

# Supplementary Materials: Effects of Selected Prebiotics or Synbiotics Administered *in ovo* on Lymphocyte Subsets in Bursa of Fabricius, Thymus and Spleen in Non-Immunized and Immunized Chicken Broilers

Marianna Szczypka, Agnieszka Suszko-Pawłowska, Maciej Kuczkowski, Michał Gorczykowski, Magdalena Lis, Artur Kowalczyk, Ewa Łukasiewicz, Dominik Poradowski, Iwona Zbyryt, Marek Bednarczyk and Tadeusz Stefaniak

**Table S1.** The percentage (%) of lymphocyte subsets in the bursa of Fabricius of 7-day-old chicken broilers after *in ovo* injection of the investigated prebiotics or synbiotics. The values are presented as mean  $\pm$  S.D.;  $n = 7$ . Data with different superscript letters show significant differences ( $p < 0.05$ ).

Group	Bu-1 <sup>+</sup>	CD3 <sup>+</sup>
CONTROL	98.09 <sup>a</sup> $\pm 0.96$	0.84 <sup>a</sup> $\pm 0.36$
PREBIOTIC 1	98.33 <sup>a</sup> $\pm 1.01$	0.51 <sup>ab</sup> $\pm 0.30$
PREBIOTIC 2	98.79 <sup>a</sup> $\pm 0.51$	0.50 <sup>ab</sup> $\pm 0.13$
SYNBIOTIC 1	98.59 <sup>a</sup> $\pm 0.53$	0.82 <sup>a</sup> $\pm 0.40$
SYNBIOTIC 2	99.08 <sup>a</sup> $\pm 0.25$	0.32 <sup>b</sup> $\pm 0.09$

**Table S2.** The percentage (%) of lymphocyte subsets in the bursa of Fabricius of 21-day-old chicken broilers after *in ovo* injection of the investigated prebiotics or synbiotics. The values are presented as mean  $\pm$  S.D.;  $n = 7$ . Data with different superscript letters show significant differences ( $p < 0.05$ ).

	Group	Bu-1 <sup>+</sup>	CD3 <sup>+</sup>
NON-IMMUNIZED	CONTROL	96.99 <sup>a</sup> $\pm 0.53$	1.27 <sup>a</sup> $\pm 0.27$
	PREBIOTIC 1	93.87 <sup>a</sup> $\pm 6.05$	1.22 <sup>a</sup> $\pm 0.41$
	PREBIOTIC 2	96.67 <sup>a</sup> $\pm 2.22$	1.40 <sup>a</sup> $\pm 0.89$
	SYNBIOTIC 1	95.14 <sup>a</sup> $\pm 1.61$	1.77 <sup>a</sup> $\pm 0.78$
	SYNBIOTIC 2	96.45 <sup>a</sup> $\pm 1.90$	1.14 <sup>a</sup> $\pm 0.36$
SRBC-IMMUNIZED	CONTROL	97.10 <sup>a</sup> $\pm 0.87$	1.34 <sup>a</sup> $\pm 0.82$
	PREBIOTIC 1	90.37 <sup>a</sup> $\pm 8.31$	1.45 <sup>a</sup> $\pm 0.33$
	PREBIOTIC 2	96.46 <sup>a</sup> $\pm 1.34$	1.40 <sup>a</sup> $\pm 0.37$
	SYNBIOTIC 1	94.67 <sup>a</sup> $\pm 2.85$	1.90 <sup>a</sup> $\pm 1.17$
	SYNBIOTIC 2	96.04 <sup>a</sup> $\pm 1.93$	1.28 <sup>a</sup> $\pm 0.39$

DEX-IMMUNIZED	CONTROL	97.32 <sup>a</sup> ± 0.56	1.30 <sup>a</sup> ± 0.55
	PREBIOTIC 1	91.86 <sup>b</sup> ± 5.28	1.41 <sup>a</sup> ± 0.43
	PREBIOTIC 2	94.94 <sup>ab</sup> ± 2.71	1.87 <sup>a</sup> ± 0.85
	SYNBIOTIC 1	97.03 <sup>a</sup> ± 1.25	1.02 <sup>a</sup> ± 0.36
	SYNBIOTIC 2	97.21 <sup>ab</sup> ± 1.89	1.00 <sup>a</sup> ± 0.21

**Table S3.** The total count ( $\times 10^6$ ) of lymphocyte subsets in the bursa of Fabricius of 21-day-old chicken broilers after *in ovo* injection of the investigated prebiotics or synbiotics. The values are presented as mean  $\pm$  S.D.;  $n = 7$ . Data with different superscript letters show significant differences ( $p < 0.05$ ).

	Group	Bu-1 <sup>+</sup>	CD3 <sup>+</sup>
NON-IMMUNIZED	CONTROL	726.19 <sup>a</sup> ± 180.06	9.44 <sup>a</sup> ± 2.95
	PREBIOTIC 1	1041.59 <sup>a</sup> ± 350.64	14.90 <sup>a</sup> ± 11.19
	PREBIOTIC 2	1111.61 <sup>a</sup> ± 302.90	14.39 <sup>a</sup> ± 5.86
	SYNBIOTIC 1	1091.03 <sup>a</sup> ± 292.89	20.30 <sup>a</sup> ± 10.24
	SYNBIOTIC 2	880.21 <sup>a</sup> ± 228.65	10.05 <sup>a</sup> ± 2.60
SRBC-IMMUNIZED	CONTROL	918.94 <sup>a</sup> ± 184.15	13.53 <sup>a</sup> ± 10.05
	PREBIOTIC 1	997.43 <sup>a</sup> ± 257.93	15.39 <sup>a</sup> ± 2.66
	PREBIOTIC 2	1003.55 <sup>a</sup> ± 430.22	13.76 <sup>a</sup> ± 4.75
	SYNBIOTIC 1	1011.77 <sup>a</sup> ± 193.13	22.56 <sup>a</sup> ± 18.60
	SYNBIOTIC 2	1066.20 <sup>a</sup> ± 373.68	15.54 <sup>a</sup> ± 11.45
DEX-IMMUNIZED	CONTROL	1075.55 <sup>a</sup> ± 314.32	14.53 <sup>a</sup> ± 7.59
	PREBIOTIC 1	1081.75 <sup>a</sup> ± 333.10	18.02 <sup>a</sup> ± 9.92
	PREBIOTIC 2	1169.17 <sup>a</sup> ± 384.27	25.61 <sup>a</sup> ± 22.12
	SYNBIOTIC 1	1040.66 <sup>a</sup> ± 356.22	10.56 <sup>a</sup> ± 5.18
	SYNBIOTIC 2	976.69 <sup>a</sup> ± 241.55	10.17 <sup>a</sup> ± 3.41

**Table S4.** The percentage (%) of lymphocyte subsets in the bursa of Fabricius of 35-day-old chicken broilers after *in ovo* injection of the investigated prebiotics or synbiotics. The values are presented as mean  $\pm$  S.D.;  $n = 7$ . Data with different superscript letters show significant differences ( $p < 0.05$ ).

