

Original Article

Improvement of histomorphometric indices and intestinal microbiota in broiler chickens using antibiotic alternatives

Amir Hossein Graeili¹, Shaban Rahimi^{2*}, Mohammad Amir Karimi Torshizi³

1. MSc. Student Department of Poultry Science, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran,

2. Professor Department of Poultry Science, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran;

3. Professor Department of Poultry Science, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran;

Received: 2025.03.06

Accepted: 2025.04.25

Revised: 2025.04.23

Published: 2025.12.22

* E-mail: rahimi_s@modares.ac.ir

Abstract

Introduction: Because of environmental and health concerns associated with antibiotics, the use of antibiotic alternatives is recommended in the poultry industry. **Objective:** To evaluate the effectiveness of growth-promoting compounds as substitutes for antibiotics on intestinal morphology and microbiota in broiler chickens over a six-week period. **Procedure:** In this study, 250 one-day-old broiler chickens (Arian strain) were randomly assigned to five experimental groups: 1) Control (without additives); 2) Antibiotic (Oxytetracycline 20%); 3) Probiotic (Gutro Care Poultry); 4) Prebiotic (Nutri Yeast); and 5) Enzyme (Bonfeed). **Findings:** The results indicated that the different additives positively affected intestinal morphological parameters. The probiotic treatment significantly increased villus height, villus thickness, crypt depth, and villus surface area compared with the control group ($P < 0.05$). Additionally, the additives effectively reduced levels of *Escherichia coli* and aerobic bacteria in cecum, while increasing the population of lactic acid bacteria ($P < 0.05$). **Conclusion:** Based on the findings, growth-promoting compounds, particularly probiotics, can be recommended as effective alternatives to antibiotics in broiler chickens. These changes not only improve digestive processes but also enhance nutrient absorption, ultimately leading to improved health and growth performance of the chickens. **Results:** results of this study can serve as practical guidance for better utilization of nutritional resources and reducing the dependency on antibiotics in the poultry industry. These findings demonstrate that nutritional additives can play a vital role in the overall improvement of health and productivity of broiler chickens.

Keywords: Broiler chickens, enzyme, gut microbiota, intestinal morphology, prebiotic, probiotic



Authors retain the copyright and full publishing rights.

Published by [Razi Vaccine & Serum Research Institute](#) This article is an open access article licensed under the [Creative Commons Attribution 4.0 International \(CC BY 4.0\)](#)

بهبود شاخص‌های هیستومورفومتری و میکروبیوتای روده جوجه‌های گوشتی با جایگزین‌های آنتی‌بیوتیک

امیر حسین گرائیلی^۱، شعبان رحیمی^{۲*}، محمد امیر کریمی ترشیزی^۳

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه پرورش و مدیریت طیور، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

۲. استاد، گروه پرورش و مدیریت طیور، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

۳. استاد، گروه پرورش و مدیریت طیور، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران



تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۲/۰۵

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۱۲/۱۶

تاریخ انتشار: ۱۴۰۴/۱۰/۰۱

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۴/۰۲/۰۳

* E-mail: rahimi_s@modares.ac.ir

چکیده

مقدمه: استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها در صنعت طیور به دلیل نگرانی‌های بهداشتی و محیطی نیازمند جایگزینی مؤثر است. لذا استفاده از افزودنی‌های جایگزین آنتی‌بیوتیک‌های محرک رشد در پرورش طیور توصیه شده است. **هدف:** هدف این مطالعه، ارزیابی تأثیرات افزودنی‌های مختلف شامل پروبیوتیک، پری‌بیوتیک و آنزیم‌ها بر بهبود عملکرد و میکروبیوتای روده‌ای جوجه‌های گوشتی طی یک دوره شش هفته‌ای بود. **روش کار:** در این مطالعه، ۲۵۰ قطعه جوجه گوشتی یک‌روزه سویه آرین به‌طور تصادفی به پنج گروه آزمایشی تقسیم شدند: (۱) شاهد (بدون افزودنی)؛ (۲) آنتی‌بیوتیک (اکسی تتراسایکلین ۲۰٪)؛ (۳) پروبیوتیک (Gutro Care Poultry)؛ (۴) پری‌بیوتیک (Nutri Yeast)؛ و (۵) آنزیم (Bonfeed). **یافته‌ها:** نتایج این مطالعه نشان داد که افزودنی‌های پروبیوتیک و پری‌بیوتیک تأثیر مثبتی بر پارامترهای مورفولوژی روده داشتند. تیمار پروبیوتیک به‌طور معناداری ارتفاع و ضخامت پرز، عمق کریپت و سطح پرز را در مقایسه با گروه شاهد افزایش داد ($P < 0.05$). همچنین، این افزودنی‌ها موجب کاهش سطح باکتری‌های /شریشیا کلی و باکتری‌های هوازی و افزایش جمعیت باکتری‌های اسیدلاکتیک در روده کور شدند ($P < 0.05$). **نتیجه‌گیری:** براساس یافته‌های این پژوهش، استفاده از ترکیبات محرک رشد، به‌ویژه پروبیوتیک‌ها، می‌تواند به‌عنوان جایگزین‌های مؤثر برای آنتی‌بیوتیک‌ها در جوجه‌های گوشتی پیشنهاد شوند. این تغییرات نه تنها فرایندهای گوارشی را بهبود می‌بخشند، بلکه جذب مواد مغذی را نیز افزایش می‌دهند و در نهایت موجب ارتقای سلامت و عملکرد جوجه‌ها می‌شوند. از نتایج این تحقیق می‌توان به‌عنوان راهنمایی عملی برای بهره‌برداری بهتر از منابع تغذیه‌ای و کاهش وابستگی به آنتی‌بیوتیک‌ها در صنعت طیور استفاده کرد. این یافته‌ها نشان می‌دهند که افزودنی‌های تغذیه‌ای می‌توانند نقشی حیاتی در بهبود کلی سلامت و بهره‌وری جوجه‌های گوشتی ایفا کنند.

واژگان کلیدی: پروبیوتیک، پری‌بیوتیک، آنزیم، جمعیت میکروبی، مورفولوژی روده، جوجه‌های گوشتی

مقدمه

صنعت پرورش طیور که یکی از ارکان اساسی تأمین امنیت غذایی در سطح جهان است، با چالش‌های متعددی مواجه است. یکی از مهم‌ترین نگرانی‌ها در این صنعت، استفاده بیش از حد از آنتی‌بیوتیک‌ها به عنوان محرک رشد در جوجه‌هاست. این مسئله نه تنها به افزایش مقاومت میکروبی و کاهش اثربخشی درمان‌های انسانی منجر می‌شود، بلکه می‌تواند به طور چشمگیری بر سلامت و بهره‌وری تولیدات صنعت تأثیر بگذارد (۷). از سوی دیگر، حذف آنتی‌بیوتیک‌ها می‌تواند تأثیرات منفی بر سلامت طیور داشته باشد و به افزایش هزینه‌های تولید منجر شود. در این راستا، احساس نیاز به راهکارهای پایدار و مؤثر برای کاهش وابستگی به آنتی‌بیوتیک‌ها در صنعت پرورش طیور به طور فزاینده‌ای ضروری است.

