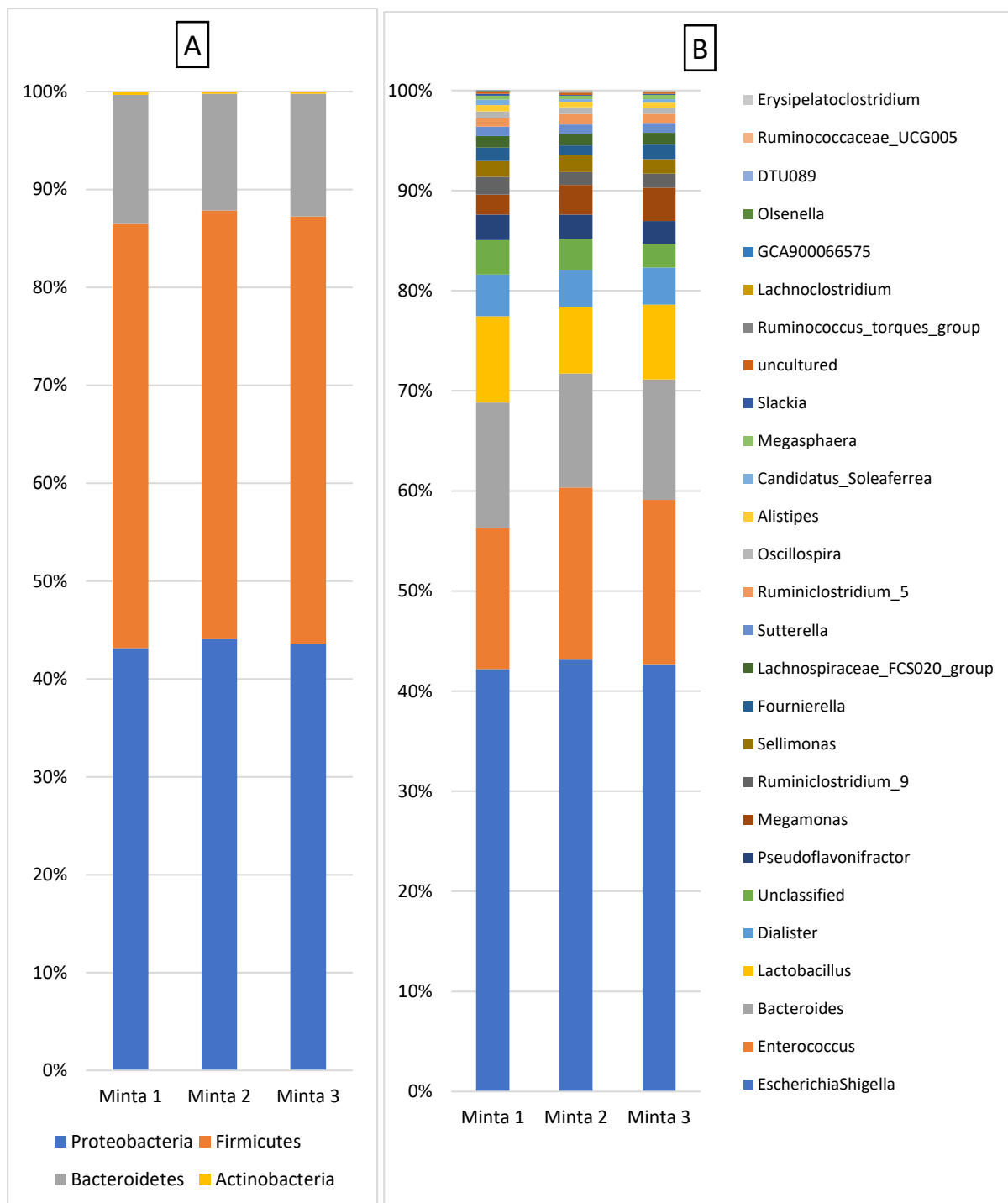
Az immunválasz egyöntetűségét a titerértékekre vonatkozó variációs koefficienssel is ki lehet fejezni. Minél kisebb a CV%, annál egyöntetűbb az ellenanyagtiterek megoszlása, így hatékonyabb a vakcinázás. Az élő, attenuált vakcinák használata során a CV% nem érheti el a 45%-ot. A teljes szerokonverzió azonban szintén fontos mutató, valamennyi vizsgált csirkének

szeropozitívnak kell lennie (Van Leerdam et al., 2001). Eredményeink szerint mindhárom kezelés javította a teljes szerokonverziót, valamint a CV% értékeket. A legjobb eredményt a Broilact-ot fogyasztó csoportnál tapasztaltuk. A szimbiotikummal történő kezelés hatására nem tapasztaltunk a vizsgált paraméterekben egyéb pozitív hatást. A búza és búzakorpa kezelés hatására nagymértékben javult az élet korai szakaszában tapasztalható immunválasz mértéke az eddigi irodalmi közlésekkel összhangban. Ez a kezelés befolyásolhatta a maternális ellenanyagok felezési idejét, valamint a TLR transzmembrán fehérjék aktivitását. Ezt követően a vakcina hatására kialakult titerértékek mértéke is tendenciálisan javult a kontrollhoz képest. Ez a kiegyenlítettebb ellenanyag-jelenlét nagyobb védelmet jelenthet az élet korai szakaszától kezdve a termelési időszakban is. A Broilact-kezelés a maternális ellenanyagszintet nem befolyásolta nagymértékben, de a legnagyobb antitestmennyiséget, 40 napos korban, ennél a csoportnál kaptuk. A további immunválaszreakciók kutatása során érdekes lehet a Broilact készítmény és a nagyobb oldható NSP-tartalom kombinációjának vizsgálata. Összegzésként kijelenthető, hogy a takarmányösszetétel és immunválasz közötti összefüggés fontos, és ez a vizsgálati módszer viszonylag könnyen ellenőrizhető eleme a fertőző betegségek elleni védekezésnek.

### 5.2.3. A bél mikrobióta szekvenálási vizsgálatának eredményei

#### 5.2.3.1. A Broilact készítmény szekvenálási elemzése

A 10. ábra az alkalmazott Broilact készítmény baktérium összetételét szemlélteti. A Broilact® ( $1,25 \times 10^7$  CFU/0,5 ml) szuszpenzió főként a *Proteobacteria* (43,15–44,06%), *Firmicutes* (43,33–43,79%), *Bacteroidetes* (11,94–13,19%) és *Actinobacteria* 3,2,1–3,00% törzs tagjait tartalmazta. Nemzetség szinten a fő baktériumcsoportok az *Escherichia-Shigella* (42,2–43,14%), *Enterococcus* (14,06–17,18), *Bacteroides* (11,04–12,57%) és *Lactobacillus* (6,6–8,62%) voltak (9. ábra).



**9. ábra.** A Broilact® készítmény mikrobiom összetétele.

Az oszlopdiagramok a baktérium törzsek (A) és nemzetségek (B) százalékban kifejezett relatív gyakoriságát mutatják.

### 5.2.3.2. A béltartalom minták szekvenálása során kapott diverzitási eredmények

Vizsgálatunk során a kísérleti madarak bélszakaszaiból származó 288 minta szekvenálása összesen 7.198.474 minőség-ellenőrzött szekvenciát eredményezett. Az átlagos szekvenciaszám 27.880

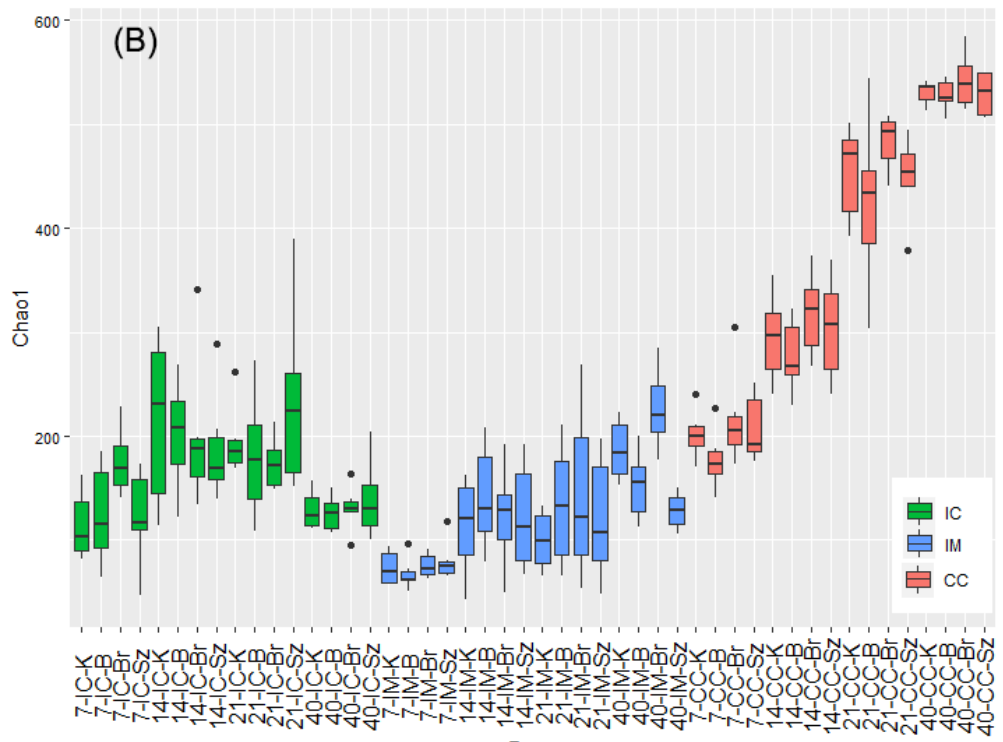
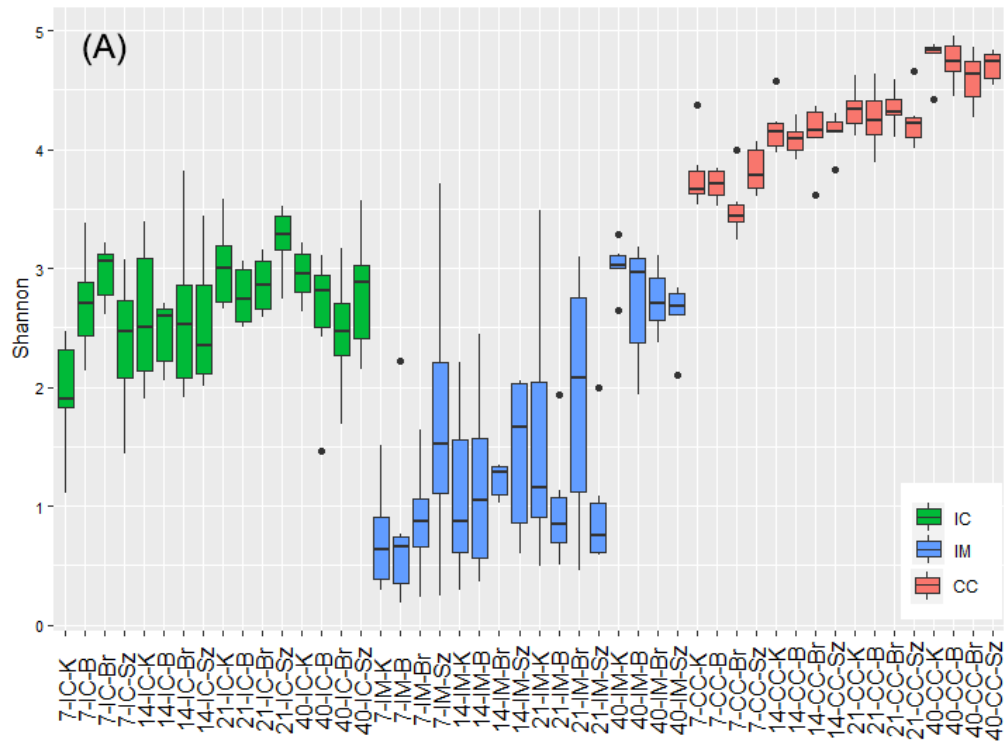
volt az IC-ben (min: 15.599; max: 45.828); 28.821 az IM-ben (min. 5.348; max: 61.484); és 30.002 CC-ben (min: 9.803; max: 49.534), ill. ezeket a szekvenciákat 1714 OTU-hoz rendeltük hozzá 97%-os hasonlósági szinten, nyílt megközelítést használva. A megfigyelt OTU-k ritkítási görbéi megközelítették a felső határt, ami jelzi, hogy a szekvenálási mélység elegendő volt a mintákban bemutatott összes OTU lefedéséhez (M1. ábra). A fajgazdagság ritkítási görbéi és a Chao1, Shannon és Simpson diverzitási indexek azt mutatják, hogy a vakbél tartalom mikrobiótának volt a legmagasabb a diverzitása, ezt követte az ileum bél tartalom és az ileális bélnyálkahártya (10. ábra). A diverzitási mutatókat leginkább a madarak életkora és a mintavételi hely, kisebb mértékben a takarmánykezelések befolyásolták.

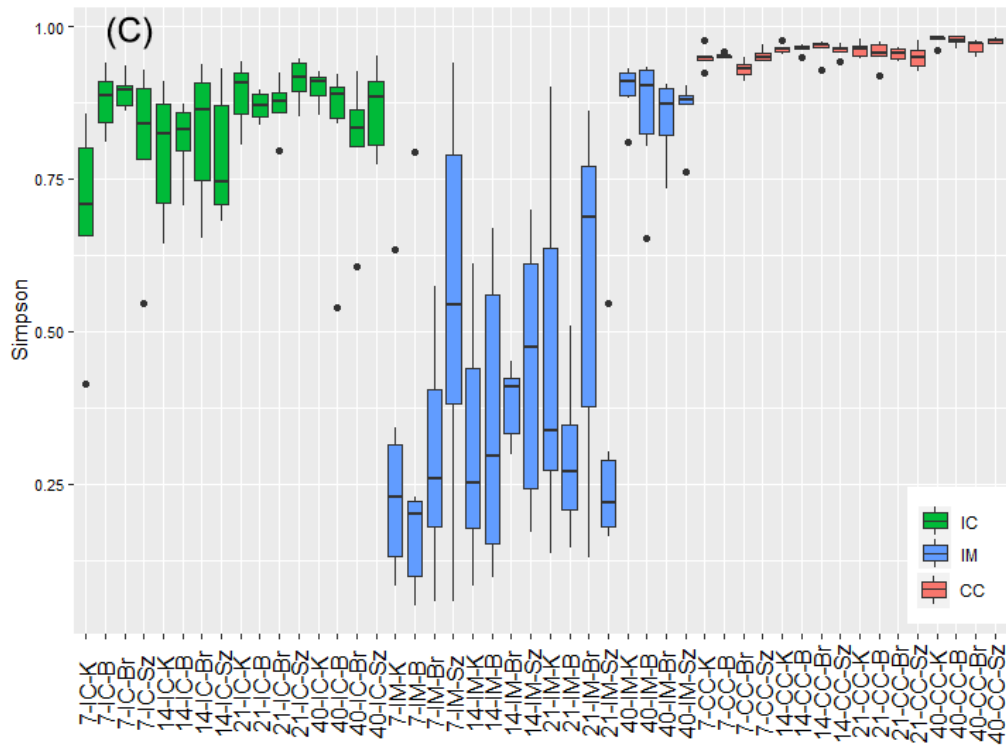
A diverzitás növekedés az IC-ben a harmadik hét végén érte el maximumát (M1 táblázat). Ezt követően a diverzitás szignifikánsan (Chao1, Shannon, Simpson) csökkent a 40. napig. A diverzitási indexek átlagos értéke Chao1 esetében 131, Shannon esetében 2,70 és Simpson indexnél 0,85 volt a 40. napon. Az IC mikrobióta diverzitása alacsonyabb volt a vakbélhez képest. Az IC 7 napos eredményeit értékelve a Broilact kezeléshez tartozó diverzitás szignifikánsan magasabb volt a kontroll kezeléshez képest. A Chao1, a Shannon és Simpson index mindegyike esetén szignifikáns kölcsönhatás volt IC-ben a takarmány kezelések és az életkor között.

A mikrobiális diverzitás az IM-ben folyamatosan nőtt a madarak életkorával. Ez a növekedés csak a 40. napon volt szignifikáns (M2 táblázat). A másik két mintavételi helyhez képest a Simpson-index szerint a diverzitás variabilitása az IM-ben volt a legmagasabb. A három bélszakasz közül az IM mikrobiális diverzitása 40 napos kor előtt volt a legalacsonyabb. A 40. napon a Shannon, Simpson és Chao1 index is lényegesen magasabb volt a nyálkahártyában a bél tartalommal összehasonlítva. A diverzitási indexek átlagos értéke Chao1 esetében 174, Shannon esetében 2,77 és Simpson indexnél 0,87 volt a 40. napon. A Chao1 index csak az IM-ben mutatott szignifikáns takarmány kezelés hatást. Ez az index szignifikánsan magasabb volt a Broilact kezelési csoportban, mint a szimbiotikumot fogyasztó csoportban. A Shannon-index szintén szignifikáns különbséget mutatott a kontroll és szimbiotikum kezelések között a 40. napon.

A CC-ben a mikrobióta diverzitása a madarak életkorával folyamatosan nőtt, szignifikáns különbség látható az egyes napok között (M3 táblázat). A Simpson-index csak CC-ben mutatott szignifikáns kezelés hatást. A Broilact kezelés esetén a Simpson-diverzitási index értéke alacsonyabb volt, összehasonlítva a kontroll és búza alapú kezeléssel. A diverzitási indexek átlagos értéke 40 napos korban: 533 a Chao1, 4,70 a Shannon és 0,97 a Simpson index esetében.



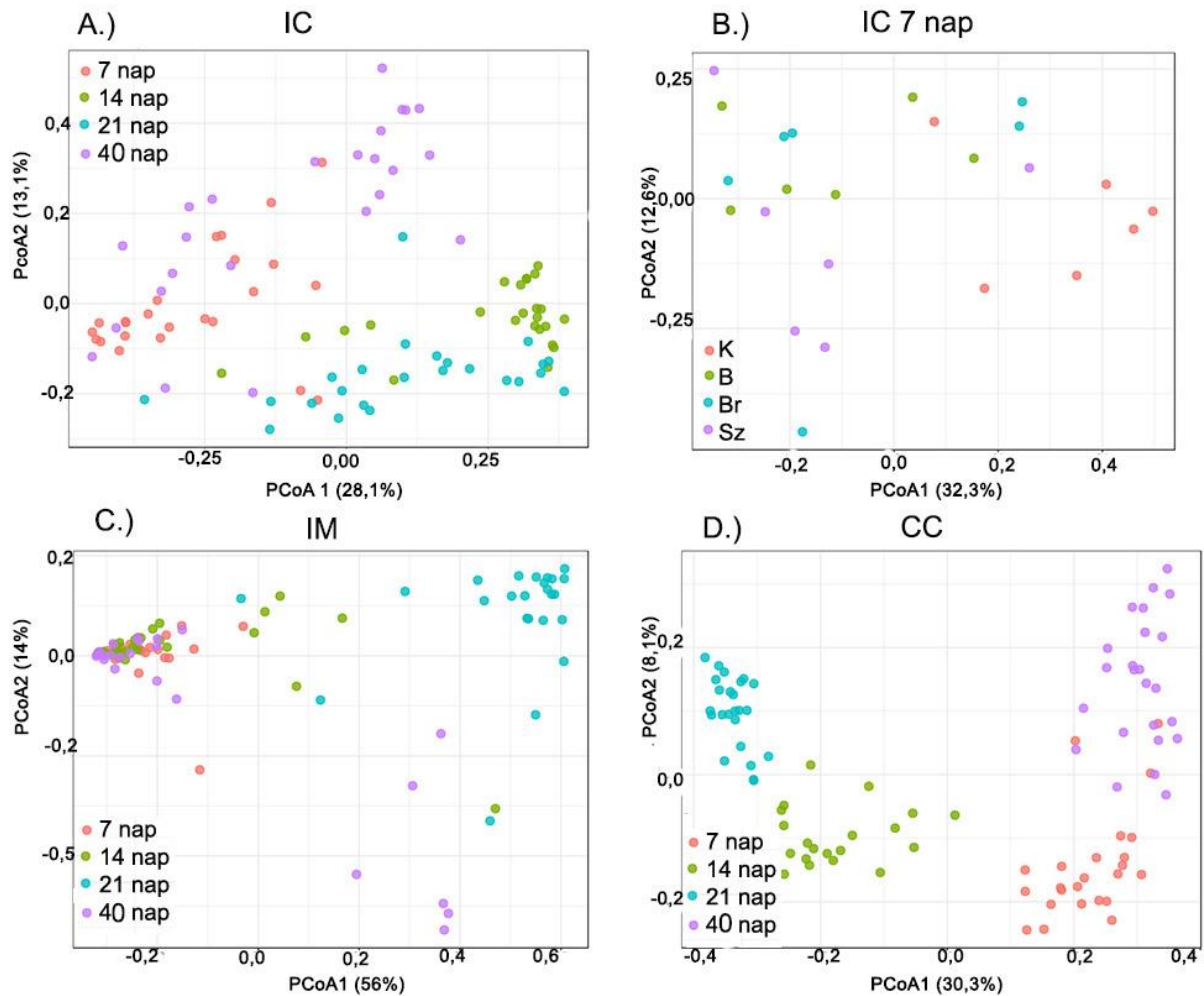




**10. ábra.** A takarmánykezelések és a madarak életkorának hatása a mikrobióta alfa-diverzitási értékeire.

A boxplotok az alfa-diverzitást Shannon (A), Chao1 (B) és Simpson (C) indexekkel mutatja be. A négyzetek a csoportok mediánját, a 25. és a 75. percentiliseket jelölik. (K) kontroll kezelés, (Br) Broilact kezelés -  $1,25 \times 10^7$  CFU/0,5 ml; (B)-búzas kezelés – indító, nevelő, befejező fázis 3, 6, 6%; (Sz)-szimbiotikum kezelés – *B. subtilis*  $1,6 \times 10^6$  CFU/g; inulin 5g/kg; *S. cerevisiae boulardii*  $1 \times 10^9$  CFU/kg; (IC) ileális béltartalom; (IM) ileális bélhám; (CC) vakbél béltartalom.

A béta-diverzitás a főkoordináta-analízis (PCoA) alapján Bray-Curtis disszimilaritási mátrix segítségével szignifikánsan eltérő (ANOSIM globális  $R = 0,72$ ,  $p = 0,001$ ) bakteriális közösség szerkezetet mutatott a mintavételi helyek között (11. ábra). Az ANOSIM tesztek statisztikailag szignifikáns életkor hatást is igazoltak. Az IC-ben ( $R = 0,518$ ,  $p = 0,001$ ) az eredmények átfedést mutattak a 7, 14, 21 és 40 napos csoportok között (11A. ábra). A takarmánykezelések nem befolyásolták a baktériumközösség szerkezetét, kivéve 7 napos korban az IC ( $R = 0,307$ ,  $p = 0,002$ ) (11B. ábra) esetében. Az IM-ben ( $R = 0,356$ ,  $p = 0,001$ ) hasonló mikrobaközösséget találtunk nagy átfedéssel a 7., 14. és 21. napon, azonban a baktérium közösség a 40. napon eltérő volt (11C. ábra). A magas R-érték a CC-ben ( $R = 0,816$ ,  $p = 0,001$ ) az életkorral összefüggő bakteriális struktúrák közötti nagy eltérésre utal (11D. ábra).



**11. ábra.** Főkoordináta analízis (PCoA) Bray–Curtis index használatával mintavételi helyek szerint bemutatva

(A) IC korhatás; (B) IC kezeléshatás 7 napos korban; (C) IM korhatás; (D) CC korhatás. (K) kontroll kezelés, (Br) Broilact kezelés -  $1,25 \times 10^7$  CFU/0,5 ml; (B)-búzas kezelés – indító, nevelő, befejező fázis 3, 6, 6%; (Sz)-szimbiotikum kezelés – *B. subtilis*  $1,6 \times 10^6$  CFU/g; inulin 5g/kg; *S. cerevisiae boulardii*  $1 \times 10^9$  CFU/kg. (IC) ileális béltartalom; (IM) ileális bélhám; (CC) vakbél béltartalom.

### 5.2.3.3. A béltartalom minták szekvenálása során kapott baktérium taxonok gyakorisági változása az idő függvényében

Az értékelés során a meghatározó 15% feletti és a kisebb gyakoriságú 3 és 15% közötti taxonok relatív gyakoriságát írtuk le. Törzs szinten mind az életkor, mind a takarmány kezelések jelentős hatással voltak a bélmikrobióta összetételére (M4–M6. táblázatok). A mikrobióta összetételét a különböző időpontokban taxon-oszlopdiagramon mutatjuk be (12. ábra). Minden időpontban a *Firmicutes* volt a domináns törzs (80,61–97,23%) mindhárom bélszegmensben. Relatív gyakorisága az IM-ben volt a legmagasabb. A különböző mintavételi helyeken nem találtunk életkorral összefüggő tendenciát.



**12.ábra.** A vizsgált bélszégmensek mikrobiótájának relatív gyakoriság változása az életkor és a takarmány kezelések hatására törzs szinten.

(K) kontroll kezelés, (Br) Broilact kezelés -  $1,25 \times 10^7$  CFU/0,5 ml; (B)-búzas kezelés – indító, nevelő, befejező fázis 3, 6, 6%; (Sz)-szimbiotikum kezelés – *B. subtilis*  $1,6 \times 10^6$  CFU/g; inulin 5g/kg; *S. cerevisiae boulardii*  $1 \times 10^9$  CFU/kg; (IC) ileális béltartalom; (IM) ileális bélhám; (CC) vakbél béltartalom.

A csípőbél mikrobiótájában a *Firmicutes* törzs dominanciája általánosan jellemző (Choi et al., 2014; Ranjitkar et al., 2016; Glendinning et al., 2019), azonban a dominancia mértéke a vizsgált egyedek között sok esetben eltérő (Choi et al., 2014). Ez a tejsavbaktériumok csípőbélben való dominanciájának következménye. Vizsgálatunkban törzs szinten a *Firmicutes* dominancia volt jellemző. Az életkor előrehaladtával a *Proteobacteria* a 14. napon, az *Actinobacteria* törzs gyakoriságának növekedése a 21. napon következett be. A *Proteobacteria* törzset mindhárom bélszegmensben alacsonyabb relatív gyakoriság jellemezte, ami az idő múlásával tovább csökkent. Az IC-ben és az IM-ben relatív gyakorisága szignifikánsan nagyobb volt a 14. napon ( $p < 0,05$ ), majd később az IC-ben 1% alá csökkent. Csökkenése az IM-ben lassabban ment végbe, csak a 40. napon esett 1% alá. A CC-ben a relatív gyakorisága szignifikánsan magasabb volt a 7. napon ( $p < 0,0001$ ) a másik két mintavételi helyhez képest, de idővel csökkent. A *Bacteroidetes* törzs alig volt kimutatható a 7. napon. Mennyisége a vakbélben folyamatosan nőtt a 21. napig ( $p < 0,0001$ ), majd 11%-ra csökkent a 40. napra. Vizsgálatunkban a vakbél mikrobiális összetétele hasonló volt más kutatások eredményeihez, melyekben a *Firmicutes* törzs nagy dominanciáját írták le (Lu et al., 2003; Danzeisen et al., 2011; Oakley et al., 2014; Ballou et al., 2016). Ocejó és mtsai. (2019) leírták, hogy a *Firmicutes* és a *Proteobacteria* törzs együtt alkotják a fiatalabb csirkék vakbél-mikrobiótájának szinte teljes egészét, a *Bacteroidetes* törzs aránya életük második felében nő meg. Kísérletünkben az első mintavétel a 7. napon volt. Ekkorra a korai életszakaszra jellemző *Proteobaktéria* gyakoriság más eredményekhez hasonlóan (Ballou et al., 2016) már csökkent, és a *Firmicutes* vált dominánsá. A 7. és 40. nap között a *Firmicutes* gyakorisága 80-90% között ingadozott. A 7. napon jellemző *Firmicutes* és *Proteobaktéria* törzset később *Bacteroidetes* váltotta fel. Gyakorisága a 21. napra nőtt, majd a 40. napra ismét csökkent. Ez az egymásutánosság hasonló ahhoz, amit több hasonló tanulmányban leírtak (Danzeisen et al., 2011; Ballou et al., 2016).

Család szinten részletes életkor és takarmány kezelési hatásokat a 19-21. táblázatok tartalmazzák. A mikrobióta összetételt a különböző időpontokban oszlopdiagramok segítségével szemléltettük (13. ábra).