	Group	Bu-1 <sup>+</sup>	CD3 <sup>+</sup>
NON-IMMUNIZED	CONTROL	96.75 <sup>a</sup> $\pm 0.74$	1.01 <sup>a</sup> $\pm 0.39$
	PREBIOTIC 1	96.67 <sup>ab</sup> $\pm 1.00$	1.11 <sup>a</sup> $\pm 0.40$
	PREBIOTIC 2	94.48 <sup>ab</sup> $\pm 1.93$	1.29 <sup>a</sup> $\pm 0.53$
	SYNBIOTIC 1	93.23 <sup>b</sup> $\pm 3.60$	1.48 <sup>a</sup> $\pm 0.55$
	SYNBIOTIC 2	94.27 <sup>ab</sup> $\pm 2.62$	1.71 <sup>a</sup> $\pm 0.70$
SRBC-IMMUNIZED	CONTROL	96.48 <sup>a</sup> $\pm 1.17$	1.22 <sup>ab</sup> $\pm 0.34$
	PREBIOTIC 1	97.15 <sup>a</sup> $\pm 0.53$	0.94 <sup>a</sup> $\pm 0.26$
	PREBIOTIC 2	92.48 <sup>ab</sup> $\pm 1.61$	1.21 <sup>ab</sup> $\pm 0.36$
	SYNBIOTIC 1	86.83 <sup>b</sup> $\pm 7.71$	3.75 <sup>b</sup> $\pm 3.68$
	SYNBIOTIC 2	96.15 <sup>a</sup> $\pm 3.30$	1.06 <sup>a</sup> $\pm 0.49$
DEX-IMMUNIZED	CONTROL	94.97 <sup>a</sup> $\pm 3.49$	1.23 <sup>a</sup> $\pm 0.24$
	PREBIOTIC 1	96.86 <sup>a</sup> $\pm 0.94$	1.31 <sup>a</sup> $\pm 0.65$
	PREBIOTIC 2	90.45 <sup>a</sup> $\pm 3.40$	1.34 <sup>a</sup> $\pm 0.43$
	SYNBIOTIC 1	93.82 <sup>a</sup> $\pm 3.51$	0.95 <sup>a</sup> $\pm 0.29$
	SYNBIOTIC 2	94.55 <sup>a</sup> $\pm 5.52$	1.61 <sup>a</sup> $\pm 0.80$

**Table S5.** The total count ( $\times 10^6$ ) of lymphocyte subsets in the bursa of Fabricius of 35-day-old chicken broilers after *in ovo* injection of the investigated prebiotics or synbiotics. The values are presented as mean  $\pm$  S.D.;  $n = 7$ . Data with different superscript letters show significant differences ( $p < 0.05$ ).

	Group	Bu-1 <sup>+</sup>	CD3 <sup>+</sup>
NON-IMMUNIZED	CONTROL	1903.85 <sup>a</sup> $\pm 806.36$	20.68 <sup>a</sup> $\pm 13.03$
	PREBIOTIC 1	2529.71 <sup>a</sup> $\pm 711.40$	27.97 <sup>a</sup> $\pm 9.57$
	PREBIOTIC 2	4466.72 <sup>a</sup> $\pm 4024.52$	50.62 <sup>a</sup> $\pm 29.06$
	SYNBIOTIC 1	4911.93 <sup>a</sup> $\pm 3996.01$	86.17 <sup>a</sup> $\pm 82.45$
	SYNBIOTIC 2	3659.75 <sup>a</sup> $\pm 2340.16$	54.95 <sup>a</sup> $\pm 23.71$
SRBC-IMMUNIZED	CONTROL	2294.20 <sup>a</sup> $\pm 753.55$	27.68 <sup>a</sup> $\pm 6.97$
	PREBIOTIC 1	3232.92 <sup>a</sup> $\pm 1770.65$	30.74 <sup>a</sup> $\pm 17.65$
	PREBIOTIC 2	5865.91 <sup>a</sup> $\pm 5017.82$	70.86 <sup>ab</sup> $\pm 62.13$
	SYNBIOTIC 1	5166.53 <sup>a</sup> $\pm 3769.91$	148.24 <sup>b</sup> $\pm 91.66$
	SYNBIOTIC 2	3687.07 <sup>a</sup> $\pm 2151.14$	33.57 <sup>a</sup> $\pm 14.59$
DEX-IMMUNIZED	CONTROL	2731.67 <sup>a</sup> $\pm 973.78$	32.47 <sup>a</sup> $\pm 13.33$
	PREBIOTIC 1	4343.64 <sup>a</sup> $\pm 2527.67$	56.62 <sup>a</sup> $\pm 44.43$
	PREBIOTIC 2	3958.61 <sup>a</sup> $\pm 1935.41$	55.98 <sup>a</sup> $\pm 30.67$
	SYNBIOTIC 1	5662.96 <sup>a</sup> $\pm 3996.53$	63.37 <sup>a</sup> $\pm 56.21$
	SYNBIOTIC 2	3544.82 <sup>a</sup> $\pm 1802.13$	57.46 <sup>a</sup> $\pm 25.58$

**Table S6.** The percentage (%) of lymphocyte subsets in the thymus of 21-day-old chicken broilers after *in ovo* injection of the investigated prebiotics or synbiotics. The values are presented as mean  $\pm$  S.D.;  $n = 7$ . Data with different superscript letters show significant differences ( $p < 0.05$ ).

	Group	CD3 <sup>+</sup> TCR $\gamma\delta$ <sup>+</sup>	CD4 <sup>+</sup>	CD4 <sup>+</sup> 8 <sup>+</sup>	CD4 <sup>+</sup>	CD8 <sup>+</sup>	CD4 <sup>+</sup> / CD8 <sup>+</sup>
NON-IMMUNIZED	CONTROL	7.57 <sup>a</sup> $\pm 1.35$	17.48 <sup>a</sup> $\pm 3.12$	72.30 <sup>ab</sup> $\pm 2.58$	4.69 <sup>a</sup> $\pm 1.35$	5.53 <sup>a</sup> $\pm 1.55$	0.95 <sup>a</sup> $\pm 0.51$
	PREBIOTIC 1	10.84 <sup>ab</sup> $\pm 6.01$	15.54 <sup>a</sup> $\pm 4.75$	70.56 <sup>ab</sup> $\pm 5.78$	5.90 <sup>a</sup> $\pm 2.35$	7.99 <sup>b</sup> $\pm 1.33$	0.74 <sup>a</sup> $\pm 0.27$
	PREBIOTIC 2	9.84 <sup>ac</sup> $\pm 3.93$	12.98 <sup>a</sup> $\pm 5.49$	77.54 <sup>a</sup> $\pm 7.57$	3.50 <sup>a</sup> $\pm 0.85$	5.98 <sup>ab</sup> $\pm 1.70$	0.61 <sup>a</sup> $\pm 0.14$
	SYNBIOTIC 1	13.72 <sup>bc</sup> $\pm 4.46$	19.28 <sup>a</sup> $\pm 5.50$	66.21 <sup>b</sup> $\pm 6.13$	5.51 <sup>a</sup> $\pm 1.56$	6.77 <sup>ab</sup> $\pm 1.46$	0.83 <sup>a</sup> $\pm 0.29$
	SYNBIOTIC 2	16.62 <sup>b</sup> $\pm 1.04$	17.92 <sup>a</sup> $\pm 2.19$	70.83 <sup>ab</sup> $\pm 3.14$	5.30 <sup>a</sup> $\pm 0.88$	5.95 <sup>ab</sup> $\pm 0.55$	0.89 <sup>a</sup> $\pm 0.15$
SRBC-IMMUNIZED	CONTROL	8.05 <sup>a</sup> $\pm 2.09$	17.44 <sup>a</sup> $\pm 3.92$	71.60 <sup>a</sup> $\pm 4.47$	4.79 <sup>a</sup> $\pm 1.33$	6.16 <sup>a</sup> $\pm 1.58$	0.82 <sup>a</sup> $\pm 0.27$
	PREBIOTIC 1	7.77 <sup>a</sup> $\pm 3.88$	13.20 <sup>a</sup> $\pm 2.45$	71.47 <sup>a</sup> $\pm 5.24$	5.63 <sup>a</sup> $\pm 1.49$	7.23 <sup>a</sup> $\pm 1.81$	0.73 <sup>a</sup> $\pm 0.26$
	PREBIOTIC 2	12.29 <sup>ab</sup> $\pm 5.24$	13.73 <sup>a</sup> $\pm 5.73$	74.45 <sup>a</sup> $\pm 8.65$	5.57 <sup>a</sup> $\pm 1.93$	6.24 <sup>a</sup> $\pm 1.74$	0.92 <sup>a</sup> $\pm 0.32$
	SYNBIOTIC 1	15.24 <sup>b</sup> $\pm 6.07$	18.80 <sup>a</sup> $\pm 5.88$	67.27 <sup>a</sup> $\pm 7.71$	6.27 <sup>a</sup> $\pm 1.97$	7.65 <sup>a</sup> $\pm 1.61$	0.87 <sup>a</sup> $\pm 0.43$
	SYNBIOTIC 2	15.05 <sup>b</sup> $\pm 2.50$	19.13 <sup>a</sup> $\pm 3.46$	68.16 <sup>a</sup> $\pm 6.59$	6.27 <sup>a</sup> $\pm 3.53$	6.46 <sup>a</sup> $\pm 1.31$	0.95 <sup>a</sup> $\pm 0.46$
DEX-IMMUNIZED	CONTROL	7.27 <sup>a</sup> $\pm 1.42$	16.34 <sup>a</sup> $\pm 2.15$	73.45 <sup>a</sup> $\pm 2.65$	4.68 <sup>a</sup> $\pm 0.48$	5.52 <sup>a</sup> $\pm 1.05$	0.87 <sup>a</sup> $\pm 1.16$
	PREBIOTIC 1	7.09 <sup>a</sup> $\pm 2.66$	16.02 <sup>a</sup> $\pm 4.55$	72.06 <sup>a</sup> $\pm 5.64$	5.00 <sup>a</sup> $\pm 0.71$	6.91 <sup>a</sup> $\pm 1.07$	0.74 <sup>a</sup> $\pm 0.15$
	PREBIOTIC 2	11.11 <sup>ab</sup> $\pm 4.65$	16.34 <sup>a</sup> $\pm 6.36$	72.15 <sup>a</sup> $\pm 10.76$	4.84 <sup>a</sup> $\pm 2.68$	6.66 <sup>a</sup> $\pm 2.47$	0.75 <sup>a</sup> $\pm 0.34$
	SYNBIOTIC 1	14.32 <sup>b</sup> $\pm 4.97$	20.55 <sup>a</sup> $\pm 3.27$	65.08 <sup>a</sup> $\pm 5.97$	7.23 <sup>a</sup> $\pm 2.68$	7.14 <sup>a</sup> $\pm 0.55$	1.02 <sup>a</sup> $\pm 0.36$
	SYNBIOTIC 2	16.51 <sup>b</sup> $\pm 3.07$	20.98 <sup>a</sup> $\pm 6.98$	66.83 <sup>a</sup> $\pm 6.74$	5.97 <sup>a</sup> $\pm 4.43$	6.21 <sup>a</sup> $\pm 1.92$	0.90 <sup>a</sup> $\pm 0.41$

