DOI: 10.22092/vj.2024.366928.2176 No 146 Spring 2025

Veterinary Research & Biological Products

Original Article

Investigating the enzymatic activity of some bacterial strains and determining the apparent digestibility of nutrients in diets containing probiotic supplements in Arian breed broiler chickens

Rezaei, E[1], Majidzadeh Heravi, R[2]*, Hassanabadi, A[2]

1- pHD student of Poultry Nutrition, Ferdowsi University of Mashhad, Iran.

2- Department of Animal Science,Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

Received: 2024-09-18 **Accepted: 2024-11-25**

Revised: 2024-11-24 **Published: 2025-03-02**

*Email: rmajidzadeh@um.ac.ir

Abstract

Introduction and Aim: The improvement of digestibility plays an important role on enhancement of feeding efficiency in poultry. Bacteria produce beneficial enzymes that help to digest food. The use of bacteria to increase the digestion and absorption of feed nutrients was investigated in this study. Methods: Enzyme activity of 46 bacterial strains isolated from digestive system of broiler chickens and rumen of dairy cattle was tested by well diffusion method on solid medium containing the enzyme substrate. The bacteria with the highest enzyme activity were isolated and examined for dietary digestibility under different treatments. Food digestibility was measured by collecting the whole feces in Arian breed chickens. Results: The findings showed that rumen bacteria effectively secrete amylase, protease, cellulase, phytase and pectinase enzymes. None of Lactobacillus bacteria isolated from digestive system of chickens could produce cellulase and pectinase but some of them effectively exhibited lipase and xylanase activity that were used in 9 treatments containing different bacterial consortiums. In digestibility experiment, composition of isolates significantly affected nutrient digestibility in chickens, so as treatment 6 showed the highest digestibility for dry matter and starch and suitable performance in lipase activity. Conclusion: According to the results, Lactobacillus bacteria exhibited the ability to produce lipase and xylanase enzymes. However, bacteria isolated from Holstein cows' rumen showed the ability to produce cellulose and pectinase, and lacked the ability to produce lipase. In addition, amylase, phytase, cellulase and lipase enzymes, produced and released by bacterial consortiums effectively broke down the nutrients in the feed, which led to improved nutrient digestibility. So, among the treatments under study, treatments 5 and 6 displayed the best performance compared to the other treatments regarding digestibility in broilers, and formed suitable consortium.

Keywords: Amylase, Protease, Cellulase, Broiler chicken, Nutrient digestibility

CC BY

DOI: 10.22092/vj.2024.366928.2176 شماره ۱۴۶ بهار ۱۴۰۴

تحقیقات دامپزشکی و فرآورده‌های بیولوژیک

مقاله کامل

بررسی فعالیت آنزیمی برخی سویه‌های باکتری و تعیین قابلیت هضم ظاهری مواد مغذی جیره‌های حاوی مکمل‌های پروبیوتیک در جوجه‌های گوشتی نژاد آرین

الهه رضائی [۱]، رضا مجیدزاده‌هروی[۲]*، احمد حسن‌آبادی[۲]

۱- دانشجوی دکترا، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

۲- گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

تاریخ دریافت: ۲۸-۰۶-۱۴۰۳ تاریخ پذیرش: ۰۵-۰۹-۱۴۰۳

تاریخ بازنگری: ۰۴-۰۹-۱۴۰۳ تاریخ انتشار: ۰۱-۰۱-۱۴۰۴

*Email: rmajidzadeh@um.ac.ir

چکیده

مقدمه و هدف: بهبود قابلیت هضم خوراک نقش مهمی در بهبود راندمان غذایی طیور دارد. باکتریها آنزیم‌های مفیدی تولید می‌کنند که به هضم غذا کمک می‌کند. استفاده از آنها برای افزایش هضم و جذب مواد مغذی خوراک در این مطالعه بررسی شد.