**19. táblázat. A baktériumcsaládok relatív gyakoriságának változása a kezelések hatására a csípőbélben (%).**

Család	IC						FDR p-érték		
	T	Kor				Átlag (T)	T	Kor	T x Kor
		7 nap	14 nap	21 nap	40 nap				
<i>Lactobacillaceae</i>	K	79,43 <sup>A</sup>	59,01	63,68	60,68	<b>65,70</b>	0,490	0,057	
	B	67,57 <sup>AB</sup>	60,32	78,17	80,18	<b>71,56</b>			
	Br	49,84 <sup>B</sup>	45,53	69,02	76,02	<b>60,10</b>			
	Sz	75,20 <sup>AB</sup>	56,34	51,58	67,25	<b>62,59</b>			
	<b>Átlag (Kor)</b>	<b>68,01<sup>ab</sup></b>	<b>55,87<sup>b</sup></b>	<b>65,61<sup>ab</sup></b>	<b>71,03<sup>a</sup></b>	<b>0,051</b>			
<i>Enterococcaceae</i>	K	1,74 <sup>B</sup>	0,16	1,42	1,14	<b>1,12</b>	0,360	0,043	
	B	7,34 <sup>AB</sup>	0,29	0,88	0,66	<b>2,30</b>			
	Br	18,17 <sup>A</sup>	0,32	1,88	0,92	<b>5,32</b>			
	Sz	13,76 <sup>AB</sup>	1,69	2,19	1,76	<b>4,85</b>			
	<b>Átlag (Kor)</b>	<b>10,25<sup>a</sup></b>	<b>0,69<sup>b</sup></b>	<b>1,59<sup>b</sup></b>	<b>1,12<sup>b</sup></b>	<b>0,001</b>			
<i>Lachnospiraceae</i>	K	6,88	6,68	1,02	0,15	<b>3,68</b>	0,600	0,530	
	B	1,26	2,09	1,15	0,16	<b>1,16</b>			
	Br	7,55	6,28	0,70	0,19	<b>3,68</b>			
	Sz	0,49	1,94	2,99	0,35	<b>1,44</b>			
	<b>Átlag (Kor)</b>	<b>4,04<sup>a</sup></b>	<b>3,98<sup>a</sup></b>	<b>1,46<sup>a</sup></b>	<b>0,21<sup>b</sup></b>	<b>0,058</b>			
<i>Enterobacteriaceae</i>	K	0,80	1,76	0,63 <sup>A</sup>	0,18	<b>0,85</b>	0,110	0,062	
	B	1,22	2,17	0,29 <sup>AB</sup>	0,12	<b>0,98</b>			
	Br	9,45	16,68	0,08 <sup>B</sup>	0,17	<b>6,60</b>			
	Sz	0,07	1,62	0,14 <sup>AB</sup>	0,41	<b>0,56</b>			
	<b>Átlag (Kor)</b>	<b>2,89<sup>ab</sup></b>	<b>5,51<sup>a</sup></b>	<b>0,29<sup>b</sup></b>	<b>0,22<sup>b</sup></b>	<b>0,034</b>			
<i>Ruminococcaceae</i>	K	4,81	9,04	1,17	0,07	<b>3,77</b>	0,720	0,980	
	B	0,40	4,88	0,42	0,03	<b>1,44</b>			
	Br	3,51	4,77	0,42	0,10	<b>2,20</b>			
	Sz	1,31	5,85	2,23	0,14	<b>2,38</b>			
	<b>Átlag (Kor)</b>	<b>2,51<sup>ab</sup></b>	<b>5,77<sup>a</sup></b>	<b>1,06<sup>b</sup></b>	<b>0,09<sup>b</sup></b>	<b>0,004</b>			
<i>Mitochondria</i>	K	0,12 <sup>B</sup>	0,08	0,02	0,00	<b>0,05<sup>B</sup></b>	<b>0,001</b>	<b>0,001</b>	
	B	4,48 <sup>A</sup>	0,32	0,07	0,03	<b>1,22<sup>A</sup></b>			
	Br	0,28 <sup>B</sup>	0,27	0,02	0,01	<b>0,14<sup>B</sup></b>			
	Sz	0,51 <sup>B</sup>	0,25	0,01	0,00	<b>0,19<sup>B</sup></b>			
	<b>Átlag (Kor)</b>	<b>1,35<sup>a</sup></b>	<b>0,24<sup>ab</sup></b>	<b>0,03<sup>b</sup></b>	<b>0,01<sup>b</sup></b>	<b>0,001</b>			
<i>Streptococcaceae</i>	K	1,71	4,66	8,93	12,88	<b>7,04</b>	0,390	0,880	
	B	0,84	1,32	3,44	6,94	<b>3,14</b>			
	Br	1,26	4,46	5,93	6,84	<b>4,62</b>			
	Sz	0,16	4,71	6,50	7,79	<b>4,79</b>			
	<b>Átlag (Kor)</b>	<b>0,99<sup>b</sup></b>	<b>3,68<sup>b</sup></b>	<b>6,20<sup>a</sup></b>	<b>8,61<sup>a</sup></b>	<b>0,001</b>			
<i>Clostridiaceae_1</i>	K	0,65	0,19	6,20	0,44	<b>1,87</b>	0,600	0,420	
	B	1,62	7,64	2,87	0,90	<b>3,26</b>			
	Br	0,75	1,35	5,83	0,11	<b>2,01</b>			
	Sz	0,65	11,47	6,45	1,26	<b>4,96</b>			
	<b>Átlag (Kor)</b>	<b>0,92<sup>b</sup></b>	<b>5,28<sup>a</sup></b>	<b>5,34<sup>a</sup></b>	<b>0,68<sup>b</sup></b>	<b>0,027</b>			
<i>Peptostreptococcaceae</i>	K	1,08	10,57	0,31	8,78	<b>5,18</b>	0,930	0,620	
	B	0,21	17,40	0,77	3,47	<b>5,46</b>			
	Br	1,08	11,97	0,96	6,64	<b>5,16</b>			
	Sz	0,04	7,22	2,17	6,87	<b>4,07</b>			
	<b>Átlag (Kor)</b>	<b>0,60<sup>b</sup></b>	<b>11,75<sup>a</sup></b>	<b>1,05<sup>b</sup></b>	<b>6,44<sup>a</sup></b>	<b>0,001</b>			
<i>Corynebacteriaceae</i>	K	0,05	0,12	5,63	3,22	<b>2,25</b>	0,440	0,550	
	B	0,11	0,04	1,97	1,77	<b>0,97</b>			
	Br	0,56	0,07	3,49	2,01	<b>1,53</b>			
	Sz	0,09	0,25	8,08	4,49	<b>3,23</b>			
	<b>Átlag (Kor)</b>	<b>0,20<sup>b</sup></b>	<b>0,12<sup>b</sup></b>	<b>4,79<sup>a</sup></b>	<b>2,87<sup>ab</sup></b>	<b>0,001</b>			
<i>Leuconostocaceae</i>	K	0,05	0,30	2,63	0,75	<b>0,93</b>	0,500	0,170	
	B	0,08	0,18	1,44	0,21	<b>0,48</b>			
	Br	0,40	0,28	1,69	0,48	<b>0,71</b>			
	Sz	0,02	0,21	4,53	0,72	<b>1,37</b>			
	<b>Átlag (Kor)</b>	<b>0,14<sup>b</sup></b>	<b>0,24<sup>b</sup></b>	<b>2,57<sup>a</sup></b>	<b>0,54<sup>b</sup></b>	<b>0,001</b>			
<i>Staphylococcaceae</i>	K	0,04	0,81	5,72	2,41	<b>2,24</b>	0,880	0,980	

Család	IC						FDR p-érték		
	T	Kor				Átlag (T)	T	Kor	T x Kor
		7 nap	14 nap	21 nap	40 nap				
	B	0,12	0,11	5,90	0,94	<b>1,77</b>			
	Br	0,24	0,19	8,02	0,99	<b>2,36</b>			
	Sz	0,08	0,56	7,85	2,57	<b>2,76</b>			
	<b>Átlag (Kor)</b>	<b>0,12<sup>b</sup></b>	<b>0,39<sup>b</sup></b>	<b>6,87<sup>a</sup></b>	<b>1,73<sup>b</sup></b>				
						<b>0,001</b>			
<i>Erysipelotrichaceae</i>	K	0,04	0,21	0,19	6,38	<b>1,71</b>	0,650		0,330
	B	0,10	0,11	0,27	1,98	<b>0,61</b>			
	Br	0,21	0,13	0,14	3,38	<b>0,97</b>			
	Sz	0,04	0,98	0,68	2,04	<b>0,93</b>			
	<b>Átlag (Kor)</b>	<b>0,10<sup>b</sup></b>	<b>0,35<sup>b</sup></b>	<b>0,32<sup>b</sup></b>	<b>3,45<sup>a</sup></b>				
<i>Bacillaceae</i>	K	0,01 <sup>B</sup>	0,03	0,02	0,002 <sup>B</sup>	0,01 <sup>B</sup>	<b>0,001</b>		0,330
	B	0,02 <sup>B</sup>	0,02	0,00	0,00 <sup>B</sup>	<b>0,01<sup>B</sup></b>			
	Br	0,02 <sup>B</sup>	0,05	0,01	0,002 <sup>B</sup>	<b>0,02<sup>B</sup></b>			
	Sz	0,14 <sup>A</sup>	0,2	0,28	0,04 <sup>A</sup>	<b>0,16<sup>A</sup></b>			
	<b>Átlag (Kor)</b>	<b>0,05</b>	<b>0,07</b>	<b>0,08</b>	<b>0,01</b>				
						0,210			

(K) kontroll kezelés, (Br) Broilact kezelés -  $1,25 \times 10^7$  CFU/0,5 ml; (B)-búzas kezelés – indító, nevelő, befejező fázis 3, 6, 6%; (Sz)-szimbiotikum kezelés – *B. subtilis*  $1,6 \times 10^6$  CFU/g; inulin 5g/kg; *S. cerevisiae* *boulaardii*  $1 \times 10^9$  CFU/kg; T: takarmánykezelés; Kor: életkor (7, 14, 21, 40 nap); T x K: kölcsönhatás; Az <sup>a,b</sup> jelzések kor hatására bekövetkező átlagok közötti szignifikáns különbséget jelölik ( $p < 0,05$ ). Az <sup>A,B</sup> jelzések a takarmánykezelések hatására bekövetkező átlagok közötti szignifikáns különbséget jelölik ( $p < 0,05$ ). A táblázat csak azokat a családokat tartalmazza, amelyeknél a relatív gyakoriság csoportátlaga 1%-nál magasabb volt.

## 20. táblázat. A baktériumcsaládok relatív gyakoriságának változása a kezelésekre hatására a csípőből nyálkahártya rétegében (%).

Család	IM						FDR p-érték		
	T	Kor				Átlag (T)	T	Kor	T x Kor
		7 nap	14 nap	21 nap	40 nap				
<i>Clostridiaceae_1</i>	K	83,77	82,22	70,38	4,26	<b>60,16</b>	0,650		0,081
	B	65,28	78,28	83,72	13,36	<b>60,16</b>			
	Br	72,28	78,10	51,62	4,29	<b>51,57</b>			
	Sz	42,28	72,84	84,99	12,22	<b>53,08</b>			
	<b>Átlag (Kor)</b>	<b>65,90<sup>a</sup></b>	<b>77,86<sup>a</sup></b>	<b>72,68<sup>a</sup></b>	<b>8,53<sup>b</sup></b>				
<i>Peptostreptococcaceae</i>	K	1,06	2,43	1,93	17,75	<b>5,79</b>	0,860		0,580
	B	21,27	5,89	0,67	11,56	<b>9,88</b>			
	Br	11,09	4,26	10,64	10,90	<b>9,22</b>			
	Sz	12,38	1,62	1,98	18,14	<b>8,53</b>			
	<b>Átlag (Kor)</b>	<b>11,45</b>	<b>3,55</b>	<b>3,80</b>	<b>14,59</b>				
<i>Lactobacillaceae</i>	K	6,48	4,00	11,91 <sup>AB</sup>	41,35	<b>15,94</b>	0,600		0,078
	B	7,34	4,80	9,61 <sup>AB</sup>	55,91	<b>19,41</b>			
	Br	6,00	5,93	22,64 <sup>A</sup>	64,41	<b>24,74</b>			
	Sz	16,25	9,96	3,90 <sup>B</sup>	47,03	<b>19,28</b>			
	<b>Átlag (Kor)</b>	<b>9,02<sup>b</sup></b>	<b>6,17<sup>b</sup></b>	<b>12,02<sup>b</sup></b>	<b>52,17<sup>a</sup></b>				
<i>Enterococcaceae</i>	K	6,47	0,05	0,45	3,38	<b>2,59</b>	0,660		0,900
	B	0,48	0,08	0,10	0,81	<b>0,37</b>			
	Br	3,86	0,06	1,51	1,13	<b>1,64</b>			
	Sz	11,95	0,79	0,25	3,62	<b>4,15</b>			
	<b>Átlag (Kor)</b>	<b>5,69</b>	<b>0,24</b>	<b>0,58</b>	<b>2,24</b>				
<i>Lachnospiraceae</i>	K	0,22	1,92	1,76	0,56	<b>1,11</b>	0,760		0,840
	B	1,53	2,00	1,34	0,58	<b>1,36</b>			
	Br	1,27	1,99	3,21	1,39	<b>1,97</b>			
	Sz	3,41	1,94	1,74	0,32	<b>1,86</b>			
	<b>Átlag (Kor)</b>	<b>1,60</b>	<b>1,97</b>	<b>2,01</b>	<b>0,71</b>				
<i>Burkholderiaceae</i>	K	0,45	0,06	0,19	0,01	<b>0,18</b>	0,600		0,096
	B	0,79	0,04	0,02	0,02	<b>0,22</b>			
	Br	1,18	0,08	0,09	0,01	<b>0,34</b>			
	Sz	2,67	0,03	0,11	0,00	<b>0,70</b>			
	<b>Átlag (Kor)</b>	<b>0,45</b>	<b>0,06</b>	<b>0,19</b>	<b>0,01</b>				



Család	T	IM				Átlag (T)	FDR <i>p</i> -érték		
		Kor					T	Kor	T x Kor
		7 nap	14 nap	21 nap	40 nap				
	<b>Átlag (Kor)</b>	<b>1,27<sup>a</sup></b>	<b>0,05<sup>b</sup></b>	<b>0,10<sup>b</sup></b>	<b>0,01<sup>b</sup></b>		<b>0,001</b>		
<i>Ruminococcaceae</i>	K	0,19	2,82	2,12	0,60	<b>1,44</b>	0,088	0,720	
	B	0,74	3,77	1,25	0,48	<b>1,56</b>			
	Br	0,83	1,52	2,32	1,54	<b>1,55</b>			
	Sz	2,59	2,36	1,17	0,16	<b>1,57</b>			
	<b>Átlag (Kor)</b>	<b>1,09</b>	<b>2,62</b>	<b>1,71</b>	<b>0,70</b>				0,200
<i>Pseudomonadaceae</i>	K	0,06	1,98	3,46	0,16	<b>1,41</b>	0,600	0,650	
	B	0,31	1,34	0,83	0,31	<b>0,70</b>			
	Br	0,25	3,32	1,60	0,10	<b>1,32</b>			
	Sz	0,69	3,11	1,32	0,09	<b>1,30</b>			
	<b>Átlag (Kor)</b>	<b>0,33<sup>b</sup></b>	<b>2,44<sup>a</sup></b>	<b>1,80<sup>a</sup></b>	<b>0,17<sup>b</sup></b>				<b>0,001</b>
<i>Streptococcaceae</i>	K	0,17	0,50	1,01	14,73	<b>4,10</b>	0,600	0,098	
	B	0,06	0,35	0,39	7,19	<b>2,00</b>			
	Br	0,20	0,85	1,39	6,76	<b>2,30</b>			
	Sz	0,19	2,02	0,51	5,40	<b>2,03</b>			
	<b>Átlag (Kor)</b>	<b>0,15<sup>b</sup></b>	<b>1,93<sup>b</sup></b>	<b>0,82<sup>b</sup></b>	<b>8,52<sup>a</sup></b>				<b>0,001</b>
<i>Erysipelotrichaceae</i>	K	0,03	0,09	0,84	10,91	<b>2,97</b>	0,700	0,910	
	B	0,03	0,06	0,22	7,49	<b>1,95</b>			
	Br	0,01	0,05	0,19	6,06	<b>1,58</b>			
	Sz	0,12	0,13	0,24	9,31	<b>2,45</b>			
	<b>Átlag (Kor)</b>	<b>0,05<sup>b</sup></b>	<b>0,08<sup>b</sup></b>	<b>0,37<sup>b</sup></b>	<b>8,44<sup>a</sup></b>				<b>0,001</b>
<i>Bacillaceae</i>	K	0,26	0,17	0,17	0,01	<b>0,15</b>	0,600	0,089	
	B	0,58	0,13	0,07	0,02	<b>0,20</b>			
	Br	0,67	0,09	0,14	0,04	<b>0,24</b>			
	Sz	1,66	0,25	0,09	0,01	<b>0,50</b>			
	<b>Átlag (Kor)</b>	<b>0,79<sup>a</sup></b>	<b>0,16<sup>b</sup></b>	<b>0,12<sup>c</sup></b>	<b>0,02<sup>d</sup></b>				<b>0,001</b>

(K) kontroll kezelés, (Br) Broilact kezelés -  $1,25 \times 10^7$  CFU/0,5 ml; (B)-búzas kezelés – indító, nevelő, befejező fázis 3, 6, 6%; (Sz)-szimbiotikum kezelés – *B. subtilis*  $1,6 \times 10^6$  CFU/g; inulin 5g/kg; *S. cerevisiae* boulardii  $1 \times 10^9$  CFU/kg; T: takarmánykezelés; Kor: életkor (7, 14, 21, 40 nap); T x K: kölcsönhatás; Az <sup>a,b</sup> jelzések kor hatására bekövetkező átlagok közötti szignifikáns különbséget jelölik ( $p < 0,05$ ). Az <sup>A,B</sup> jelzések a takarmánykezelések hatására bekövetkező átlagok közötti szignifikáns különbséget jelölik ( $p < 0,05$ ). A táblázat csak azokat a családokat tartalmazza, amelyeknél a relatív gyakoriság csoportátlaga 1%-nál magasabb volt.

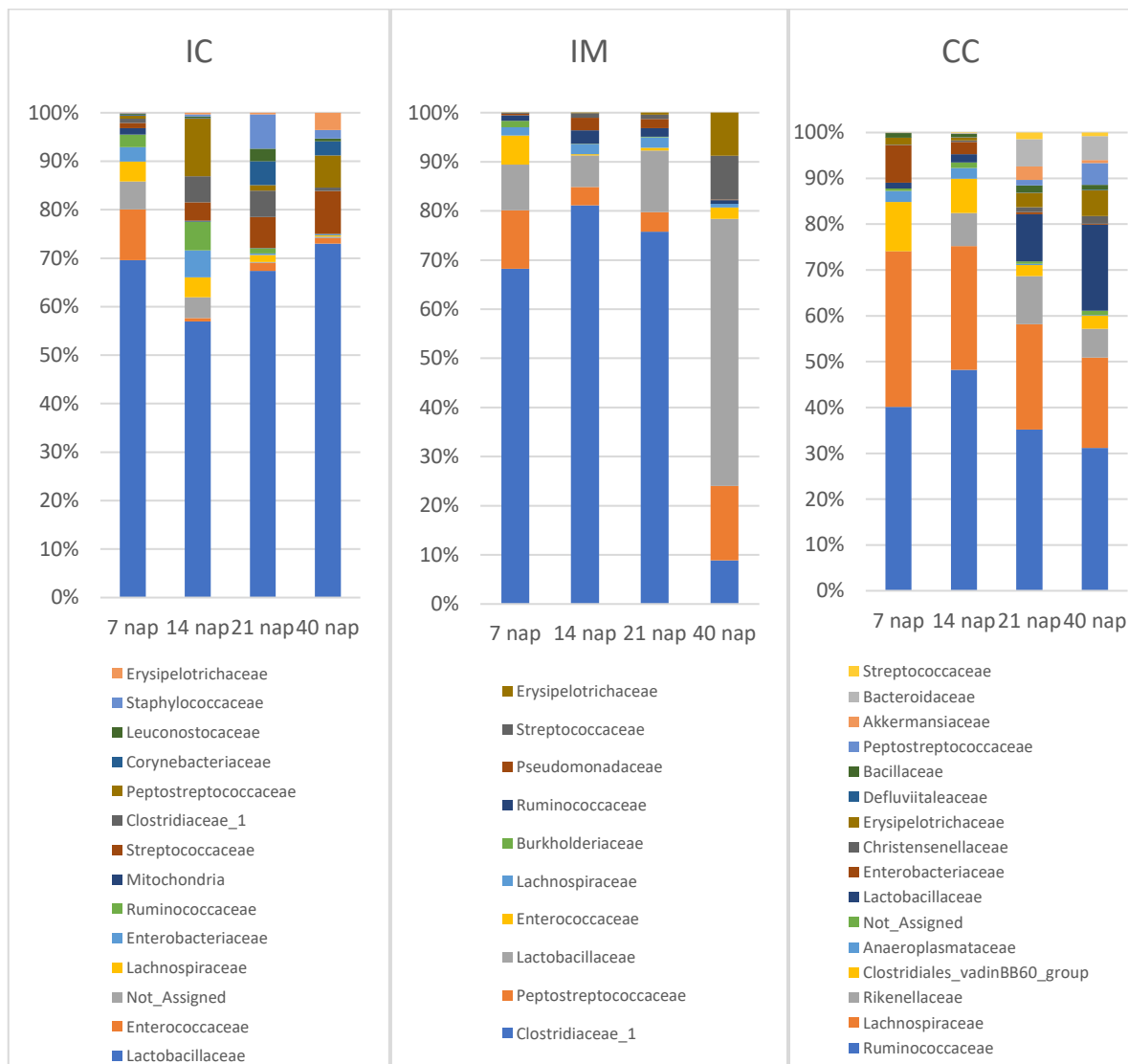
**21. táblázat. A baktériumcsaládok relatív gyakoriságának változása a kezelések hatására a vakbélben (%).**

Család	T	CC				Átlag (T)	FDR <i>p</i> -érték		
		Kor					T	Kor	T x Kor
		7 nap	14 nap	21 nap	40 nap				
<i>Ruminococcaceae</i>	K	41,49	42,64	36,99	29,84	<b>37,74</b>	0,980	0,480	
	B	36,50	52,56	29,48	31,42	<b>37,49</b>			
	Br	41,54	47,36	36,87	30,13	<b>38,98</b>			
	Sz	39,87	49,55	35,57	29,03	<b>38,50</b>			
	<b>Átlag (Kor)</b>	<b>39,85<sup>ab</sup></b>	<b>48,03<sup>a</sup></b>	<b>34,73<sup>bc</sup></b>	<b>30,10<sup>c</sup></b>				<b>0,001</b>
<i>Lachnospiraceae</i>	K	30,35	30,30	21,86	19,39	<b>25,47</b>	0,830	0,350	
	B	40,99	24,70	25,94	20,13	<b>27,94</b>			
	Br	30,20	27,64	21,22	18,46	<b>24,38</b>			
	Sz	33,51	25,03	21,67	18,11	<b>24,58</b>			
	<b>Átlag (Kor)</b>	<b>33,76<sup>a</sup></b>	<b>26,91<sup>ab</sup></b>	<b>22,67<sup>bc</sup></b>	<b>19,03<sup>c</sup></b>				<b>0,001</b>
<i>Rikenellaceae</i>	K	0,01	8,90	10,41	5,37	<b>5,90</b>	0,980	0,034	
	B	0,02	4,01	14,53	5,03	<b>6,17</b>			
	Br	0,06	7,10	8,52	7,33	<b>5,75</b>			
	Sz	0,00	8,62	8,15	6,61	<b>5,04</b>			
	<b>Átlag (Kor)</b>	<b>0,03<sup>b</sup></b>	<b>7,16<sup>a</sup></b>	<b>10,40<sup>a</sup></b>	<b>6,09<sup>a</sup></b>				<b>0,001</b>

Család	T	CC					Átlag (T)	FDR p-érték		
		Kor						T	Kor	T x Kor
		7 nap	14 nap	21 nap	40 nap					
<i>Clostridiales vadinBB60 group</i>	K	10,92	7,53	1,95	2,55	<b>5,74</b>	0,980		0,470	
	B	8,10	7,79	2,69	3,42	<b>5,50</b>				
	Br	15,68	6,27	2,03	2,32	<b>6,57</b>				
	Sz	8,00	8,38	2,82	1,01	<b>5,51</b>				
	Átlag (Kor)	<b>10,67<sup>a</sup></b>	<b>7,50<sup>a</sup></b>	<b>2,37<sup>b</sup></b>	<b>2,79<sup>b</sup></b>					<b>0,001</b>
<i>Anaeroplasmataceae</i>	K	4,89	1,87	0,08	0,06	<b>1,72</b>	0,930		0,080	
	B	0,35	3,32	0,43	0,20	<b>1,08</b>				
	Br	1,31	2,37	0,31	0,08	<b>1,02</b>				
	Sz	2,88	1,76	0,08	0,04	<b>1,19</b>				
	Átlag (Kor)	<b>2,36<sup>a</sup></b>	<b>2,33<sup>ab</sup></b>	<b>0,23<sup>b</sup></b>	<b>0,09<sup>b</sup></b>					<b>0,001</b>
<i>Lactobacillaceae</i>	K	1,67	3,03	10,95	15,45	<b>7,78</b>	0,900		<b>0,013</b>	
	B	1,33	1,57	10,74	14,76	<b>7,10</b>				
	Br	0,31	0,91	10,87	21,61	<b>8,43</b>				
	Sz	1,74	1,73	8,02	20,85	<b>8,09</b>				
	Átlag (Kor)	<b>1,26<sup>c</sup></b>	<b>1,81<sup>c</sup></b>	<b>10,15<sup>b</sup></b>	<b>18,16<sup>a</sup></b>					<b>0,001</b>
<i>Enterobacteriaceae</i>	K	5,46	1,52	0,50	0,16	<b>1,91</b>	0,930		0,960	
	B	8,72	3,54	0,27	0,15	<b>3,17</b>				
	Br	8,16	3,62	0,38	0,10	<b>3,07</b>				
	Sz	10,06	1,94	0,59	0,18	<b>3,19</b>				
	Átlag (Kor)	<b>8,10<sup>a</sup></b>	<b>2,66<sup>b</sup></b>	<b>0,44<sup>b</sup></b>	<b>0,15<sup>b</sup></b>					<b>0,001</b>
<i>Christensenellaceae</i>	K	0,20	0,16	1,26	1,69	<b>0,83</b>	0,830		0,780	
	B	0,05	0,21	0,93	1,29	<b>0,62</b>				
	Br	0,07	0,33	1,07	1,88	<b>0,84</b>				
	Sz	0,06	0,43	1,13	1,77	<b>0,85</b>				
	Átlag (Kor)	<b>0,09<sup>c</sup></b>	<b>0,28<sup>c</sup></b>	<b>1,10<sup>b</sup></b>	<b>1,66<sup>a</sup></b>					<b>0,001</b>
<i>Erysipelotrichaceae</i>	K	1,50	0,95 <sup>A</sup>	3,47	6,85 <sup>A</sup>	<b>3,19</b>	0,500		0,120	
	B	2,08	0,61 <sup>AB</sup>	2,40	5,20 <sup>AB</sup>	<b>2,57</b>				
	Br	1,02	0,52 <sup>B</sup>	2,97	4,31 <sup>B</sup>	<b>2,21</b>				
	Sz	1,65	0,64 <sup>AB</sup>	3,39	5,34 <sup>AB</sup>	<b>2,75</b>				
	Átlag (Kor)	<b>1,56<sup>c</sup></b>	<b>0,68<sup>c</sup></b>	<b>3,06<sup>b</sup></b>	<b>5,42<sup>a</sup></b>					<b>0,001</b>
<i>Bacillaceae</i>	K	1,53	0,89	2,07	0,95	<b>1,36</b>	0,830		0,820	
	B	0,61	0,32	1,28	1,63	<b>0,96</b>				
	Br	0,87	0,72	1,28	0,63	<b>0,88</b>				
	Sz	0,82	0,64	1,27	0,85	<b>0,89</b>				
	Átlag (Kor)	0,96	0,64	1,47	1,01					0,120
<i>Peptostreptococcaceae</i>	K	0,08	0,04	1,75	4,81	<b>1,67</b>	0,830		0,270	
	B	0,04	0,06	0,93	4,02	<b>1,26</b>				
	Br	0,03	0,06	1,23	4,09	<b>1,35</b>				
	Sz	0,07	0,07	0,96	5,40	<b>1,63</b>				
	Átlag (Kor)	<b>0,06<sup>c</sup></b>	<b>0,06<sup>c</sup></b>	<b>1,22<sup>b</sup></b>	<b>4,58<sup>a</sup></b>					<b>0,001</b>
<i>Akkermansiaceae</i>	K	0,00	0,00	2,59	0,49	<b>0,77</b>	0,980		1,000	
	B	0,00	0,01	3,45	0,64	<b>1,03</b>				
	Br	0,00	0,01	2,78	0,77	<b>0,89</b>				
	Sz	0,00	0,04	2,89	0,82	<b>0,94</b>				
	Átlag (Kor)	<b>0,00<sup>b</sup></b>	<b>0,01<sup>b</sup></b>	<b>2,93<sup>a</sup></b>	<b>0,69<sup>b</sup></b>					<b>0,001</b>
<i>Bacteroidaceae</i>	K	0,00	0,71	2,61	6,44	<b>0,83</b>	0,960		0,230	
	B	0,00	0,00	4,58	6,31	<b>2,73</b>				
	Br	0,00	0,00	6,77	3,93	<b>1,69</b>				
	Sz	0,00	0,00	9,45	3,31	<b>2,36</b>				
	Átlag (Kor)	<b>0,00<sup>b</sup></b>	<b>0,18<sup>b</sup></b>	<b>5,85<sup>a</sup></b>	<b>5,00<sup>a</sup></b>					<b>0,001</b>
<i>Streptococcaceae</i>	K	0,23	0,14	1,62	1,45	<b>0,86</b>	0,980		0,470	
	B	0,00	0,03	0,55	0,26	<b>0,21</b>				
	Br	0,03	0,04	1,44	0,69	<b>0,55</b>				
	Sz	0,02	0,11	2,09	0,68	<b>0,72</b>				
	Átlag (Kor)	<b>0,07<sup>b</sup></b>	<b>0,08<sup>b</sup></b>	<b>1,42<sup>a</sup></b>	<b>0,77<sup>ab</sup></b>					<b>0,001</b>

(K) kontroll kezelés, (Br) Broilact kezelés -  $1,25 \times 10^7$  CFU/0,5 ml; (B)-búzas kezelés – indító, nevelő, befejező fázis 3, 6, 6%; (Sz)-szimbiotikum kezelés – *B. subtilis*  $1,6 \times 10^6$  CFU/g; inulin 5g/kg; *S. cerevisiae* boulardii  $1 \times 10^9$  CFU/kg; T: takarmánykezelés; Kor: életkor (7, 14, 21, 40 nap); T x K: kölcsönhatás; Az

<sup>a,b</sup> jelzések kor hatására bekövetkező átlagok közötti szignifikáns különbséget jelölik ( $p < 0,05$ ). Az <sup>A,B</sup> jelzések a takarmánykezelések hatására bekövetkező átlagok közötti szignifikáns különbséget jelölik ( $p < 0,05$ ). A táblázat csak azokat a családokat tartalmazza, amelyeknél a relatív gyakoriság csoportátlaga 1%-nál magasabb volt.



**13.ábra.** Az mikrobióta relatív gyakoriságának változása az életkorral család szinten a vizsgált mintavételi helyeken.