**Table S7.** The total count ( $\times 10^6$ ) of lymphocyte subsets in the thymus of 21-day-old chicken broilers after *in ovo* injection of the investigated prebiotics or synbiotics. The values are presented as mean  $\pm$  S.D.;  $n = 7$ . Data with different superscript letters show significant differences ( $p < 0.05$ ).

	Group	CD3 <sup>+</sup> TCR $\gamma\delta$ <sup>+</sup>	CD4 <sup>+</sup> 8 <sup>+</sup>	CD4 <sup>+</sup> 8 <sup>+</sup>	CD4 <sup>+</sup>	CD8 <sup>+</sup>
NON-IMMUNIZED	CONTROL	127.21 <sup>a</sup> $\pm 43.65$	297.59 <sup>a</sup> $\pm 123.31$	1239.10 <sup>a</sup> $\pm 500.14$	76.80 <sup>a</sup> $\pm 26.65$	95.13 <sup>a</sup> $\pm 47.65$
	PREBIOTIC 1	225.96 <sup>a</sup> $\pm 137.51$	315.04 <sup>a</sup> $\pm 137.83$	1389.73 <sup>a</sup> $\pm 459.07$	111.91 <sup>a</sup> $\pm 38.47$	153.61 <sup>a</sup> $\pm 39.31$
	PREBIOTIC 2	218.96 <sup>a</sup> $\pm 86.08$	285.65 <sup>a</sup> $\pm 103.13$	1782.45 <sup>a</sup> $\pm 580.33$	78.27 <sup>a</sup> $\pm 23.48$	133.67 <sup>a</sup> $\pm 41.33$
	SYNBIOTIC 1	264.68 <sup>a</sup> $\pm 100.16$	370.32 <sup>a</sup> $\pm 48.97$	1341.80 <sup>a</sup> $\pm 381.34$	97.10 <sup>a</sup> $\pm 17.77$	136.38 <sup>a</sup> $\pm 40.38$
	SYNBIOTIC 2	339.87 <sup>a</sup> $\pm 46.08$	370.45 <sup>a</sup> $\pm 38.74$	1504.10 <sup>a</sup> $\pm 367.56$	109.88 <sup>a</sup> $\pm 19.86$	125.20 <sup>a</sup> $\pm 27.45$
SRBC-IMMUNIZED	CONTROL	129.03 <sup>a</sup> $\pm 44.72$	279.84 <sup>a</sup> $\pm 90.17$	1137.07 <sup>a</sup> $\pm 237.14$	76.21 <sup>a</sup> $\pm 25.96$	101.74 <sup>a</sup> $\pm 44.00$
	PREBIOTIC 1	162.33 <sup>a</sup> $\pm 109.30$	256.90 <sup>a</sup> $\pm 60.42$	1401.25 <sup>ab</sup> $\pm 278.59$	117.57 <sup>a</sup> $\pm 45.47$	143.76 <sup>a</sup> $\pm 49.47$
	PREBIOTIC 2	440.96 <sup>a</sup> $\pm 473.66$	659.75 <sup>a</sup> $\pm 772.97$	2909.19 <sup>b</sup> $\pm 1960.89$	268.98 <sup>a</sup> $\pm 316.98$	250.01 <sup>a</sup> $\pm 191.42$
	SYNBIOTIC 1	325.07 <sup>a</sup> $\pm 109.53$	425.14 <sup>a</sup> $\pm 60.62$	1632.15 <sup>ab</sup> $\pm 518.86$	145.02 <sup>a</sup> $\pm 40.37$	181.58 <sup>a</sup> $\pm 53.07$
	SYNBIOTIC 2	306.64 <sup>a</sup> $\pm 66.71$	375.94 <sup>a</sup> $\pm 72.79$	1463.19 <sup>ab</sup> $\pm 493.49$	129.47 <sup>a</sup> $\pm 72.88$	133.83 <sup>a</sup> $\pm 37.31$
DEX-IMMUNIZED	CONTROL	112.35 <sup>a</sup> $\pm 29.23$	252.77 <sup>a</sup> $\pm 68.87$	1121.58 <sup>a</sup> $\pm 174.92$	72.26 <sup>a</sup> $\pm 16.57$	85.37 <sup>a</sup> $\pm 22.39$
	PREBIOTIC 1	160.72 <sup>a</sup> $\pm 100.82$	326.50 <sup>a</sup> $\pm 43.60$	1580.33 <sup>ab</sup> $\pm 517.11$	107.07 <sup>a</sup> $\pm 28.34$	146.66 <sup>ab</sup> $\pm 34.33$
	PREBIOTIC 2	439.49 <sup>a</sup> $\pm 563.14$	710.78 <sup>a</sup> $\pm 753.90$	2773.70 <sup>b</sup> $\pm 1646.37$	219.21 <sup>a</sup> $\pm 267.26$	285.84 <sup>b</sup> $\pm 283.82$
	SYNBIOTIC 1	282.47 <sup>a</sup> $\pm 55.97$	431.44 <sup>a</sup> $\pm 108.07$	1466.96 <sup>ab</sup> $\pm 636.29$	144.47 <sup>a</sup> $\pm 35.75$	155.56 <sup>ab</sup> $\pm 54.13$
	SYNBIOTIC 2	317.82 <sup>a</sup> $\pm 28.81$	383.48 <sup>a</sup> $\pm 95.08$	1276.26 <sup>ab</sup> $\pm 389.07$	108.00 <sup>a</sup> $\pm 72.65$	115.24 <sup>ab</sup> $\pm 31.65$

**Table S8.** The percentage (%) of lymphocyte subsets in the thymus of 35-day-old chicken broilers after *in ovo* injection of the investigated prebiotics or synbiotics. The values are presented as mean  $\pm$  S.D.;  $n = 7$ . Data with different superscript letters show significant differences ( $p < 0.05$ ).