به منظور مقابله با این چالش‌ها، پژوهشگران به بررسی انواع مختلف جایگزین‌ها، از جمله پروبیوتیک‌ها، پری‌بیوتیک‌ها، آنزیم‌ها، اسیدهای آلی، گیاهان دارویی و روغن‌های اتری، و همچنین رعایت دقیق اصول قرنطینه و بهداشت (۲۱) پرداخته‌اند. پروبیوتیک‌ها، میکروارگانیسم‌های زنده مفیدی هستند که با تنظیم تعادل میکروبی روده به تقویت سیستم ایمنی و بهبود جذب مواد مغذی کمک می‌کنند (۱۵). پری‌بیوتیک‌ها، از ترکیبات غیرقابل هضمی تشکیل شده‌اند که همچون منبع تغذیه برای باکتری‌های مفید عمل کرده، به سلامت روده کمک می‌کنند (۸). همچنین، آنزیم‌ها با تسهیل فرایند هضم و افزایش جذب مواد مغذی، عملکرد کلی جوجه‌ها را ارتقا می‌دهند (۴).

این طرح به بررسی تأثیرات پروبیوتیک‌ها، پری‌بیوتیک‌ها و آنزیم‌ها بر مورفولوژی روده و جمعیت میکروبی جوجه‌های گوشتی اختصاص دارد. این تحقیق از طریق تحلیل تغییرات در ساختار روده و تنوع میکروبی، به شناسایی مکانیسم‌های شیمیایی و بیولوژیکی می‌پردازد که می‌توانند به مثابه جایگزین‌های مؤثر برای آنتی‌بیوتیک‌ها در صنعت پرورش طیور عمل کنند. یافته‌های این مطالعه می‌تواند به بهبود روش‌های تغذیه‌ای و مدیریتی در صنعت طیور کمک کند و در راستای حفظ سلامت و امنیت غذایی مؤثر باشد.

روش تحقیق

طرح این تحقیق در کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه تربیت

مدرس بررسی و با کد ۱۴۰۱/۳۳/۲۵۷/۱۵۴ مصوب شده است. در این تحقیق، ۲۵۰ قطعه جوجه یک‌روزه گوشتی سویه آرین به طور تصادفی در پنج تیمار مختلف تقسیم‌بندی شدند. هر تیمار شامل پنج تکرار و هر تکرار شامل ۱۰ قطعه جوجه بود. تیمارها به شرح زیر تقسیم بندی شدند: گروه شاهد که هیچ گونه افزودنی دریافت نکرد، گروهی که آنتی‌بیوتیک (اکسی‌تراسایکلین ۲۰٪) را با دز ۳۰ گرم در ۱۰۰ لیتر آب مصرف کرد، و گروه دریافت‌کننده پروبیوتیک (Gutro Care Poultry) با مقادیر ۵۰۰ گرم در تن خوراک تا ۱۴ روزگی، ۴۰۰ گرم در تن خوراک در دوره رشد تا ۲۸ روزگی و ۳۰۰ گرم در تن خوراک در دوره پایانی تا ۴۲ روزگی. همچنین، گروهی که پری‌بیوتیک (نوتری‌بیست) را به نسبت ۱/۵ کیلوگرم در تن خوراک تا ۱۴ روزگی، ۱ کیلوگرم در تن خوراک در دوره رشد و ۵۰۰ گرم در تن خوراک در دوره پایانی دریافت کرد. به علاوه گروه آنزیم (بن فید) به مقدار ۱۰۰ گرم در تن خوراک استفاده شد. روشنایی سالن طی ۴۸ ساعت اولیه به طور کامل برقرار بود و سپس تا پایان هفته اول روزانه ۱ ساعت خاموشی اعمال شد. در هفته دوم، میزان خاموشی به ۸ ساعت افزایش یافت و به همین صورت هر هفته ۱ ساعت از زمان خاموشی‌ها کاهش پیدا کرد، به طوری که در هفته سوم ۷ ساعت، در هفته چهارم ۶ ساعت و در هفته پنجم تا زمان کشتار ۵ ساعت خاموشی برای جوجه‌ها در نظر گرفته شد. دمای سالن قبل از ورود جوجه‌ها روی ۳۲ درجه سلسیوس تنظیم شد و به طور هفتگی دو درجه از دمای سالن کاسته شد تا به دمای ۲۲ درجه سلسیوس رسید که تا پایان دوره ثابت ماند. جوجه‌ها ۴۲ روز طبق راهنمای پرورش و مدیریت جوجه‌های گوشتی آرین در شرایط محیطی استاندارد نگهداری شدند و به آب و غذا دسترسی آزاد داشتند. اجزای تشکیل‌دهنده و ترکیب شیمیایی جیره مورد استفاده در پرورش طبق نیازهای تغذیه‌ای جوجه گوشتی آرین تنظیم شد (جدول ۱). برای جیره‌نویسی در این مطالعه، از نرم‌افزار فیدسافت استفاده شد. این نرم‌افزار به ما این امکان را داد تا ترکیب جیره‌ها را به طور دقیق محاسبه کرده، هزینه‌ها و نیازهای غذایی جوجه‌ها را به آسانی مدیریت کنیم.

در این طرح براساس توصیه راهنمای پرورش جوجه گوشتی آرین چهار نوع جیره در نظر گرفته شد تا نیازهای تغذیه‌ای متفاوت آن‌ها در دوره‌های مختلف رشد، به ویژه در مراحل آغازین و پایانی، به