IC: ileális béltartalom, IM: ileális bélhám, CC: vakbél béltartalom

Az IC-ben egy nagyobb (*Lactobacillaceae*) és tíz kisebb gyakoriságú család volt kimutatható. A *Lactobacillaceae* relatív gyakorisága nem változott a madarak életkorával. A *Streptococcaceae* és *Erysipelotrichaceae* családokat a 7. napon alacsony gyakoriság jellemezte (1,04%, 0,10%), majd arányuk szignifikánsan ( $p < 0,0001$ ) nőtt a 40. napig (9,17%, 3,93%). Általánosságban a brojlercsirkék csípőbélében a tejsavtermelő baktériumok dominálnak, elsősorban a *Lactobacillus spp.*, *Enterococcus spp.* és *Streptococcus spp.* Ezek a baktériumok tisztán fermentatív

anyagcserével rendelkeznek; nincs szükségük molekuláris oxigénre, de a legtöbb fajuk aerotoleráns vagy fakultatív anaerob, annak jelenléte nem károsítja őket (Apajalahti és Vienola, 2016).

Vizsgálatunkban a *Staphylococcaceae*, *Corynebacteriaceae* és *Clostridiaceae\_1* család szintén alacsony gyakorisággal volt jelen a 7. napon, majd a 21. napon érte el maximumát (7,2%, 5,73%, 6,16%). A *Staphylococcae* és *Corynebacteriaceae* növekedése az életkor előrehaladásával szignifikáns volt ( $p < 0,0001$ ). Az *Enterococcaceae* és *Lachnospiraceae* relatív gyakorisága az első két hétben volt a legnagyobb, később mindkét család csökkenő tendenciát mutatott. Az *Enterobacteriaceae* aránya is gyorsan csökkent az első két hét után. A *Bacillaceae* volt az egyetlen család, amely a korrallal nem mutatott jelentős változást. A mikrobióta időbeli változásainak vizsgálata során Glendinning és mtsai. (2019) megállapították, hogy a *Lactobacillus* (50%) és az *Enterococcus* (41%) nemzetség domináns a csípőbélben 7 napos korban. Vizsgálatunkban ezt követően az *Enterococcus* (*Enterococcaceae*) gyakorisága csökkent, a *Lactobacillusok* dominanciája nőtt a 14. és 35. nap között. Ez megegyezik vizsgálatunk eredményeivel. Ranjitkar és mtsai. (2016) eredményeihez hasonlóan jelentős változások következtek be a baktériumközösség összetételében. A *Lactobacillaceae* továbbra is domináns maradt (67,7), míg a második nagyobb család szintén a *Clostridiaceae* lett (19,3%), valamint az *Enterococcaceae* 0,9%-ra csökkent. A *Streptococcaceae* felszaporodott (4,7%), az *Enterobacteriaceae* pedig enyhén, 0,4%-ról 0,2%-ra csökkent. Esetünkben a *Clostridiaceae* jelenléte nem volt ilyen domináns.

Az IM-ben három nagyobb, (*Clostridiaceae\_1*, *Peptostreptococcaceae* és *Lactobacillaceae*) és három kisebb gyakoriságú család volt megfigyelhető. A *Clostridiaceae\_1* volt a legnagyobb arányban jelen kezdetben (66,1%), aránya nem változott a 7. és 21. nap között. A 40. napon azonban az gyakorisága 6,92%-ra csökkent ( $p < 0,0001$ ). Ezzel szemben a *Peptostreptococcaceae* és a *Lactobacillaceae* gyakorisága a korrallal növekedett. Mindkét család aránya a 14. napon volt a legkisebb, majd szignifikánsan nőtt (15,6% és 50,9%;  $p < 0,022$  és  $p < 0,0001$ ) 40 napos korig. A *Streptococcaceae* és az *Erysipelotrichaceae* hasonló növekedési tendenciát mutatott. Mindkettő gyakorisága alacsony volt a 7. napon (0,19% és 0,06%), majd a 40. napon elérte a maximumot (8,96% és 8,76%). Az *Enterococcaceae* az életkorrallal nem változott szignifikánsan, azonban 7. és 14. nap között 7,42%-ról 0,30%-ra csökkent a gyakorisága, ám ezt követően nem érvényesült életkor hatás. Több tanulmány is foglalkozik a csípőbél nyálkahártya mikrobiótájának összetételével (Borda-Molina et al., 2016; Wei et al., 2016), de csak egy esetben (Richards-Rios et al., 2020) vizsgálták a mikróbaközösség életkorrallal történő változását. Wei és mtsai. (2016)

vizsgálataiban 40 napos korban a legdominánsabb családok a *Lactobacillaceae* és a *Ruminococcaceae* voltak, emellett a *Lachnospiraceae* és az *Enterococcaceae* voltak kisebb arányban jelen. Borda-Molina és mtsai. (2016) vizsgálatában a *Lactobacillaceae* (25,2%) és a *Burkholderiaceae* (22,5%) voltak a meghatározó, viszont a *Ruminococcaceae* (8,3%), a *Lachnospiraceae* (8,8%), a *Streptococcaceae* (6,2%), és a *Peptostreptococcaceae* (10,4%) pedig a kis gyakoriságú családok. Richards-Rios és mtsai. (2020) vizsgálataiban a *Lachnospiraceae* és a *Ruminococcaceae* volt domináns, míg az *Enterobacteriaceae*, *Lactobacillaceae* és *Peptococcaceae* voltak a kisebb gyakoriságúak. Az irodalmi adatok összevetése eredményeinkkel azonban könnyebb, ha ezeket a változásokat nemzetség szintjén vizsgáljuk meg (M11. táblázat). Ennek oka, hogy több családon belül is egy nemzetséget találtunk az uralkodónak minden esetben. Ilyen nemzetség például a *Clostridiaceae* családon belül a *Candidatus Arthromitus*, ami meghatározó volt a 7., 14. és 21. napon (65,9-72,7%), és minden vizsgált időben szignifikánsan nagyobb volt az aránya a bélhámiban ( $q=0,000$ ), a másik két mintavételi helyhez viszonyítva. Az utolsó vizsgált napon azonban, az addig csak kis mennyiségben jelen lévő a *Lactobacillus* nemzetség (9-12%) vált dominánssá (52%), hasonlóan Gong és mtsai. (2007) eredményeihez, ahol a *Lactobacillus* és az *Enterococcus cecorum* domináltak a csípőbélben 5 hetes brojlercsirkékben. Emellett a *Candidatus Arthromitus* szekvenciák ebben a kísérlemben is nagy arányban jelen voltak. A *Candidatus Arthromitus* általánosan jelen lévő nemzetség a csípőbél nyálkahártyájában. Ez a szegmentált fonalas baktérium (SFB), nem tenyésztethető, spóráképző, *Clostridium* nemzetséggel rokon kommenzalista baktérium, amely számos állatfaj emésztőrendszerében jelen van (Snel et al., 1995). Jelenlétük befolyásolja a veleszületett és a szerzett immunitás kialakulását, ami befolyásolja a bakteriális vagy gombák okozta megbetegedések kialakulásának kockázatát a gyomor-bélrendszeren és a légutakban (Hedblom et al., 2018). Ennek oka, hogy ez a nemzetség filamentumok segítségével szorosan kötődik elsősorban a csípőbélben a bélhám felszínéhez anélkül, hogy gyulladáshoz vezetne ki (Klaasen et al., 1992). A *Salmonella enterica* Typhimurium szerovariáns tapadási mechanizmusához hasonlóak ezek a talpazatszerű képződmények (Ericsson et al., 2014). Bár ez a kötődési mechanizmus hasonlít a patogén baktériumokéhoz, nem károsítja a gazdasejtet, és nem okoz gyulladáshoz vezető választ a lamina propriában (Caselli et al., 2010). Úgy tűnik, hogy kétélű fegyverként működnek az emlősök immunrendszerében – az egyik oldalon védő immunitást közvetítenek azáltal, hogy erőteljesen indukálják az IgA-t kiválasztó sejteket, a másik oldalon pedig az autoimmun betegségeket segítik elő a rheumatoid arthritis kiváltásával. Emiatt az SFB baktériumok azon kevés kommenzalista baktérium közé tartoznak, amelyek stimulálhatják az immunrendszer születés utáni érését (Thompson et al., 2013). Hedblom és mtsai. (2018) azt írták, hogy a *Candidatus Arthromitus*

(alkalmanként *Candidatus Savagella* néven jelölik), nagyobb arányban van jelen a jobban növekvő csirke állományokban, a gyengébben teljesítőkhöz képest. Richards-Rios és mtsai. (2020) vizsgálatában a *Candidatus Arthromitus* nagy gyakorisága 7 és 14 nap között volt jelentős, majd a *Lactobacillus* lett a domináns nemzetség mind a nyálkahártyában, mind a lumenben. Ez a *Lactobacillus* dominancia átmeneti volt, a 42. napra lecsökkent, míg számos más taxon, köztük az *Escherichia*, a *Turicibacter* és a *Clostridiales* tagjainak aránya megnövekedett. Vizsgálatunkban a *Lactobacillus* ilyen csökkenése nem volt megfigyelhető. Ez jelentheti azt, hogy a bélflóra stabilizálódása nem fejeződött be a nyálkahártyában, ugyanis a *Lactobacillus* dominancia csupán időszakos jellemzője ennek a bélszegmensnek (Richard-Rios, 2020).

Vakbél esetében változatosabb és sokkal részletesebb képet ad a bél mikrobaközösségeinek törzs szintű vizsgálathoz képest a családi szintű vizsgálat. Általánosságban jellemző, hogy a vakbelet szigorú anaerob baktériumok uralják. Közös jellemzőjük, hogy képesek komplex növényi eredetű szénhidrátokat hasznosítani és ezáltal vajsavat termelni (Apajalahti and Vienola, 2016). Vizsgálatunk során a vakbél tartalomban három nagyobb (*Ruminococcaceae*, *Lachnospiraceae* és *Lactobacillaceae*) és hét kisebb család volt detektálható. A *Ruminococcaceae* a 14. naptól, a *Lachnospiraceae*, *Clostridiales vadinBB60* csoport, *Enterobacteriaceae* és *Anaeroplasmataceae* pedig a 7. naptól mutatott csökkenő tendenciát, és a kezdeti magas gyakoriság szignifikánsan csökkent a 40. napra. A *Lactobacillaceae* és két kisebb család *Erysipelotrichaceae*, *Peptostreptococcaceae* ehhez képest ellenkező trendet mutatott. Ezeknek a családoknak a relatív gyakorisága szignifikánsan kisebb volt a 7. napon, majd ezek az értékek folyamatosan nőttek a 40. napig. A *Rikenellaceae* és a *Bacteroidaceae* hasonló tendenciát mutatott, de növekedésük csak 21. napig volt szignifikáns. Oakley és mtsai. (2014b) több kutató eredményeit összevetve a *Bacteroidaceae* (*Bacteroidetes*), *Ruminococcaceae*, *Lachnospiraceae* és *Clostridiaceae* családokat állapította meg dominánsnak a kelés után 3 héttel a vakbél mikrobióta közösségében. Oejo és mtsai. (2019) hasonló eredményt kapott, azonban megállapították, hogy ezek relatív gyakorisága a kortól függően változik. Az *Oscillospiraceae*, *Pasteurellaceae* (*Proteobacteria*), *Enterobacteriaceae* (*Proteobacteria*), *Lactobacillaceae*, *Aerococcaceae*, *Eubacteriaceae*, *Anaeroplasmataceae* (*Tenericutes*) és *Bacillaceae* szintén előfordulhat alacsonyabb gyakorisággal (Apajalahti és Vienola, 2016). Ranjitkar et al. (2016) vizsgálatában 8 napos korban a *Lachnospiraceae* (39,1%), a *Ruminococcaceae* (29,5%) és a *Lactobacillaceae* (17,5%) család volt a domináns. A *Lachnospiraceae* és *Lactobacillaceae* folyamatosan csökkent a 36. napra (22,7%, illetve 3,3%), a *Ruminococcaceae* 36,1%-ra emelkedett. Ezekhez képest kísérletünkben csak a *Lactobacillaceae* család emelkedő tendenciája (8-2-10-18%) tűnik ki. Ennek, és az összevetett

kísérleti eredmények nagymértékű változatosságának lehetséges magyarázata lehet, hogy a filogenetikailag változatos mikroorganizmusok hasonló metabolikus funkciókkal rendelkezhetnek, így helyettesíthetik egymást az egyes családok (Oakley et al., 2014).

#### 5.2.3.4. Takarmánykezelés hatások

Az ileális béltartalomban a *Firmicutes* törzs relatív gyakorisága a 7. napon szignifikánsan alacsonyabb volt a Broilact kezelés esetén a kontrollhoz képest. Ugyanezen kezelésnél növekvő tendencia volt látható a *Proteobacteria* törzs tekintetében, majd annak csökkenése volt megfigyelhető a 21. napon. Az Sz kezelés esetén a 7. napon és 21. napon szignifikánsan nagyobb cianobaktérium gyakoriság volt a kontrollhoz képest (M7 táblázat). A *Planctomyces* ( $p=0,02$ ;  $q=0,15$ ) és a *Bacteroidetes* ( $p=0,03$ ;  $q=0,15$ ) törzs relatív gyakorisága tendenciálisan nagyobb volt a szimbiotikum és búzás csoportban, mint a kontroll csoportban. A *Planctomyces* törzs a peptidoglikán mentes baktériumok csoportja, amelyek egyre nagyobb jelentőséggel bírnak a mikrobiális evolúció, az ökológia, a sejtbiológia és a genomika szempontjából. Ez a törzs, amely a 16S rRNS szekvenálási vizsgálatok filogenetikája alapján egy mélyen elágazó csoportot képvisel a baktériumokon belül (Fuerst, 2004). Ezeket a baktériumokat különféle édesvízi, tengeri és talaj élőhelyeken, sőt gerinctelen állatokban is azonosították (Fuerst, 1995; Wang et al., 2002). A kísérleti adatok azonban továbbra is szűkösek e törzs jellemző képviselőinek alacsony száma miatt, de néhány *Planctomyces* részt vesz a polimer szerves anyagok lebontásában. (Ivanova et al., 2018). Annak, hogy a *Planctomyces* törzs aránya nagyobb volt az szimbiotikum és búzás csoportokban a kontroll csoporthoz képest az lehetett az oka, hogy a kezelések prebiotikum kiegészítést tartalmaztak. Ez korrelálhat a *Planctomyces* polimerbontó képességével. Rend szinten a *Rickettsiales* relatív gyakorisága szignifikánsan nagyobb volt ( $q=0,008$ ) a búzás kezelésnél, mint a kontroll csoportnál. Család szinten a *Lactobacillaceae* volt a domináns minden kezelésben, de a Broilact kezelésnél valamivel kisebb gyakorisággal volt jelen, de a különbség nem volt statisztikailag kimutatható ( $p=0,239$   $q=0,492$ ). A *Mitochondria* család aránya ( $q=0,01$ ) szignifikánsan nagyobb volt a búzás kezelésnél, a *Bacillaceae* család pedig az szimbiotikum csoportban, a kontroll csoporthoz képest ( $p=0,001$ ;  $q=0,04$ ). Az *Enterobacteriaceae* gyakorisága alacsonyabb volt ( $p=0,05$ ;  $q=0,48$ ) a kontrollban, mint a Broilact csoportban. Ennek oka lehetett a *Lactobacillaceae* család gyakoriságbeli különbsége a két csoport között. A *Lactobacillaceae* a baromfi csípőből mikrobióta egyik leggyakoribb tagja, rövid szénláncú zsírsavakat és tejsavat termel (Rivière et al., 2016). Hozzájárul számos savérzékeny baktérium, például az *Enterobacteriaceae* család elszaporodásának gátlásához, a béltartalom pH-értékének

csökkentésével (Cisek and Binek, 2014). A csirke fejlődése során körülbelül 2 hét kell ahhoz, hogy a *Lactobacillaceae* váljon az uralkodó családdá (Barnes et al., 1972). A legtöbb *Enterobacteriaceae* faj túlsúlya és hosszú távú jelenléte a bélben a dysbiosis markere (Rivera-Chávez et al., 2017), annak ellenére, hogy ez a család meghatározó a bélrendszerben (Donaldson et al., 2017). Ezenkívül az *Enterobacteriaceae* tagjai késleltethetik vagy blokkolhatják a jótékony mikrobióta növekedését a fontos korai ökológiai rések kihasználása miatt (Pedroso et al., 2016). Ezzel a tanulmánnyal egyezően Juricova és mtsai. (2013) kimutatták, hogy a *Salmonella Enteritidis*-szel fertőzött csirkében 1 és 4 napos korban lassúbb volt a mikrobióta fejlődése, aminek oka véleményük szerint az, hogy az *Enterobacteriaceae* gyakorisága növekedett, és ezzel párhuzamosan a *Clostridiaceae* és *Lactobacillaceae* relatív gyakorisága csökkent. Korábbi vizsgálatokban ezzel szemben mégis azt írták le, hogy a Broilact képes gátolni a *Campylobacter spp.* kötődését a csirke bélnyalvákhártyájához (Ganan et al., 2012), és gátolta a naposcsibék bélrendszerében a *Salmonella ssp.* kolonizációját (Schneitz et al., 2016). A búzás kezelés a *Mitochondria* család tagjainak nagyobb bőségét is eredményezte. Osztály szinten az *Alphaproteobacteria* jelenléte is szignifikánsan gyakoribb volt ( $q=0,007$ ) a búzás kezelésnél a kontroll csoporthoz képest. A *Mitochondria* család a *Rickettsiales* rend és az *Alphaproteobacteria* osztály tagjai közé van besorolva. Ez nem teljesen helytálló, hiszen a *Rickettsiales* rend tagjai kötelező intracelluláris endoszimbionták, az eukarióta sejtek parazitái (Emelyanov, 2001). A *Mitochondria* családba sorolt mitokondriumok azonban fontos részei az eukarióta sejteknek, nem egy baktériumcsaládot jelentenek. Ez a furcsa besorolás a mitokondriumok eredetére vezethető vissza. Tanulmányok bizonyítják azt az elképzelést, hogy a mitokondriumok a *Rickettsiales* rokon őseiből fejlődtek ki. Ezeknek a sejtalkotóknak az alfaproteobakteriális eredete elfogadott, azonban a filogenetikai helyzetük problémájának feloldására az alfaproteobaktérium fajfán belül a kutatók nem jutottak még konszenzusra (Fitzpatrick et al., 2006; Ferla et al., 2013). Az alfaproteobakteriális és mitokondriális szekvenciák nagyfokú heterogenitást mutatnak, érzékenyek a kompozíciós torzításra, amelyben a hasonló szekvencia-összetételű, rokon vonalak hamisan csoportosulnak (Martijn et al., 2018). A mitokondriumok szekvenciáit a SILVA szekvencia adatbázis segítségével elemeztük. Az eredmények szerint a szekvenciák megegyeznek a növényi szekvenciákkal, és a hozzárendelt *Rickettsiales* valószínűleg a búza mitokondriumait képviseli, nem pedig bakteriális szekvenciákat. Ez torzíthatja az eredményeket. Nemzetség szintjén a leggyakoribb baktériumcsoport a *Lactobacillus* volt minden esetben. Ez összhangban van a korábbi eredményekkel, amelyek azt mutatják, hogy a brojlercsirke csípőbél tartalma  $10^8$ - $10^9$  baktériumot tartalmaz grammonként (Gong et al., 2002; Apajalahti et al., 2004), amelyen belül a *Lactobacillus* (70%), *Clostridium* (11%), a *Streptococcus* (6,5%) és az *Enterococcus* (6,5%)

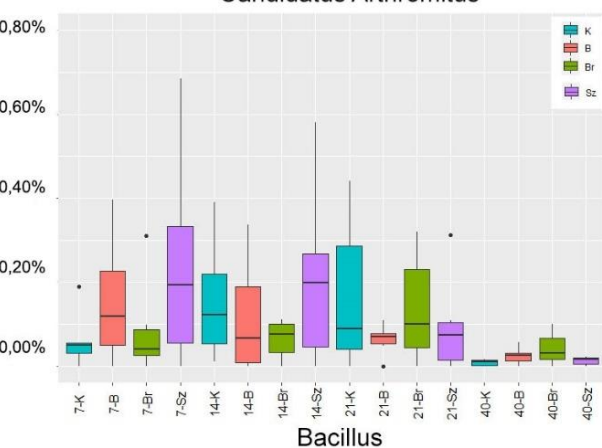
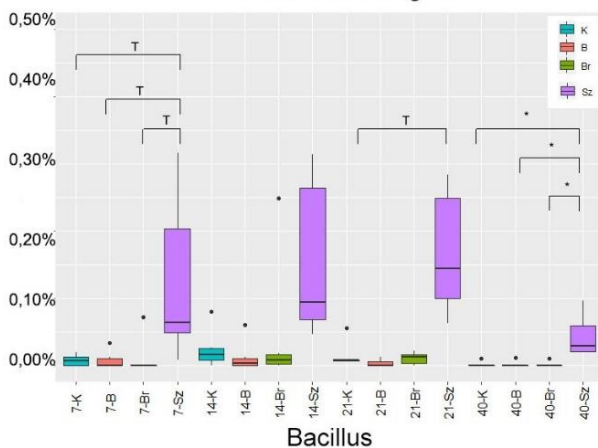
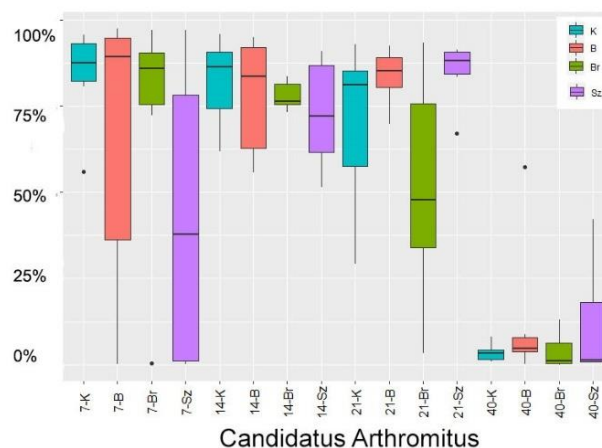
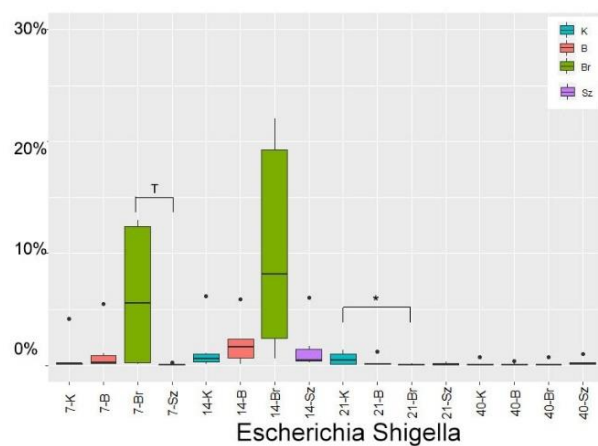
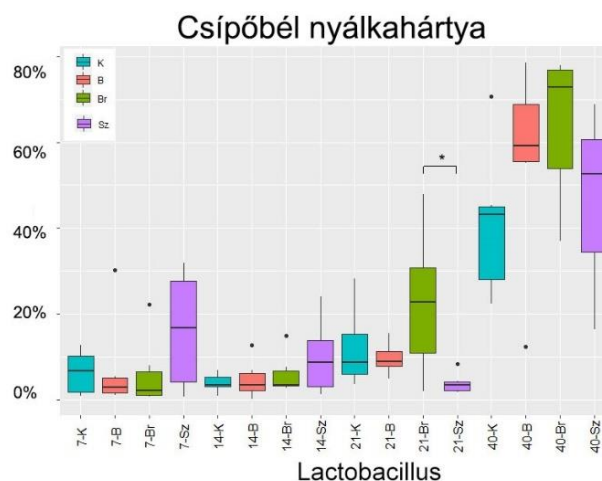
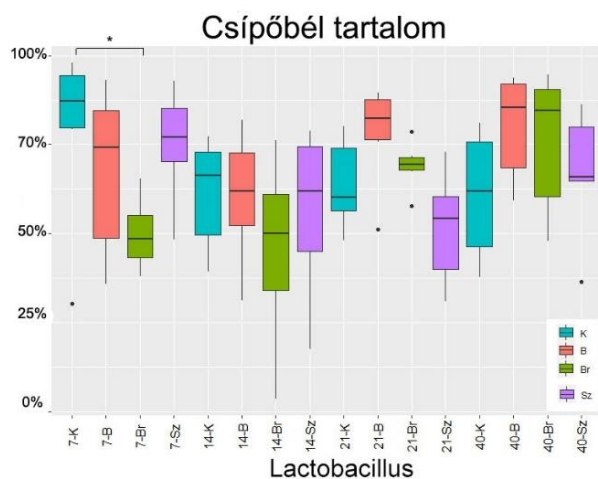


fordul elő a legnagyobb mennyiségben (Lu et al., 2003). Nemzetség szinten a *Lactobacillus* relatív gyakorisága a 7. napon szignifikánsan alacsonyabb volt, a Br kezelés esetén, szemben az *Enterococcus*-al, amely szignifikánsan nagyobb volt a kontrollhoz képest. A Br kezelés az *Escherichia-Shigella* tendenciálisan nagyobb gyakoriságát eredményezte a 7. és a 14. napon, de ezt követően csökkent az aránya. A *Bacillus* relatív gyakorisága alacsony volt, de az Sz kezelés minden időintervallumban egyértelmű növekedést eredményezett ebben a nemzetségben. A különbségek a többi kezeléshez képest a 7. és a 40. napon is szignifikánsak voltak. Ez az eredmény azzal magyarázható, hogy a kezelés *B. subtilis* kiegészítést tartalmazott (15. ábra).

Az ileális bélhamban a *Firmicutes*, *Proteobacteria*, *Actinobacteria* és *Cianobaktérium* törzsekre is hatással voltak a kezelések a 7. napon (M5 táblázat). Az Sz kezelés csökkentette a *Firmicutes*, és növelte a másik három törzs gyakoriságát a kontroll kezeléshez képest. A különböző nemzetségeket tekintve a *Lactobacillus*-ra gyakorolt egyetlen szignifikáns takarmány kezelési hatást a 21. napon tapasztaltuk, amikor a Broilact kezelésnél nőtt ennek a nemzetségnek a gyakorisága az szimbiotikum kezeléshez képest (M8 táblázat). Érdekes módon változott a *Candidatus Arthromitus* domináns nemzetség aránya is. Az első három héten nagy gyakorisággal volt jelen, de a 40. napon aránya meredeken csökkent. Bár a különbségek nem voltak szignifikánsak, a 7. napon és 14. napon az Sz takarmánykezelés növelte a *Bacillus* nemzetség relatív gyakoriságát (14. ábra). További erős szignifikáns hatást eredményezett a *Ruminococcaceae UCG-008* nemzetség gyakoriságának növekedésében a Br kezelés, ami főként 40 napos korra korlátozódott. Ennek a nemzetségnek a megítélése nem egységes, hiszen a *Ruminococcaceae* család tagjait főként a rost bontással és a butirát termeléssel hozzák összefüggésbe (Greene et al., 2020; Yuan et al., 2020), de olyan tanulmányt is olvashatunk, ahol ez a nemzetség malacoknál pozitívan korrelál hasmenéses tünetekkel (Hung et al., 2019).

A vakbél tartalomban nem találtunk szignifikáns kezelési hatást törzs szintjén (M6 táblázat), csupán tendencia látható a *Lentisphaerae* esetében, ami a búzás kezelés hatására szaporodott fel a vakbélben. Ezt a törzset egy 2016-os nyulakkal végzett vizsgálat egyértelműen a takarmányok rosttartalmával hozza összefüggésbe. Ennek során leírták, hogy relatív gyakorisága szignifikánsan magasabb az olyan háztáji nyulak ürülékében amelyek gyakran kapnak kiegészítésként gyümölcsöt és zöldséget, szemben az intenzíven tartott, csak tápot fogyasztó állatokkal (Kylie, 2016). Család szinten az egyetlen szignifikáns hatás az *Erysipelotrichaceae* család relatív gyakoriságának csökkenése volt 14. és 40. napon a Broilact csoportban a kontrollhoz képest. Nemzetség szinten a *Coprococcus\_1* szignifikánsan nagyobb számban volt kimutatható a Broilact kezelés esetén, mint a kontroll csoportban. Ez a baktérium a *Lachnospiraceae* család tagja. Főbb

fermentációs termékei közé tartozik a vajsav az ecetsav, a hangyasav és a propionsav (Ezaki, 2015). A búzás kezelés esetén pedig a *Ruminiclostridium\_5* nemzetség szaporodott fel a kontroll kezeléshez képest. A *Ruminiclostridium* nemzetség tagjait a poliszaharid bontó baktériumok közé sorolják, amelyek illózsírsavakat termelnek (Song *et al.*, 2018; Duarte *et al.*, 2020). Humán és patkány kísérletek értékelésekor megállapították, hogy a *Ruminiclostridium\_5* epe- és hasnyálmirigy problémával küzdő betegeknél alacsonyabb relatív gyakorisággal van jelen a székletben, egészséges egyedeknél szignifikánsan nagyobb az aránya. Továbbá patkányokkal és emberekkel végzett kísérletek során megállapították, hogy prebiotikumok etetésének hatására felszaporodhat a bélben (Berding *et al.*, 2021; Thompson *et al.*, 2021). Baromfi esetében eddigi ismereteink szerint ilyen eredményt még nem publikáltak.



**14. ábra.** A takarmánykezelések és az életkor hatása az csípőbél tartalom (IC) és nyálkahártya (IM) baktérium összetételére nemzetség szinten.

(K) kontroll kezelés, (Br) Broilact kezelés -  $1,25 \times 10^7$  CFU/0,5 ml; (B)-búzas kezelés – indító, nevelő, befejező fázis 3, 6, 6%; (Sz)-szimbiotikum kezelés – *B. subtilis*  $1,6 \times 10^6$  CFU/g; inulin 5g/kg; *S. cerevisiae* boulandii  $1 \times 10^9$  CFU/kg.