	Group	CD3 <sup>+</sup> TCR $\gamma\delta$ <sup>+</sup>	CD4 <sup>+</sup>	CD4 <sup>+</sup> 8 <sup>+</sup>	CD4 <sup>+</sup>	CD8 <sup>+</sup>	CD4 <sup>+</sup> / CD8 <sup>+</sup>
NON-IMMUNIZED	CONTROL	9.41 <sup>a</sup> $\pm 3.96$	17.06 <sup>a</sup> $\pm 4.12$	71.17 <sup>a</sup> $\pm 4.42$	5.05 <sup>a</sup> $\pm 0.95$	6.72 <sup>a</sup> $\pm 1.12$	0.78 <sup>ab</sup> $\pm 0.22$
	PREBIOTIC 1	6.64 <sup>a</sup> $\pm 0.64$	12.00 <sup>b</sup> $\pm 1.30$	78.08 <sup>b</sup> $\pm 2.76$	5.10 <sup>a</sup> $\pm .19$	4.81 <sup>bc</sup> $\pm 0.93$	1.09 <sup>a</sup> $\pm 0.31$
	PREBIOTIC 2	5.93 <sup>a</sup> $\pm 2.02$	17.63 <sup>a</sup> $\pm 3.31$	73.49 <sup>ab</sup> $\pm 2.84$	4.34 <sup>a</sup> $\pm 1.08$	4.54 <sup>b</sup> $\pm 1.04$	0.95 <sup>ac</sup> $\pm 0.06$
	SYNBIOTIC 1	10.94 <sup>a</sup> $\pm 4.21$	16.34 <sup>ab</sup> $\pm 1.80$	72.67 <sup>ab</sup> $\pm 2.56$	3.77 <sup>a</sup> $\pm 1.13$	7.22 <sup>ac</sup> $\pm 0.76$	0.52 <sup>b</sup> $\pm 0.15$
	SYNBIOTIC 2	10.01 <sup>a</sup> $\pm 4.48$	14.17 <sup>ab</sup> $\pm 3.66$	75.66 <sup>ab</sup> $\pm 5.66$	4.21 <sup>a</sup> $\pm 1.08$	5.97 <sup>ab</sup> $\pm 1.68$	0.73 <sup>bc</sup> $\pm 0.16$
SRBC-IMMUNIZED	CONTROL	7.85 <sup>ab</sup> $\pm 1.31$	21.15 <sup>a</sup> $\pm 4.93$	66.78 <sup>a</sup> $\pm 4.98$	5.64 <sup>a</sup> $\pm 1.29$	6.44 <sup>a</sup> $\pm 0.71$	0.90 <sup>a</sup> $\pm 0.27$
	PREBIOTIC 1	6.12 <sup>a</sup> $\pm 1.41$	10.37 <sup>b</sup> $\pm 2.16$	81.14 <sup>b</sup> $\pm 2.63$	3.44 <sup>a</sup> $\pm 0.69$	5.04 <sup>a</sup> $\pm 1.12$	0.73 <sup>a</sup> $\pm 0.31$
	PREBIOTIC 2	6.85 <sup>ab</sup> $\pm 0.80$	18.25 <sup>a</sup> $\pm 5.57$	71.49 <sup>a</sup> $\pm 7.22$	4.55 <sup>a</sup> $\pm 1.41$	5.38 <sup>a</sup> $\pm 1.78$	0.89 <sup>a</sup> $\pm 0.25$
	SYNBIOTIC 1	11.19 <sup>bc</sup> $\pm 4.84$	16.10 <sup>ab</sup> $\pm 4.88$	71.86 <sup>a</sup> $\pm 7.13$	5.39 <sup>a</sup> $\pm 2.32$	6.64 <sup>a</sup> $\pm 1.34$	0.80 <sup>a</sup> $\pm 0.30$
	SYNBIOTIC 2	12.32 <sup>c</sup> $\pm 3.59$	17.77 <sup>a</sup> $\pm 3.40$	70.38 <sup>a</sup> $\pm 3.63$	4.88 <sup>a</sup> $\pm 0.79$	6.98 <sup>a</sup> $\pm 1.12$	0.71 <sup>a</sup> $\pm 0.15$
DEX-IMMUNIZED	CONTROL	8.11 <sup>ab</sup> $\pm 1.31$	18.22 <sup>a</sup> $\pm 2.75$	70.69 <sup>a</sup> $\pm 2.55$	4.79 <sup>ab</sup> $\pm 1.13$	6.30 <sup>ab</sup> $\pm 1.30$	0.77 <sup>a</sup> $\pm 0.15$
	PREBIOTIC 1	8.56 <sup>ab</sup> $\pm 2.92$	14.75 <sup>a</sup> $\pm 7.16$	76.71 <sup>a</sup> $\pm 8.62$	3.74 <sup>ab</sup> $\pm 0.77$	4.78 <sup>ab</sup> $\pm 1.08$	0.81 <sup>a</sup> $\pm 0.20$
	PREBIOTIC 2	6.76 <sup>a</sup> $\pm 1.32$	20.14 <sup>a</sup> $\pm 4.55$	71.71 <sup>a</sup> $\pm 5.37$	3.64 <sup>a</sup> $\pm 0.52$	4.52 <sup>a</sup> $\pm 1.02$	0.83 <sup>a</sup> $\pm 0.19$
	SYNBIOTIC 1	7.45 <sup>a</sup> $\pm 2.43$	16.40 <sup>a</sup> $\pm 2.20$	75.22 <sup>a</sup> $\pm 2.60$	3.58 <sup>a</sup> $\pm 1.02$	4.80 <sup>ab</sup> $\pm 1.30$	0.83 <sup>a</sup> $\pm 0.44$
	SYNBIOTIC 2	11.53 <sup>b</sup> $\pm 3.69$	16.92 <sup>a</sup> $\pm 5.22$	70.93 <sup>a</sup> $\pm 6.62$	5.22 <sup>b</sup> $\pm 0.31$	6.91 <sup>b</sup> $\pm 1.36$	0.78 <sup>a</sup> $\pm 0.15$

**Table S9.** The total count ( $\times 10^6$ ) of lymphocyte subsets in the thymus of 35-day-old chicken broilers after *in ovo* injection of the investigated prebiotics or synbiotics. The values are presented as mean  $\pm$  S.D.;  $n = 7$ . Data with different superscript letters show significant differences ( $p < 0.05$ ).