جدول ۱- اجزای تشکیل دهنده و ترکیب شیمیایی جیره مرحله آغازین، رشد و پایانی

پایانی ۲ (۳۶-۴۲)	پایانی ۱ (۲۵-۳۵)	رشد (۱۵-۲۴)	آغازین (۱-۱۴)	
۶۷۰/۴	۶۳۶/۴۲	۵۹۵/۴۱	۵۵۷/۸۳	ذرت (پروتئین ۷/۵ درصد)
۲۷۶	۳۰۵	۳۴۶	۳۶۹	کنجاله سویا (پروتئین ۴۴ درصد)
-	-	-	۲۰	کنجاله گلو تن ذرت (پروتئین ۶۰ درصد)
۱۶	۲۱/۵	۱۸	۹	روغن سویا
۲/۲	۲/۲۷	۲/۵۵	۲/۶۲	دی ال متیونین
۱/۶۵	۱/۴۷	۱/۴۵	۱/۹۸	ال لیزین هیدروکلراید
۰/۶	۰/۵۴	۰/۶۳	۰/۵۷	ال ترئونین
۱۵/۴	۱۵/۱	۱۷/۶	۱۹/۶	دی کلسیم فسفات
۹/۱۵	۹/۱	۹/۷۶	۱۰/۸	کربنات کلسیم
۳/۶	۳/۶	۳/۶	۳/۶	نمک طعام
۵	۵	۵	۵	مکمل ویتامینی و معدنی*
۱۰۰۰	۱۰۰۰	۱۰۰۰	۱۰۰۰	کل
تجزیه تقریبی				
۳۰۲۵	۳۰۲۵	۲۹۵۰	۲۸۷۰	انرژی قابل متابولیسم (kcal/kg)
۱۷/۵	۱۸/۵	۲۰	۲۲	پروتئین خام (%)
۰/۹۳	۰/۹۸	۱/۰۷	۱/۱۸	لیزین قابل هضم (%)
۰/۴۷۳	۰/۴۹۲	۰/۵۳۶	۰/۵۸	متیونین قابل هضم (%)
۰/۷۲	۰/۷۵	۰/۸۱	۰/۸۸	متیونین + سیستین قابل هضم (%)
۰/۶۳	۰/۶۶	۰/۷۲	۰/۷۸	ترئونین قابل هضم (%)
۰/۷۸	۰/۷۸	۰/۸۷	۰/۹۶	کلسیم (%)
۰/۳۹	۰/۳۹	۰/۴۴	۰/۴۸	فسفر قابل دسترس (%)
۰/۱۶	۰/۱۶	۰/۱۶	۰/۱۶	سدیم (%)
۰/۲۹	۰/۲۹	۰/۲۹	۰/۳	کلر (%)
۱۸۰	۱۹۳	۲۱۱	۲۱۹	تعادل کاتیون و آنیون جیره (meq/kg)

* هر کیلو مکمل ویتامینه حاوی ۴ میلیون واحد بین المللی ویتامین A، ۱۸۰۰۰۰۰ واحد بین المللی ویتامین D3، ۲۶۰۰۰ واحد بین المللی ویتامین E، ۱۲۰۰ میلی گرم ویتامین K3، ۱۰۰۰ میلی گرم B1، ۲۶۰۰ میلی گرم B2، ۵۴۰۰۰ میلی گرم نیاسین، ۷۵۰۰ میلی گرم اسید پانتوتنیک، ۱۲۸۰ میلی گرم B6، ۷۲ میلی گرم بیوتین، ۷۶۰ میلی گرم فولیک اسید، ۶/۸ میلی گرم B12، ۳۲۰۰۰۰ میلی گرم کولین کلراید و ۱۰۰۰ میلی گرم پایدارکننده. هر کیلو مکمل معدنی حاوی ۶۴۰۰ میلی گرم مس، ۵۰۰ میلی گرم ید، ۸۰۰۰ میلی گرم آهن، ۴۸۰۰۰ میلی گرم منگنز، ۱۲۰ میلی گرم سلنیوم، ۴۴۰۰۰ میلی گرم روی، ۳۲۰۰۰۰ میلی گرم کولین کلراید و ۱۰۰۰ میلی گرم آنتی اکسیدانت.

مرفولوژی روده

در روز ۴۲ پرورش، از هر تکرار (واحد آزمایشی)، دو پرنده انتخاب و پس از کالبدگشایی، روده باریک بلافاصله از بدن پرنده خارج و بعد از اندازه گیری طول قسمت های مختلف، از نقاط میانی هر سه قسمت روده کوچک شامل دوازدهه (اولین بخش از روده باریک)، ژژونوم (دومین بخش روده باریک، بین دوازدهه و ایلئوم،

بهترین شکل تأمین شود. این تقسیم بندی امکان می دهد تا از حداکثر پتانسیل رشد و سلامت جوجه ها بهره برداری و با توجه به تغییرات نیازهای غذایی آن ها در هر مرحله، ترکیب بهینه ای از پروتئین و انرژی ارائه شود. در طول مطالعه، آزمایش های مربوط به جمعیت میکروبی روده و مورفولوژی مخاط روده به منظور ارزیابی تأثیرات این افزودنی ها انجام شد.

روی هر پلیت $\times$ عکس ضریب رقت $\times$ ضریب تصحیح حجم کشت داده شد (۱۱).

تحلیل آماری: داده‌های آزمایش براساس طرح کامل تصادفی با پنج تیمار و پنج تکرار تحلیل شدند. مدل ریاضی طرح مورد استفاده $Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij}$ بود. در این مدل Y_{ij} = مقدار هر مشاهده، μ = میانگین صفت مورد مطالعه، T_i = اثر تیمارهای آزمایشی و e_{ij} = اثر خطای آزمایشی است، تحلیل آماری داده‌ها در این مطالعه با استفاده از نسخه ۹/۱ بسته نرم‌افزاری SAS، Proc GLM صورت گرفت. پس از تجزیه واریانس، میانگین‌ها با آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح ۰/۰۵ درصد مقایسه شد.

نتایج

نتایج به‌دست‌آمده از استفاده افزودنی‌های پروبیوتیک، پری‌بیوتیک، آنزیم و آنتی‌بیوتیک بر ریخت‌شناسی روده کوچک (شامل ارتفاع و ضخامت پرزها، عمق کریپت، تعداد سلول‌های گابلت، سطح پرزها و نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت) در جدول ۲ نشان داده شده است. این اطلاعات حاکی از تأثیر قابل توجه این ترکیبات بر مورفولوژی روده و بهبود ویژگی‌های ساختاری آن است. در بررسی‌هایی که در قسمت دوازدهه صورت گرفت تحلیل داده‌ها نشان داد که تیمار پروبیوتیک به‌طور معناداری بالاترین ارتفاع پرز و میزان عمق کریپت را دارد ($P < 0.05$). همچنین گروه مربوط به آنزیم، کمترین میزان ارتفاع پرز و عمق کریپت را در دوازدهه نشان داد ($P < 0.05$). ضخامت پرز و سطح پرز در دوازدهه تحت تأثیر گروه‌های آزمایشی قرار گرفت و تیمار آنتی‌بیوتیک بیشترین ضخامت پرز و سطح پرز را نشان داد ($P < 0.05$). گروه آنزیم نیز کمترین ضخامت و سطح پرز را نسبت به دیگر گروه‌ها داشت ($P < 0.05$). در بررسی دیگری که بر روی تعداد سلول‌های گابلت و نسبت VH/CD انجام شد، نتایج نشان داد که تفاوت معناداری میان تیمارها وجود ندارند ($P > 0.05$).