#### 5.2.4. Ürülékvizsgálati eredmények

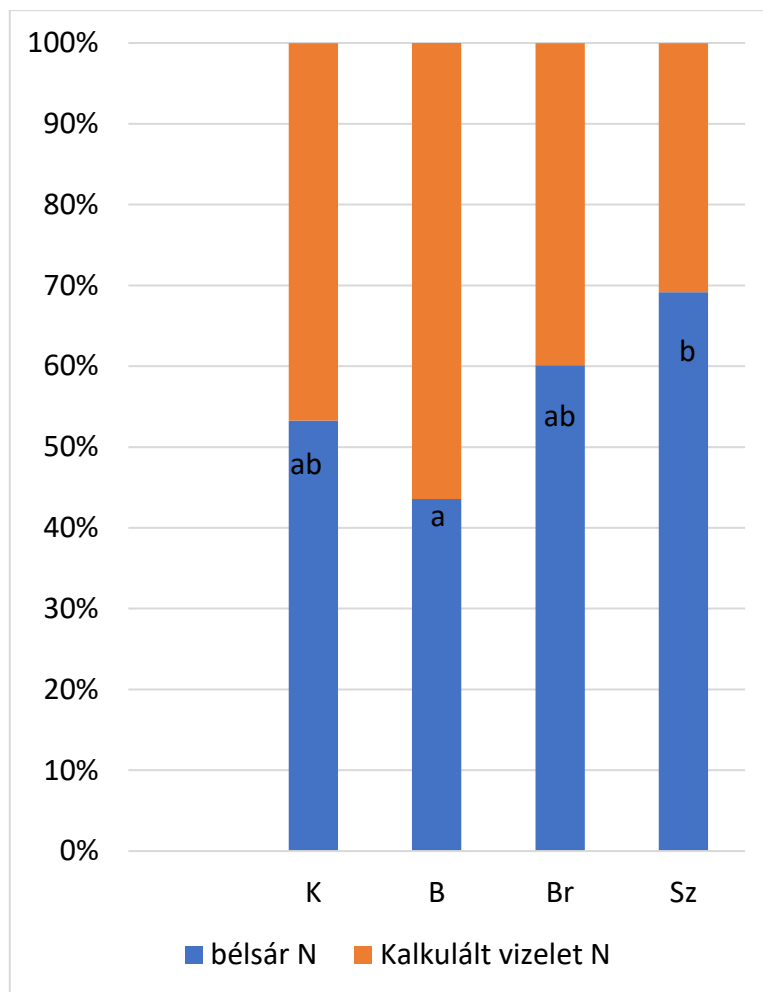
Az szimbiotikum és a Broilact kezelés tendenciálisan csökkentette a húgysav-N mennyiségét a kontroll csoporttal összehasonlítva. Az első kísérlettel ellentétben, a probiotikumot vagy baktériumkultúrát tartalmazó kezelések nem befolyásolták az ürülék szárazanyag tartalmát. A búzas kezelés esetén azonban az ürülék szárazanyag tartalma szignifikánsan nagyobb volt mind a Broilact és a szimbiotikum kezeléseknél.

**22. táblázat: A 40 napos korban gyűjtött ürülékminták N-formáinak, valamint szárazanyag tartalmának alakulása a takarmány kezelések hatására.**

Táp	összes N	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N	húgysav-N	szárazanyag	N
	mg/g szárazanyag			%	
<b>K</b>	45,42	3,81	17,53	15,17 <sup>ab</sup>	6
<b>B</b>	41,23	4,54	17,6	16,16 <sup>a</sup>	6
<b>Br</b>	48,36	3,73	14,60	14,72 <sup>b</sup>	6
<b>Sz</b>	50,21	2,58	12,62	14,81 <sup>b</sup>	6
<i>Átlag szórás</i>	<i>1,82</i>	<i>0,42</i>	<i>0,83</i>	<i>0,18</i>	
p-érték	0,341	0,468	0,090	<b>0,015</b>	

(K) kontroll kezelés, (Br) Broilact kezelés -  $1,25 \times 10^7$  CFU/0,5 ml; (B)-búzas kezelés – indító, nevelő, befejező fázis 3, 6, 6%; (Sz)-szimbiotikum kezelés – *B. subtilis*  $1,6 \times 10^6$  CFU/g; inulin 5g/kg; *S. cerevisiae boulardii*  $1 \times 10^9$  CFU/kg. Az <sup>a,b</sup> jelzések az átlagok közötti szignifikáns különbséget jelölik. A statisztikailag szignifikáns értékek félkövér betűvel vannak szedve.

Jól láthatóan a szimbiotikum kezelés esetén volt a legalacsonyabb a vizelet-N aránya, ami statisztikailag is igazolható volt a búza alapú kezeléshez képest (15. ábra). Hasonló tendencia volt megfigyelhető a Broilact kezelés esetén is, azonban a különbség itt nem volt szignifikáns. Ez az eredmény megegyezik az első kísérletünkben kapott eredményekkel, ahol a probiotikum kezelés hasonló hatással voltak erre a vizsgált paraméterre.



**15. ábra.** A kalkulált vizelet és bélsár eredetű N alakulása a 40 napos korban gyűjtött ürülékmintákban takarmány, valamint pre- és probiotikum kezelések hatására brojlercsirkék esetében.

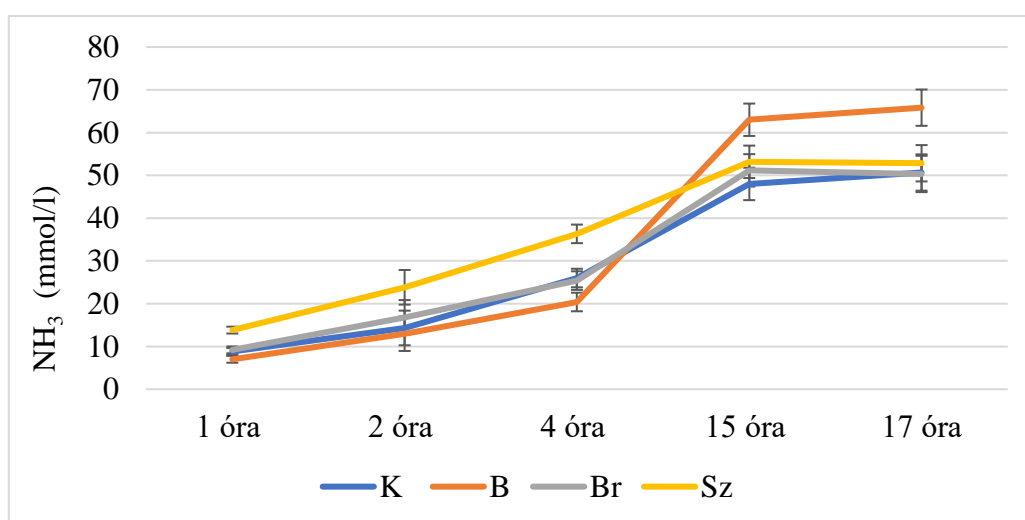
(K) kontroll kezelés, (Br) Broilact kezelés -  $1,25 \times 10^7$  CFU/0,5 ml; (B)-búzas kezelés – indító, nevelő, befejező fázis 3, 6, 6%; (Sz)-szimbiotikum kezelés – *B. subtilis*  $1,6 \times 10^6$  CFU/g; inulin 5g/kg; *S. cerevisiae boulardii*  $1 \times 10^9$  CFU/kg. Az <sup>a,b</sup> jelzések az átlagok közötti szignifikáns különbséget jelölik.

Az ammónia emissziós adatok az 23. táblázatban láthatóak. Az inkubáció első órájában az Sz kezelés esetén statisztikailag kimutathatóan nagyobb mértékű volt az ammónia felszabadulása, mint a kontroll és a búza alapú táp esetén. A 2. és 4. órában szignifikáns különbség csupán a B és az Sz kezelés között maradt meg. Ezt követően 15 és 17 óra elteltével a B kezelés emissziós értéke meghaladta mindhárom kezelését (16. ábra). A 15 és 17 órás átlagok nagy eltérései ellenére a különbségek nem voltak statisztikailag igazolhatók.

**23. táblázat: A 40 napos korban vett ürülmintákból felszabaduló ammónia mennyisége a takarmány kezelések hatására.**

Kezelés	1 óra	2 óra	4 óra	15 óra	17 óra	N
	mg/l NH <sub>3</sub>					
<b>K</b>	8,8 <sup>b</sup>	14,3 <sup>ab</sup>	26,0 <sup>ab</sup>	48,0	50,6	6
<b>B</b>	7,0 <sup>b</sup>	13,0 <sup>b</sup>	20,4 <sup>b</sup>	63,0	65,8	6
<b>Br</b>	9,2 <sup>ab</sup>	16,8 <sup>ab</sup>	25,4 <sup>ab</sup>	51,1	50,3	6
<b>Sz</b>	13,8 <sup>a</sup>	23,8 <sup>a</sup>	36,3 <sup>a</sup>	53,1	52,8	6
<i>Standard Hiba</i>	0,80	4,05	2,17	3,79	4,24	
<b>p-érték</b>	<b>0,006</b>	<b>0,033</b>	<b>0,049</b>	0,562	0,549	

(K) kontroll kezelés, (Br) Broilact kezelés -  $1,25 \times 10^7$  CFU/0,5 ml; (B)-búzas kezelés – indító, nevelő, befejező fázis 3, 6, 6%; (Sz)-szimbiotikum kezelés – *B. subtilis*  $1,6 \times 10^6$  CFU/g; inulin 5g/kg; *S. cerevisiae boulardii*  $1 \times 10^9$  CFU/kg. <sup>a, b</sup> Az eltérő betűvel jelzett értékek szignifikáns különbséget jelölnek. A statisztikailag szignifikáns értékek félkövér betűvel vannak szedve.



**16. ábra.** Az brojlersirkék ürülékéből felszabaduló ammónia emissziójának dinamikája.

(K) kontroll kezelés, (Br) Broilact kezelés -  $1,25 \times 10^7$  CFU/0,5 ml; (B)-búzas kezelés – indító, nevelő, befejező fázis 3, 6, 6%; (Sz)-szimbiotikum kezelés – *B. subtilis*  $1,6 \times 10^6$  CFU/g; inulin 5g/kg; *S. cerevisiae boulardii*  $1 \times 10^9$  CFU/kg.

A szimbiotikum kezelés során alkalmazott *Bacillus subtilis* egyike volt annak a három baktériumnak, amely a legjobb NH<sub>3</sub>-képződést gátló hatást mutatta Mi és mtsai. (2019)

vizsgálatában. Santoso és mtsai. (1999) továbbá megfigyelték, hogy a szárított *Bacillus subtilis* kultúra etetése jelentősen csökkentette az NH<sub>3</sub> gáz felszabadulását, talán az ureáz-termelő mikroflóra elnyomásán keresztül. Ezen túlmenően a *Bacillus subtilis* kiegészítése kacsatakarmányban csökkentette a szérum ammónia és a vér húgysavszintjét (Li et al., 2011). Korábbi kísérletek is igazolták, hogy a szimbiotikum kezelés többi komponense, az inulin és az élesztő is képes csökkenteni az NH<sub>3</sub> termelődését (Kim et al., 2007; Lynch et al., 2007). Eredményeink arra utalnak, hogy a prebiotikus inulin és a *Saccharomyces cerevisiae boulardii* élesztőgomba megnövelte a vakbélben az ammónia bakteriális fehérjévé alakítását. Ez vezethetett a csökkent vizelet N arányhoz. Kísérletünkben a *Bacillus subtilis* ammónia emisszió csökkentő hatását nem tapasztaltuk, sőt ennél a kezelésnél indult meg leggyorsabban az ammónia felszabadulása. Ezért a hatásért a szimbiotikum másik 2 komponense az inulin és az élesztő lehetett a felelős.

## 6. Következtetések és javaslatok

A kísérleti eredményeket összevetve megállapíthatjuk, hogy a pre- és probiotikummal kiegészített takarmány etetésének hatása nem elsősorban a termelési paraméterek javulásában nyilvánul meg. Eredményeink alapján a *L. farciminis*, *C. butyricum*, búzakorpa, Broilact és inulin, *S. cerevisiae boulandii*, valamint *B. subtilis* kísérleteinkben alkalmazott mértékben történő használatának hatása a bél mikrobióta összetételére is csupán kis mértékű. Ezt jól jelzik a bél hisztomorfológiai paramétereinek vizsgálata során kapott eredményeink is, hiszen a 3, 6 és 6 % búzakorpa az indító, nevelő és befejező takarmányozási fázisban és a *L. farciminis*  $5 \times 10^9$  CFU/kg, valamint *C. butyricum*  $2,5 \times 10^9$  CFU/kg mértékben történő alkalmazása csupán kis mértékben ugyan, de pozitívan befolyásolták a brojlercsirke béltulajdonságait, de ez nem eredményezett látható javulást a termelésben. A mikrobiótára gyakorolt hatás is leginkább a csípőbélben követhető le. A kapott eredményekből megállapíthatjuk, hogy a búzakorpa prebiotikumként való alkalmazása nem minden esetben jelenti az illózsírsav termelésért felelős baktériumcsoportok felszaporodását. Eredményeink alapján a mikrobióta összetételét befolyásoló fő tényezők a madarak életkora és a mintavételi hely. Ez nem azt jelenti, hogy a pro- és prebiotikumok nem hatékonyak, hanem azt, hogy hatásuk ellenőrzött körülmények között és egészséges állatokban valószínűleg korlátozott. Eredményeinkben bemutattuk, hogy a *Verrucomicrobia* törzs tagja, az *Akkermansia* nemzetség búzakorpa (3, 6 és 6% az indító, nevelő és befejező fázisban) kiegészítés hatására fel tudott szaporodni a vakbélben. Eredményeink azt sugallják, hogy az *Akkermansia* nemzetség kolonizációjának takarmányozással történő elősegítése nemcsak emlősökben, hanem a csirke utóbél szakaszaiban is fontos lehet. Ezt követően a búza és a búzakorpa együttes adagolásával elért magasabb xilán oligoszacharid tartalom azonban nem tudta előidézni ezt az eredményt. Ennek magyarázata a két állatcsoport mikrobióta különbözősége lehet. A kukorica-szója alapú táp etetése esetén látható volt a *Bacteroidetes* törzs nagy dominanciája. Ez a túlnyomó dominancia viszonylag stabil és adaptív mikrobiótát eredményezett. Ennek a törzsnek a tagjai jól hasznosítják a különböző poliszacharidokat (Polansky et al., 2016). A búza alapú, búzakorpával kiegészített tápot alkalmazó kísérlet során hasonló dominanciát a *Firmicutes* törzs mutatott, ami vélhetően nem teremt megfelelő közeget az *Akkermansia* számára. Ez esetben a *Firmicutes* dominancia mellett egy másik, pozitív egészségi állapottal összefüggésbe hozott poliszacharid bontásra képes illózsírsav termelő nemzetség, a *Ruminiclostridium\_5* szaporodott fel a vakbélben. Ebből az eredményből jól látható, hogy egy mikrobiomot befolyásoló takarmánykiegészítő hatása nagy mértékben állományfüggő lehet, a prebiotikumként alkalmazott búzakorpa azonban a vakbélben mindkét



esetben tudott kis mértékű pozitív változást előidézni. A Gumboro-betegség antitest-titer eredményei arra utalnak, hogy a csirkék adaptív immunkompetencia-fejlődését kis mértékben a takarmány összetétele is befolyásolja.

A bél mikrobiomban bekövetkező bármilyen változás hatással van az ürülék mikrobiális összetételére is, ami ezáltal befolyással van a trágyából felszabaduló gázok mennyiségére (Raninen et al., 2011). A kapott kísérleti eredményekből látható, hogy a kukorica alapú takarmány búzakorpa-kiegészítése megnövelte az ürülék ureáz aktivitását és ezáltal az ammóniakibocsátás mennyiségét és dinamikáját. Ezt az eredményt megerősíti, hogy a búza alapú, búzakorpával kiegészített takarmány etetése növelheti az elillanó ammónia mennyiségét az ürülékből, mivel megnő az ureáztermelő szervezetek számára rendelkezésre álló N-formák, vagyis a vizelet-N aránya az ürülékben. Az 5g/kg inulin,  $1 \times 10^9$  CFU/kg *S. cerevisiae boulardii*,  $1,6 \times 10^6$  CFU/g *B. subtilis* szimbiotikum kezelés a kezdeti felszabadulást gyorsította, azonban a későbbi időpontokban az intenzitás mérséklődött. A kapott eredményt okozhatta a kezelés mikrobiótára gyakorolt stimuláló hatása, azonban a rendelkezésre álló könnyen elillanó N mennyiségének csökkenését követte a felszabadulás dinamikája is. Az eredményekből az következik, hogy a mikrobiom takarmányozással történő befolyásolása hatékony megoldás lehet a vizelet-N csökkentésére. A vizsgálatban a Broilact kezelés  $1,25 \times 10^7$  CFU/0,5 ml mértékben adva tendenciálisan, a szimbiotikum kezelés statisztikailag igazolhatóan csökkentette a vizelet-N arányát az ürülékben. Ez alacsonyabb ammónia emissziót eredményez hosszú távon, a kevesebb hozzáférhető N-forma eredményeként. Rövid távon azonban a nagyobb mikrobiális aktivitás következtében az emisszió dinamikája intenzívebb lett. Tudomásunk szerint a Broilact® ilyen típusú hatását kutatásunkban írtuk le először. Eredményeinkből arra következtethetünk, hogy probiotikum és élesztőgomba együttes alkalmazása prebiotikus adalékanyaggal nagyobb hatékonyságot eredményezhet a brojlerürülék húgysav- és vizelet-N-tartalmának csökkentésében, mint a baromfi bélből izolált és fenntartott baktériumok közösségének alkalmazása.

## 7. Új tudományos eredmények

1. A kukorica alapú tápok 3, 6 és 6%-os búzakorpa kiegészítése az indító nevelő és befejező takarmányozási fázisban mélyebb kriptákat eredményez a vakbélben.
2. A bél mikrobióta vizsgálat során megállapítottuk, hogy az indító, nevelő és befejező fázisban kukorica alapú tápon 3, 6 és 6% búzakorpa etetésekor a csirkék vakbelében megnövekszik az *Akkermansia* nemzetség aránya.
3. A *Lactobacillus farciminis* ( $5 \times 10^9$  CFU/kg) és *Clostridium butyricum* ( $2,5 \times 10^9$ ) probiotikum kiegészítések hatására szignifikánsan megnő az ürülék szárazanyag tartalma, és csökkent az ürülékben a vizelet-N arányát.
4. A 30% búza tartalmú és búzakorpával kiegészített (3, 6 és 6% az indító, nevelő, befejező fázisban) tápok etetése javítja a brojlerszárnyak súlygyarapodását és takarmányértékesítését, valamint növelik ürülékben a vizelet eredetű N és az ureolitikus baktériumok arányát a kontrollként használt kukorica alapú tápokhoz képest.
5. A gumorro betegség elleni immunválasz kialakulására gyakorolt hatás vizsgálata során megállapítottuk, hogy a maternális ellenanyagszinteket a búza alapú táp búzakorpa kiegészítéssel magasabban tartja a 7. életnapon. Az ezt követően kialakuló immunválaszreakciók egyöntetűségét a Broilact ( $1,25 \times 10^7$  CFU/0,5 ml), a szimbiotikum, (*Bacillus subtilis*, DSM17299;  $1,6 \times 10^6$  CFU/g, inulin, 5 g/kg; *Saccharomyces cerevisiae boulardii*,  $1 \times 10^9$  CFU/g) és a búza (30%) + búzakorpa (3, 6 és 6%) kiegészítés egyaránt pozitívan befolyásolják.

## 8. Összefoglalás

A doktori munkám során két állatkísérletet végeztem, és különböző probiotikumok és prebiotikumok hatását vizsgáltam Ross 308 brojlercsirkékkel. Az első kísérletben két egytényezős probiotikumot, a *Lactobacillus farciminist*, a *Clostridium butyricumot*, valamint búzakorpa etetésének hatását vizsgáltam egyenként és kombinálva. A kísérlet során vizsgáltuk a termelési eredményeket, a bél morfológiai paramétereit, a jejunális hasnyálmirigy enzimaktivitását, a vakbél illózsírsav mennyiségét, pH változását, valamint mikrobióta összetételét, továbbá az ürülék néhány jellemzőjét.

A második kísérletben a kukorica-szója alapú kontrolltáp mellett egészséges tojótyúkوك vakbéléből izolált baktériumkultúra (Broilact), szimbiotikum kezelés (*Bacillus subtilis*, *Saccharomyces cerevisiae*, inulin), valamint búza alapú és búzakorpával kiegészített táp hatásait vizsgáltam. A Broilact-ot csak a kelést követő 1. és 2. napon alkalmaztuk, míg a többi kezelést a teljes termelési ciklus alatt. A második kísérletben a termelési tulajdonságok mellett a csirkék életkorának függvényében a bél mikrobióta fejlődésének dinamikáját is vizsgáltuk a csípőbél-tartalomból, a csípőbél nyálkahártyájából és a vakbél-tartalomból.

Az első kísérletben egyik kezelés sem befolyásolta a termelési paramétereket. A búzakorpa azonban kis mértékben befolyásolta a bélmorfológiai paramétereit, mind az csípőbélben, mind a vakbélben megnövelte a kripta mélységét és az izomréteg vastagságát. A probiotikus takarmány-adalékanyagok, a búzakorpa vagy ezek kombinációja nem befolyásolta szignifikánsan a éhbélben a tripszin, a lipáz és az amiláz aktivitását. Hasonlóképpen, a kezelések nem változtatták meg a vakbél-tartalom SCFA-összetételét és pH-ját. Az csípőbél és a vakbél *Lactobacillus* száma, valamint a vakbél coliform baktérium tartalma nem változott, de az új generációs 16S rRNS szekvenálási technikával valószínűleg először sikerült kimutatni, hogy a búzakorpa növelheti az *Akkermansia* nemzetség gyakoriságát a brojlercsirkék vakbelében. Mindkét probiotikum kezelés növelte a ürülék szárazanyag-tartalmát és a bélsár-N arányát, míg a búzakorpa jelentősen csökkentette az NH<sub>4</sub>-N mennyiségét. Emellett a takarmány búzakorpa kiegészítése növelte az ureolitikus baktériumok számát, és ez megnövelte a trágyából az ammónia felszabadulásának dinamikáját.

Második kísérletünkben bebizonyítottuk, hogy az emésztőkészülék bakterióta összetételét leginkább a mintavételi hely és a csirkék életkora befolyásolja. Az takarmány hatások kisebbek voltak, és többnyire az első héten voltak kimutathatók. A bakteriális diverzitás növekedése a

madarak életkorával folyamatosan nőtt, kivéve a csípőbél béltartalom esetén, ahol a harmadik hét végén érte el a maximumát. A meghatározó törzs minden bélszakaszban és korosztályban a *Firmicutes* volt. Az életkor hatásai mellett csak a csípőbél nyálkahártyájában lévő *Cyanobacteria*-t és a vakbél tartalomban a *Lentisphaerae*-t érintették a takarmány kezelések. Az első esetben a szimbiotikum, a vakbélben pedig a búza alapú kezelés okozott szignifikánsan nagyobb gyakoriságot az említett törzsek esetén. A nemzetség szintjén három esetben, a csípőbél tartalomban az *Enterococcus* (Broilact és szimbiotikum) és a *Bacillus* (szimbiotikum) nemzetségek, a vakbélben a *Ruminoclostridium\_5* (búza) nemzetség mutattak szignifikáns növekedést. Az életkor mindhárom mintavételi helyen erőteljesebb hatással volt a bakterióta összetételére. Ebben a kísérletben az ürülék szárazanyag-tartalma szignifikánsan megnőtt a búza alapú búzakorpa kiegészítést fogyasztó takarmányozási csoport esetében. Annak ellenére, hogy a búzás kezelés növelte a vizelet N arányát az ürülékben, a szimbiotikum kezelés mintái esetén jegyezzük fel a legintenzívebb NH<sub>3</sub> felszabadulást a kezdeti időpontokban. A búzás kezelés esetén az ürülékből való NH<sub>3</sub> felszabadulás dinamikája lassabb volt. Ennek oka vélhetően az ureolitikus baktériumok eltérő aránya lehet a két kezelés között.

## 9. Summary

In the frame of the dissertation two animal trials have been carried out and the effects of different probiotics and prebiotics was investigated with Ross 308 broiler chickens. In the first trial two single probiotics, *Lactobacillus farciminis*, *Clostridium butyricum* and the effects of feeding wheat bran were studied alone and in their combinations. In this experiment production traits, gut morphology, jejunal pancreatic enzyme activity, the microbiota composition of the caeca and some characteristics of the excreta were determined.

In the second trial beside a corn-soybean based control diet the effects of a bacterial culture, isolated from the caeca of healthy laying hens (Broilact), a symbiotic treatment (*Bacillus subtilis*, *Saccharomices cerevisiae*, inulin) and wheat based and wheat bran supplemented diets were evaluated. Broilact was used only at day 1 and 2, while the other treatments throughout the whole production cycle. In the second experiment beside the production traits, the development of the gut microflora with age of chickens was evaluated from the samples of ileal digesta, ileal mucosa and caecal contents.

None of the treatments affected the production traits in the first experiment. On the other hand, wheat bran modified gut morphology, increased both in the ileum and caecum the crypt depths and the muscle layer thickness. None of the probiotic feed additives, wheat bran or their combination had significant effect on the trypsin, lipase and amylase activity of the jejunal chyme. Similarly, treatments failed to modify the SCFA composition and pH of the caecal contents. The *Lactobacillus* counts of ileum and caecum and the coliform bacteria content of the caeca was not changed, but using the new generation 16S rRNA sequencing technique we could detect probably first time that wheat bran can increase the abundance of genera *Akkermansia* in the caeca of the broiler chickens. Both probiotic bacteria treatments increased the dry matter content and the ratio of faecal N of excreta, while wheat bran decreased significantly the amount of NH<sub>4</sub>-N. Beside that, wheat bran supplementation of diets increased the number of ureolytic bacteria and this was increased the speed of ammonia emission from the manure.

In our second trial we could prove, that the bacteriota composition of the digestive tract is influenced mostly by the sampling places and by the age of chickens. Dietary effects were smaller and could have been detected mostly in the first week. The increase of bacterial diversity increased with the age of birds continuously except the ileal content where it reached the plateau at the end of the third week. The determinant phyla in all gut segments and age categories was *Firmicutes*. Beside the age effects only *Cyanobacteria* in ileal mucosa and *Lentisphaerae* in caecal content

was affected by dietary treatments. In the first case the symbiotic and in the caeca the wheat treatment caused significantly higher abundance. Regarding genus level, in the ileal gut content *Enterococcus* (Broilact and symbiotic) and *Bacillus* (symbiotic), in caeca *Ruminiclostridium\_5* (wheat) showed significant increase. Age had more pronounced effects on the bacteriota composition in all three sample places. In this trial excreta dry matter content was increased significantly when wheat-based diets were fed. In spite wheat treatment increased the urinary N ratio of excreta the quickest NH<sub>3</sub> emission was registered in the symbiotic samples. The dynamics of the emission from the excreta of wheat treatment was slower. The reason for that could be different ratio of the ureolytic bacteria between the two treatments.