	Group	CD3 <sup>+</sup> TCR $\gamma\delta$ <sup>+</sup>	CD4 <sup>+</sup>	CD4 <sup>+</sup> 8 <sup>+</sup>	CD4 <sup>+</sup>	CD8 <sup>+</sup>
NON-IMMUNIZED	CONTROL	351.05 <sup>a</sup> $\pm 116.60$	678.13 <sup>a</sup> $\pm 302.00$	2801.07 <sup>a</sup> $\pm 868.32$	200.42 <sup>a</sup> $\pm 80.83$	268.87 <sup>a</sup> $\pm 98.33$
	PREBIOTIC 1	464.72 <sup>a</sup> $\pm 157.71$	851.26 <sup>a</sup> $\pm 325.65$	5480.81 <sup>a</sup> $\pm 1731.16$	370.91 <sup>a</sup> $\pm 177.56$	331.19 <sup>a</sup> $\pm 118.20$
	PREBIOTIC 2	427.98 <sup>a</sup> $\pm 223.00$	1177.41 <sup>a</sup> $\pm 451.11$	4856.52 <sup>a</sup> $\pm 1545.93$	292.19 <sup>a</sup> $\pm 136.62$	300.66 <sup>a</sup> $\pm 124.08$
	SYNBIOTIC 1	517.23 <sup>a</sup> $\pm 201.25$	874.13 <sup>a</sup> $\pm 334.87$	4055.60 <sup>a</sup> $\pm 1972.60$	219.01 <sup>a</sup> $\pm 152.28$	391.26 <sup>a</sup> $\pm 173.06$
	SYNBIOTIC 2	412.05 <sup>a</sup> $\pm 199.99$	630.79 <sup>a</sup> $\pm 303.70$	3242.42 <sup>a</sup> $\pm 844.35$	183.28 <sup>a</sup> $\pm 75.54$	257.19 <sup>a</sup> $\pm 106.30$
SRBC-IMMUNIZED	CONTROL	384.57 <sup>a</sup> $\pm 228.29$	1007.61 <sup>a</sup> $\pm 637.92$	3114.08 <sup>a</sup> $\pm 1480.70$	259.76 <sup>a</sup> $\pm 137.28$	298.49 <sup>a</sup> $\pm 150.11$
	PREBIOTIC 1	489.31 <sup>a</sup> $\pm 175.85$	844.66 <sup>a</sup> $\pm 326.36$	7077.35 <sup>a</sup> $\pm 3649.37$	296.07 <sup>a</sup> $\pm 145.33$	410.44 <sup>a</sup> $\pm 172.46$
	PREBIOTIC 2	462.15 <sup>a</sup> $\pm 163.89$	1255.81 <sup>a</sup> $\pm 646.71$	4817.20 <sup>a</sup> $\pm 1609.86$	302.56 <sup>a</sup> $\pm 125.02$	359.16 <sup>a</sup> $\pm 161.47$
	SYNBIOTIC 1	851.14 <sup>a</sup> $\pm 587.07$	1272.22 <sup>a</sup> $\pm 1038.57$	4902.02 <sup>a</sup> $\pm 2379.67$	406.65 <sup>a</sup> $\pm 323.49$	472.53 <sup>a</sup> $\pm 291.75$
	SYNBIOTIC 2	623.41 <sup>a</sup> $\pm 273.37$	916.14 <sup>a</sup> $\pm 370.69$	3526.22 <sup>a</sup> $\pm 1016.67$	256.20 <sup>a</sup> $\pm 114.30$	354.87 <sup>a</sup> $\pm 133.17$
DEX-IMMUNIZED	CONTROL	284.23 <sup>a</sup> $\pm 96.87$	674.28 <sup>a</sup> $\pm 199.30$	2605.39 <sup>a</sup> $\pm 544.96$	173.98 <sup>a</sup> $\pm 41.51$	226.48 <sup>a</sup> $\pm 41.71$
	PREBIOTIC 1	856.77 <sup>b</sup> $\pm 758.22$	1339.95 <sup>a</sup> $\pm 887.93$	6833.19 <sup>b</sup> $\pm 3979.88$	346.93 <sup>a</sup> $\pm 231.63$	422.66 <sup>a</sup> $\pm 243.16$
	PREBIOTIC 2	417.85 <sup>ab</sup> $\pm 104.73$	1341.32 <sup>a</sup> $\pm 313.30$	4943.33 <sup>ab</sup> $\pm 1552.18$	247.50 <sup>a</sup> $\pm 67.69$	295.03 <sup>a</sup> $\pm 26.68$
	SYNBIOTIC 1	423.72 <sup>ab</sup> $\pm 180.76$	914.68 <sup>a</sup> $\pm 186.86$	4259.68 <sup>ab</sup> $\pm 1127.00$	205.48 <sup>a</sup> $\pm 89.50$	260.16 <sup>a</sup> $\pm 58.99$
	SYNBIOTIC 2	677.92 <sup>ab</sup> $\pm 290.07$	1076.67 <sup>a</sup> $\pm 551.37$	4485.92 <sup>ab</sup> $\pm 1639.59$	335.15 <sup>a</sup> $\pm 137.23$	445.76 <sup>a</sup> $\pm 223.72$

**Table S10.** The percentage (%) of lymphocyte subsets in the spleen of 7-day-old chicken broilers after *in ovo* injection of the investigated prebiotics or synbiotics. The values are presented as mean  $\pm$  S.D.;  $n = 7$ . Data with different superscript letters show significant differences ( $p < 0.05$ ).

Group	Bu-1 <sup>+</sup>	CD3 <sup>+</sup>	CD3 <sup>+</sup> TCR $\gamma\delta$ <sup>+</sup>	CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup>	CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup>	CD4 <sup>+</sup> / CD8 <sup>+</sup>
CONTROL	10.41 <sup>ab</sup> $\pm 4.99$	79.79 <sup>a</sup> $\pm 3.52$	8.24 <sup>ab</sup> $\pm 1.49$	31.89 <sup>a</sup> $\pm 7.99$	44.94 <sup>a</sup> $\pm 4.02$	0.73 <sup>a</sup> $\pm 0.24$
PREBIOTIC 1	9.44 <sup>a</sup> $\pm 2.32$	75.05 <sup>a</sup> $\pm 4.01$	9.57 <sup>ab</sup> $\pm 2.05$	25.71 <sup>ab</sup> $\pm 5.57$	45.36 <sup>a</sup> $\pm 4.65$	0.58 <sup>a</sup> $\pm 1.19$
PREBIOTIC 2	16.66 <sup>ab</sup> $\pm 6.96$	64.94 <sup>b</sup> $\pm 7.69$	10.24 <sup>a</sup> $\pm 1.79$	23.99 <sup>ab</sup> $\pm 4.38$	39.03 <sup>a</sup> $\pm 6.30$	0.62 <sup>a</sup> $\pm 0.12$
SYNBIOTIC 1	18.74 <sup>b</sup> $\pm 7.86$	59.63 <sup>b</sup> $\pm 6.35$	6.84 <sup>b</sup> $\pm 1.91$	22.32 <sup>b</sup> $\pm 3.10$	38.37 <sup>a</sup> $\pm 9.87$	0.64 <sup>a</sup> $\pm 0.26$
SYNBIOTIC 2	14.62 <sup>ab</sup> $\pm 2.29$	65.99 <sup>b</sup> $\pm 3.34$	8.02 <sup>ab</sup> $\pm 1.70$	27.52 <sup>ab</sup> $\pm 4.98$	37.66 <sup>a</sup> $\pm 5.09$	0.75 <sup>a</sup> $\pm 0.24$

**Table S11.** The total count ( $\times 10^6$ ) of lymphocyte subsets in the spleen of 7-day-old chicken broilers after *in ovo* injection of the investigated prebiotics or synbiotics. The values are presented as mean  $\pm$  S.D.;  $n = 7$ . Data with different superscript letters show significant differences ( $p < 0.05$ ).

Group	CD4 <sup>+</sup> 8 <sup>+</sup>	CD3 <sup>+</sup>	CD3 <sup>+</sup> TCR $\gamma\delta$ <sup>+</sup>	CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup>	CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup>
CONTROL	18.28 <sup>a</sup> $\pm 10.27$	134.89 <sup>a</sup> $\pm 26.33$	13.85 <sup>a</sup> $\pm 3.39$	54.94 <sup>a</sup> $\pm 21.03$	75.70 <sup>a</sup> $\pm 14.80$
PREBIOTIC 1	10.74 <sup>a</sup> $\pm 3.27$	84.87 <sup>b</sup> $\pm 14.26$	11.02 <sup>a</sup> $\pm 3.67$	29.46 <sup>b</sup> $\pm 9.64$	50.93 <sup>b</sup> $\pm 7.42$
PREBIOTIC 2	21.48 <sup>a</sup> $\pm 10.26$	80.95 <sup>b</sup> $\pm 11.90$	12.86 <sup>a</sup> $\pm 3.00$	29.67 <sup>b</sup> $\pm 4.33$	48.83 <sup>b</sup> $\pm 10.38$
SYNBIOTIC 1	21.82 <sup>a</sup> $\pm 8.52$	70.41 <sup>b</sup> $\pm 10.48$	8.10 <sup>a</sup> $\pm 2.56$	26.13 <sup>b</sup> $\pm 3.03$	45.58 <sup>b</sup> $\pm 13.17$
SYNBIOTIC 2	20.53 <sup>a</sup> $\pm 7.67$	93.84 <sup>b</sup> $\pm 33.38$	11.82 <sup>a</sup> $\pm 5.42$	37.63 <sup>a</sup> $\pm 11.68$	55.17 <sup>a</sup> $\pm 23.08$

**Table S12.** The percentage (%) of lymphocyte subsets in the spleen of 21-day-old chicken broilers after *in ovo* injection of the investigated prebiotics or synbiotics. The values are presented as mean  $\pm$  S.D.;  $n = 7$ . Data with different superscript letters show significant differences ( $p < 0.05$ ).