در بررسی‌هایی که در قسمت ژژونوم صورت گرفت، نتایج نشان داد که تیمار پروبیوتیک نسبت به سایر گروه‌ها بالاترین ارتفاع پرز را در ژژونوم داشت و تفاوت معناداری نسبت به گروه شاهد ایجاد کرد ($P < 0.05$). ضخامت پرزها نیز تحت تأثیر گروه‌های آزمایشی قرار گرفت ($P < 0.05$)؛ به‌طوری که تیمارهای پروبیوتیک، پری‌بیوتیک و آنزیم هر سه نسبت به گروه شاهد تفاوت معناداری ایجاد کردند و

تا زائده مکل) و ایلئوم (آخرین بخش روده باریک، از زائده مکل تا ایلئوسکال) (۱۸). نمونه‌های بافت‌شناسی به طول تقریبی ۳ سانتی‌متر با یک قیچی تیز جدا شد. سپس قطعات جداشده با استفاده از سرنگ حاوی محلول بافر فسفات‌سالین شسته و پس از خالی کردن محتویات درون آن‌ها به داخل ظروف پلاستیکی برچسب‌دار حاوی فرمالین ۱۰٪ منتقل شد. بعد از پایداری کامل به‌ترتیب مراحل آبیگری، شفاف‌سازی، پارافین‌دهی و قالب‌گیری انجام گرفت (۲۴). بعد از قالب‌گیری برش‌هایی به ضخامت پنج میکرومتر از نمونه‌ها توسط میکروتوم دوار (Erma, Japan) تهیه و بعد از پارافین‌زدایی با رنگ هماتوکسیلین-ئوزین و آلسین‌بلو رنگ‌آمیزی شدند. اندازه‌گیری شاخص‌های ارتفاع پرز، عمق کریپت و تعداد سلول‌های گابلت با استفاده از میکروسکوپ نوری و به کمک میکرومتر که در داخل عدسی چشمی تعبیه شده بود، انجام گرفت. شاخص پرز حاصل تقسیم ارتفاع پرز بر عمق کریپت و شاخص سطح پرز از رابطه (۱) محاسبه شد (۲۳).

$$(1) \quad \text{طول پرز} \times (2 + \text{عرض پرز}) \times (\pi/2) = \text{سطح پرز}$$

جمعیت باکتری سکوم

به‌منظور ارزیابی میکروارگانیسم‌های موجود در روده، از محیط‌های کشت عمومی و انتخابی استفاده شد. محیط کشت MRS Agar برای شمارش جمعیت باکتری‌های اسید لاکتیک، محیط کشت Plate Count Agar برای شمارش جمعیت کلی باکتری‌های هوازی، و محیط کشت MacConkey Agar برای شمارش اختصاصی گونه‌های اشریشیا کلی استفاده شدند. بعد از تهیه مواد و آماده‌سازی محیط‌های اولیه، فرایند سترون‌سازی در دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس، به‌مدت ۱۵ دقیقه صورت گرفت. سپس محیط‌های کشت در پلیت‌های ده سانتی‌متری با میزان مساوی توزیع شدند (۱۱).

شمارش کلنی

تمامی پلیت‌های رشد یافته بعد از گذشت مدت گرماگذاری، شمارش و تعداد کلنی‌ها به‌صورت log CFU/g گزارش شدند. روال کار به این صورت بود که تعداد کلنی‌ها روی هر پلیت، شمارش شد و با فرمول زیر به شمارش نهایی رسید. تعداد کلنی باکتری در هر گرم از نمونه = تعداد کلنی‌های شمارش‌شده

جدول ۲- اثر تیمارهای آزمایشی بر مورفولوژی روده جوجه‌های گوشتی در روز ۲۴

تیمار	ارتفاع پرز (μm)	ضخامت پرز (μm)	عمق کریپت (μm)	سلول‌های گابلت (تعداد در μm (۱۰۰))	سطح پرز (mm^2)	ارتفاع پرز به عمق کریپت
دوازدهم						
شاهد	۱۷۳۰/۱۴ ^{bc}	۷۲/۲۴ ^{bc}	۱۴۱/۸۸ ^{ab}	۱۳/۰۰	۰/۳۹ ^{bc}	۱۲/۱۹
آنتی‌بیوتیک	۲۰۰۹/۵۲ ^{ab}	۱۰۲/۸۴ ^a	۱۵۴/۸۴ ^{ab}	۱۱/۲۰	۰/۶۴ ^a	۱۳/۳۲
پروبیوتیک	۲۱۱۵/۷۳ ^a	۷۴/۱۵ ^{abc}	۱۹۸/۰۳ ^a	۱۰/۴۰	۰/۴۹ ^{ab}	۱۱/۲۴
پری‌بیوتیک	۱۸۷۸/۰۰ ^{abc}	۹۲/۹۹ ^{ab}	۱۷۶/۸۹ ^a	۱۰/۸۰	۰/۵۴ ^{ab}	۱۰/۶۵
آنزیم	۱۶۱۷/۱۲ ^c	۵۳/۸۸ ^c	۱۱۹/۵۶ ^b	۱۰/۶۰	۰/۲۷ ^c	۱۳/۶۰
SEM	۱۱۴/۴۳	۶/۹۴	۱۳/۲۷	۰/۶۵	۰/۰۴	۰/۳۰
P-value	۰/۰۳۸	۰/۰۰۰۷	۰/۰۰۴	۰/۰۶۰	۰/۰۰۰۵	۰/۴۵
ژژونوم						
شاهد	۱۶۰۱/۴۲ ^b	۵۳/۳۶ ^b	۱۵۶/۴۸	۹/۸۰	۰/۲۷ ^b	۱۰/۴۵
آنتی‌بیوتیک	۱۷۰۲/۲۴ ^{ab}	۷۶/۱۲ ^{ab}	۱۵۸/۷۶	۱۰/۶۰	۰/۴۱ ^{ab}	۱۱/۰۰
پروبیوتیک	۲۰۲۹/۰۰ ^a	۸۹/۴۴ ^a	۱۸۴/۶۲	۱۱/۲۰	۰/۵۷ ^a	۱۱/۳۹
پری‌بیوتیک	۱۹۹۰/۲۳ ^{ab}	۸۷/۵۰ ^a	۱۸۳/۴۲	۱۲/۰۰	۰/۵۴ ^a	۱۰/۹۰
آنزیم	۱۷۳۶/۸۱ ^{ab}	۸۳/۸۲ ^a	۱۴۱/۹۴	۹/۶۰	۰/۴۴ ^{ab}	۱۲/۱۷
SEM	۹۶/۰۷	۶/۰۶	۱۲/۴۴	۰/۷۲	۰/۰۴	۰/۸۵
P-value	۰/۰۱	۰/۰۰۲	۰/۱۰۴	۰/۱۴	۰/۰۰۱	۰/۶۸
ایلئوم						
شاهد	۱۰۵۴/۰۰ ^{ab}	۴۶/۰۳ ^c	۱۴۷/۳۲ ^{ab}	۹/۸۰ ^b	۰/۱۵ ^b	۷/۶۱
آنتی‌بیوتیک	۱۳۲۷/۸۲ ^a	۸۱/۱۲ ^a	۱۸۱/۳۲ ^a	۱۲/۲۰ ^a	۰/۳۴ ^a	۷/۱۸
پروبیوتیک	۱۳۶۵/۸۳ ^a	۸۴/۵۲ ^a	۱۸۲/۹۸ ^a	۱۲/۲۰ ^a	۰/۳۶ ^a	۷/۷۰
پری‌بیوتیک	۱۲۴۹/۷۱ ^a	۷۶/۸۲ ^{ab}	۱۵۹/۳۰ ^{ab}	۱۲/۰۰ ^a	۰/۳۰ ^a	۸/۰۱
آنزیم	۹۰۸/۱۴ ^b	۶۰/۱۶ ^{bc}	۱۳۴/۵۲ ^b	۱۰/۰۰ ^{ab}	۰/۱۷ ^b	۷/۰۰
SEM	۷۳/۵۷	۴/۳۹	۱۱/۹۲	۰/۷۰	۰/۰۲	۰/۸۰
P-value	۰/۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۳	۰/۰۳	۰/۰۰۰۱	۰/۹۰