روش کار: فعالیت آنزیمی ۴۶ سویه باکتری جداسازی شده از دستگاه گوارش مرغ گوشتی و شکمبه گاو شیری به روش چاهک روی محیط جامد حاوی سوبسترای آنزیمی مورد آزمایش قرار گرفت. باکتری‌هایی که بیشترین فعالیت آنزیمی را داشتند، جداسازی و تحت تیمارهای مختلف بر قابلیت هضم خوراک بررسی شدند. قابلیت هضم مواد غذایی با روش جمع‌آوری کل مدفوع در جوجه‌های نژاد آرین اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: یافته‌ها نشان داد که باکتری‌های شکمبه بطور مؤثری آنزیم‌های آمیلاز، پروتئاز، سلولاز، فیتاز و پکتیناز ترشح می‌کنند. هیچکدام از باکتریهای لاکتوباسیل جدا شده از دستگاه گوارش مرغ قادر به تولید آنزیم سلولاز و پکتیناز نبودند ولی بعضی از آنها فعالیت لیپازی و زایلانازی مناسبی داشتند که مشارکت‌های باکتریایی متنوعی شامل ۹ تیمار را تشکیل دادند. در آزمایش قابلیت هضم، ترکیب جدایه‌ها به طور قابل‌توجهی بر قابلیت هضم مواد مغذی در مرغ تأثیر گذاشت بطوریکه تیمار ۶ بیشترین قابلیت هضم ماده خشک و نشاسته و عملکرد مناسبی در فعالیت لیپازی داشت.

نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد باکتری‌های لاکتوباسیل توانایی تولید آنزیم‌های لیپاز و زایلانازی را دارند؛ اما باکتری‌های استخراج شده از شکمبه گاو هلشتاین دارای توانایی تولید آنزیم‌های سلولاز و پکتیناز و فاقد توانایی تولید لیپاز بودند. علاوه بر این، آنزیم‌های آمیلاز، فیتاز، سلولاز و لیپاز تولید و آزاد شده توسط مشارکت‌های باکتریایی به طور مؤثری مواد مغذی موجود در خوراک را تجزیه کردند که منجر به بهبود قابلیت هضم خوراک شد. براین اساس در بین تیمارهای مورد آزمایش تیمار۵ و ۶ بهترین عملکرد را نسبت به سایر تیمارها در بهبود قابلیت هضم خوراک مرغ گوشتی به خود اختصاص دادند و اجتماع مناسبی را ایجاد کردند.

کلیدواژه: آمیلاز، پروتئاز، سلولاز، جوجه گوشتی، قابلیت هضم مواد مغذی

مقدمه

در کشورهای درحال‌توسعه صنعت طیور سبب حفظ ثبات اقتصادی می‌شود و از طرفی اکوسیستم پیچیده میکروبی در دستگاه گوارش طیور به طور پیوسته با مواد مغذی موجود در خوراک و سلول‌های حیوان در ارتباط هستند (۱). همچنین از آنتی‌بیوتیک‌ها به‌منظور ایمنی و افزایش رشد و در نتیجه بهبود عملکرد در طیور استفاده می‌شود (۲). اما استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها در خوراک طیور محدود شده است (۳). در نتیجه پرورش‌دهندگان همراه با نیازهای موجود به دنبال مکمل‌های خوراکی ارزان و غیرسمی هستند و میکروارگانیسم‌های زنده با نام پروبیوتیک به‌عنوان یک ابزار غیرتهاجمی در صنعت طیور پدیدار شدند (۱). پروبیوتیک‌ها با کنترل میکروفلور روده، افزایش ایمنی، بهبود هضم و جذب مواد مغذی سبب بهبود عملکرد می‌شوند (۴). همچنین تحقیقات نشان داد که پروبیوتیک‌ها می‌توانند در دستگاه گوارش (۵) و در برابر نمک‌های صفراوی زنده بمانند (۶)، توانایی تشکیل کلنی در اپیتلیوم روده را دارند (۷)، ایجاد یک رابطه متقابل با میزبان (۸)، توانایی تولید اسیدهای آلی، باکتریوسین و پراکسید هیدروژن به‌عنوان متابولیت‌های مفید را نیز دارند (۹) و همچنین پروبیوتیک‌ها پاسخ‌های ایمنی را با تحریک تولید فاکتورهای ضدالتهابی و آنتی‌اکسیدانی و تقویت سد اپیتلیال تغییر می‌دهند (۱۰). پروبیوتیک با تولید آنزیم در دستگاه گوارش سبب هضم و جذب غذا می‌شوند، از طرفی بیان شده است که بهبود در هضم و جذب باعث افزایش رشد، راندمان خوراک و همچنین کاهش عوامل ضد تغذیه‌ای موجود در مواد تشکیل‌دهنده خوراک می‌شود (۱۱). به دلیل بالابودن قیمت خوراک طیور، بهترین راه‌حل برای رسیدن به سود بیشتر افزایش هضم و جذب مواد مغذی خوراک و کاهش دفع آنها از طریق مدفوع است؛ بنابراین هدف از این پژوهش شناسایی توانایی باکتری‌ها از دو منبع دستگاه گوارش طیور و شکمبه گاو شیری برای تولید آنزیم و تأثیر آن‌ها بر قابلیت هضم خوراک جوجه‌ها گوشتی می‌باشد همچنین بررسی عملکرد مشارکت باکتریایی مختلف در بهبود قابلیت هضم خوراک نیز یک هدف منحصر به فردی است که منجر به ایجاد یک واحد اکولوژیک در دستگاه گوارش می‌شود.