	Group	Bu-1 <sup>+</sup>	CD3 <sup>+</sup>	CD3 <sup>+</sup> TCR $\gamma\delta$ <sup>+</sup>	CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup>	CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup>	CD4 <sup>+</sup> / CD8 <sup>+</sup>
NON-IMMUNIZED	CONTROL	17.07 <sup>a</sup> $\pm 5.12$	72.58 <sup>a</sup> $\pm 6.77$	13.97 <sup>ab</sup> $\pm 2.57$	25.02 <sup>a</sup> $\pm 4.13$	42.99 <sup>ab</sup> $\pm 6.57$	0.59 <sup>a</sup> $\pm 0.08$
	PREBIOTIC 1	23.66 <sup>b</sup> $\pm 3.54$	61.13 <sup>b</sup> $\pm 7.87$	11.41 <sup>a</sup> $\pm 2.94$	26.27 <sup>a</sup> $\pm 4.56$	37.81 <sup>ac</sup> $\pm 2.59$	0.70 <sup>a</sup> $\pm 0.14$
	PREBIOTIC 2	21.25 <sup>ab</sup> $\pm 3.84$	67.39 <sup>ab</sup> $\pm 4.77$	14.06 <sup>ab</sup> $\pm 2.26$	24.58 <sup>a</sup> $\pm 2.54$	44.53 <sup>b</sup> $\pm 3.27$	0.55 <sup>a</sup> $\pm 0.08$
	SYNBIOTIC 1	16.59 <sup>ab</sup> $\pm 0.80$	74.88 <sup>a</sup> $\pm 2.57$	16.98 <sup>b</sup> $\pm 2.28$	30.87 <sup>a</sup> $\pm 3.07$	34.07 <sup>c</sup> $\pm 1.58$	0.90 <sup>a</sup> $\pm 0.07$
	SYNBIOTIC 2	20.85 <sup>ab</sup> $\pm 4.88$	63.96 <sup>ab</sup> $\pm 7.28$	15.40 <sup>ab</sup> $\pm 2.11$	24.46 <sup>a</sup> $\pm 11.79$	34.13 <sup>c</sup> $\pm 4.61$	0.74 <sup>a</sup> $\pm 0.41$
SRBC-IMMUNIZED	CONTROL	24.06 <sup>a</sup> $\pm 5.88$	63.43 <sup>a</sup> $\pm 7.44$	13.70 <sup>a</sup> $\pm 2.51$	20.99 <sup>a</sup> $\pm 3.47$	38.65 <sup>a</sup> $\pm 8.62$	0.56 <sup>a</sup> $\pm 0.15$
	PREBIOTIC 1	19.93 <sup>a</sup> $\pm 2.07$	65.03 <sup>a</sup> $\pm 7.57$	11.83 <sup>a</sup> $\pm 1.87$	26.22 <sup>a</sup> $\pm 4.22$	37.08 <sup>a</sup> $\pm 4.33$	0.71 <sup>a</sup> $\pm 0.16$
	PREBIOTIC 2	20.86 <sup>a</sup> $\pm 5.34$	65.55 <sup>a</sup> $\pm 8.92$	12.59 <sup>a</sup> $\pm 2.59$	25.76 <sup>a</sup> $\pm 7.24$	39.45 <sup>a</sup> $\pm 6.23$	0.67 <sup>a</sup> $\pm 0.23$
	SYNBIOTIC 1	14.87 <sup>a</sup> $\pm 1.20$	75.46 <sup>a</sup> $\pm 1.68$	14.35 <sup>a</sup> $\pm 4.28$	32.30 <sup>a</sup> $\pm 7.97$	38.31 <sup>a</sup> $\pm 9.08$	0.90 <sup>a</sup> $\pm 0.39$
	SYNBIOTIC 2	22.92 <sup>a</sup> $\pm 5.60$	65.92 <sup>a</sup> $\pm 5.17$	13.14 <sup>a</sup> $\pm 3.46$	24.04 <sup>a</sup> $\pm 7.44$	38.18 <sup>a</sup> $\pm 4.53$	0.66 <sup>a</sup> $\pm 0.13$
DEX-IMMUNIZED	CONTROL	23.70 <sup>a</sup> $\pm 7.90$	62.78 <sup>a</sup> $\pm 10.30$	10.16 <sup>a</sup> $\pm 1.17$	20.07 <sup>a</sup> $\pm 6.06$	38.52 <sup>a</sup> $\pm 13.28$	0.62 <sup>a</sup> $\pm 0.29$
	PREBIOTIC 1	17.39 <sup>a</sup> $\pm 4.53$	64.98 <sup>a</sup> $\pm 6.00$	11.64 <sup>a</sup> $\pm 2.84$	23.54 <sup>a</sup> $\pm 3.73$	39.88 <sup>a</sup> $\pm 6.33$	0.60 <sup>a</sup> $\pm 0.14$
	PREBIOTIC 2	18.04 <sup>a</sup> $\pm 4.21$	71.53 <sup>a</sup> $\pm 5.84$	13.31 <sup>ab</sup> $\pm 3.75$	24.36 <sup>a</sup> $\pm 2.35$	43.43 <sup>a</sup> $\pm 6.24$	0.58 <sup>a</sup> $\pm 0.07$
	SYNBIOTIC 1	21.94 <sup>a</sup> $\pm 7.17$	62.97 <sup>a</sup> $\pm 6.95$	17.92 <sup>b</sup> $\pm 2.28$	25.89 <sup>a</sup> $\pm 2.30$	39.64 <sup>a</sup> $\pm 5.82$	0.66 <sup>a</sup> $\pm 0.06$
	SYNBIOTIC 2	21.21 <sup>a</sup> $\pm 5.79$	62.16 <sup>a</sup> $\pm 7.19$	10.56 <sup>a</sup> $\pm 2.65$	24.24 <sup>a</sup> $\pm 4.97$	38.16 <sup>a</sup> $\pm 6.24$	0.66 <sup>a</sup> $\pm 0.22$

**Table S13.** The total count ( $\times 10^6$ ) of lymphocyte subsets in the spleen of 21-day-old chicken broilers after *in ovo* injection of the investigated prebiotics or synbiotics. The values are presented as mean  $\pm$  S.D.;  $n = 7$ . Data with different superscript letters show significant differences ( $p < 0.05$ ).