a,b,c: میانگین‌ها با حروف غیرمشابه در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنادار در سطح خطای ۵ درصد هستند.

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها

بیشترین ضخامت پرز مربوط به گروه پروبیوتیک بود ($P<0.05$). سطح پرزها نیز تحت تأثیر تیمارها بود ($P<0.05$) و تیمارهای پروبیوتیک و پری‌بیوتیک بالاترین سطح پرز را داشتند و تفاوت معناداری نسبت به گروه شاهد نشان دادند ($P<0.05$). عمق کریپت، تعداد سلول‌های گابلت و نسبت VH/CD نیز تفاوت معناداری بین گروه‌ها نداشتند ($P>0.05$).

در بررسی‌هایی که در قسمت ایلئوم انجام شد، نتایج نشان داد که افزودنی‌های پروبیوتیک، پری‌بیوتیک و آنتی‌بیوتیک تأثیر مثبت و قابل توجهی بر ریخت‌شناسی ایلئوم روده کوچک دارند. نتایج نشان می‌دهد که تیمار پروبیوتیک، بالاترین ارتفاع پرز را نسبت به سایر گروه‌ها نشان داد ($P<0.05$), درحالی‌که کمترین میزان طول پرز در گروه آنزیم مشاهده شد. ضخامت پرزها در ایلئوم در گروه‌های

جدول ۳- اثر تیمارهای آزمایشی بر جمعیت باکتری‌های روده جوجه‌های گوشتی در روز ۲۴ (log cfu/g)

تیمار	اشریشیا کلی	باکتری‌های هوازی	باکتری‌های اسید لاکتیک
شاهد	۹/۰۱ ^a	۹/۳۸ ^{ab}	۹/۴۳ ^b
آنتی‌بیوتیک	۷/۹۸ ^c	۹/۵۸ ^{ab}	۹/۴۹ ^b
پروبیوتیک	۸/۱۵ ^{bc}	۹/۲۲ ^{bc}	۱۰/۱۳ ^a
پری‌بیوتیک	۸/۰۹ ^{bc}	۸/۸۶ ^c	۹/۸۹ ^a
آنزیم	۸/۲۴ ^b	۹/۶۸ ^a	۹/۳۵ ^b
SEM	۰/۰۵۲	۰/۰۸۴	۰/۰۵۵
P-value	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۳	۰/۰۰۰۱

a,b,c: میانگین‌ها با حروف غیرمشابه در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنادار در سطح خطای ۵ درصد هستند.

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها

نسبت به گروه شاهد از خود نشان دادند ($P<0.05$)، به‌طوری که گروه آنتی‌بیوتیک کمترین جمعیت اشریشیا کلی را به ثبت رساند ($P<0.05$). علاوه‌براین، گروه‌های مصرف‌کننده پروبیوتیک و پری‌بیوتیک افزایش معناداری در میزان باکتری‌های تولیدکننده اسیدلاکتیک نسبت به گروه شاهد داشتند ($P<0.05$).

بحث

نتایج مطالعه حاضر به‌وضوح نشان‌دهنده تأثیرات مثبت پروبیوتیک‌ها و پری‌بیوتیک‌ها بر ساختار روده کوچک جوجه‌های گوشتی است. افزایش چشمگیر ارتفاع پرزها در تیمار پروبیوتیک در مقایسه با گروه کنترل، تأییدی بر نقش این افزودنی‌ها در بهبود عملکرد گوارشی و جذب مواد مغذی است. همچنین، افزایش عمق کریپت‌ها در برخی از بخش‌های روده، نشان‌دهنده افزایش تولید سلول‌های اپیتلیال جدید است که می‌تواند به بهبود ترمیم و بازسازی بافت‌های روده کمک کند (۵). در مورد گروه پروبیوتیک با توجه به اینکه افزایش فعالیت تکثیری سلول‌های بنیانی در کریپت با افزایش ارتفاع پرز و سطح جذبی به‌طور توأم دیده می‌شود، انتظار می‌رود که در این وضعیت بهبود عملکرد دیده شود، زیرا احیاناً هزینه متابولیکی که صرف فعالیت بیشتر در کریپت شده است با افزایش سطح جذبی ناشی از ارتفاع پرز بلندتر جبران می‌شود. ازسوی دیگر اگرچه تعدیل فعالیت تکثیر سلول‌ها در عمق کریپت باعث کاهش عمق کریپت می‌شود، اما در صورتی که کاهش ارتفاع پرز نیز رخ دهد (همانند

تیمار شده با پروبیوتیک، پری‌بیوتیک و آنتی‌بیوتیک نیز نسبت به گروه شاهد تفاوت معناداری ایجاد کرده است. علاوه‌براین، عمق کریپت در ایلئوم تحت تأثیر گروه‌های آزمایشی قرار گرفت ($P<0.05$). تیمارهای پروبیوتیک و آنتی‌بیوتیک به‌طور معناداری بالاترین عمق کریپت را داشتند، درحالی‌که تیمار آنزیم پایین‌ترین میزان عمق را به خود اختصاص داد ($P<0.05$). تعداد سلول‌های گابلت و سطح پرز نیز تحت تأثیر گروه‌های آزمایشی قرار گرفت که نشان‌دهنده تأثیر مثبت آن‌ها بر ویژگی‌های مورفولوژیکی ایلئوم روده کوچک است ($P<0.05$). تیمار پروبیوتیک، پری‌بیوتیک و آنتی‌بیوتیک از نظر تعداد سلول‌های گابلت و سطح پرز در سطح تقریباً مشابهی قرار داشتند و تفاوت معناداری را نسبت به گروه شاهد ایجاد نکردند ($P<0.05$). به‌طور کلی، یافته‌های این مطالعه مؤید اثرات مثبت و قابل توجه پروبیوتیک‌ها و پری‌بیوتیک‌ها بر وضعیت ریخت‌شناسی روده کوچک در جوجه‌های گوشتی است، که می‌تواند به بهبود سلامت روده کمک کند.