## 10. Mellékletek

### M1. Irodalomjegyzék

1. Aarestrup, F. M. (1999) 'Association between the consumption of antimicrobial agents in animal husbandry and the occurrence of resistant bacteria among food animals', *International journal of antimicrobial agents*, 12(4), pp. 279–285.
2. Aarnink, A. J. A. and Verstegen, M. W. A. (2007) 'Nutrition, key factor to reduce environmental load from pig production', *Livestock Science*, 109(1–3), pp. 194–203.
3. Ahmed, S. T. *et al.* (2014) 'Effects of *Bacillus amyloliquefaciens* as a probiotic strain on growth performance, cecal microflora, and fecal noxious gas emissions of broiler chickens', *Poultry Science*. 93(8), pp. 1963–1971.
4. Anadón, A., Rosa Martínez-Larrañaga, M. and Aranzazu Martínez, M. (2006) 'Probiotics for animal nutrition in the European Union. Regulation and safety assessment', *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 45, pp. 91–95.
5. Andersson, H. *et al.* (2001) 'Health effects of probiotics and prebiotics A literature review on human studies', *Näringsforskning*, 45(1), pp 58-75.
6. Apajalahti, J., Kettunen, A. and Graham, H. (2004) 'Characteristics of the gastrointestinal microbial communities, with special reference to the chicken', *World's Poultry Science Journal*. 60(2), pp. 223–232.
7. Apajalahti, J. and Vienola, K. (2016) 'Interaction between chicken intestinal microbiota and protein digestion', *Animal Feed Science and Technology*. (221), pp. 323–330.
8. Aviagen (2018) *Ross Broiler Management Handbook*. Huntsville, USA. Available at: [https://en.aviagen.com/assets/Tech\\_Center/Ross\\_Broiler/Ross-BroilerHandbook2018-EN.pdf](https://en.aviagen.com/assets/Tech_Center/Ross_Broiler/Ross-BroilerHandbook2018-EN.pdf). (Accessed: 10 February 2022).
9. Awad, W. A. *et al.* (2006) 'Effect of addition of a probiotic microorganism to broiler diets contaminated with deoxynivalenol on performance and histological alterations of intestinal villi of broiler chickens', *Poultry science*, 85(6), pp. 974–979.
10. Awad, W. A. *et al.* (2009) 'Effects of dietary inclusion of probiotic and synbiotic on growth performance, organ weights, and intestinal histomorphology of broiler chickens', *Poultry Science*, 88(1).
11. Awad, W. A. *et al.* (2016) 'Age-Related Differences in the Luminal and Mucosa-Associated Gut Microbiome of Broiler Chickens and Shifts Associated with *Campylobacter jejuni* Infection.', *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 6. p. 154.
12. Awad, W., Ghareeb, K. and Böhm, J. (2008) 'Intestinal Structure and Function of Broiler

- Chickens on Diets Supplemented with a Synbiotic Containing *Enterococcus faecium* and Oligosaccharides’, *International Journal of Molecular Sciences*, 9(11), pp. 2205–2216.
13. Azad, M. A. K. *et al.* (2018) ‘Probiotic Species in the Modulation of Gut Microbiota: An Overview’, *BioMed Research International*. 8. 2018:9478630.
  14. Ballou, A. L. *et al.* (2016) ‘Development of the chick microbiome: How early exposure influences future microbial diversity’, *Frontiers in Veterinary Science*. 3, pp. 20.
  15. Barnes, E. M. *et al.* (1972) ‘The intestinal flora of the chicken in the period 2 to 6 weeks of age, with particular reference to the anaerobic bacteria’, *British Poultry Science*. 13(3), pp. 311–326.
  16. Bedford, M. R. (2018) ‘The evolution and application of enzymes in the animal feed industry: the role of data interpretation’, *British poultry science*. 59(5), pp. 486–493.
  17. Belenguer, A. *et al.* (2011) ‘Rates of production and utilization of lactate by microbial communities from the human colon’, *FEMS Microbiology Ecology*. J 77(1), pp. 107–119.
  18. Berding, K. *et al.* (2021) ‘A specific dietary fibre supplementation improves cognitive performance—an exploratory randomised, placebo-controlled, crossover study’, *Psychopharmacology*. 238(1), pp. 149–163.
  19. Bilal, T. *et al.* (2000) ‘The effects of Broilact® on performance and feed digestibility of brojlers t Der Effekt von Broilact® auf die Leistung und Futterverdaulichkeit bei Mastküken’, *Arch. Geflügelk.*, 64(3), pp. 134–138.
  20. Bolyen, E. *et al.* (2019) ‘Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2’, *Nature Biotechnology*. 37(8), pp. 852–857.
  21. Borda-Molina, D. *et al.* (2016) ‘Insights into Brojlers’ Gut Microbiota Fed with Phosphorus, Calcium, and Phytase Supplemented Diets.’, *Frontiers in microbiology*, 7, p. 2033.
  22. Brisbin, J. T. *et al.* (2010) ‘Effects of lactobacilli on cytokine expression by chicken spleen and cecal tonsil cells’, *Clinical and Vaccine Immunology*. 17(9), pp. 1337–1343.
  23. Brouček, J. and Čermák, B. (2015) ‘Emission of harmful gases from poultry farms and possibilities of their reduction’, *Ekologia Bratislava*. 34(1), pp. 89–100.
  24. Buclaw, M. (2016) ‘The use of inulin in poultry feeding: a review’, *Journal of animal physiology and animal nutrition*. 100(6), pp. 1015–1022.
  25. Canani, R. B. *et al.* (2011) ‘Potential beneficial effects of butyrate in intestinal and extraintestinal diseases’, *World journal of gastroenterology*. 17(12), pp. 1519–1528.
  26. Caporaso, J. G. *et al.* (2010) ‘QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data’, *Nature Methods*, 7(5).
  27. Carrasco, J. M. D., Casanova, N. A. and Miyakawa, M. E. F. (2019) ‘Microbiota, Gut Health



- and Chicken Productivity: What Is the Connection?', *Microorganisms*, 7(10), pp. 374.
28. Carter, A. J. *et al.* (2009) 'Control strategies for Salmonella colonisation of poultry: the probiotic perspective', *Food Science and Technology Bulletin: Functional Foods*, 5(9), pp. 103–115.
  29. Caselli, M. *et al.* (2010) 'Morphology of segmented filamentous bacteria and their patterns of contact with the follicle-associated epithelium of the mouse terminal ileum', *Gut Microbes*. 1(6).
  30. Celi, P. *et al.* (2019) 'Biomarkers of gastrointestinal functionality in animal nutrition and health', *Animal Feed Science and Technology*. 250, pp. 9–31.
  31. Chen, H. *et al.* (2013) 'Dietary fibre affects intestinal mucosal barrier function and regulates intestinal bacteria in weaning piglets', *British Journal of Nutrition*. 110(10), pp. 1837–1848.
  32. Chen, H. *et al.* (2019) 'Gut Microbiota Interventions With *Clostridium butyricum* and Norfloxacin Modulate Immune Response in Experimental Autoimmune Encephalomyelitis Mice', *Frontiers in Immunology*. 10, pp. 1662.
  33. Cheng, G. *et al.* (2014) 'Antibiotic alternatives: the substitution of antibiotics in animal husbandry?', *Frontiers in Microbiology*. 5, pp. 217.
  34. Chiou, P. W. S. *et al.* (1996) 'Effect of different sources of fiber on the intestinal morphology of domestic geese', *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*. 9(5), pp. 539–550.
  35. Choi, J. H., Kim, G. B. and Cha, C. J. (2014) 'Spatial heterogeneity and stability of bacterial community in the gastrointestinal tracts of broiler chickens', *Poultry Science*. 93(8), pp. 1942–1950. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24931967/> (Accessed: 2 January 2022).
  36. Cisek, A. A. A. and Binek, M. (2014) 'Chicken intestinal microbiota function with a special emphasis on the role of probiotic bacteria', *Polish Journal of Veterinary*. 17(2), pp. 385–394.
  37. Cloetens, L. *et al.* (2013) 'Dose-Response Effect of Arabinoxyloligosaccharides on Gastrointestinal Motility and on Colonic Bacterial Metabolism in Healthy Volunteers', *Journal of the American College of Nutrition*. 27(4), pp. 512–518.
  38. Coates, M. E. and Fuller, R. (1963) 'A comparison of the growth of chicks in the Gustafsson germ-free apparatus and in a conventional environment – with and without dietary supplements of penicillin', *British Journal of Nutrition*, 17, pp. 141–150.
  39. Cook, K. L. *et al.* (2011) 'Evaluation of nitrogen retention and microbial populations in poultry litter treated with chemical, biological or adsorbent amendments', *Journal of Environmental Management*, 92(7), pp. 1760–1776.
  40. Cook, M. E. (2004) 'Antibodies: Alternatives to Antibiotics in Improving Growth and Feed Efficiency', *Journal of Applied Poultry Research*. 13(1), pp. 106–119.

41. Courtin, Christophe M. *et al.* (2008) 'Dietary Inclusion of Wheat Bran Arabinoxyloligosaccharides Induces Beneficial Nutritional Effects in Chickens', *Cereal Chemistry*. 85(5), pp. 607–613.
42. Courtin, Christophe M *et al.* (2008) 'Effects of dietary inclusion of xylooligo- saccharides, arabinoxyloligosaccha- rides and soluble arabinoxylan on the microbial composition of caecal contents of chickens', *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 88(14), pp. 2517–2522.
43. Crisol-Martínez, E. *et al.* (2017) 'Understanding the mechanisms of zinc bacitracin and avilamycin on animal production: linking gut microbiota and growth performance in chickens', *Applied Microbiology and Biotechnology*, 101(11), pp. 4547–4559.
44. Dahlqvist, A. (1962) 'A method for the determination of amylase in intestinal content', *Scandinavian Journal of Clinical Laboratory Investigation*, 14, pp. 145-151
45. D'hoë, K. *et al.* (2018) 'Prebiotic Wheat Bran Fractions Induce Specific Microbiota Changes', *Frontiers in Microbiology*. 9, pp. 31.
46. Dankowiakowska, A., Kozłowska, I. and Bednarczyk, M. (2013) 'Probiotics, prebiotics and synbiotics in poultry – mode of action, limitation, and achievements', *Journal of Central European Agriculture*. 14(1), pp. 467–478.
47. Danzeisen, J. L. *et al.* (2011) 'Modulations of the chicken cecal microbiome and metagenome in response to anticoccidial and growth promoter treatment.', *PloS one*, 6(11), p. e27949.
48. Dethlefsen, L. *et al.* (2008) 'The Pervasive Effects of an Antibiotic on the Human Gut Microbiota, as Revealed by Deep 16S rRNA Sequencing', *PLOS Biology*. 6(11), p. e280.
49. Dhariwal, A. *et al.* (2017) 'MicrobiomeAnalyst: a web-based tool for comprehensive statistical, visual and meta-analysis of microbiome data', *Nucleic Acids Research*, 45(W1).
50. Dirk Van Der Klis, J. and De Lange, L. (2013) 'Water intake of poultry', in *Proceedings of the 19th European Symposium on Poultry Nutrition*. Lelystad, Netherlands. Available at: <https://www.researchgate.net/publication/264125508> (Accessed: 8 September 2021).
51. Donaldson, E. E. *et al.* (2017) 'The time-course of brojler intestinal microbiota development after administration of cecal contents to incubating eggs', *PeerJ*. (7). 5:e3587
52. Douglas, A. E. (2018) 'Contradictory Results in Microbiome Science Exemplified by Recent *Drosophila* Research', *mBio*. 9(5):e01758-18.
53. Duarte, V. da S. *et al.* (2020) 'Chemoprevention of DMH-Induced Early Colon Carcinogenesis in Male BALB/c Mice by Administration of *Lactobacillus Paracasei* DTA81', *Microorganisms*, 8(12), pp. 1994.
54. Dublicz, K. (2011) 'Takarmányozástan'. Debreceni Egyetem. Available at:

<http://dtk.tankonyvtar.hu/xmlui/handle/123456789/8640> (Accessed: 1 October 2021).

55. Durna Aydin, Ö., Yildiz, G. and Merhan, O. (2021) 'Effects of Probiotic (*Lactobacillus farciminis*) Supplementation in Quail (*Coturnix coturnix japonica*) Rations on Growth Performance, Blood Antioxidant Capacity and Cecal Some Short-Chain Fatty Acid Concentrations', *Kafkas Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi*, 27(1), pp. 15–20.
56. Eijk, J. A. J. van der *et al.* (2020) 'Early-life microbiota transplantation affects behavioural responses, serotonin and immune characteristics in chicken lines divergently selected on feather pecking', *Scientific Reports*. 10(1). 2750.
57. El-Kelawy, M. I., El-Shafey, A. S. and Ali, R. M. (2017) 'Impact of dietary supplementation with multi-enzyme and/or probiotics on productive performance and nutrients digestibility of brojler chickens', *Egyptian Journal Nutrition and Feeds*, 20(3), pp. 535–543.
58. Elliott, H. A. and Collins, N. E. (1982) 'Factors affecting ammonia release in brojler houses', *Am. Soc. of Agric. Eng. Trans.*, 25, pp. 413–418.
59. Emelyanov, V. V. (2001) 'Evolutionary relationship of Rickettsiae and mitochondria', *FEBS Letters*, 501(1), pp. 11–18.
60. Endo, T. *et al.* (1999) 'Effects of a Probiotic on the Lipid Metabolism of Cocks Fed on a Cholesterol-enriched Diet', *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. 63(9), pp. 1569–1575.
61. Ericsson, A. C. *et al.* (2014) 'Segmented filamentous bacteria: Commensal microbes with potential effects on research', *Comparative Medicine*. 64(2) pp. 90–98.
62. Ezaki, T. (2015) '*Coproccoccus*', in Whitman, W. B. *et al.* (eds) *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*. Hoboken, NJ: Wiley., pp. 1–3.
63. *Faostat* (2021). Available at: <https://www.fao.org/faostat/en/#data> (Accessed: 18 November 2021).
64. Farkas, V. *et al.* (2019) 'Új kutatási eredmények a házityúk emésztőtraktusának bakteriótaösszetételéről', *Magyar Állatorvosok Lapja*, 141, pp. 485–494.
65. Fathi, M. M. *et al.* (2017) 'Influence of probiotic supplementation on immune response in brojlers raised under hot climate', *British Poultry Science*. 58(5), pp. 512–516.
66. Feng, Y. *et al.* (2010) 'Identification of changes in the composition of ileal bacterial microbiota of brojler chickens infected with *Clostridium perfringens*', *Veterinary Microbiology*. 140(1–2), pp. 116–121.
67. Feng, Y. *et al.* (2020) 'Fermented wheat bran by xylanase-producing *Bacillus cereus* boosts the intestinal microflora of brojler chickens', *Poultry Science*. 99(1), pp. 263–271.
68. Ferket, P., Parks, C. and Grimes, J. (2002) 'Benefis of dietary antibiotic and

- mannan oligosaccharide supplementation for poultry’, in *Multi-State Poultry Meeting*. Atlanta, GA, USA,.
69. Ferket, P. R. *et al.* (2002) ‘Nutritional strategies to reduce environmental emissions from nonruminants’, *Journal of Animal Science*. 80(E-suppl\_2), pp. E168–E182.
  70. Ferket, P. R. (2004) ‘Alternatives to antibiotics in poultry production: responses, practical experience and recommendations.’, in Lyons, T. P. and Jacques, K. A. (eds) *Nutritional biotechnology in the feed and food industries. Proceedings of Alltech’s 20th Annual Symposium: re-imagining the feed industry*. Lexington, Kentucky, USA: Alltech UK, pp. 57–67.
  71. Ferket, P. R. and Veldkamp, T. (1999) ‘Nutrition and gut health of turkeys and broilers.’, in *Proceeding of the 26th Annual Carolina Poultry Nutrition Conference and Soybean Meal Symposium*. Raleigh, NC. North Carolina State University, USA, , pp. 5–18.
  72. Ferla, M. P. *et al.* (2013) ‘New rRNA gene-based phylogenies of the *Alphaproteobacteria* provide perspective on major groups, mitochondrial ancestry and phylogenetic instability’, *PLoS ONE*, 8, p. e83383.
  73. Feye, K. M. *et al.* (2020) ‘Influential factors on the composition of the conventionally raised broiler gastrointestinal microbiomes’, *Poultry Science*. 99(2), pp. 653–659.
  74. Fitzpatrick, D. A., Creevey, C. J. and McInerney, J. O. (2006) ‘Genome phylogenies indicate a meaningful  $\alpha$  proteobacterial phylogeny and support a grouping of the mitochondria with the *Rickettsiales*’, *Molecular Biology and Evolution*, 23, pp. 74–85.
  75. Flint, H. J. *et al.* (2008) ‘Polysaccharide utilization by gut bacteria: potential for new insights from genomic analysis’, *Nature Reviews Microbiology* 2008 6:2. 6(2), pp. 121–131.
  76. Friedman, E. S. *et al.* (2018) ‘Microbes vs. chemistry in the origin of the anaerobic gut lumen’, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 115(16), pp. 4170–4175.
  77. Fuerst, J. A. (1995) ‘The *planctomycetes* – emerging models for microbial ecology, evolution and cell biology’, *Microbiology-UK*, 141, pp. 1493–1506.
  78. Fuerst, J. A. (2004) ‘*Planctomycetes* – a phylum of emerging interest for microbial evolution and ecology’, *World Federation of Culture Collection*, 38, pp. 1–11.
  79. Fujita, Y. *et al.* (2010) ‘Evaluating the Potential of Native Ureolytic Microbes To Remediate a <sup>90</sup>Sr Contaminated Environment’, *Environmental Science and Technology*. 44(19), pp. 7652–7658.
  80. Gadde, U. *et al.* (2017) ‘Alternatives to antibiotics for maximizing growth performance and feed efficiency in poultry: a review’, *Animal health research reviews*. 18(1), pp. 26–45.

81. Gadde, U. D. *et al.* (2017) 'Retracted: Dietary *Bacillus subtilis*-based direct-fed microbials alleviate LPS-induced intestinal immunological stress and improve intestinal barrier gene expression in commercial broiler chickens', *Research in Veterinary Science*. 114, pp. 236–243.
82. Gaggia, F., Mattarelli, P. and Biavati, B. (2010) 'Probiotics and prebiotics in animal feeding for safe food production', *International journal of food microbiology*. 141 Suppl(SUPPL.).
83. Ganan, M. *et al.* (2012) 'Interaction of *Campylobacter spp.* and Human Probiotics in Chicken Intestinal Mucus', *Zoonoses and Public Health*, 60(2), pp. 141–148.
84. Gao, Q. *et al.* (2012) 'Ability of *Clostridium butyricum* to inhibit *Escherichia coli*-induced apoptosis in chicken embryo intestinal cells', *Veterinary Microbiology*. 160(3–4), pp. 395–402.
85. Geerlings, S. Y. *et al.* (2018) '*Akkermansia muciniphila* in the Human Gastrointestinal Tract: When, Where, and How?', *Microorganisms*. 6(3), p. 75.
86. Gergely, A., Fenyves, V. and Harangi-Rákos, M. (2019) 'Magyarországon főtevékenységként baromfi-és sertéságazattal foglalkozó vállalkozások pénzügyi helyzetének vizsgálata', *Acta Carolus Robertus*, 9(2), pp. 41–54.
87. Glendinning, L., Watson, K. A. and Watson, M. (2019) 'Development of the duodenal, ileal, jejunal and caecal microbiota in chickens', *Animal Microbiome*, 1(1), pp. 1–11. Available at: <https://animalmicrobiome.biomedcentral.com/articles/10.1186/s42523-019-0017-z> (Accessed: 2 January 2022).
88. Gong, J. *et al.* (2007) '16S rRNA gene-based analysis of mucosa-associated bacterial community and phylogeny in the chicken gastrointestinal tracts: from crops to ceca.', *FEMS microbiology ecology*, 59(1), pp. 147–57.
89. Gong, J. H. *et al.* (2002) 'Molecular analysis of bacterial populations in the ileum of broiler chickens and comparison with bacteria in the cecum', *FEMS Microbiology Ecology*, 41, pp. 171–179.
90. Gophna, U., Konikoff, T. and Nielsen, H. B. (2017) '*Oscillospira* and related bacteria – From metagenomic species to metabolic features', *Environmental Microbiology*. 19(3), pp. 835–841.
91. Greene, L. K. *et al.* (2020) 'Daily lettuce supplements promote foraging behavior and modify the gut microbiota in captive frugivores', *Zoo Biology*. 39(5), pp. 334–344.
92. Guilloteau, P. *et al.* (2010) 'From the gut to the peripheral tissues: the multiple effects of butyrate', *Nutrition Research Reviews*. 23(2), pp. 366–384.
93. Haghighi, H. R. *et al.* (2005) 'Modulation of antibody-mediated immune response by

- probiotics in chickens', *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*. C 12(12), pp. 1387–1392.
94. Hamer, H. *et al.* (2008) 'Review article: the role of butyrate on colonic function', *Alimentary pharmacology & therapeutics*. 27(2), pp. 104–119.
  95. Han, G. G. *et al.* (2016) 'Relationship between the microbiota in different sections of the gastrointestinal tract, and the body weight of broiler chickens', *SpringerPlus*. 5(1), p. 911..
  96. Han, H. Y. *et al.* (2017) 'Effect of dietary fiber levels on performance, gizzard development, intestinal morphology, and nutrient utilization in meat ducks from 1 to 21 days of age', *Poultry Science*. 96(12), pp. 4333–4341.
  97. Han, J. *et al.* (2018) 'Effects of *Clostridium butyricum* and *Lactobacillus plantarum* on growth performance, immune function and volatile fatty acid level of caecal digesta in broilers', *Food and Agricultural Immunology*. 29(1), pp. 797–807.
  98. Hassan, M. R. and Ryu, K.-S. (2012) 'Naturally Derived Probiotic Supplementation Effects on Physiological Properties and Manure Gas Emission of Broiler Chickens', *Journal of Agriculture & Life Science*, 46(4), pp. 119–127.
  99. Hassanpour, H. *et al.* (2013) 'Effects of synbiotic on the intestinal morphology and humoral immune response in broiler chickens', *Livestock Science*. 153(1–3), pp. 116–122.
  100. Havas, P. (2015) Kereskedelmi forgalomban kapható probiotikus baktériumok galaktozidáz enzimeinek tanulmányozása. Doktori értekezés, Élelmiszertudományi Doktori Iskola, Corvinus University of Budapest.
  101. Hedblom, G. A. *et al.* (2018) 'Segmented Filamentous Bacteria - Metabolism Meets Immunity', *Frontiers in microbiology*. 9:1991.
  102. Hu, X. and Guo, Y. (2008) 'Corticosterone Administration Alters Small Intestinal Morphology and Function of Broiler Chickens', *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*. 21(12), pp. 1773–1778.
  103. Humphrey, B., Koutsos, E. and Klasing, K. (2002) 'Requirements and priorities of the immune system for nutrients.', in Jacques, KA, Lyons, TP (eds) *Biotechnology in the Feed and Food Industry, Proceedings of Alltech's 18th Annual Symposium*,. UK: Nottingham University Press, pp. 69–77.
  104. Hung, D. Y. *et al.* (2019) '*Bacillus licheniformis*-Fermented Products Reduce Diarrhea Incidence and Alter the Fecal Microbiota Community in Weaning Piglets', *Animals* 9(12), p. 1145.
  105. Van Immerseel, F. *et al.* (2017) 'Nutritional modulation of microbial signals in the distal intestinal and how they can affect broiler health', in *21st European Symposium on Poultry*

- Nutrition*. 8-11. May, Salou/Vila-Seca, Spain.
106. Ivanova, A. A., Wegner, C. E. and Kim, Y. (2018) 'Metatranscriptomics reveals the hydrolytic potential of peat-inhabiting Planctomycetes', *Antonie van Leeuwenhoek*, 111, pp. 801–809.
107. Jadhav, K. *et al.* (2015) 'Probiotics in Brojler Poultry Feeds: A Review', *International Journal of Animal and Veterinary Sciences*, 2. pp. 4–16. Available at: [www.jakraya.com/journal/ijavs](http://www.jakraya.com/journal/ijavs) (Accessed: 10 February 2022).
108. Jeong, J. S. and Kim, I. H. (2014) 'Effect of *Bacillus subtilis* C-3102 spores as a probiotic feed supplement on growth performance, noxious gas emission, and intestinal microflora in brojlers', *Poultry science*. 93(12), pp. 3097–3103.
109. Jha, R. *et al.* (2019) 'Early Nutrition Programming (in ovo and Post-hatch Feeding) as a Strategy to Modulate Gut Health of Poultry', *Frontiers in Veterinary Science*. 6, pp. 82.
110. Jia, L. *et al.* (2017) 'Anti-diabetic Effects of *Clostridium butyricum* CGMCC0313.1 through Promoting the Growth of Gut Butyrate-producing Bacteria in Type 2 Diabetic Mice', *Scientific Reports*. 7(1), pp. 1–15.
111. Jjemba, P. K. (2002) 'The potential impact of veterinary and human therapeutic agents in manure and biosolids on plants grown on arable land: a review.', *Agriculture, Ecosystems & environment.*, 93(1/3), pp. 267–278.
112. Juhász, A. and Schmidt, J. (2002) 'Apparent and true digestibility of protein and amino acids in poultry feeds: I. Methods of determining protein and amino acid digestibility in poultry', *Acta Agron. Óváriensis*, 44(1), pp. 87–94.
113. Juricova, H. *et al.* (2013) 'Influence of Salmonella enterica Serovar Enteritidis Infection on the Development of the Cecum Microbiota in Newly Hatched Chicks', *Applied and Environmental Microbiology*, 79, pp. 745–747.
114. Kakade, M.L. *et al.* (1969) An evolution of natural vs. synthetic substrate for measuring the antitryptic activity of soybean samples, *Cereal Chemistry*, 46, pp. 518-526
115. Kecskeméti, S. (2002) 'Baromfiállományok szerológiai vizsgálata.', *A Baromfi*, 4, pp. 42–43.
116. Kerry, R. G. *et al.* (2018) 'Benefaction of probiotics for human health: A review', *Journal of Food and Drug Analysis*. 26(3), pp. 927–939.
117. Kers, J. G. *et al.* (2018) 'Host and Environmental Factors Affecting the Intestinal Microbiota in Chickens.', *Frontiers in microbiology*, 9, p. 235.
118. Kieffer, D. A., Martin, R. J. and Adams, S. H. (2016) 'Impact of Dietary Fibers on Nutrient Management and Detoxification Organs: Gut, Liver, and Kidneys', *Advances in Nutrition*. 7(6), pp. 1111–1121.
119. Kim, D. W. *et al.* (2007) 'Effect of Dietary Yeast (*Saccharomyces exiguus*) on Growth

- Performance, Cecal Microflora and Fecal Ammonia Gas in Broiler Chickens', *Korean Journal of Poultry Science*, 34(2), pp. 137–141.
120. Klaasen, H. L. B. M. L. *et al.* (1992) 'Intestinal, segmented, filamentous bacteria', *FEMS microbiology reviews*. 8(3–4), pp. 165–180.
121. Klindworth, A. *et al.* (2013) 'Evaluation of general 16S ribosomal RNA gene PCR primers for classical and next-generation sequencing-based diversity studies', *Nucleic Acids Research*, 41(1).
122. Kogut, M. H. (2019) 'The effect of microbiome modulation on the intestinal health of poultry', *Animal Feed Science and Technology*. 250, pp. 32–40.
123. Kollarčíková, M. *et al.* (2019) 'Use of 16S rRNA gene sequencing for prediction of new opportunistic pathogens in chicken ileal and cecal microbiota', *Poultry Science*. 98(6), pp. 2347–2353.
124. Kong, Q. *et al.* (2010) 'Oral Administration of *Clostridium butyricum* for Modulating Gastrointestinal Microflora in Mice', *Current Microbiology*, 62(2), pp. 512–517.
125. Kőrösi, L. (2019) 'A mikrobiom szerepe a baromfi egészséges emésztő szervrendszerének és általános egészségének fenntartásában', *Baromfiágazat*, 1(19), pp. 72–77.
126. KSH (2021) 19.1.1.36. Élő állatok és állati termékek termelése, felhasználása. Available at: [https://www.ksh.hu/stadat\\_files/mez/hu/mez0036.html](https://www.ksh.hu/stadat_files/mez/hu/mez0036.html) (Accessed: 4 January 2022).
127. Kylie, J. (2016) An Investigation into the Fecal Microbiota of Domestic Rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) and Factors Influencing its Composition. Thesis. The University of Guelph, Ontario, Canada.
128. Van Leerdam, M., Van Dam, B. and Gardin, Y. (2001) 'A Gumboro betegség elisa vizsgálati eredményeinek gyakorlati használata. (ford: Povaszán J)', *A Baromfi*, 3, pp. 62–64.
129. Leitch, E. C. M. W. *et al.* (2007) 'Selective colonization of insoluble substrates by human faecal bacteria', *Environmental Microbiology*. 9(3), pp. 667–679.
130. Li, B. *et al.* (2018) 'The effect of inulin and wheat bran on intestinal health and microbiota in the early life of broiler chickens', *Poultry Science*. 97(9), pp. 3156–3165.
131. Li, W. F. *et al.* (2011) 'Effects of Probiotic (*Bacillus subtilis*) on Laying Performance, Blood Biochemical Properties and Intestinal Microflora of Shaoxing Duck', *International Journal of Poultry Science*, 10(8), pp. 583–589.
132. Li, X. *et al.* (2020) '*Lactobacillus plantarum* prevents obesity via modulation of gut microbiota and metabolites in high-fat feeding mice', *Journal of Functional Foods*. 73, p. 104103.
133. Lin, Y. *et al.* (2017) 'Disruption in the cecal microbiota of chickens challenged with



- Clostridium perfringens and other factors was alleviated by *Bacillus licheniformis* supplementation’, *Plos One*. 12(8), p. e0182426.
134. Long, M. *et al.* (2018) ‘Combined Use of *C. butyricum* Sx-01 and *L. salivarius* C-1-3 Improves Intestinal Health and Reduces the Amount of Lipids in Serum via Modulation of Gut Microbiota in Mice’, *Nutrients*. 10(7):810.
135. Lourenco, M. C. *et al.* (2012) ‘Effects of *Bacillus subtilis* in the dynamics of infiltration of immunological cells in the intestinal mucosa of chickens challenged with *Salmonella* Minnesota’, *International Journal of Poultry Science*. 11(10), pp. 630–634.
136. Lu, J. *et al.* (2003) ‘Diversity and succession of the intestinal bacterial community of the maturing broiler chicken’, *Applied and Environmental Microbiology*, 69, pp. 6816–6824.
137. Lu, J. *et al.* (2008) ‘Effects of feed additives on the development on the ileal bacterial community of the broiler chicken’, *Animal: an international journal of animal bioscience*. 2(5), pp. 669–676.
138. Lutfullah, G. *et al.* (2011) ‘Effects of probiotic on the intestinal morphology with special reference to the growth of broilers’, *Journal of the Chemical Society of Pakistan*, 33(1), pp. 129–133.
139. Lynch, M. B. *et al.* (2007) ‘The effect of high and low dietary crude protein and inulin supplementation on nutrient digestibility, nitrogen excretion, intestinal microflora and manure ammonia emissions from finisher pigs’, *Animal*, 1(8), pp. 1112–1121.
140. Lynn, D. J. and Pulendran, B. (2018) ‘The potential of the microbiota to influence vaccine responses’, *Journal of Leukocyte Biology*. 103(2), pp. 225–231.
141. Macfarlane, G. T. and Cummings J.H. (1991) ‘The colonic flora, fermentation and large bowel digestive function’, in *The Large Intestine: Physiology, Pathophysiology and Disease*. pp. 51–92. Available at: <https://ci.nii.ac.jp/naid/10027993843> (Accessed: 9 August 2021).
142. Markowiak, P. and Śliżewska, K. (2018) ‘The role of probiotics, prebiotics and synbiotics in animal nutrition’, *Gut Pathogens*. 10(1), pp. 1–20.
143. Marquardt, R. R., Ward, A. T. and Campbell, L. D. (1983) ‘A Rapid High-Performance Liquid Chromatographic Method for the Quantitation of Uric Acid in Excreta and Tissue Samples’, *Poultry Science*. 62(10), pp. 2099–2105.
144. Martens, E. C. *et al.* (2011) ‘Recognition and degradation of plant cell wall polysaccharides by two human gut symbionts’, *PLoS biology*. 9(12): e1001221
145. Martijn, J. *et al.* (2018) ‘Deep mitochondrial origin outside the sampled alphaproteobacteria’, *Nature*, 557, pp. 101–105.
146. Mátis, G. *et al.* (2019) ‘Effects of dietary butyrate supplementation and crude protein level on

- carcass traits and meat composition of brojler chickens', *Archives Animal Breeding*. 62(2), pp. 527–536.
147. Medveczky, A. and Szabó, E. (2015) 'A Gumboro betegség és a fertőző bronchitis.', *Baromfi Hírmondó*, 20, pp. 8–11.
148. Meijerink, N. *et al.* (2020) 'Early Life Inoculation With Adult-Derived Microbiota Accelerates Maturation of Intestinal Microbiota and Enhances NK Cell Activation in Brojler Chickens', *Frontiers in Veterinary Science*. 7, pp. 584561.
149. Mi, J., Chen, X. and Liao, X. (2019) 'Screening of single or combined administration of 9 probiotics to reduce ammonia emissions from laying hens', *Poultry Science*, 98, pp. 3977–3988.
150. Millet, S. and Maertens, L. (2011) 'The European ban on antibiotic growth promoters in animal feed: from challenges to opportunities', *Veterinary journal*, 187(2), pp. 143–144.
151. Miquel, S. *et al.* (2013) 'Faecalibacterium prausnitzii and human intestinal health', *Current Opinion in Microbiology*. 16(3), pp. 255–261.
152. Mohd Shaufi, M. A. *et al.* (2015) 'Deciphering chicken gut microbial dynamics based on high-throughput 16S rRNA metagenomics analyses', *Gut Pathogens*, 7(1), pp. 1–12.
153. Molnár, A. *et al.* (2015) 'Composition of diet modifies colonization dynamics of *Campylobacter jejuni* in brojler chickens', *Journal of Applied Microbiology*. 118(1), pp. 245–254.
154. Molnár, A. *et al.* (2018) 'Soluble nondigestible carbohydrates improve intestinal function and increase caecal coliform load in brojler chickens', *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 102(6).
155. Molnár, A. *et al.* (2020) 'Effects of Wheat Bran and *Clostridium butyricum* Supplementation on Cecal Microbiota, Short-Chain Fatty Acid Concentration, pH and Histomorphometry in Brojler Chickens', *Animals*. 10(12), p. 2230.
156. Molnár, K. (2009) *Nosocomialis fertőzések megelőzése*. Pécsi Tudományegyetem. Available at: [http://ltsp.etk.pte.hu/portal/wp/File/Doktoriiskola/Teziszfuzetek/MolnarKornelia\\_magyar.pdf](http://ltsp.etk.pte.hu/portal/wp/File/Doktoriiskola/Teziszfuzetek/MolnarKornelia_magyar.pdf) (Accessed: 1 October 2021).
157. Montagne, L., Pluske, J. R. and Hampson, D. J. (2003) 'A review of interactions between dietary fibre and the intestinal mucosa, and their consequences on digestive health in young non-ruminant animals', *Animal Feed Science and Technology*. 108(1–4), pp. 95–117.
158. Murakami, K. *et al.* (2011) 'Increased total nitrogen content of poultry manure by decreasing water content through composting processes', *Soil Science and Plant Nutrition*, 57(5), pp. 705–709.