	Group	Bu-1 <sup>+</sup>	CD3 <sup>+</sup>	CD3 <sup>+</sup> TCR $\gamma\delta$ <sup>+</sup>	CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup>	CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup>
NON-IMMUNIZED	CONTROL	92.58 <sup>a</sup> $\pm 55.05$	367.40 <sup>a</sup> $\pm 105.12$	72.18 <sup>a</sup> $\pm 30.99$	131.42 <sup>a</sup> $\pm 39.75$	214.49 <sup>a</sup> $\pm 49.97$
	PREBIOTIC 1	156.31 <sup>a</sup> $\pm 47.65$	405.62 <sup>a</sup> $\pm 133.83$	70.84 <sup>a</sup> $\pm 9.71$	169.46 <sup>a</sup> $\pm 41.80$	250.28 <sup>ab</sup> $\pm 76.75$
	PREBIOTIC 2	175.15 <sup>a</sup> $\pm 46.12$	553.45 <sup>a</sup> $\pm 87.97$	116.06 <sup>ab</sup> $\pm 28.05$	202.45 <sup>a</sup> $\pm 39.14$	368.21 <sup>b</sup> $\pm 74.11$
	SYNBIOTIC 1	142.62 <sup>a</sup> $\pm 16.76$	644.04 <sup>a</sup> $\pm 76.41$	156.88 <sup>b</sup> $\pm 25.04$	266.30 <sup>a</sup> $\pm 46.152$	293.09 <sup>ab</sup> $\pm 36.86$
	SYNBIOTIC 2	160.06 <sup>a</sup> $\pm 25.98$	502.44 <sup>a</sup> $\pm 104.43$	120.48 <sup>ab</sup> $\pm 25.12$	193.50 <sup>a</sup> $\pm 107.25$	260.70 <sup>ab</sup> $\pm 50.92$
SRBC-IMMUNIZED	CONTROL	175.81 <sup>a</sup> $\pm 74.57$	451.40 <sup>a</sup> $\pm 136.91$	96.93 <sup>a</sup> $\pm 29.94$	146.61 <sup>a</sup> $\pm 36.59$	271.90 <sup>a</sup> $\pm 76.25$
	PREBIOTIC 1	138.46 <sup>a</sup> $\pm 21.30$	455.33 <sup>a</sup> $\pm 91.12$	81.73 <sup>a</sup> $\pm 12.24$	181.29 <sup>a</sup> $\pm 43.22$	259.46 <sup>a</sup> $\pm 53.57$
	PREBIOTIC 2	179.27 <sup>a</sup> $\pm 89.77$	535.81 <sup>a</sup> $\pm 138.50$	105.64 <sup>a</sup> $\pm 42.31$	210.70 <sup>a</sup> $\pm 69.78$	320.71 <sup>a</sup> $\pm 73.46$
	SYNBIOTIC 1	113.58 <sup>a</sup> $\pm 13.59$	579.21 <sup>a</sup> $\pm 58.48$	108.18 <sup>a</sup> $\pm 31.68$	250.81 <sup>a</sup> $\pm 78.28$	290.01 <sup>a</sup> $\pm 44.09$
	SYNBIOTIC 2	185.36 <sup>a</sup> $\pm 59.01$	535.36 <sup>a</sup> $\pm 105.34$	109.61 <sup>a</sup> $\pm 41.37$	203.60 <sup>a</sup> $\pm 91.23$	316.49 <sup>a</sup> $\pm 73.25$
DEX-IMMUNIZED	CONTROL	140.64 <sup>a</sup> $\pm 58.29$	378.35 <sup>a</sup> $\pm 108.56$	61.32 <sup>a</sup> $\pm 17.11$	119.84 <sup>a</sup> $\pm 47.36$	232.27 <sup>a</sup> $\pm 106.27$
	PREBIOTIC 1	179.38 <sup>a</sup> $\pm 64.55$	686.61 <sup>a</sup> $\pm 228.82$	122.94 <sup>b</sup> $\pm 44.48$	234.04 <sup>a</sup> $\pm 112.29$	371.86 <sup>ab</sup> $\pm 120.75$
	PREBIOTIC 2	154.65 <sup>a</sup> $\pm 26.32$	652.17 <sup>a</sup> $\pm 258.42$	116.85 <sup>ab</sup> $\pm 36.71$	219.48 <sup>a</sup> $\pm 74.19$	399.18 <sup>b</sup> $\pm 99.69$
	SYNBIOTIC 1	197.80 <sup>a</sup> $\pm 100.15$	536.78 <sup>a</sup> $\pm 105.70$	147.44 <sup>b</sup> $\pm 42.98$	216.64 <sup>a</sup> $\pm 60.99$	325.47 <sup>ab</sup> $\pm 69.58$
	SYNBIOTIC 2	150.54 <sup>a</sup> $\pm 35.58$	449.62 <sup>a</sup> $\pm 93.72$	77.68 <sup>ab</sup> $\pm 31.30$	172.29 <sup>a</sup> $\pm 49.80$	274.09 <sup>ab</sup> $\pm 79.69$

**Table S14.** The percentage (%) of lymphocyte subsets in the spleen of 35-day-old chicken broilers after *in ovo* injection of the investigated prebiotics or synbiotics. The values are presented as mean  $\pm$  S.D.;  $n = 7$ . Data with different superscript letters show significant differences ( $p < 0.05$ ).

	Group.	Bu-1 <sup>+</sup>	CD3 <sup>+</sup>	CD3 <sup>+</sup> TCR $\gamma\delta$ <sup>+</sup>	CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup>	CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup>	CD4 <sup>+</sup> / CD8 <sup>+</sup>
NON-IMMUNIZED	CONTROL	20.17 <sup>a</sup> $\pm 5.89$	73.25 <sup>a</sup> $\pm 6.81$	12.84 <sup>a</sup> $\pm 2.69$	24.93 <sup>a</sup> $\pm 2.32$	46.61 <sup>a</sup> $\pm 4.77$	0.54 <sup>a</sup> $\pm 0.07$
	PREBIOTIC 1	36.72 <sup>b</sup> $\pm 10.95$	53.54 <sup>b</sup> $\pm 12.12$	14.73 <sup>ab</sup> $\pm 3.30$	20.83 <sup>a</sup> $\pm 6.59$	29.84 <sup>b</sup> $\pm 7.98$	0.72 <sup>ab</sup> $\pm 0.18$
	PREBIOTIC 2	19.32 <sup>a</sup> $\pm 7.50$	70.10 <sup>ac</sup> $\pm 11.88$	15.01 <sup>ab</sup> $\pm 2.55$	28.99 <sup>a</sup> $\pm 4.25$	35.14 <sup>bc</sup> $\pm 7.10$	0.84 <sup>b</sup> $\pm 0.14$
	SYNBIOTIC 1	24.68 <sup>a</sup> $\pm 4.45$	55.60 <sup>bc</sup> $\pm 13.31$	15.52 <sup>ab</sup> $\pm 3.29$	21.49 <sup>a</sup> $\pm 6.79$	34.02 <sup>bc</sup> $\pm 7.96$	0.60 <sup>ab</sup> $\pm 0.11$
	SYNBIOTIC 2	18.36 <sup>a</sup> $\pm 4.06$	72.53 <sup>a</sup> $\pm 5.15$	21.36 <sup>b</sup> $\pm 8.00$	30.05 <sup>a</sup> $\pm 8.31$	41.40 <sup>ac</sup> $\pm 6.54$	0.74 <sup>ab</sup> $\pm 0.27$
SRBC-IMMUNIZED	CONTROL	19.56 <sup>a</sup> $\pm 3.43$	73.60 <sup>a</sup> $\pm 4.96$	13.85 <sup>a</sup> $\pm 1.67$	25.56 <sup>a</sup> $\pm 3.56$	40.89 <sup>a</sup> $\pm 5.28$	0.63 <sup>ab</sup> $\pm 0.09$
	PREBIOTIC 1	22.81 <sup>a</sup> $\pm 6.21$	64.24 <sup>a</sup> $\pm 15.61$	13.01 <sup>a</sup> $\pm 2.38$	26.22 <sup>a</sup> $\pm 8.17$	32.67 <sup>a</sup> $\pm 9.32$	0.81 <sup>a</sup> $\pm 0.17$
	PREBIOTIC 2	22.83 <sup>a</sup> $\pm 5.76$	66.35 <sup>a</sup> $\pm 8.15$	14.37 <sup>a</sup> $\pm 4.49$	25.59 <sup>a</sup> $\pm 3.09$	35.71 <sup>a</sup> $\pm 6.48$	0.74 <sup>ab</sup> $\pm 0.18$
	SYNBIOTIC 1	36.58 <sup>b</sup> $\pm 6.37$	45.19 <sup>b</sup> $\pm 14.59$	15.64 <sup>a</sup> $\pm 3.71$	14.55 <sup>b</sup> $\pm 5.93$	30.56 <sup>a</sup> $\pm 10.45$	0.50 <sup>b</sup> $\pm 0.17$
	SYNBIOTIC 2	21.04 <sup>a</sup> $\pm 3.68$	68.24 <sup>a</sup> $\pm 6.30$	20.65 <sup>a</sup> $\pm 8.84$	26.61 <sup>a</sup> $\pm 5.27$	41.10 <sup>a</sup> $\pm 2.32$	0.65 <sup>ab</sup> $\pm 0.14$
DEX-IMMUNIZED	CONTROL	24.45 $\pm 3.15$	67.88 <sup>a</sup> $\pm 4.55$	12.74 <sup>a</sup> $\pm 2.28$	25.09 <sup>a</sup> $\pm 7.57$	39.67 <sup>ab</sup> $\pm 4.57$	0.64 <sup>a</sup> $\pm 0.21$
	PREBIOTIC 1	25.18 $\pm 7.88$	62.59 <sup>a</sup> $\pm 4.18$	13.66 <sup>a</sup> $\pm 2.66$	25.59 <sup>a</sup> $\pm 10.35$	29.80 <sup>ab</sup> $\pm 8.51$	0.85 <sup>a</sup> $\pm 0.29$
	PREBIOTIC 2	28.41 $\pm 7.57$	57.43 <sup>ab</sup> $\pm 7.15$	14.30 <sup>a</sup> $\pm 3.02$	21.81 <sup>a</sup> $\pm 7.26$	29.14 <sup>a</sup> $\pm 6.25$	0.74 <sup>a</sup> $\pm 0.36$
	SYNBIOTIC 1	24.26 $\pm 7.80$	43.18 <sup>b</sup> $\pm 18.63$	13.61 <sup>a</sup> $\pm 2.69$	20.74 <sup>a</sup> $\pm 7.95$	30.55 <sup>ab</sup> $\pm 12.37$	0.72 <sup>a</sup> $\pm 0.23$
	SYNBIOTIC 2	19.25 $\pm 5.66$	69.16 <sup>a</sup> $\pm 6.71$	27.21 <sup>b</sup> $\pm 11.55$	22.78 <sup>a</sup> $\pm 4.62$	41.73 <sup>b</sup> $\pm 5.59$	0.55 <sup>a</sup> $\pm 0.14$