جمعیت میکروبی سکوم

مطابق با نتایج ارائه‌شده در جدول ۳، تعداد باکتری‌های سکوم تحت تأثیر افزودنی‌ها قرار گرفت. گروه مصرف‌کننده آنزیم بالاترین میزان باکتری‌های هوازی سکوم را نشان داد، درحالی‌که گروه پری‌بیوتیک کمترین میزان این باکتری‌ها را داشت ($P<0.05$). همچنین، سایر افزودنی‌ها کاهش معناداری در جمعیت باکتری اشریشیا کلی

گروه آنزیم)، سطح جذبی کاهش می‌یابد. به عبارت دیگر، پرنده از کوتاه بودن عمق کریپت در راستای بهبود عملکرد از طریق صرفه‌جویی در هزینه فعالیت تکثیر سلول‌های کریپت بهره‌مند نمی‌شود. این نتایج با یافته‌های تحقیقاتی گونگ و همکاران (۱۰) مطابقت دارد که نشان‌دهنده بهبود قابل توجه در ساختار روده و جذب مواد مغذی در جوجه‌ها پس از تیمار با پروبیوتیک‌ها بود. این واقعیت همچنین می‌تواند به دلیل افزایش فعالیت باکتری‌های مفید در روده و تولید متابولیت‌های مفید، از جمله اسیدهای چرب کوتاه زنجیره‌ای باشد که به‌طور مستقیم بر سلول‌های اپی‌تلیال تأثیر مثبتی می‌گذارند. همچنین، پروبیوتیک‌ها در کاهش بار میکروبی روده نقش دارند و بدین ترتیب به بهبود ساختار و عملکرد روده کمک می‌کنند. نتایج مربوط به آنتی‌بیوتیک‌ها که بیشترین ضخامت و سطح پرز را در دوازدهه نشان دادند، به‌وضوح بیانگر تأثیر این ترکیبات در کاهش بار میکروبی و فراهم آوردن شرایط بهینه برای رشد سلول‌های اپی‌تلیال است. در این زمینه، یافته‌های تحقیقی تأثیر مثبت آنتی‌بیوتیک‌ها بر مورفولوژی روده را تأیید می‌کنند و نشان می‌دهند که کاهش رقابت باکتری‌های غیرمفید و فراهم آوردن بستر مناسب برای تکثیر باکتری‌های مفید می‌تواند به بهبود ساختار روده منجر شود (۱۳). با این حال، باید به خطرات ناشی از استفاده طولانی‌مدت از آنتی‌بیوتیک‌ها، مانند ایجاد مقاومت میکروبی و اختلال در فلور میکروبی روده توجه داشت. از سویی دیگر، تیمار آنزیم کمترین ارتفاع پرز و عمق کریپت را در دوازدهه و ایلئوم نشان داد. این نتایج ممکن است به عدم تأثیر مثبت آنزیم‌ها بر ساختار روده یا نیاز به زمان بیشتر برای مشاهده اثرات آن‌ها اشاره کند. این یافته‌ها نشان‌دهنده متغیر بودن پاسخ‌های گوارشی به آنزیم‌ها در شرایط مختلف هستند (۲۷). با توجه به وجود اثر متقابل بین میکروارگانیسم‌های ساکن در مجرای گوارش و سلول‌های پوششی دستگاه گوارش، به‌منظور داشتن فعالیت طبیعی هضم و جذب، برقراری تعادل میکروب‌های موجود در روده (وضعیت یوبیوزیس) ضرورت دارد. افزودنی‌های غذایی مانند پروبیوتیک‌ها مستقیماً می‌توانند به برقراری این تعادل بهینه کمک کنند. در این ارتباط پروبیوتیک‌ها به‌طور غیرمستقیم با تقویت انتخابی میکروارگانیسم‌های مفید (پروبیوتیک) نقش خود را در بهبود تعادل میکروبی دستگاه گوارش ایفا می‌کنند (۲۲). آنزیم‌ها نیز از طریق تبدیل مولکول‌های پیچیده به مولکول‌های ساده‌تر

می‌توانند ترکیبات قابل استفاده‌ای برای میکروارگانیسم‌ها فراهم کنند (۹)، اما برخلاف پروبیوتیک‌ها الزاماً جمعیت‌های میکروبی مفید را به‌صورت انتخابی حمایت نمی‌کنند و ممکن است سویسترای آزادشده در اثر فعالیت کاتالیتیکی آنزیم توسط سایر گونه‌های میکروبی که الزاماً مفید نیستند، نیز استفاده و موجب تقویت اثر آن‌ها شود. پروبیوتیک‌ها توانسته‌اند به‌طور معناداری ضخامت پرزهای روده کوچک را افزایش دهند که نشان‌دهنده توانایی برجسته این مواد در تقویت جمعیت میکروبی روده و بهبود ساختار آن است. با توجه به افزایش سطح و ضخامت پرزها می‌توان انتظار داشت که این تغییرات به افزایش سطح جذب مواد مغذی در روده و بهبود عملکرد گوارشی جوجه‌ها منجر شود. پروبیوتیک‌ها نه تنها به‌عنوان منابع غذایی برای باکتری‌های مفید عمل می‌کنند، بلکه می‌توانند به‌طور فعال موجب تحریک رشد و تکثیر این باکتری‌ها شوند. در پی این تحریک، باکتری‌های مفید در روده نه تنها به حفظ ساختار سالم روده کمک می‌کنند، بلکه به کاهش التهاب نیز می‌انجامند که بسیار مهم است، زیرا التهاب مزمن می‌تواند عملکرد گوارش را مختل کند و به بروز بیماری‌های مختلف منجر شود (۲۶).

افزایش جمعیت باکتری‌های مفید به بهبود جذب مواد مغذی کمک می‌کند. باکتری‌های زنده و فعال می‌توانند با تولید متابولیت‌های مفید و اسیدهای چرب کوتاه زنجیره‌ای محیط روده را بهبود بخشند و به تنظیم صحیح عمل روده و بهینه‌سازی فرایند هضم کمک کنند. به‌علاوه، تقویت میکروبیوم روده می‌تواند در کنترل باکتری‌های پاتوژن و جلوگیری از عفونت‌های روده‌ای مؤثر باشد. بنابراین، پروبیوتیک‌ها ابزاری مؤثر در ارزیابی و بهبود سلامت روده در جوجه‌ها محسوب می‌شوند و می‌توانند راهکاری حیاتی برای دستیابی به تولید سالم و پایدار باشند (۲۲).