159. Nahm, K. H. (2007) 'Feed formulations to reduce N excretion and ammonia emission from poultry manure', *Bioresource Technology*. 98(12), pp. 2282–2300.
160. Nawaz, A. *et al.* (2018) 'The functionality of prebiotics as immunostimulant: Evidences from trials on terrestrial and aquatic animals', *Fish and Shellfish Immunology*. 76, pp. 272–278.
161. Niba, A. T. *et al.* (2009) 'Bacterial fermentation in the gastrointestinal tract of non-ruminants: influence of fermented feeds and fermentable carbohydrates', *Tropical animal health and production*. 41(7), pp. 1393–1407.
162. O'dell, B. L. *et al.* (1960) 'Distribution of the Major Nitrogenous Compounds and Amino Acids in Chicken Urine', *Poultry Science*, 39(2). pp. 426-432.
163. Oakley, B. B. *et al.* (2014) 'Successional changes in the chicken cecal microbiome during 42 days of growth are independent of organic acid feed additives', *BMC Veterinary Research*, 10(1), pp. 1–8. Available at: <https://bmcvetres.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12917-014-0282-8> (Accessed: 26 October 2021).
164. Oakley, B. B. *et al.* (2014) 'The chicken gastrointestinal microbiome', *FEMS Microbiology Letters*. 360(2), pp. 100–112.
165. Ocejó, M., Oporto, B. and Hurtado, A. (2019) '16S rRNA amplicon sequencing characterization of caecal microbiome composition of broilers and free-range slow-growing chickens throughout their productive lifespan', *Scientific Reports*. 9(1), pp. 1–14.
166. Onrust, L. *et al.* (2015) 'Steering Endogenous Butyrate Production in the Intestinal Tract of Broilers as a Tool to Improve Gut Health', *Frontiers in Veterinary Science*. 2.75.
167. Pandit, R. J. *et al.* (2018) 'Microbial diversity and community composition of caecal microbiota in commercial and indigenous Indian chickens determined using 16s rDNA amplicon sequencing', *Microbiome*, 6(1), pp. 1–13.
168. Parsaie, S. *et al.* (2007) 'Influence of wheat-based diets supplemented with xylanase, bile acid and antibiotics on performance, digestive tract measurements and gut morphology of broilers compared with a maize-based diet', *British poultry science*. 48(5), pp. 594–600.
169. Pedroso, A. A., Batal, A. B. and Lee, M. D. (2016) 'Effect of in ovo administration of an adult-derived microbiota on establishment of the intestinal microbiome in chickens', *American Journal of Veterinary Research*. 77(5), pp. 514–526.
170. Pedroso, A. A., Menten, J. F. M. and Lambais, M. R. (2005) 'The structure of bacterial community in the intestines of newly hatched chicks', *Journal of Applied Poultry Research*. 14(2), pp. 232–237.
171. Perdigón, G., Alvarez, S. and Pesce de Ruiz Holgado, A. (1991) 'Immunoadjuvant activity of oral *Lactobacillus casei*: influence of dose on the secretory immune response and protective

- capacity in intestinal infections’, *The Journal of dairy research*. 58(4), pp. 485–496.
172. Peshev, D. and Van den Ende, W. (2014) ‘Fructans: Prebiotics and immunomodulators’, *Journal of Functional Foods*. 8(1), pp. 348–357.
173. Peters, B. J. *et al.* (2003) Recommended Methods for Manure Analysis, ASA-CSSA-SSSA *Annual Meeting Abstracts*. Madison, Wisconsin.
174. Polansky, O. *et al.* (2016) ‘Important Metabolic Pathways and Biological Processes Expressed by Chicken Cecal Microbiota’, *Applied and Environmental Microbiology*, 82(5), pp. 1569–1576.
175. Pourabedin, M. and Zhao, X. (2015) ‘Prebiotics and gut microbiota in chickens’, *FEMS Microbiology Letters*. 362(15), p. 122.
176. Pruss, K. M. *et al.* (2020) ‘Mucin-derived O-glycans supplemented to diet mitigate diverse microbiota perturbations’, *The ISME Journal*, 15(2), pp. 577–591.
177. Quast, C. *et al.* (2013) ‘The SILVA ribosomal RNA gene database project: Improved data processing and web-based tools’, *Nucleic Acids Research*. 41(D1), pp. D590–D596. Available at: <https://academic.oup.com/nar/article/41/D1/D590/1069277> (Accessed: 18 October 2021).
178. Rakszegi, M. *et al.* (2017) ‘Addition of Aegilops U and M Chromosomes Affects Protein and Dietary Fiber Content of Wholemeal Wheat Flour’, *Frontiers in Plant Science*, 8:1529.
179. Ranadheera, C. S. *et al.* (2017) ‘Probiotic Delivery through Fermentation: Dairy vs. Non-Dairy Beverages’, *Fermentation*, 3(4), p. 67.
180. Ranjitkar, S. *et al.* (2016) ‘Bacterial succession in the broiler gastrointestinal tract’, *Applied and Environmental Microbiology*. American Society for Microbiology, 82(8), pp. 2399–2410. Available at: <https://journals.asm.org/doi/abs/10.1128/AEM.02549-15> (Accessed: 2 January 2022).
181. Rantala, M. and Nurmi, E. (1973) ‘Prevention of the growth of *Salmonella infantis* in chicks by the flora of the alimentary tract of chickens’, *British poultry science*. 14(6), pp. 627–630.
182. Reece, O. W. (2004) *Dukes’ Physiology of Domestic Animals*. Reece, O. William. Ithaca and London: Cornell University Press.
183. Reis, M. P. *et al.* (2017) ‘Effect of *Bacillus subtilis* (DSM 17299) on performance, digestibility, intestine morphology, and pH in broiler chickens’, *Journal of Applied Poultry Research*, 26(4), pp. 573–583.
184. Richards-Rios, P. *et al.* (2020) ‘Development of the Ileal Microbiota in Three Broiler Breeds’, *Frontiers in Veterinary Science*. 7, pp. 17.
185. Rinttilä, T. and Apajalahti, J. (2013) ‘Intestinal microbiota and metabolites—Implications for broiler chicken health and performance’, *Journal of Applied Poultry Research*. 22(3), pp. 647–

- 186.Rivera-Chávez, F., Lopez, C. A. and Bäumlér, A. J. (2017) ‘Oxygen as a driver of gut dysbiosis’, *Free Radical Biology and Medicine*, 105, pp. 93–101.
- 187.Rivière, A. *et al.* (2014) ‘The Ability of Bifidobacteria To Degrade Arabinoxylan Oligosaccharide Constituents and Derived Oligosaccharides Is Strain Dependent’, *Applied and Environmental Microbiology*. 80(1), p. 204.
- 188.Roberts, S. A. *et al.* (2007) ‘Effects of dietary fiber and reduced crude protein on ammonia emission from laying-hen manure’, *Poultry science*. 86(8), pp. 1625–1632.
- 189.Roto, S. M., Rubinelli, P. M. and Ricke, S. C. (2015) ‘An introduction to the avian gut microbiota and the effects of yeast-based prebiotic-type compounds as potential feed additives’, *Frontiers in Veterinary Science*. 2. 28.
- 190.Rubio, L. A. (2019) ‘Possibilities of early life programming in broiler chickens via intestinal microbiota modulation’, *Poultry Science*. 98(2), pp. 695–706.
- 191.Ruiz, R. *et al.* (2015) ‘Effects of feed additives on ileal mucosa-associated microbiota composition of broiler chickens’, *Journal of Animal Science*. 93(7), pp. 3410–3420.
- 192.Rychlik, I. (2020) ‘Composition and Function of Chicken Gut Microbiota.’, *Animals*, 10(1). pp. 103.
- 193.Sánchez, B. *et al.* (2017) ‘Probiotics, gut microbiota, and their influence on host health and disease’, *Molecular nutrition & food research*. 61(1).
- 194.Santos, S. DOS *et al.* (2019) ‘Effects of dietary fiber on growth performance, fecal ammonia nitrogen’, *Walailak Procedia*, (1), p. IC4IR.73-IC4IR.73. Available at: <https://wjst.wu.ac.th/index.php/wuresearch/article/view/6580> (Accessed: 3 August 2021).
- 195.Santoso, U. *et al.* (1999) ‘Dried Bacillus subtilis Culture Reduced Ammonia Gas Release in Poultry House’, *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*. 12(5), pp. 806–809.
- 196.Saulnier, L. *et al.* (2007) ‘Wheat arabinoxylans: Exploiting variation in amount and composition to develop enhanced varieties’, *Journal of Cereal Science*, 46(3), pp. 261–281.
- 197.Scanes, C. G. and Pierzchala-Koziec, K. (2014) ‘Biology of the Gastrointestinal Tract in Poultry’, *Avian Biology Research*. 7(4), pp. 193–222.
- 198.Schmidt, J. (2015) *A takarmányozás alapjai*. Budapest: Mezőgazda Lap- és Könyvkiadó Kft.
- 199.Schneeman, B. O. (2002) ‘Gastrointestinal physiology and functions’, *British Journal of Nutrition*, 88(S2).
- 200.Schneitz, C. *et al.* (2016) ‘The effects of a competitive exclusion product and two probiotics on Salmonella colonization and nutrient digestibility in broiler chickens’, *Journal of Applied Poultry Research*, 25(3), pp. 396–406.

- 201.Schön, H. B. *et al.* (1961) ‘Über die Untersuchung der exkretorischen Pankreasfunktion. Methoden zur Aktivitätsbestimmungen von Trypsin, Chymotrypsin, Carboxipeptidase’, *Wiener klinische Wochenschrift*, 39, pp. 217-222
- 202.Sekelja, M. *et al.* (2012) ‘Abrupt temporal fluctuations in the chicken fecal microbiota are explained by its gastrointestinal origin’, *Applied and Environmental Microbiology*. 78(8), pp. 2941–2948.
- 203.Siegerstetter, S.-C. *et al.* (2017) ‘Intestinal microbiota profiles associated with low and high residual feed intake in chickens across two geographical locations’, *PLOS ONE*. 12(11), pp. e0187766.
- 204.Sigurdarson, J. J., Svane, S. and Karring, H. (2018) ‘The molecular processes of urea hydrolysis in relation to ammonia emissions from agriculture’, *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 17(2), pp. 241–258.
- 205.Silva, S. S. P. and Smithard, R. R. (2002) ‘Effect of enzyme supplementation of a rye-based diet on xylanase activity in the small intestine of broilers, on intestinal crypt proliferation and nutrient digestibility and growth performance of the birds’, *British Poultry Science*, 43, pp. 274–282.
- 206.Simon, K. *et al.* (2016) ‘Long-term effects of early life microbiota disturbance on adaptive immunity in laying hens’, *Poultry science*. 95(7), pp. 1543–1554.
- 207.Singh, A. K. and Kim, W. K. (2021) ‘Effects of Dietary Fiber on Nutrients Utilization and Gut Health of Poultry: A Review of Challenges and Opportunities’. Multidisciplinary Digital Publishing Institute, 11(1), p. 181. Available at: <https://www.mdpi.com/2076-2615/11/1/181> (Accessed: 30 December 2021).
- 208.Śliżewska, K. *et al.* (2020) ‘The effect of synbiotic preparations on the intestinal microbiota and her metabolism in broiler chickens’, *Scientific Reports*, 10(1), pp. 1–13.
- 209.Smits, C. H. M. and Annison, G. (1996) ‘Non-starch plant polysaccharides in broiler nutrition—towards 203–221., physiologically valid approach to their determination’, *World’s Poultry Science Journal*, 52, pp. 203–221.
- 210.Snel, J. *et al.* (1995) ‘Comparison of 16S rRNA sequences of segmented filamentous bacteria isolated from mice, rats, and chickens and proposal of “Candidatus Arthromitus”’, *International journal of systematic bacteriology*. 45(4), pp. 780–782.
- 211.Sobolewska, A. *et al.* (2017) ‘The impact of synbiotic administration through in ovo technology on the microstructure of a broiler chicken small intestine tissue on the 1st and 42nd day of rearing’, *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 8(1), pp. 1–8.
- 212.Song, Y. *et al.* (2018) ‘Shift of hindgut microbiota and microbial short chain fatty acids

- profiles in dairy calves from birth to pre-weaning’, *FEMS Microbiology Ecology*. 94(3), pp. 179.
213. Soomro, A. H., Masud, T. and Anwaar, K. (2001) ‘Role of Lactic Acid Bacteria (LAB) in Food Preservation and Human Health – A Review’, *Pakistan Journal of Nutrition*. 1(1), pp. 20–24.
214. Stanley, D. *et al.* (2015) ‘Comparison of fecal and cecal microbiotas reveals qualitative similarities but quantitative differences’, *BMC Microbiology*. 15(1), pp. 1–11.
215. Stanley, D. *et al.* (2016) ‘Bacteria within the gastrointestinal tract microbiota correlated with improved growth and feed conversion: Challenges presented for the identification of performance enhancing probiotic bacteria’, *Frontiers in Microbiology*, 7. 187.
216. Steinfeldt, S., Mullertz, A. and Jensen, J. F. (1998) ‘Enzyme supplementation of wheat-based diets for broilers. 1. Effect on growth performance and intestinal viscosity’, *Animal Feed Science and Technology*, 75(1), pp. 27–43. Available at: <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=NL1999000313> (Accessed: 27 October 2021).
217. Such, N. *et al.* (2017) ‘Egy probiotikus kiegészítő hatása a takarmány táplálóanyagainak látszólagos emészthetőségére lovakkal végzett kísérletben.’, *Állattenyésztés és Takarmányozás*, 66(3), pp. 196–205.
218. Suriano, F. *et al.* (2017) ‘Fat binding capacity and modulation of the gut microbiota both determine the effect of wheat bran fractions on adiposity’, *Scientific Reports*, 7(1), pp. 1–13.
219. Svihus, B., Choct, M. and Classen, H. L. L. (2019) ‘Function and nutritional roles of the avian caeca: a review’, *World’s Poultry Science Journal*. 69(2), pp. 249–264.
220. Takahashi, M. *et al.* (2018) ‘Effects of the butyric acid-producing strain *Clostridium butyricum* MIYAIRI 588 on broiler and piglet zootechnical performance and prevention of necrotic enteritis’, *Animal Science Journal*. 89(6), pp. 895–905.
221. Talebi, A. *et al.* (2008) ‘Effects of a multi-strain probiotic (PrimaLac) on performance and antibody responses to Newcastle disease virus and infectious bursal disease virus vaccination in broiler chickens’, *Avian pathology*, 37(5), pp. 509–512.
222. Tan, H., Zhai, Q. and Chen, W. (2019) ‘Investigations of *Bacteroides* spp. towards next-generation probiotics’, *Food Research International*. 116, pp. 637–644.
223. Tasaki, I. and Okumura, J. (1964) ‘Effect of Protein Level of Diet on Nitrogen Excretion in Fowls’, *The Journal of Nutrition*. 83(1), pp. 34–38.
224. Tayeri, V. *et al.* (2018) ‘A comparison of the effects of antibiotics, probiotics, synbiotics and prebiotics on the performance and carcass characteristics of broilers’, *Veterinary research communications*. 42(3), pp. 195–207.

225. Terényi, M. (2016) 'Az antibiotikum felhasználás jogi szabályozása', Hajdúszoboszló, június 2. Derzsy-Napok, Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatal.
226. Thompson, C. L., Mikaelyan, A. and Brune, A. (2013) 'Immune-modulating gut symbionts are not "candidatus Arthromitus"', *Mucosal Immunology*. 6. pp. 200–201.
227. Thompson, R. S. *et al.* (2021) 'Ruminiclostridium 5, Parabacteroides distasonis, and bile acid profile are modulated by prebiotic diet and associate with facilitated sleep/clock realignment after chronic disruption of rhythms', *Brain, Behavior, and Immunity*. 97, pp. 150–166.
228. Turrone, F., Berry, D. and Ventura, M. (2017) Editorial: Bifidobacteria and Their Role in the Human Gut Microbiota, *Frontiers in Microbiology*. 7:2148.
229. Varmuzova, K. *et al.* (2016) 'Composition of Gut Microbiota Influences Resistance of Newly Hatched Chickens to Salmonella Enteritidis Infection', *Frontiers in Microbiology*. 7:957.
230. Vázquez-Baeza, Y. *et al.* (2018) 'Impacts of the Human Gut Microbiome on Therapeutics', *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*. 58, pp. 253–270.
231. Vermeulen, K. (2017) *Wheat bran with reduced particle size as carrier for microbial networks that affect salmonella colonization*. Ghent University. Available at: <https://biblio.ugent.be/publication/8545887/file/8545890.pdf> (Accessed: 9 February 2022).
232. Vermeulen, K. *et al.* (2018) 'Reduced particle-size wheat bran is efficiently colonized by a lactic acid-producing community and reduces levels of Enterobacteriaceae in the cecal microbiota of broilers', *Applied and Environmental Microbiology*. 84(21), pp. 1343–1361.
233. De Vrese, M. and Schrezenmeir, J. (2008) 'Probiotics, prebiotics, and synbiotics', in *Food biotechnology, Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*, pp. 1–66.
234. Wagari, A. (2021) 'A Review on Infectious Bursal Disease in Poultry', *Health Economics & Outcome Research: Open Access*. 7(2), pp. 18–23.
235. Waite, D. W. and Taylor, M. (2015) 'Exploring the avian gut microbiota: current trends and future directions', *Frontiers in Microbiology*. 6, p. 673.
236. Wang, J. *et al.* (2002) 'Isolation of Gemmata-like and Isosphaeralike planctomycete bacteria from soil and freshwater', *Applied and Environmental Microbiology*, 68, pp. 417–422.
237. Wang, Q. *et al.* (2007) 'Naïve Bayesian Classifier for Rapid Assignment of rRNA Sequences into the New Bacterial Taxonomy', *Applied and Environmental Microbiology*, 73(16).
238. Wang, Y. *et al.* (2017) 'Effect of probiotics on the meat flavour and gut microbiota of chicken', *Scientific Reports*. 7(1), pp. 1–13.
239. Wathes, C. M. (1998) 'Aerial emissions from poultry production', *World's Poultry Science Journal*. 54(3), pp. 241–251.
240. Wei, S., Lilburn, M. and Yu, Z. (2016) 'The Bacteriomes of Ileal Mucosa and Cecal Content



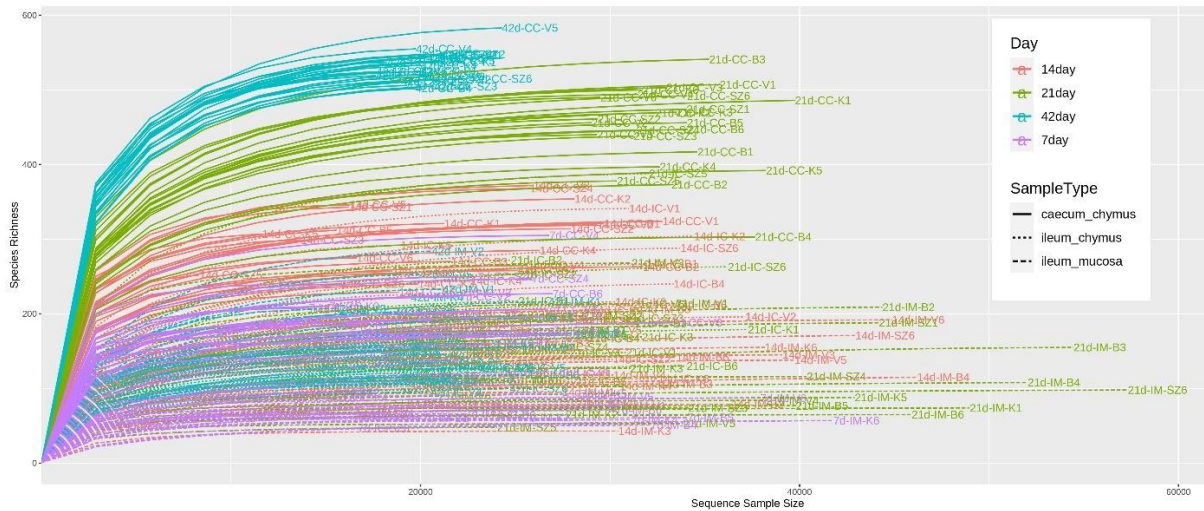
- of Brojler Chickens and Turkeys as Revealed by Metagenomic Analysis’, *International Journal of Microbiology*. 2016. 12.
241. Wei, S., Morrison, M. and Yu, Z. (2013) ‘Bacterial census of poultry intestinal microbiome’, *Poultry Science*. 92(3), pp. 671–683.
242. Williams, B. A., Verstegen, M. W. A. and Tamminga, S. (2001) ‘Fermentation in the large intestine of single-stomached animals and its relationship to animal health’, *Nutrition Research Reviews*. 14(2), pp. 207–228.
243. Wutzke, K. D., Lotz, M. and Zipprich, C. (2010) ‘The effect of pre- and probiotics on the colonic ammonia metabolism in humans as measured by lactose-[15N<sub>2</sub>]ureide’, *European Journal of Clinical Nutrition*. 64(10), pp. 1215–1221.
244. Xiao, Y. *et al.* (2017) ‘Microbial community mapping in intestinal tract of brojler chicken’, *Poultry Science*. 96(5), pp. 1387–1393.
245. Xing, Z. *et al.* (2021) ‘Disequilibrium in chicken gut microflora with avian colibacillosis is related to microenvironment damaged by antibiotics’, *Science of The Total Environment*. 762, p. 143058.
246. Yan, W. *et al.* (2017) ‘Gut metagenomic analysis reveals prominent roles of *Lactobacillus* and cecal microbiota in chicken feed efficiency’, *Scientific Reports*. 7(1), pp. 1–11.
247. Yan, W. *et al.* (2019) ‘Efficacy of Fecal Sampling as a Gut Proxy in the Study of Chicken Gut Microbiota’, *Frontiers in Microbiology*. 10, p. 2126.
248. Yang, C. M. *et al.* (2012) ‘Effects of probiotic, *Clostridium butyricum*, on growth performance, immune function, and cecal microflora in brojler chickens’, *Poultry Science*. 91(9), pp. 2121–2129.
249. Yang, Y. *et al.* (2007) ‘Effects of Mannan oligosaccharide on Growth Performance, the Development of Gut Microflora, and Gut Function of Brojler Chickens Raised on New Litter’, *Journal of Applied Poultry Research*. 16(2), pp. 280–288.
250. Yaqoob, M. U. *et al.* (2021) ‘The potential mechanistic insights and future implications for the effect of prebiotics on poultry performance, gut microbiome, and intestinal morphology’, *Poultry Science*. 100(7), p. 101143.
251. Yason, C. V., Summers, B. A. and Schat, K. A. (1987) ‘Pathogenesis of rotavirus infection in various age groups of chickens and turkeys: Pathology.’, *American Journal of Veterinary Research*, 6, pp. 927–938.
252. Yeo, J. and Kim, K. Il (1997) ‘Effect of feeding diets containing an antibiotic, a probiotic, or yucca extract on growth and intestinal urease activity in brojler chicks’, *Poultry Science*. 76(2), pp. 381–385.

253. Yin, Y. *et al.* (2009) 'Exposure of different bacterial inocula to newborn chicken affects gut microbiota development and ileum gene expression', *The ISME Journal*. 4(3), pp. 367–376.
254. Yoon, C., Park, J. H. and Nam, Y. M. (2004) 'Effect of Feeding Multiple Probiotics on Performance and Fecal Noxious Gas Emission in Brojler Chicks', *The Korean Society of Poultry Science*, 31(4), pp. 229–235. Available at: <https://www.koreascience.or.kr/article/JAKO200430710410176.page> (Accessed: 3 August 2021).
255. Yuan, X. *et al.* (2020) 'Modulation of Gut Microbiota and Oxidative Status by  $\beta$ -Carotene in Late Pregnant Sows', *Frontiers in Nutrition*. 7, p. 305.
256. Zaghari, M., Sarani, P. and Hajati, H. (2020) 'Comparison of two probiotic preparations on growth performance, intestinal microbiota, nutrient digestibility and cytokine gene expression in brojler chickens', *Journal of Applied Animal Research*, 48(1), pp. 166–175.
257. Zakrzewski, M. *et al.* (2017) 'Calypso: A user-friendly web-server for mining and visualizing microbiome-environment interactions', *Bioinformatics*. 33(5), pp. 782–783.
258. Zendeboodi, F. *et al.* (2020) 'Probiotic: conceptualization from a new approach', *Current Opinion in Food Science*. 32, pp. 103–123.
259. Zhang, B. *et al.* (2011) 'Effects of dietary lipids and *Clostridium butyricum* on serum lipids and lipid-related gene expression in brojler chickens', *Animal*. 5(12), pp. 1909–1915.
260. Zhang, Bingkun *et al.* (2011a) 'Effects of dietary lipids and *Clostridium butyricum* on the performance and the digestive tract of brojler chickens', *Archives of Animal Nutrition*. 65(4), pp. 329–339.
261. Zhang, R., Ishibashi, K. and Day, D. L. (1991) 'Experimental study of microbial decomposition in liquid swine manure, and generation rates of ammonia', in *Proceedings of the Livestock Waste Management Conference, American Society of Agricultural Engineers*. St. Joseph, MI, USA. 23–26 April
262. Zhao, X. *et al.* (2013) 'Effects of *Clostridium butyricum* and *Enterococcus faecium* on growth performance, lipid metabolism, and cecal microbiota of brojler chickens', *Applied Microbiology and Biotechnology*. 97(14), pp. 6477–6488.
263. Zhao, X. *et al.* (2017) 'Einfluss von *Clostridium butyricum* auf das Wachstum, den Lipidstoffwechsel und die Mikroflora in den Blinddärmen von Brojlern', *European Poultry Science*. 81. pp.187
264. Zhenping, S. *et al.* (2013) 'Effect of a straw-derived xylooligosaccharide on brojler growth performance, endocrine metabolism, and immune response - PubMed', *Canadian Journal of Veterinary Research*, 77(2), pp. 105–109. Available at:

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24082401/> (Accessed: 27 October 2021).

265. Zhou, K. (2017) 'Strategies to promote abundance of *Akkermansia muciniphila*, an emerging probiotics in the gut, evidence from dietary intervention studies', *Journal of Functional Foods*. 33, pp. 194–201.

## M2. Kiegészítő táblázatok, ábrák



**M1. ábra.** Fajgazdagságot mutató ritkasági görbék az operatív taxonómiai egységek (OTU) alapján. Mindegyik színes vonal egyetlen madár mintájának mikrobiom profilját mutatja. A vonal színe a madár életkora alapján; vonaltípus a minta típusa alapján (szaggatott: ileum nyálkahártya; pontozott: ileum chymus; egyenes: vakbél chymus). A szekvenciaadatok mintánként 1000 szekvencia mélységig lettek ritkítva.

**M1. táblázat.** Az csípőbél bétartalom alfa-diverzitási mutatói és a takarmány kezelések (K – Kontroll, Br – Broilact®, Sz – Szimbiotikum kezelés) és a madarak életkorának hatása a mikrobióta diverzitására.