**Table S15.** The total count ( $\times 10^6$ ) of lymphocyte subsets in the spleen of 35-day-old chicken broilers after *in ovo* injection of the investigated prebiotics or synbiotics. The values are presented as mean  $\pm$  S.D.;  $n = 7$ . Data with different superscript letters show significant differences ( $p < 0.05$ ).

	Title	Bu-1 <sup>+</sup>	CD3 <sup>+</sup>	CD3 <sup>+</sup> TCR $\gamma\delta$ <sup>+</sup>	CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup>	CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup>
NON-IMMUNIZED	CONTROL	672.56 <sup>ab</sup> $\pm 188.23$	2640.87 <sup>a</sup> $\pm 1164.22$	450.45 <sup>a</sup> $\pm 172.35$	884.56 <sup>a</sup> $\pm 324.12$	1686.70 <sup>a</sup> $\pm 775.12$
	PREBIOTIC 1	1295.50 <sup>a</sup> $\pm 858.45$	1734.88 <sup>a</sup> $\pm 516.38$	478.28 <sup>a</sup> $\pm 149.67$	686.40 <sup>a</sup> $\pm 263.51$	929.55 <sup>a</sup> $\pm 180.67$
	PREBIOTIC 2	693.18 <sup>ab</sup> $\pm 477.43$	2352.54 <sup>a</sup> $\pm 747.86$	510.26 <sup>a</sup> $\pm 209.12$	958.08 <sup>a</sup> $\pm 251.62$	1156.68 <sup>a</sup> $\pm 353.06$
	SYNBIOTIC 1	800.79 <sup>ab</sup> $\pm 278.61$	1749.34 <sup>a</sup> $\pm 472.16$	482.08 <sup>a</sup> $\pm 79.59$	653.09 <sup>a</sup> $\pm 208.59$	1074.61 <sup>a</sup> $\pm 297.88$
	SYNBIOTIC 2	565.54 <sup>b</sup> $\pm 220.15$	2174.21 <sup>a</sup> $\pm 364.37$	635.16 <sup>a</sup> $\pm 213.29$	868.42 <sup>a</sup> $\pm 116.23$	1244.63 <sup>a</sup> $\pm 278.13$
SRBC-IMMUNIZED	CONTROL	552.97 <sup>a</sup> $\pm 218.53$	2090.05 <sup>a</sup> $\pm 718.72$	391.40 <sup>a</sup> $\pm 145.22$ <sup>a</sup>	737.48 <sup>a</sup> $\pm 303.66$	1187.08 <sup>a</sup> $\pm 486.32$
	PREBIOTIC 1	755.65 <sup>ab</sup> $\pm 242.82$	2214.44 <sup>a</sup> $\pm 985.31$	434.74 <sup>a</sup> $\pm 153.17$	885.98 <sup>a</sup> $\pm 355.71$	1150.65 <sup>a</sup> $\pm 612.84$
	PREBIOTIC 2	633.57 <sup>a</sup> $\pm 161.76$	1926.43 <sup>a</sup> $\pm 636.13$	428.81 <sup>a</sup> $\pm 216.91$	727.10 <sup>a</sup> $\pm 176.43$	1052.39 <sup>a</sup> $\pm 429.12$
	SYNBIOTIC 1	1442.58 <sup>b</sup> $\pm 607.34$	1921.43 <sup>a</sup> $\pm 1221.36$	612.21 <sup>a</sup> $\pm 221.71$	597.55 <sup>a</sup> $\pm 358.83$	1327.30 <sup>a</sup> $\pm 941.32$
	SYNBIOTIC 2	672.57 <sup>a</sup> $\pm 118.48$	2181.81 <sup>a</sup> $\pm 199.45$	679.96 <sup>a</sup> $\pm 368.85$	845.87 <sup>a</sup> $\pm 122.66$	1321.56 <sup>a</sup> $\pm 165.27$
DEX-IMMUNIZED	CONTROL	887.11 <sup>a</sup> $\pm 383.58$	2528.90 <sup>a</sup> $\pm 1187.92$	448.71 <sup>a</sup> $\pm 162.24$	980.43 <sup>a</sup> $\pm 602.76$	1500.46 <sup>a</sup> $\pm 811.18$
	PREBIOTIC 1	1038.02 <sup>a</sup> $\pm 204.01$	2734.04 <sup>a</sup> $\pm 934.31$	583.12 <sup>ab</sup> $\pm 154.45$	1130.28 <sup>a</sup> $\pm 521.05$	1315.43 <sup>a</sup> $\pm 547.13$
	PREBIOTIC 2	792.79 <sup>a</sup> $\pm 185.91$	1741.68 <sup>a</sup> $\pm 712.23$	412.48 <sup>a</sup> $\pm 122.09$	703.25 <sup>a</sup> $\pm 205.31$	901.67 <sup>a</sup> $\pm 426.65$
	SYNBIOTIC 1	862.89 <sup>a</sup> $\pm 341.16$	1516.51 <sup>a</sup> $\pm 781.13$	477.73 <sup>ab</sup> $\pm 152.50$	718.29 <sup>a</sup> $\pm 317.24$	1066.50 <sup>a</sup> $\pm 490.19$
	SYNBIOTIC 2	592.87 <sup>a</sup> $\pm 159.35$	2196.58 <sup>a</sup> $\pm 580.81$	844.07 <sup>b</sup> $\pm 375.91$	713.72 <sup>a</sup> $\pm 185.84$	1334.86 <sup>a</sup> $\pm 413.59$