تحلیل داده‌ها نشان دادند که افزودنی‌های مختلف در جیره غذایی جوجه‌های گوشتی تأثیرات چشمگیری بر ترکیب میکروبیوتای سکوم دارند. به‌طور خاص، گروه مصرف‌کننده آنزیم به‌رغم عدم تأثیرگذاری بر مورفولوژی روده، بالاترین میزان باکتری‌های هوازی را نشان داد. این مشاهده می‌تواند به دلیل افزایش هضم‌پذیری مواد مغذی و تسهیل فرایند گوارش در این گروه باشد. آنزیم‌ها با تجزیه ترکیبات پیچیده غذایی مانند فیبرها، نشاسته و پروتئین‌ها مؤثرند و می‌توانند به آزادسازی بیشتر مواد مغذی و فراهم آوردن شرایط

(۲۲) و هالدر و همکاران (۱۲) نیز نشان داده‌اند که پروبیوتیک‌ها و پری‌بیوتیک‌ها به‌طور قابل توجهی بر ترکیب میکروبی روده اثر می‌گذارند و موجب افزایش باکتری‌های تولیدکننده اسیدلاکتیک می‌شوند.

افزایش معنادار باکتری‌های تولیدکننده اسیدلاکتیک در گروه‌های مصرف‌کننده پروبیوتیک و پری‌بیوتیک نسبت به گروه شاهد نشان‌دهنده اثرات مثبت این افزودنی‌ها بر رشد و فعالیت میکروبیوم مفید است. باکتری‌های تولیدکننده اسیدلاکتیک نه تنها به بهبود گوارش کمک می‌کنند، بلکه بر حفظ تعادل میکروبی روده و کاهش احتمال رشد باکتری‌های پاتوژن نیز تأثیرگذارند. این موضوع به دلیل تولید اسیدهای چرب کوتاه زنجیره‌ای توسط این باکتری‌ها می‌تواند به کاهش pH روده و تأمین شرایط بهینه برای موجودات میکروبی مطلوب کمک کند. مطالعات جها و همکاران (۱۵) شهابا و همکاران (۲۵) و الکومی و همکاران (۸) نیز این یافته‌ها را تأیید می‌کنند که پروبیوتیک‌ها و پری‌بیوتیک‌ها به تنظیم pH و حمایت از جمعیت میکروبی مفید کمک می‌کنند.

نتیجه‌گیری نهایی

در پژوهش حاضر نشان داده شد که افزودن پروبیوتیک‌ها و پری‌بیوتیک‌ها به جیره جوجه‌های گوشتی، به‌طور مؤثری ساختار روده را بهبود می‌بخشد و تعادل میکروبی آن را تنظیم می‌کند. این ترکیبات با افزایش ارتفاع و ضخامت پرزهای روده و ارتقای جمعیت باکتری‌های مفید، زمینه را برای جایگزینی آنتی‌بیوتیک‌ها در صنعت طیور فراهم می‌آورند.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچ تعارض منافعی وجود ندارد.

منابع

- 1- Agyare C, Boamah VE, Zumbi CN, Osei FB. Antibiotic use in poultry production and its effects on bacterial resistance. *Antimicrob Resist Glob Threat*. 2018;33-51.
- 2- Aruwa CE, Pillay C, Nyaga MM, Sabiu S. Poultry gut health-microbiome functions, environmental impacts, microbiome engineering and advancements in

مناسب برای رشد باکتری‌های هوازی منجر شوند (۹). این افزایش خود می‌تواند فرایند تخمیر را در روده تسریع کند و محیط روده را بهینه‌تر سازد و با افزایش باکتری‌های مفید آن را بهبود بخشد (۴، ۱۹). در مقابل، گروه پری‌بیوتیک کمترین میزان باکتری‌های هوازی سکوم را نشان دادند. این یافته ممکن است به دلیل رقابت باکتری‌های هوازی با جمعیت میکروبی خاص پری‌بیوتیک‌ها باشد که معمولاً تمرکز بیشتری بر باکتری‌های پروبیوتیک و تولیدکننده اسیدلاکتیک دارند. این کاهش می‌تواند به دلیل اثرات مهارکننده پری‌بیوتیک‌ها بر رشد برخی از باکتری‌های هوازی باشد. نتایج ما با یافته‌های هالدر و همکاران (۱۲)، یعقوب و همکاران (۲۸) اوبیانونا و همکاران مطابقت دارد که نشان دادند پری‌بیوتیک‌ها می‌توانند تعداد باکتری‌های هوازی را کاهش دهند (۱۹). به علاوه، ممکن است نشان‌دهنده تمرکز متعدد بر باکتری‌های مفید باشد که به تنظیم بهتر میکروبیوم روده و ارتقای سلامت روده منجر شود. کاهش معنادار جمعیت باکتری /شریشیا کلی در گروه‌های دریافت‌کننده افزودنی‌ها نسبت به گروه شاهد، به‌ویژه در گروه آنتی‌بیوتیک، نشان می‌دهد که افزودنی‌ها می‌توانند در کنترل باکتری‌های بیماری‌زا مؤثر باشند. آنتی‌بیوتیک‌ها را مهارکننده‌های قوی باکتری‌های بیماری‌زا می‌دانند (۱). علاوه بر این، مشاهده کاهش معنادار در جمعیت باکتری /شریشیا کلی در گروه‌های مصرف‌کننده سایر افزودنی‌ها، تأییدکننده اثرات مثبت این افزودنی‌ها بر سلامت روده است. آنتی‌بیوتیک‌ها به‌طور مؤثری می‌توانند جمعیت باکتری‌های پاتوژن را کاهش دهند، که این موضوع می‌تواند به کاهش خطر عفونت‌ها و اختلالات گوارشی ناشی از باکتری‌های مضر کمک کند. این یافته‌ها با نتایج مشابه در سایر تحقیقات که نشان‌دهنده اثر مثبت آنتی‌بیوتیک‌ها بر کاهش جمعیت باکتری‌های مضر در روده طیور هستند، همخوانی دارد، از جمله تحقیقات کومار و همکاران (۱۷) و آگیاره و همکاران (۱) که به اثرات آنتی‌بیوتیک‌ها بر کاهش باکتری‌های پاتوژن در روده طیور پرداخته‌اند. افزایش معنادار باکتری‌های تولیدکننده اسیدلاکتیک در گروه‌های مصرف‌کننده پروبیوتیک و پری‌بیوتیک نسبت به گروه شاهد نشان می‌دهد که این افزودنی‌ها می‌توانند به بهبود سلامت روده جوجه‌ها کمک کنند. اسیدلاکتیک با ایجاد محیط اسیدی در روده، رشد باکتری‌های بیماری‌زا را مهار کرده، به تعادل میکروبی روده کمک می‌کند (۲، ۳، ۵). علاوه بر این، مطالعات پورعابدین و همکاران