Diverzitási mutató	IC						<i>p</i> -érték				
	T	Kor				Átlag (T)	T	Kor	T x Kor		
		7 nap	14 nap	21 nap	40 nap						
Chao1	K	114,20 <sup>B</sup>	215,56	195,39	128,79	<b>163,48</b>	0,786		0,300		
	B	124,32 <sup>AB</sup>	201,84	180,81	125,56					<b>158,13</b>	
	Br	175,87 <sup>A</sup>	200,56	173,95	130,69						<b>170,27</b>
	Sz	122,48 <sup>AB</sup>	188,36	234,62	138,96						
	<b>Átlag (Kor)</b>	<b>134,21<sup>a</sup></b>	<b>201,5<sup>b</sup></b>	<b>196,1<sup>b</sup></b>	<b>131,0<sup>a</sup></b>						
Shannon	K	1,94 <sup>B</sup>	2,60	3,02	2,95	<b>2,63</b>	0,754		<b>0,012</b>		
	B	2,70	2,45	2,76	2,60					<b>2,63</b>	
	Br	2,96 <sup>A</sup>	2,61	2,86	2,46						<b>2,73</b>
	Sz	2,37 <sup>AB</sup>	2,54	3,23	2,80						
	<b>Átlag (Kor)</b>	<b>2,49<sup>a</sup></b>	<b>2,55<sup>a</sup></b>	<b>2,97<sup>b</sup></b>	<b>2,70<sup>ac</sup></b>						
Simpson	K	0,69 <sup>B</sup>	0,79	0,89	0,90	<b>0,82</b>	0,628		0,207		
	B	0,88 <sup>A</sup>	0,82	0,87	0,83					<b>0,85</b>	
	Br	0,89 <sup>A</sup>	0,82	0,87	0,81						<b>0,85</b>
	Sz	0,81 <sup>AB</sup>	0,79	0,91	0,86						
	<b>Átlag (Kor)</b>	<b>0,82<sup>a</sup></b>	<b>0,80<sup>a</sup></b>	<b>0,88<sup>b</sup></b>	<b>0,85<sup>c</sup></b>						
						<b>0,015</b>					

**M2 táblázat. Az csípőből nyálkahártya alfa-diverzitási mutatói és a takarmány kezelések (K – Kontroll, Br – Broilact®, Sz – Szimbiotikum kezelés) és a madarak életkorának hatása a mikrobióta diverzitására.**

Diverzitási mutató	IM						p-érték		
	T	Kor				Átlag (T)	T	Kor	T x Kor
		7 nap	14 nap	21 nap	40 nap				
Chao1	K	73,34	113,38	99,91	186,95 <sup>AB</sup>	<b>118,39</b>	0,107		0,076
	B	67,33	140,97	133,42	153,17 <sup>AB</sup>	<b>123,72</b>			
	Br	75,32	123,31	143,84	226,45 <sup>A</sup>	<b>142,23</b>			
	Sz	80,40	122,56	120,66	128,18 <sup>B</sup>	<b>112,95</b>			
	<b>Átlag (Kor)</b>	<b>74,10<sup>a</sup></b>	<b>125,05<sup>b</sup></b>	<b>124,45<sup>bc</sup></b>	<b>173,68<sup>d</sup></b>				
Shannon	K	0,73	1,09	1,58	3,02 <sup>A</sup>	<b>1,60</b>	0,475		0,079
	B	0,79	1,17	0,99	2,72 <sup>AB</sup>	<b>1,42</b>			
	Br	0,89	1,22	1,91	2,73 <sup>AB</sup>	<b>1,69</b>			
	Sz	1,73	1,45	0,96	2,62 <sup>B</sup>	<b>1,69</b>			
	<b>Átlag (Kor)</b>	<b>1,03<sup>a</sup></b>	<b>1,23<sup>a</sup></b>	<b>1,36<sup>a</sup></b>	<b>2,77<sup>b</sup></b>				
Simpson	K	0,27	0,31	0,45	0,89	<b>0,48</b>	0,361		0,095
	B	0,26	0,35	0,29	0,85	<b>0,44</b>			
	Br	0,29	0,38	0,57	0,85	<b>0,52</b>			
	Sz	0,55	0,44	0,27	0,86	<b>0,53</b>			
	<b>Átlag (Kor)</b>	<b>0,34<sup>a</sup></b>	<b>0,37<sup>a</sup></b>	<b>0,40<sup>a</sup></b>	<b>0,87<sup>b</sup></b>				

**M3 táblázat. A vakbél bétartalom alfa-diverzitási mutatói és a takarmány kezelések (K – Kontroll, Br – Broilact®, Sz – Szimbiotikum kezelés) és a madarak életkorának hatása a mikrobióta diverzitására.**

Diverzitási mutató	CC						p-érték		
	T	Kor				Átlag (T)	T	Kor	T x Kor
		7 nap	14 nap	21 nap	40 nap				
Chao1	K	201,74	294,96	453,91	530,71	<b>370,33<sup>AB</sup></b>	0,012		0,978
	B	177,38	276,49	424,54	527,92	<b>351,51<sup>B</sup></b>			
	Br	216,81	317,95	483,32	542,08	<b>390,04<sup>A</sup></b>			
	Sz	207,32	303,37	449,33	529,75	<b>372,44<sup>AB</sup></b>			
	<b>Átlag (Kor)</b>	<b>200,81<sup>a</sup></b>	<b>298,19<sup>b</sup></b>	<b>452,70<sup>c</sup></b>	<b>532,61<sup>d</sup></b>				
Shannon	K	3,79	4,18	4,34	4,77	<b>4,27</b>	0,198		0,566
	B	3,70	4,08	4,25	4,73	<b>4,20</b>			
	Br	3,51	4,12	4,34	4,59	<b>4,14</b>			
	Sz	3,82	4,14	4,24	4,70	<b>4,23</b>			
	<b>Átlag (Kor)</b>	<b>3,71<sup>a</sup></b>	<b>4,13<sup>b</sup></b>	<b>4,30<sup>c</sup></b>	<b>4,70<sup>d</sup></b>				
Simpson	K	0,95	0,96	0,96	0,98	<b>0,962<sup>A</sup></b>	0,047		0,291
	B	0,95	0,96	0,95	0,98	<b>0,961<sup>A</sup></b>			
	Br	0,93	0,96	0,96	0,97	<b>0,953<sup>B</sup></b>			
	Sz	0,95	0,96	0,95	0,98	<b>0,959<sup>AB</sup></b>			
	<b>Átlag (Kor)</b>	<b>0,95<sup>a</sup></b>	<b>0,96<sup>b</sup></b>	<b>0,96<sup>c</sup></b>	<b>0,97<sup>d</sup></b>				

(K) kontroll kezelés, (Br) Broilact kezelés, (B) búzas kezelés, (Sz) szimbiotikum kezelés T: takarmánykezelés; K: madarak kora (7, 14, 21, 40 nap); T x K: kölcsönhatás; Az <sup>a,b</sup> jelzések kor hatására bekövetkező átlagok közötti szignifikáns különbséget jelölik ( $p < 0,05$ ). Az <sup>A,B</sup> jelzések a takarmánykezelések hatására bekövetkező átlagok közötti szignifikáns különbséget jelölik ( $p < 0,05$ ). A statisztikailag szignifikáns értékek félkövér betűvel vannak szedve. A táblázat csak azokat a családokat tartalmazza, amelyeknél a relatív gyakoriság csoportátlaga 1%-nál magasabb volt.

**M4. táblázat. A csipőbél bétartalom mikrobióta relatív gyakorisága törzs szinten.**

Törzs	T	IC (%)				Átlag (T)	FDR <i>p</i> -érték		
		Kor					T	Kor	T x Kor
		7 nap	14 nap	21 nap	40 nap				
Firmicutes	K	96,49 <sup>A</sup>	91,68	92,65	94,80	0,280	0,012	0,002	
	B	79,90 <sup>B</sup>	94,45	95,75	96,27				
	Br	83,95 <sup>B</sup>	75,59	95,09	96,31				
	Sz	92,01 <sup>AB</sup>	91,39	89,72	92,66				
	<b>Átlag (Kor)</b>	<b>88,08<sup>ab</sup></b>	<b>88,27<sup>b</sup></b>	<b>93,30<sup>ab</sup></b>	<b>95,01<sup>a</sup></b>				
Proteobacteria	K	1,48	2,08	0,73 <sup>A</sup>	0,19	0,072	0,003	0,052	
	B	8,32	3,12	0,40 <sup>AB</sup>	0,17				
	Br	10,85	17,07	0,15 <sup>B</sup>	0,20				
	Sz	2,09	2,15	0,18 <sup>AB</sup>	0,43				
	<b>Átlag (Kor)</b>	<b>5,69<sup>ab</sup></b>	<b>6,11<sup>a</sup></b>	<b>0,36<sup>b</sup></b>	<b>0,25<sup>b</sup></b>				
Cyanobacteria	K	1,93 <sup>B</sup>	3,32	0,12 <sup>B</sup>	0,33	0,280	0,001	0,001	
	B	10,39 <sup>A</sup>	1,34	1,31 <sup>A</sup>	0,62				
	Br	4,35 <sup>AB</sup>	5,74	0,08 <sup>AB</sup>	0,11				
	Sz	5,49 <sup>A</sup>	5,39	0,18 <sup>A</sup>	0,24				
	<b>Átlag (Kor)</b>	<b>5,53<sup>a</sup></b>	<b>4,00<sup>a</sup></b>	<b>0,39<sup>b</sup></b>	<b>0,64<sup>b</sup></b>				
Actinobacteria	K	0,05	0,15	6,08	4,33	0,380	0,001	0,550	
	B	0,16	0,06	2,17	2,80				
	Br	0,65	0,09	4,44	3,11				
	Sz	0,12	0,26	8,74	5,05				
	<b>Átlag (Kor)</b>	<b>0,25<sup>b</sup></b>	<b>0,14<sup>b</sup></b>	<b>5,36<sup>a</sup></b>	<b>3,82<sup>a</sup></b>				
Bacteroidetes	K	0,03 <sup>B</sup>	2,53	0,15	0,00	0,460	0,007	0,031	
	B	0,19 <sup>A</sup>	0,88	0,27	0,01				
	Br	0,06 <sup>AB</sup>	0,19	0,12	0,04				
	Sz	0,12 <sup>A</sup>	0,39	1,08	0,01				
	<b>Átlag (Kor)</b>	<b>0,10<sup>b</sup></b>	<b>1,00<sup>a</sup></b>	<b>0,40<sup>ab</sup></b>	<b>0,01<sup>b</sup></b>				
Patescibacteria	K	0,00	0,20	0,08	0,34	0,590	0,350	0,071	
	B	0,93	0,13	0,03	0,11				
	Br	0,07	1,29	0,06	0,23				
	Sz	0,12	0,21	0,08	0,34				
	<b>Átlag (Kor)</b>	<b>0,28</b>	<b>0,45</b>	<b>0,06</b>	<b>0,26</b>				
Verrucomicrobia	K	0,00	0,00	0,17	0,00	0,590	0,001	0,760	
	B	0,00	0,00	0,06	0,00				
	Br	0,00	0,00	0,06	0,00				
	Sz	0,00	0,00	0,16	0,00				
	<b>Átlag (Kor)</b>	<b>0,00<sup>b</sup></b>	<b>0,001<sup>b</sup></b>	<b>0,06<sup>a</sup></b>	<b>0,001<sup>b</sup></b>				
Tenericutes	K	0,01	0,03	0,02	0,00	0,590	0,089	0,830	
	B	0,01	0,02	0,01	0,00				
	Br	0,03	0,02	0,00	0,00				
	Sz	0,00	0,01	0,01	0,00				
	<b>Átlag (Kor)</b>	<b>0,01</b>	<b>0,02</b>	<b>0,01</b>	<b>0,00</b>				
Armatimonadetes	K	0,01	0,00	0,00	0,00	0,400	0,001	0,130	
	B	0,06	0,00	0,00	0,00				
	Br	0,04	0,00	0,00	0,00				
	Sz	0,04	0,00	0,00	0,00				
	<b>Átlag (Kor)</b>	<b>0,04<sup>a</sup></b>	<b>0,00<sup>b</sup></b>	<b>0,00<sup>b</sup></b>	<b>0,00<sup>b</sup></b>				
Chloroflexi	K	0,00	0,00	0,00	0,00	0,530	0,400	0,450	
	B	0,00	0,00	0,00	0,00				
	Br	0,00	0,00	0,00	0,00				
	Sz	0,00	0,00	0,00	0,00				
	<b>Átlag (Kor)</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>				
Planctomycetes	K	0,00 <sup>A</sup>	0,00	0,00	0,00	0,072	0,001	0,001	
	B	0,01 <sup>B</sup>	0,00	0,00	0,00				
	Br	0,00 <sup>AB</sup>	0,00	0,00	0,00				

Törzs	IC (%)					FDR <i>p</i> -érték			
	T	Kor				Átlag (T)	T	Kor	T x Kor
		7 nap	14 nap	21 nap	40 nap				
	Sz	0,01 <sup>A</sup>	0,00	0,00	0,00	<b>0,00</b>			
	<b>Átlag (Kor)</b>	<b>0,003<sup>a</sup></b>	<b>0,00<sup>b</sup></b>	<b>0,00<sup>b</sup></b>	<b>0,00<sup>b</sup></b>	<b>0,00</b>		<b>0,001</b>	

M5. táblázat. A csipőbél nyálkahártya mikrobióta relatív gyakorisága törzs szinten.

Törzs	IM (%)					FDR <i>p</i> -érték			
	T	Kor				Átlag (T)	T	Kor	T x Kor
		7 nap	14 nap	21 nap	40 nap				
Firmicutes	K	98,77 <sup>A</sup>	95,35	92,57	96,11	<b>95,70</b>	0,310		<b>0,046</b>
	B	97,38 <sup>AB</sup>	96,09	97,91	98,21	<b>97,40</b>			
	Br	96,30 <sup>AB</sup>	93,21	95,09	97,72	<b>95,58</b>			
	Sz	91,84 <sup>B</sup>	92,72	96,13	97,86	<b>94,64</b>			
	<b>Átlag (Kor)</b>	96,07	94,34	95,43	97,47			0,068	
Proteobacteria	K	0,90 <sup>B</sup>	3,19	5,83	1,56	<b>2,87</b>	0,370		<b>0,014</b>
	B	2,00 <sup>AB</sup>	2,36	1,50	0,71	<b>1,64</b>			
	Br	2,94 <sup>AB</sup>	5,30	2,78	0,52	<b>2,89</b>			
	Sz	6,03 <sup>A</sup>	5,07	2,15	0,61	<b>3,47</b>			
	<b>Átlag (Kor)</b>	<b>2,97<sup>ab</sup></b>	<b>3,98<sup>a</sup></b>	<b>3,07<sup>ab</sup></b>	<b>0,85<sup>b</sup></b>			<b>0,004</b>	
Actinobacteria	K	0,23 <sup>B</sup>	0,34	0,62	1,80	<b>0,75</b>	0,310		<b>0,015</b>
	B	0,28 <sup>AB</sup>	0,29	0,07	0,81	<b>0,36</b>			
	Br	0,60 <sup>A</sup>	0,63	0,32	0,92	<b>0,62</b>			
	Sz	1,26 <sup>AB</sup>	0,58	0,47	1,10	<b>0,85</b>			
	<b>Átlag (Kor)</b>	<b>0,70<sup>b</sup></b>	<b>0,52<sup>ab</sup></b>	<b>0,47<sup>ab</sup></b>	<b>1,27<sup>a</sup></b>			<b>0,004</b>	
Bacteroidetes	K	0,02	0,65	0,44	0,14	<b>0,31</b>	0,920		0,470
	B	0,09	0,01	0,40	0,12	<b>0,40</b>			
	Br	0,01	0,13	1,21	0,64	<b>0,50</b>			
	Sz	0,00	0,20	1,02	0,07	<b>0,32</b>			
	<b>Átlag (Kor)</b>	0,01	0,13	0,21	0,63			0,140	
Cyanobacteria	K	0,08 <sup>B</sup>	0,35	0,00	0,14	<b>0,14<sup>B</sup></b>	<b>0,019</b>		<b>0,011</b>
	B	0,24 <sup>B</sup>	0,17	0,03	0,11	<b>0,14<sup>B</sup></b>			
	Br	0,14 <sup>B</sup>	0,58	0,14	0,08	<b>0,24<sup>B</sup></b>			
	Sz	0,85 <sup>A</sup>	1,00	0,01	0,10	<b>0,49<sup>A</sup></b>			
	<b>Átlag (Kor)</b>	<b>0,33<sup>ab</sup></b>	<b>0,52<sup>a</sup></b>	<b>0,05<sup>b</sup></b>	<b>0,11<sup>b</sup></b>			<b>0,001</b>	
Patescibacteria	K	0,00	0,02	0,00	0,23	<b>0,06</b>	0,370		0,600
	B	0,00	0,02	0,00	0,03	<b>0,02</b>			
	Br	0,00	0,11	0,04	0,10	<b>0,06</b>			
	Sz	0,00	0,35	0,00	0,25	<b>0,15</b>			
	<b>Átlag (Kor)</b>	0,00	0,13	0,01	0,16			0,100	
Verrucomicrobia	K	0,00	0,00	0,33	0,01	<b>0,09</b>	0,760		0,910
	B	0,00	0,00	0,04	0,01	<b>0,01</b>			
	Br	0,00	0,00	0,36	0,01	<b>0,09</b>			
	Sz	0,00	0,01	0,19	0,00	<b>0,05</b>			
	<b>Átlag (Kor)</b>	<b>0,00<sup>b</sup></b>	<b>0,00<sup>b</sup></b>	<b>0,23<sup>a</sup></b>	<b>0,01<sup>b</sup></b>			<b>0,037</b>	
Tenericutes	K	0,00	0,04	0,16	0,01	<b>0,05</b>	0,640		0,870
	B	0,01	0,05	0,03	0,00	<b>0,02</b>			
	Br	0,00	0,04	0,05	0,01	<b>0,03</b>			
	Sz	0,00	0,07	0,02	0,00	<b>0,02</b>			
	<b>Átlag (Kor)</b>	<b>0,00</b>	<b>0,06</b>	<b>0,07</b>	<b>0,00</b>			0,130	
Deinococcus_Thermus	K	0,00	0,00	0,04	0,00	<b>0,01</b>	0,640		0,550
	B	0,00	0,00	0,00	0,00	<b>0,00</b>			
	Br	0,00	0,00	0,00	0,00	<b>0,00</b>			

Törzs	IM (%)					FDR <i>p</i> -érték			
	T	Kor				Átlag (T)	T	Kor	T x Kor
		7 nap	14 nap	21 nap	40 nap				
Chloroflexi	Sz	0,00	0,00	0,01	0,01	<b>0,01</b>	0,760	0,420	0,470
	Átlag (Kor)	0,00	0,00	0,01	0,00				
	K	0,00	0,01	0,00	0,00	<b>0,00</b>			
	B	0,00	0,00	0,00	0,00	<b>0,00</b>			
	Br	0,01	0,00	0,00	0,00	<b>0,00</b>			
Sz	0,00	0,00	0,00	0,00	<b>0,00</b>		0,220		
Átlag (Kor)	0,00	0,00	0,00	0,00					

**M6. táblázat. A vakbél béli tartalom mikrobióta relatív gyakorisága törzs szinten.**

Törzs	CC (%)					FDR <i>p</i> -érték			
	T	Kor				Átlag (T)	T	Kor	T x Kor
		7 nap	14 nap	21 nap	40 nap				
Firmicutes	K	88,60	86,21	83,19	85,66	<b>85,92</b>	0,970	0,600	0,600
	B	90,17	88,40	75,87	84,18	<b>84,65</b>			
	Br	90,19	84,49	80,66	86,13	<b>85,37</b>			
	Sz	86,47	87,25	77,98	87,05	<b>84,69</b>			
	Átlag (Kor)	<b>88,86<sup>a</sup></b>	<b>86,59<sup>a</sup></b>	<b>79,42<sup>b</sup></b>	<b>85,76<sup>a</sup></b>				
Proteobacteria	K	5,50	1,65	0,59	1,02	<b>2,19</b>	0,970	0,950	0,950
	B	8,77	3,57	0,41	1,03	<b>3,45</b>			
	Br	8,22	3,88	0,46	0,87	<b>3,36</b>			
	Sz	10,22	1,96	0,73	1,05	<b>3,49</b>			
	Átlag (Kor)	<b>8,18<sup>a</sup></b>	<b>2,76<sup>b</sup></b>	<b>0,55<sup>b</sup></b>	<b>0,99<sup>b</sup></b>				
Bacteroidetes	K	0,01	9,61	13,02	11,82	<b>8,62</b>	0,970	0,260	0,260
	B	0,03	4,02	19,13	11,36	<b>8,63</b>			
	Br	0,06	7,10	15,29	11,26	<b>8,43</b>			
	Sz	0,00	8,62	17,60	9,92	<b>9,04</b>			
	Átlag (Kor)	<b>0,03<sup>c</sup></b>	<b>7,34<sup>b</sup></b>	<b>16,26<sup>a</sup></b>	<b>11,09<sup>b</sup></b>				
Tenericutes	K	5,86	2,01	0,34	0,33	<b>2,14</b>	0,940	0,025	0,025
	B	0,98	3,53	0,61	0,51	<b>1,41</b>			
	Br	1,49	2,53	0,62	0,33	<b>1,24</b>			
	Sz	3,29	1,92	0,46	0,28	<b>1,49</b>			
	Átlag (Kor)	<b>2,90<sup>a</sup></b>	<b>2,50<sup>ab</sup></b>	<b>0,50<sup>b</sup></b>	<b>0,36<sup>b</sup></b>				
Cyanobacteria	K	0,00	0,45	0,18	0,59	<b>0,31</b>	0,940	0,280	0,280
	B	0,00	0,44	0,46	0,90	<b>0,45</b>			
	Br	0,00	1,93	0,08	0,56	<b>0,64</b>			
	Sz	0,00	0,18	0,20	0,67	<b>0,26</b>			
	Átlag (Kor)	<b>0,00<sup>b</sup></b>	<b>0,85<sup>a</sup></b>	<b>0,15<sup>ab</sup></b>	<b>0,61<sup>ab</sup></b>				
Actinobacteria	K	0,03	0,07	0,10	0,07	<b>0,07</b>	0,940	0,110	0,110
	B	0,05	0,04	0,06	1,37	<b>0,38</b>			
	Br	0,03	0,05	0,11	0,07	<b>0,07</b>			
	Sz	0,03	0,04	0,15	0,19	<b>0,10</b>			
	Átlag (Kor)	0,04	0,05	0,10	0,41				
Verrucomicrobia	K	0,00	0,00	2,59	0,49	<b>0,77</b>	0,970		1,000



Törzs	CC (%)					FDR <i>p</i> -érték			
	T	Kor				Átlag (T)	T	Kor	T x Kor
		7 nap	14 nap	21 nap	40 nap				
	B	0,00	0,01	3,45	0,64	<b>1,03</b>			
	Br	0,00	0,01	2,78	0,77	<b>0,89</b>			
	Sz	0,00	0,04	2,89	0,82	<b>0,94</b>			
	<b>Átlag (Kor)</b>	<b>0,00<sup>b</sup></b>	<b>0,01<sup>b</sup></b>	<b>2,92<sup>a</sup></b>	<b>0,68<sup>b</sup></b>			<b>0,001</b>	
Patiscibacteria	K	0,00	0,00	0,00	0,02	<b>0,01</b>	0,940		0,460
	B	0,00	0,00	0,00	0,01	<b>0,00</b>			
	Br	0,00	0,00	0,00	0,01	<b>0,00</b>			
	Sz	0,00	0,00	0,00	0,02	<b>0,01</b>			
	<b>Átlag (Kor)</b>	<b>0,00<sup>b</sup></b>	<b>0,00<sup>b</sup></b>	<b>0,00<sup>b</sup></b>	<b>0,01<sup>a</sup></b>				
Lentisphaerae	K	0,00	0,00	0,00	0,00 <sup>B</sup>	<b>0,00<sup>B</sup></b>	<b>0,002</b>		<b>0,001</b>
	B	0,00	0,00	0,00	0,01 <sup>A</sup>	<b>0,002<sup>A</sup></b>			
	Br	0,00	0,00	0,00	0,00 <sup>B</sup>	<b>0,00<sup>B</sup></b>			
	Sz	0,00	0,00	0,00	0,00 <sup>B</sup>	<b>0,00<sup>B</sup></b>			
	<b>Átlag (Kor)</b>	<b>0,00<sup>b</sup></b>	<b>0,00<sup>b</sup></b>	<b>0,00<sup>b</sup></b>	<b>0,002<sup>a</sup></b>				

(K) kontroll kezelés, (Br) Broilact kezelés, (B) búzás kezelés, (Sz) szimbiotikum kezelés T: takarmánykezelés; K: madarak kora (7, 14, 21, 40 nap); T x K: kölcsönhatás; Az <sup>a,b</sup> jelzések kor hatására bekövetkező átlagok közötti szignifikáns különbséget jelölik ( $p < 0,05$ ). Az <sup>A,B</sup> jelzések a takarmánykezelések hatására bekövetkező átlagok közötti szignifikáns különbséget jelölik ( $p < 0,05$ ). A statisztikailag szignifikáns értékek félkövér betűvel vannak szedve. A táblázat csak azokat a családokat tartalmazza, amelyeknél a relatív gyakoriság csoportátlaga 1%-nál magasabb volt.

M7. táblázat. Az csípőbél béltartalom mikrobióta relatív gyakorisága nemzetség szinten.

Nemzetség	IC (%)					FDR <i>p</i> -érték			
	T	Kor				Átlag (T)	T	Kor	T x Kor
		7 nap	14 nap	21 nap	40 nap				
<i>Lactobacillus</i>	K	79,43 <sup>A</sup>	61,30	63,68	60,68	<b>66,27</b>	0,746		0,548
	B	67,58 <sup>AB</sup>	60,32	78,17	80,18	<b>71,56</b>			
	Br	49,84 <sup>B</sup>	45,53	69,02	76,02	<b>60,10</b>			
	Sz	75,19 <sup>AB</sup>	56,34	51,58	67,25	<b>62,59</b>			
	<b>Átlag (Kor)</b>	<b>68,00<sup>a</sup></b>	<b>55,87<sup>b</sup></b>	<b>65,61<sup>ab</sup></b>	<b>71,03<sup>a</sup></b>				
<i>Enterococcus</i>	K	1,74 <sup>B</sup>	0,47	1,42	1,14	<b>1,19</b>	0,746		0,460
	B	7,34 <sup>AB</sup>	0,29	0,88	0,65	<b>2,29</b>			
	Br	18,17 <sup>A</sup>	0,32	1,88	0,91	<b>5,32</b>			
	Sz	13,76 <sup>AB</sup>	1,69	2,19	1,74	<b>4,84</b>			
	<b>Átlag (Kor)</b>	<b>10,25<sup>a</sup></b>	<b>0,69<sup>b</sup></b>	<b>1,59<sup>b</sup></b>	<b>1,11<sup>b</sup></b>				
<i>Escherichia-Shigella</i>	K	0,80	1,49	0,58 <sup>A</sup>	0,17	<b>0,76</b>	0,376		0,551
	B	1,22	2,03	0,29 <sup>AB</sup>	0,11	<b>0,91</b>			
	Br	9,44	16,66	0,06 <sup>B</sup>	0,16	<b>6,58</b>			
	Sz	0,07	1,55	0,13 <sup>AB</sup>	0,30	<b>0,51</b>			
	<b>Átlag (Kor)</b>	<b>2,89<sup>ab</sup></b>	<b>5,43<sup>a</sup></b>	<b>0,26<sup>b</sup></b>	<b>0,18<sup>b</sup></b>				
<i>Subdoligranulum</i>	K	3,19	0,14	0,07	0,01	<b>0,85</b>	0,768		0,875
	B	0,21	0,35	0,04	0,01	<b>0,15</b>			
	Br	2,48	0,23	0,03	0,01	<b>0,69</b>			
	Sz	0,11	0,31	0,14	0,06	<b>0,15</b>			
	<b>Átlag (Kor)</b>	<b>1,50</b>	<b>0,26</b>	<b>0,07</b>	<b>0,02</b>				

Nemzettség	IC (%)						FDR <i>p</i> -érték		
	T	Kor				Átlag (T)	T	Kor	T x Kor
		7 nap	14 nap	21 nap	40 nap				
<i>Streptococcus</i>	K	1,71	3,65	2,90	11,95	<b>5,05</b>	0,746	0,959	
	B	0,84	0,28	1,41	6,66	<b>2,30</b>			
	Br	1,26	0,80	2,68	6,39	<b>2,78</b>			
	Sz	0,16	1,54	2,96	7,24	<b>2,97</b>			
	<b>Átlag (Kor)</b>	<b>0,99<sup>b</sup></b>	<b>1,57<sup>b</sup></b>	<b>2,49<sup>b</sup></b>	<b>8,06<sup>a</sup></b>				<b>0,000</b>
<i>Clostridium sensu stricto 1</i>	K	0,44	0,31	6,11	0,29	<b>1,79</b>	0,746	0,805	
	B	1,11	0,37	1,99	0,24	<b>0,92</b>			
	Br	0,14	0,08	5,30	0,35	<b>1,47</b>			
	Sz	0,34	0,30	5,50	0,10	<b>1,56</b>			
	<b>Átlag (Kor)</b>	<b>0,50<sup>b</sup></b>	<b>0,26<sup>b</sup></b>	<b>4,72<sup>a</sup></b>	<b>0,24<sup>b</sup></b>				<b>0,000</b>
<i>Corynebacterium 1</i>	K	0,09	0,25	8,08	4,49	<b>3,23</b>	0,746	0,844	
	B	0,11	0,04	1,97	1,77	<b>0,97</b>			
	Br	0,05	0,11	5,63	3,22	<b>2,25</b>			
	Sz	0,56	0,07	3,49	2,01	<b>1,53</b>			
	<b>Átlag (Kor)</b>	<b>0,20<sup>b</sup></b>	<b>0,12<sup>b</sup></b>	<b>4,79<sup>a</sup></b>	<b>2,87<sup>c</sup></b>				<b>0,000</b>
<i>Candidatus-Arthromitus</i>	K	0,09	11,12	0,13	0,97	<b>3,08</b>	0,746	0,805	
	B	0,24	7,22	0,83	0,66	<b>2,24</b>			
	Br	0,47	0,58	0,58	0,09	<b>0,43</b>			
	Sz	0,11	0,99	0,14	0,01	<b>0,31</b>			
	<b>Átlag (Kor)</b>	<b>0,23<sup>b</sup></b>	<b>4,98<sup>a</sup></b>	<b>0,42<sup>b</sup></b>	<b>0,43<sup>b</sup></b>				<b>0,031</b>
<i>Staphylococcus</i>	K	0,07	0,54	7,31	1,25	<b>2,29</b>	0,935	0,987	
	B	0,11	0,11	5,74	0,63	<b>1,65</b>			
	Br	0,04	0,71	5,24	1,60	<b>1,90</b>			
	Sz	0,20	0,19	7,75	0,70	<b>2,21</b>			
	<b>Átlag (Kor)</b>	<b>0,11<sup>b</sup></b>	<b>0,38<sup>b</sup></b>	<b>6,51<sup>a</sup></b>	<b>1,05<sup>b</sup></b>				<b>0,000</b>
<i>Butyricicoccus</i>	K	0,04	0,96	0,10	0,00	<b>0,28</b>	0,746	0,883	
	B	0,07	0,30	0,05	0,01	<b>0,11</b>			
	Br	0,27	1,56	0,07	0,00	<b>0,48</b>			
	Sz	0,16	0,49	0,01	0,00	<b>0,17</b>			
	<b>Átlag (Kor)</b>	<b>0,14<sup>b</sup></b>	<b>0,83<sup>a</sup></b>	<b>0,06<sup>b</sup></b>	<b>0,00<sup>b</sup></b>				<b>0,005</b>
<i>Weissella</i>	K	0,02	0,20	3,03	0,57	<b>0,95</b>	0,746	0,830	
	B	0,08	0,11	0,98	0,13	<b>0,32</b>			
	Br	0,05	0,29	1,74	0,23	<b>0,58</b>			
	Sz	0,40	0,28	0,63	0,11	<b>0,36</b>			
	<b>Átlag (Kor)</b>	<b>0,14<sup>b</sup></b>	<b>0,22<sup>b</sup></b>	<b>1,59<sup>a</sup></b>	<b>0,26<sup>b</sup></b>				<b>0,002</b>
<i>Romboutsia</i>	K	0,02	3,30	1,85	3,06	<b>2,06</b>	0,892	0,883	
	B	0,01	1,74	0,65	3,18	<b>1,40</b>			
	Br	0,01	2,18	0,24	7,76	<b>2,55</b>			
	Sz	0,11	0,86	0,78	6,41	<b>2,04</b>			
	<b>Átlag (Kor)</b>	<b>0,04<sup>b</sup></b>	<b>2,02<sup>b</sup></b>	<b>0,88<sup>b</sup></b>	<b>5,10<sup>a</sup></b>				<b>0,002</b>
<i>Turicibacter</i>	K	0,00	0,90	0,54	2,01	<b>0,86</b>	0,746	0,805	
	B	0,00	0,02	0,11	1,98	<b>0,53</b>			
	Br	0,00	0,01	0,15	6,38	<b>1,64</b>			
	Sz	0,00	0,02	0,12	3,37	<b>0,88</b>			
	<b>Átlag (Kor)</b>	<b>0,00<sup>b</sup></b>	<b>0,24<sup>b</sup></b>	<b>0,23<sup>b</sup></b>	<b>3,43<sup>a</sup></b>				<b>0,000</b>
<i>Lactococcus</i>	K	0,00	3,17	3,54	0,55	<b>1,82</b>	0,746	0,643	
	B	0,00	1,03	2,03	0,28	<b>0,83</b>			
	Br	0,00	0,59	6,03	0,93	<b>1,89</b>			
	Sz	0,00	3,66	3,26	0,45	<b>1,84</b>			
	<b>Átlag (Kor)</b>	<b>0,00<sup>b</sup></b>	<b>2,11<sup>a</sup></b>	<b>3,71<sup>a</sup></b>	<b>0,55<sup>b</sup></b>				<b>0,000</b>
<i>Leuconostoc</i>	K	0,00	0,01	1,50	0,16	<b>0,42</b>	0,746	0,303	
	B	0,00	0,07	0,46	0,08	<b>0,15</b>			
	Br	0,00	0,00	0,89	0,52	<b>0,35</b>			
	Sz	0,00	0,00	1,06	0,37	<b>0,36</b>			
	<b>Átlag (Kor)</b>	<b>0,00<sup>b</sup></b>	<b>0,02<sup>b</sup></b>	<b>1,98<sup>a</sup></b>	<b>0,28<sup>b</sup></b>				<b>0,000</b>