- characterization technologies. *J Anim Sci Biotechnol*. 2021;12:1-15.
- 3- Bai SP, Wu AM, Ding XM, Lei Y, Bai J, Zhang KY, Chio JS. Effects of probiotic-supplemented diets on growth performance and intestinal immune characteristics of broiler chickens. *Poult Sci*. 2013;92(3):663-70.
- 4- Bedford MR, Apajalahti JH. The role of feed enzymes in maintaining poultry intestinal health. *J Sci Food Agric*. 2022;102(5):1759-1770.
- 5- Biswas A, Junaid N, Kumawat M, Qureshi S, Mandal AB. Influence of dietary supplementation of probiotics on intestinal histo-morphometry, blood chemistry and gut health status of broiler chickens. *S Afr J Anim Sci*. 2018;48(5):968-76.
- 6- Cheng G, Hao H, Xie S, Wang X, Dai M, Huang L, Yuan Z. Antibiotic alternatives: the substitution of antibiotics in animal husbandry? *Front Microbiol*. 2014;5:217.
- 7- Chung CH, Day DF. Efficacy of *Leuconostoc mesenteroides* (ATCC 13146) isomaltooligosaccharides as a poultry prebiotic. *Poult Sci*. 2004;83(8):1302-1306.
- 8- Elkomy HS, Koshich II, Mahmoud SF, Abo-Samaha MI. Use of lactulose as a prebiotic in laying hens: its effect on growth, egg production, egg quality, blood biochemistry, digestive enzymes, gene expression and intestinal morphology. *BMC Vet Res*. 2023;19(1):207.
- 9- El-Wahab AA, Huber C, El-Seedi HR, Visscher C, Shehata AA. The use of enzymes in poultry nutrition: an opportunity for feed enzymes. In: Shehata A, Tellez-Isaias G, Eisenreich W, editors. Alternatives to Antibiotics against Pathogens in Poultry. *Cham: Springer*; 2024. p. 121-54.
- 10- Gong L, Wang B, Mei X, Xu H, Qin Y, Li W, Zhou Y. Effects of three probiotic *Bacillus* on growth performance, digestive enzyme activities, antioxidative capacity, serum immunity, and biochemical parameters in broilers. *Anim Sci J*. 2018;89(11):1561-1571.
- 11- Grimes JL, Rahimi S, Oviedo E, Sheldon BW, Santos FBO. Effects of a direct-fed microbial (Primalac) on turkey poult performance and susceptibility to oral *Salmonella* challenge. *Poult Sci*. 2008;87(7):1464-1470.
- 12- Halder N, Sunder J, De AK, Bhattacharya D, Joardar SN. Probiotics in poultry: a comprehensive review. *J Basic Appl Zool*. 2024;85(1):23.
- 13- He T, Long S, Mahfuz S, Wu D, Wang X, Wei X, Piao X. Effects of probiotics as antibiotics substitutes on growth performance, serum biochemical parameters, intestinal morphology, and barrier function of broilers. *Animals*. 2019;9(11):985.
- 14- Jazi V, Foroozandeh AD, Toghyani M, Dastar B, Koochaksaraie RR. Effects of *Pediococcus acidilactici*, mannan-oligosaccharide, butyric acid and their combination on growth performance and intestinal health in young broiler chickens challenged with *Salmonella* Typhimurium. *Poult Sci*. 2018;97(6):2034-2043.
- 15- Jha R, Das R, Oak S, Mishra P. Probiotics (direct-fed microbials) in poultry nutrition and their effects on nutrient utilization, growth and laying performance, and gut health: A systematic review. *Animals*. 2020;10(10):1863.
- 16- Kong Q, Liu T, Xiao H. Effects of probiotics and prebiotics on gut pathogens and toxins. *Front Microbiol*. 2022;13:856779.
- 17- Kumar S, Chen C, Indugu N, Werlang GO, Singh M, Kim WK, Thippareddi H. Effect of antibiotic withdrawal in feed on chicken gut microbial dynamics, immunity, growth performance and prevalence of foodborne pathogens. *PLoS One*. 2018;13(2):e0192450.
- 18- Murakami AE, Sakamoto MI, Natali MRM, Souza LMG, Franco JRG. Supplementation of glutamine and vitamin E on the morphometry of the intestinal mucosa in broiler chickens. *Poult Sci*. 2007;86(3):488-495.
- 19- Obianwuna UE, Chang X, Oleforuh-Okoleh VU, Onu PN, Zhang H, Qiu K, Wu S. Phytobiotics in poultry: revolutionizing broiler chicken nutrition with plant-derived gut health enhancers. *J Anim Sci Biotechnol*. 2024;15(1):1-33.
- 20- Page SW. Current use of antimicrobial growth promoters in food animals: The benefits. *Antimicrob Growth Promot*. 2006;19-51.
- 21- Poudel I, Hodge VR, Wamsley KGS, Roberson KD, Adhikari PA. Effects of protease enzyme supplementation and varying levels of amino acid inclusion on productive performance, egg quality, and amino acid digestibility in laying hens from 30 to 50 weeks of age. *Poult Sci*. 2023;102(3):102465.
- 22- Pourabedin M, Zhao X. Prebiotics and gut microbiota in chickens. *FEMS Microbiol Lett*. 2015;362(15):fnv122.
- 23- Sakamoto K, Hirose H, Onizuka A, Hayashi M, Futamura N, Kawamura Y, Ezaki T. Quantitative study of changes in intestinal morphology and mucus gel on total parenteral

nutrition in rats. *J Surg Res*. 2000;94(2):99-106.

24- Salehnia M. Common and Advanced Techniques in Histology. Tehran: Payegan Publications; 2003. p. 35.

25- Shehata AA, Yalçın S, Latorre JD, Basiouni S, Attia YA, Abd El-Wahab A, et al. Probiotics, prebiotics, and phytochemical substances for optimizing gut health in poultry. *Microorganisms*. 2022;10(2):395.

26- Shini S, Bryden WL. Probiotics and gut health: linking gut homeostasis and poultry productivity. *Anim Prod Sci*. 2021;62(12):1090-1112.

27- Wang J, Patterson R, Kim WK. Effects of phytase and multienzyme on growth performance, bone mineralization, and nutrient digestibility in broilers fed a nutritionally reduced diet. *J Appl Poult Res*. 2021;30(2):100146.

28- Yaqoob MU, Abd El-Hack ME, Hassan F, El-Saadony MT, Khafaga AF, Batiha GE, et al. The potential mechanistic insights and future implications for the effect of prebiotics on poultry performance, gut microbiome, and intestinal morphology. *Poult Sci*. 2021;100(7):101143.