Nemzetség	IC (%)						FDR <i>p</i> -érték		
	T	Kor				Átlag (T)	T	Kor	T x Kor
		7 nap	14 nap	21 nap	40 nap				
<i>Bacillus</i>	K	0,01 <sup>B</sup>	0,03	0,02	0,002 <sup>B</sup>	<b>0,01<sup>B</sup></b>	<b>0,000</b>		0,805
	B	0,01 <sup>B</sup>	0,01	0,00	0,000 <sup>B</sup>	<b>0,01<sup>B</sup></b>			
	Br	0,01 <sup>B</sup>	0,05	0,01	0,002 <sup>B</sup>	<b>0,02<sup>B</sup></b>			
	Sz	0,12 <sup>A</sup>	0,20	0,28	0,043 <sup>A</sup>	<b>0,16<sup>A</sup></b>			
	Átlag (Kor)	<b>4,67</b>	<b>9,33</b>	<b>10,33</b>	<b>1,57</b>				
<i>Ruminococcaceae</i> UCG-014	K	0,23	1,12	0,25	0,01	<b>0,48</b>	0,746		0,915
	B	0,04	0,40	0,09	0,01	<b>0,14</b>			
	Br	0,09	1,04	0,80	0,01	<b>0,40</b>			
	Sz	1,08	1,45	0,57	0,02	<b>0,78</b>			
	Átlag (Kor)	<b>0,36<sup>ab</sup></b>	<b>1,00<sup>a</sup></b>	<b>0,42<sup>ab</sup></b>	<b>0,01<sup>b</sup></b>				

M8 táblázat. Az csipőbél nyálkahártya mikrobióta relatív gyakorisága nemzetség szinten.

Nemzetség	IM (%)						FDR <i>p</i> -érték		
	T	Kor				Átlag (T)	T	Kor	T x Kor
		7 nap	14 nap	21 nap	40 nap				
<i>Candidatus</i> <i>Arthromitus</i>	K	83,76	82,20	70,15	3,51	<b>59,90</b>	0,747		0,645
	B	65,24	78,14	83,70	13,17	<b>60,06</b>			
	Br	72,26	78,03	51,15	3,93	<b>51,34</b>			
	Sz	42,19	72,73	84,89	11,62	<b>52,86</b>			
	Átlag (Kor)	<b>65,86<sup>a</sup></b>	<b>77,77<sup>a</sup></b>	<b>72,47<sup>a</sup></b>	<b>8,05<sup>b</sup></b>				
<i>Lactobacillus</i>	K	6,48	3,94	11,91 <sup>AB</sup>	41,35	<b>15,92</b>	0,747		0,645
	B	7,34	4,80	9,61 <sup>AB</sup>	55,92	<b>19,41</b>			
	Br	6,00	5,93	22,64 <sup>A</sup>	64,41	<b>24,74</b>			
	Sz	16,25	9,96	3,90 <sup>B</sup>	47,03	<b>19,28</b>			
	Átlag (Kor)	<b>9,58<sup>b</sup></b>	<b>6,61<sup>b</sup></b>	<b>12,82<sup>b</sup></b>	<b>50,93<sup>a</sup></b>				
<i>Enterococcus</i>	K	6,47	0,05	0,45	3,37	<b>2,58</b>	0,747		0,939
	B	0,48	0,08	0,10	0,80	<b>0,37</b>			
	Br	3,86	0,06	1,51	1,13	<b>1,64</b>			
	Sz	11,95	0,79	0,25	3,61	<b>4,15</b>			
	Átlag (Kor)	<b>5,69</b>	<b>0,24</b>	<b>0,58</b>	<b>2,23</b>				
<i>Delftia</i>	K	0,35	0,01	0,15	0,01	<b>0,13</b>	0,747		0,645
	B	0,69	0,01	0,02	0,01	<b>0,18</b>			
	Br	1,08	0,00	0,06	0,00	<b>0,29</b>			
	Sz	2,46	0,00	0,07	0,00	<b>0,63</b>			
	Átlag (Kor)	<b>1,15<sup>a</sup></b>	<b>0,00<sup>b</sup></b>	<b>0,08<sup>b</sup></b>	<b>0,00<sup>b</sup></b>				
<i>Romboutsia</i>	K	0,05	1,32	0,80	10,33	<b>0,04</b>	0,747		0,893
	B	0,02	0,77	0,18	4,38	<b>1,34</b>			
	Br	0,13	1,84	0,91	9,71	<b>0,11</b>			
	Sz	1,27	0,81	0,47	10,84	<b>0,25</b>			
	Átlag (Kor)	<b>0,37<sup>b</sup></b>	<b>1,19<sup>b</sup></b>	<b>0,59<sup>b</sup></b>	<b>8,81<sup>a</sup></b>				
<i>Pseudomonas</i>	K	0,06	1,98	3,46	0,16	<b>3,12</b>	0,747		0,627
	B	0,31	1,34	0,83	0,32	<b>0,70</b>			
	Br	0,25	3,32	1,60	0,10	<b>3,15</b>			
	Sz	0,69	3,11	1,32	0,09	<b>3,35</b>			
	Átlag (Kor)	<b>0,33<sup>b</sup></b>	<b>2,44<sup>a</sup></b>	<b>1,80<sup>a</sup></b>	<b>0,17<sup>b</sup></b>				
<i>Streptococcus</i>	K	0,17	0,19	0,78	14,30	<b>1,41</b>	0,747		0,772
	B	0,06	0,08	0,27	7,00	<b>1,85</b>			
	Br	0,20	0,24	1,20	6,55	<b>1,32</b>			
	Sz	0,19	0,59	0,44	5,26	<b>1,30</b>			
	Átlag (Kor)	<b>0,15<sup>b</sup></b>	<b>0,28<sup>b</sup></b>	<b>0,67<sup>b</sup></b>	<b>8,28<sup>a</sup></b>				

Nemzetség	IM (%)						FDR p-érték		
	T	Kor				Átlag (T)	T	Kor	T x Kor
		7 nap	14 nap	21 nap	40 nap				
<i>Turicibacter</i>	K	0,01	0,00	0,81	10,88	<b>3,86</b>	0,747		0,939
	B	0,00	0,01	0,12	7,46	<b>1,90</b>			
	Br	0,00	0,00	0,05	5,97	<b>2,05</b>			
	Sz	0,01	0,12	0,17	9,30	<b>1,62</b>			
	Átlag (Kor)	<b>0,01<sup>b</sup></b>	<b>0,03<sup>b</sup></b>	<b>0,29<sup>b</sup></b>	<b>8,40<sup>a</sup></b>				
<i>Lysinibacillus</i>	K	0,001	0,001	0,441	0,003	<b>0,011</b>	0,359		0,010
	B	0,000	0,000	0,950	0,002	<b>0,024</b>			
	Br	0,001	0,001	0,139	0,001	<b>0,035</b>			
	Sz	0,005	0,001	0,137	0,001	<b>0,036</b>			
	Átlag (Kor)	<b>0,001<sup>b</sup></b>	<b>0,001<sup>b</sup></b>	<b>0,203<sup>a</sup></b>	<b>0,002<sup>a</sup></b>				
<i>Ruminococcaceae</i> <i>UCG-008</i>	K	0,001	0,001	0,001	0,024 <sup>B</sup>	<b>0,006<sup>B</sup></b>	<b>0,000</b>		<b>0,000</b>
	B	0,000	0,000	0,000	0,008 <sup>B</sup>	<b>0,002<sup>B</sup></b>			
	Br	0,001	0,001	0,002	0,089 <sup>A</sup>	<b>0,023<sup>A</sup></b>			
	Sz	0,001	0,001	0,001	0,009 <sup>B</sup>	<b>0,002<sup>B</sup></b>			
	Átlag (Kor)	<b>0,001<sup>b</sup></b>	<b>0,001<sup>b</sup></b>	<b>0,001<sup>b</sup></b>	<b>0,041<sup>a</sup></b>				
<i>Bacillus</i>	K	0,061	0,154	0,166	0,008	<b>0,097</b>	0,747		0,832
	B	0,154	0,114	0,062	0,024	<b>0,089</b>			
	Br	0,085	0,064	0,136	0,042	<b>0,082</b>			
	Sz	0,243	0,210	0,094	0,012	<b>0,140</b>			
	Átlag (Kor)	<b>0,136<sup>b</sup></b>	<b>0,136<sup>b</sup></b>	<b>0,115<sup>b</sup></b>	<b>0,021<sup>a</sup></b>				

M9 táblázat. A vakbél béli tartalom mikrobióta relatív gyakorisága nemzetség szinten.

Nemzetség	CC (%)						FDR p-érték		
	T	Kor				Átlag (T)	T	Kor	T x Kor
		7 nap	14 nap	21 nap	40 nap				
<i>Escherichia-Shigella</i>	K	5,46	1,52	0,49	0,16	<b>1,91</b>	0,871		0,999
	B	8,71	3,54	0,27	1,15	<b>3,17</b>			
	Br	8,15	3,62	0,37	0,10	<b>3,06</b>			
	Sz	10,06	1,94	0,59	0,18	<b>3,19</b>			
	Átlag (Kor)	<b>8,09<sup>a</sup></b>	<b>2,66<sup>b</sup></b>	<b>0,43<sup>b</sup></b>	<b>0,15<sup>b</sup></b>				
<i>Subdoligranulum</i>	K	8,69	1,68	1,79	1,12	<b>3,32</b>	0,787		0,881
	B	2,00	1,10	2,65	1,38	<b>1,78</b>			
	Br	10,32	1,23	0,99	0,80	<b>3,33</b>			
	Sz	1,43	0,88	1,56	1,09	<b>1,24</b>			
	Átlag (Kor)	<b>5,61<sup>a</sup></b>	<b>1,22<sup>b</sup></b>	<b>1,75<sup>b</sup></b>	<b>1,10<sup>b</sup></b>				
<i>Butyricicoccus</i>	K	4,85	2,86	2,56	1,31	<b>2,89</b>	0,787		0,881
	B	5,46	2,96	3,35	1,51	<b>3,32</b>			
	Br	5,01	3,50	2,25	0,62	<b>2,84</b>			
	Sz	5,36	7,24	2,94	0,95	<b>4,12</b>			
	Átlag (Kor)	<b>5,17<sup>a</sup></b>	<b>4,14<sup>ab</sup></b>	<b>2,77<sup>bc</sup></b>	<b>1,10<sup>c</sup></b>				
<i>Ruminococcaceae</i> <i>UCG-014</i>	K	3,84	7,01	4,02	5,08	<b>4,98</b>	0,922		0,927
	B	3,57	6,01	3,21	5,65	<b>4,61</b>			
	Br	2,79	4,54	4,98	5,64	<b>4,49</b>			
	Sz	3,49	4,68	4,33	5,39	<b>4,47</b>			
	Átlag (Kor)	<b>3,42<sup>b</sup></b>	<b>5,56<sup>a</sup></b>	<b>4,13<sup>ab</sup></b>	<b>5,44<sup>a</sup></b>				
<i>Anaeroplasma</i>	K	4,89	1,87	0,08	0,06	<b>1,72</b>	0,840		0,581
	B	0,35	3,33	0,43	0,20	<b>1,08</b>			
	Br	1,31	2,37	0,31	0,08	<b>1,02</b>			
	Sz	2,88	1,76	0,08	0,04	<b>1,19</b>			
	Átlag (Kor)	<b>2,36<sup>a</sup></b>	<b>2,33<sup>ab</sup></b>	<b>0,23<sup>b</sup></b>	<b>0,09<sup>b</sup></b>				

Nemzettség	CC (%)						FDR <i>p</i> -érték		
	T	Kor				Átlag (T)	T	Kor	T x Kor
		7 nap	14 nap	21 nap	40 nap				
<i>Ruminococcus torques</i> <i>group</i>	K	2,23	7,99	1,35	1,90	<b>3,36</b>	0,886	0,674	
	B	3,95	2,53	3,34	1,81	<b>2,91</b>			
	Br	3,14	3,19	1,79	1,73	<b>2,46</b>			
	Sz	2,90	5,00	1,88	1,44	<b>2,80</b>			
	<b>Átlag (Kor)</b>	<b>3,05</b> ab	<b>4,68</b> b	<b>2,09</b> b	<b>1,72</b> a				<b>0,004</b>
<i>Lachnoclostridium</i>	K	2,08	1,66	0,82	0,36	<b>1,23</b>	0,899	0,999	
	B	2,98	2,33	0,82	0,30	<b>1,61</b>			
	Br	2,50	1,68	0,53	0,31	<b>1,25</b>			
	Sz	2,16	1,59	0,88	0,29	<b>1,23</b>			
	<b>Átlag (Kor)</b>	<b>2,43</b> a	<b>1,82</b> ab	<b>0,76</b> bc	<b>0,32</b> c				<b>0,000</b>
<i>Faecalibacterium</i>	K	0,72	4,51	11,41	5,93	<b>5,64</b>	0,787	0,567	
	B	0,30	7,18	5,97	8,18	<b>5,40</b>			
	Br	1,53	6,37	13,58	6,79	<b>6,58</b>			
	Sz	3,29	4,64	12,47	5,93	<b>7,07</b>			
	<b>Átlag (Kor)</b>	<b>1,46</b> bc	<b>5,68</b> b	<b>10,86</b> a	<b>6,71</b> bc				<b>0,000</b>
<i>Ruminiclostridium 5</i>	K	1,92	1,76	0,93	0,77	<b>1,34</b> B	<b>0,000</b>	0,124	
	B	4,44	4,10	1,76	1,17	<b>2,87</b> A			
	Br	1,16	1,93	0,91	0,91	<b>1,24</b> B			
	Sz	1,80	1,70	0,80	0,67	<b>1,23</b> B			
	<b>Átlag (Kor)</b>	<b>2,33</b> a	<b>2,37</b> a	<b>1,10</b> b	<b>0,88</b> b				<b>0,000</b>
<i>Anaerotruncus</i>	K	2,12	0,46	0,24	0,08	<b>0,72</b>	0,840	0,999	
	B	2,33	0,48	0,43	0,08	<b>0,83</b>			
	Br	1,00	0,70	0,11	0,10	<b>0,48</b>			
	Sz	1,76	0,64	0,17	0,09	<b>0,66</b>			
	<b>Átlag (Kor)</b>	<b>1,80</b> a	<b>0,57</b> b	<b>0,24</b> b	<b>0,08</b> b				<b>0,000</b>
<i>Negativibacillus</i>	K	1,58	1,69	0,78	0,69	<b>1,18</b>	0,948	0,881	
	B	1,77	2,71	0,56	0,35	<b>1,35</b>			
	Br	1,17	2,79	0,59	0,52	<b>1,27</b>			
	Sz	2,03	2,11	0,76	0,54	<b>1,36</b>			
	<b>Átlag (Kor)</b>	<b>1,64</b> a	<b>2,32</b> a	<b>0,67</b> b	<b>0,52</b> b				<b>0,000</b>
<i>Lactobacillus</i>	K	1,67	3,03	10,95	15,45	<b>7,76</b>	0,821	0,273	
	B	1,33	1,57	10,74	14,76	<b>7,10</b>			
	Br	0,31	0,91	10,87	21,61	<b>8,43</b>			
	Sz	1,74	1,73	8,02	20,85	<b>8,08</b>			
	<b>Átlag (Kor)</b>	<b>1,24</b> b	<b>1,89</b> b	<b>9,95</b> c	<b>19,30</b> a				<b>0,000</b>
<i>Bacillus</i>	K	1,53	0,89	2,07	0,95	<b>1,35</b>	0,787	0,999	
	B	0,61	0,32	1,28	1,63	<b>0,96</b>			
	Br	0,87	0,72	1,28	0,63	<b>0,88</b>			
	Sz	0,82	0,64	1,27	0,85	<b>0,89</b>			
	<b>Átlag (Kor)</b>	<b>0,96</b>	<b>0,64</b>	<b>1,47</b>	<b>1,02</b>				0,111
<i>Oscillibacter</i>	K	0,73	1,66	0,27	0,28	<b>0,73</b>	0,621	0,740	
	B	1,83	2,20	0,36	0,35	<b>1,18</b>			
	Br	0,68	1,01	0,29	0,24	<b>0,55</b>			
	Sz	1,78	1,01	0,39	0,27	<b>0,86</b>			
	<b>Átlag (Kor)</b>	<b>1,25</b> a	<b>1,47</b> a	<b>0,32</b> b	<b>0,29</b> b				<b>0,000</b>
<i>Ruminococcaceae</i> <i>UCG-005</i>	K	1,42	0,75	3,25	3,00	<b>2,11</b>	0,762	0,881	
	B	0,29	0,71	1,28	2,39	<b>1,17</b>			
	Br	0,42	2,65	2,27	3,33	<b>2,17</b>			
	Sz	0,74	1,65	1,65	3,93	<b>0,86</b>			
	<b>Átlag (Kor)</b>	<b>0,72</b> c	<b>1,44</b> bc	<b>2,12</b> ab	<b>3,16</b> a				<b>0,000</b>
<i>GCA 900066575</i>	K	1,20	1,74	0,53	0,34	<b>2,11</b>	0,762	0,881	
	B	3,17	1,88	0,55	0,41	<b>1,50</b>			
	Br	0,55	2,24	0,49	0,24	<b>2,17</b>			
	Sz	0,76	0,76	0,72	0,26	<b>1,99</b>			
	<b>Átlag (Kor)</b>	<b>0,42</b> ab	<b>1,66</b> a	<b>0,57</b> b	<b>0,31</b> b				<b>0,000</b>

Nemzettség	CC (%)						FDR p-érték		
	T	Kor				Átlag (T)	T	Kor	T x Kor
		7 nap	14 nap	21 nap	40 nap				
<i>Erysipelatoclostridium</i>	K	0,94	0,38	1,63	1,79	<b>0,95</b>	0,208		0,369
	B	1,20	0,35	1,13	1,27	<b>0,99</b>			
	Br	0,22	0,27	1,36	0,81	<b>0,88</b>			
	Sz	0,93	0,29	1,66	0,84	<b>0,62</b>			
	<b>Átlag (Kor)</b>	<b>0,83<sup>c</sup></b>	<b>0,32<sup>bc</sup></b>	<b>1,45<sup>a</sup></b>	<b>1,18<sup>ac</sup></b>			<b>0,000</b>	
DTU089	K	1,01	1,47	0,46	0,24	<b>1,19</b>	0,959		0,999
	B	0,51	2,73	0,57	0,31	<b>1,03</b>			
	Br	0,31	2,16	0,64	0,27	<b>0,67</b>			
	Sz	0,40	1,76	0,34	0,27	<b>0,93</b>			
	<b>Átlag (Kor)</b>	<b>0,56<sup>b</sup></b>	<b>2,03<sup>a</sup></b>	<b>0,50<sup>b</sup></b>	<b>0,27<sup>bc</sup></b>			<b>0,002</b>	
<i>Blautia</i>	K	0,41	0,21	1,37	2,08	<b>0,79</b>	0,844		0,999
	B	0,42	0,36	1,75	2,42	<b>1,24</b>			
	Br	0,16	0,18	1,63	1,95	<b>0,84</b>			
	Sz	0,53	0,14	1,41	2,40	<b>0,69</b>			
	<b>Átlag (Kor)</b>	<b>0,38<sup>b</sup></b>	<b>0,22<sup>b</sup></b>	<b>1,54<sup>c</sup></b>	<b>2,21<sup>a</sup></b>			<b>0,000</b>	
CHKCI001	K	0,25	0,19	3,25	2,69	<b>1,02</b>	0,762		0,999
	B	0,11	0,06	1,79	1,94	<b>0,98</b>			
	Br	0,09	0,15	3,98	4,46	<b>0,98</b>			
	Sz	0,04	0,06	3,62	2,52	<b>1,12</b>			
	<b>Átlag (Kor)</b>	<b>0,12<sup>b</sup></b>	<b>0,11<sup>b</sup></b>	<b>3,16<sup>a</sup></b>	<b>2,91<sup>a</sup></b>			<b>0,000</b>	
<i>Christensenellaceae R 7 group</i>	K	0,20	0,15	1,25	1,69	<b>1,60</b>	0,787		0,999
	B	0,48	0,21	0,93	1,28	<b>0,62</b>			
	Br	0,07	0,33	1,06	1,87	<b>2,17</b>			
	Sz	0,06	0,43	1,12	1,77	<b>1,56</b>			
	<b>Átlag (Kor)</b>	<b>0,09<sup>b</sup></b>	<b>0,28<sup>b</sup></b>	<b>1,09<sup>c</sup></b>	<b>1,65<sup>a</sup></b>			<b>0,000</b>	
<i>Romboutsia</i>	K	0,06	0,03	1,65	4,61	<b>1,59</b>	0,762		0,639
	B	0,01	0,04	0,77	3,61	<b>1,11</b>			
	Br	0,02	0,04	1,18	3,80	<b>1,26</b>			
	Sz	0,05	0,06	0,77	5,15	<b>1,51</b>			
	<b>Átlag (Kor)</b>	<b>0,03<sup>b</sup></b>	<b>0,04<sup>b</sup></b>	<b>1,09<sup>c</sup></b>	<b>4,29<sup>a</sup></b>			<b>0,000</b>	
<i>Alistipes</i>	K	0,01	8,90	10,41	5,37	<b>6,17</b>	0,981		0,369
	B	0,03	4,02	14,55	5,04	<b>5,91</b>			
	Br	0,06	7,10	8,52	7,33	<b>5,75</b>			
	Sz	0,00	8,62	8,15	6,61	<b>5,84</b>			
	<b>Átlag (Kor)</b>	<b>0,02<sup>b</sup></b>	<b>7,16<sup>b</sup></b>	<b>10,41<sup>c</sup></b>	<b>6,09<sup>a</sup></b>			<b>0,000</b>	
<i>Turicibacter</i>	K	0,00	0,00	0,22	2,89	<b>0,77</b>	0,821		0,999
	B	0,00	0,01	0,28	2,77	<b>0,76</b>			
	Br	0,00	0,00	0,12	2,26	<b>0,60</b>			
	Sz	0,00	0,01	0,34	3,28	<b>0,91</b>			
	<b>Átlag (Kor)</b>	<b>0,00<sup>b</sup></b>	<b>0,01<sup>b</sup></b>	<b>0,24<sup>b</sup></b>	<b>2,79<sup>a</sup></b>			<b>0,000</b>	
<i>Akkermansia</i>	K	0,00	0,00	2,59	0,49	<b>0,77</b>	0,978		0,999
	B	0,00	0,01	3,45	0,64	<b>1,03</b>			
	Br	0,00	0,01	2,78	0,77	<b>0,89</b>			
	Sz	0,00	0,04	2,89	0,82	<b>0,94</b>			
	<b>Átlag (Kor)</b>	<b>0,00<sup>b</sup></b>	<b>0,01<sup>b</sup></b>	<b>2,93<sup>a</sup></b>	<b>0,68<sup>b</sup></b>			<b>0,000</b>	
<i>Bacteroides</i>	K	0,00	0,71	2,61	6,44	<b>2,44</b>	0,977		0,881
	B	0,00	0,00	4,60	6,32	<b>2,73</b>			
	Br	0,00	0,00	6,77	3,93	<b>2,68</b>			
	Sz	0,00	0,00	9,45	3,31	<b>3,19</b>			
	<b>Átlag (Kor)</b>	<b>0,00<sup>b</sup></b>	<b>0,00<sup>b</sup></b>	<b>6,77<sup>a</sup></b>	<b>3,93<sup>a</sup></b>			<b>0,000</b>	
<i>Ruminococcaceae UCG-008</i>	K	0,00	0,00	0,00	2,08	<b>0,52</b>	0,152		<b>0,002</b>
	B	0,00	0,00	0,00	0,20	<b>0,05</b>			
	Br	0,00	0,02	0,00	2,38	<b>0,60</b>			
	Sz	0,00	0,00	0,00	1,78	<b>0,44</b>			
	<b>Átlag (Kor)</b>	<b>0,00<sup>b</sup></b>	<b>0,00<sup>b</sup></b>	<b>0,00<sup>b</sup></b>	<b>1,61<sup>a</sup></b>			<b>0,000</b>	

Nemzetség	CC (%)						FDR p-érték		
	T	Kor				Átlag (T)	T	Kor	T x Kor
		7 nap	14 nap	21 nap	40 nap				
<i>Candidatus Arthromitus</i>	K	0,45	0,07	0,02	0,00	<b>0,14</b>	0,924		0,999
	B	0,19	0,07	0,02	0,00	<b>0,07</b>			
	Br	0,18	0,08	0,01	0,00	<b>0,07</b>			
	Sz	0,23	0,05	0,00	0,00	<b>0,07</b>			
	<b>Átlag (Kor)</b>	<b>0,26<sup>a</sup></b>	<b>0,07<sup>ab</sup></b>	<b>0,01<sup>ab</sup></b>	<b>0,00<sup>b</sup></b>			<b>0,019</b>	
<i>Coprococcus_1</i>	K	0,00	0,00	0,00	0,00 <sup>B</sup>	<b>0,00<sup>B</sup></b>	<b>0,002</b>		0,000
	B	0,00	0,00	0,00	0,00 <sup>B</sup>	<b>0,00<sup>B</sup></b>			
	Br	0,00	0,00	0,00	0,012 <sup>A</sup>	<b>0,003<sup>A</sup></b>			
	Sz	0,00	0,00	0,00	0,00 <sup>B</sup>	<b>0,00<sup>B</sup></b>			
	<b>Átlag (Kor)</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,003</b>			<b>0,000</b>	

(K) kontroll kezelés, (Br) Broilact kezelés, (B) búzás kezelés, (Sz) szimbiotikum kezelés T: takarmánykezelés; K: madarak kora (7, 14, 21, 40 nap); T x K: kölcsönhatás; Az <sup>a,b</sup> jelzések kor hatására bekövetkező átlagok közötti szignifikáns különbséget jelölik ( $p < 0,05$ ). Az <sup>A,B</sup> jelzések a takarmánykezelések hatására bekövetkező átlagok közötti szignifikáns különbséget jelölik ( $p < 0,05$ ). A statisztikailag szignifikáns értékek félkövér betűvel vannak szedve. A táblázat csak azokat a családokat tartalmazza, amelyeknél a relatív gyakoriság csoportátalaga 1%-nál magasabb volt.

## 11. Köszönetnyilvánítás

Jelen vizsgálatok a Széchenyi 2020 Program keretein belül az Európai Regionális Alap és Magyarország Kormánya támogatásával a GINOP-2.3.2.-15-2016-00054 számú „Festetics Imre Bioinnovációs Kiválósági Központ és Stratégiai K+F+I Projektműhely” című projekt által valósulnak meg.

Köszönettel tartozom munkám során nyújtott segítségéért Dr. Bartos Ádámnak, hogy elindított a tudományos pályámon, Dr. Husvéth Ferencnek, hogy végig támogatott rajta és külön köszönet Dr. Dublecz Károlynak, hogy végig vezetett rajta.

Emellett köszönettel tartozom a Georgikon Takarmányozástani Tanszékén dolgozó összes kollégámnak a munkám során nyújtott támogatásukért. Külön köszönöm Dr. Farkas Valéria és Dr. Molnár Andor mentori segítségét, amiből sokat tanultam. Köszönöm Ábrahám Tamás és Osvald József segítségét az állatkísérletek sikeres lebonyolításában nyújtott segítségükért.

Köszönöm a családom, valamint párom támogatását és türelmét, ami nélkül nem tudtam volna ez a munkát elvégezni.