مواد و روش‌ها

در اولین مرحله آزمایش ۴۰ جدایه باکتری لاکتوباسیلوس جدا شده از دستگاه گوارش مرغ گوشتی (۱۲) و ۶ باکتری جداسازی شده از شکمبه گاو هلشتاین (۱۳) ارزیابی شدند که در جدول ۱ آورده شده است. برای جداسازی لاکتوباسیل‌ها از دستگاه گوارش (GI) جوجه‌های گوشتی، محتویات گوارشی ۱۲ جوجه گوشتی در سه سن مختلف جمع آوری و روی محیط کشت Man Rogosa and Sharp (MRS) آگار کشت داده شد و به منظور تعیین گونه‌های باکتریایی، کلنی‌های رشد یافته مختلف جدا شده و در معرض توالی ۱۶ قطعه DNA ریبوزومی قرار گرفتند(۱۲). برای جداسازی باکتری شکمبه، ابتدا محتوای شکمبه تازه از طریق فیستول شکمبه قبل از تغذیه صبح از سه گاو شیری هلشتاین سالم جمع‌آوری شد و مایع شکمبه از طریق چهار لایه گاز استریل فیلتر شده، در یک فلاسک جمع و به صورت بی‌هوازی در دمای ۳۹ درجه سلیسیوس به آزمایشگاه منتقل و به محیط کشت آبوآکادا و بلاکبورن (Abu-akkada and Blackburn, ۱۹۶۳) اضافه و سپس باکتری در محیط بی‌هوازی رشد داده شد و سپس سویه‌های موجود در آن شناسایی شد (۱۳). در گام نخست باکتری‌ها به‌منظور فعال‌سازی به محیط کشت اختصاصی انتقال یافتند و به مدت ۲۴ ساعت و در دمای ۳۷ درجه سلسیوس انکوبه شدند. برای بررسی فعالیت آنزیمی هر باکتری از روش چاهک در پلیت استفاده شد، بدین منظور محیط کشت حاوی باکتری سانتریفوژ و از محلول رویی آن در چاهک ایجاد شده در محیط‌های جامد واجد سوبسترای آنزیمی ریخته شد(۱۴). فعالیت آنزیم‌ها بصورت هاله‌ای اطراف چاهک نمایان شده که کمترین هاله با + و بیشترین هاله با +++ نشان داده شد همچنین بدون فعالیت آنزیمی با – نشان داده شد.

برای تولید یک مشارکت مناسب با توجه به نتایج فعالیت آنزیمی باکتری‌ها، باکتری‌هایی که فعالیت آنزیمی بالایی برای هر سوبسترا نشان دادند در یک گروه قرار گرفتند به‌طوریکه هر گروه قابلیت تجزیه هر یک از سوبسترای مورد آزمایش را داشته باشد. بر این اساس ۹ تیمار از ترکیب باکتری‌ها تشکیل شد و به خوراک به‌صورت سرک اضافه شد. قابلیت هضم خوراک‌ها با استفاده از ۱۸ قطعه جوجه‌های گوشتی نر سویه آرین مورد بررسی قرار گرفت. به ازای هر تیمار یک قفس متابولیکی که در هر قفس ۲ قطعه پرنده از سن ۲۱تا ۲۷ روزگی مورد ارزیابی قرار گرفتند. تیمارهای مورد آزمایش شامل:

۱) شاهد (بدون پروبیوتیک)

۲) شاهد + مکمل پروبیوتیک شامل (استرپتوکوکوس رومینانتیوم(R1)، میتسوکلا مولتی اسیدوس (R5)و انتروباکترکلوآسه(R6))

۳) شاهد + مکمل پروبیوتیک شامل (کلبسیلا پونومونیه (R3) و پریوتلا رومینوکولا(R4))

۴) شاهد + مکمل پروبیوتیک شامل (لاکتوباسیلوس کریسپاتوس(5G)، لاکتوباسیلوس سالیواروس (6G) و لاکتوباسیلوس براویس)

۵) شاهد + مکمل پروبیوتیک شامل (لاکتوباسیلوس کریسپاتوس (۵ ceco)، لاکتوباسیلوس سالیواروس (9ceco) و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس)

۶) شاهد + مکمل پروبیوتیک شامل (استرپتوکوکوس رومینانتیوم(R1)، میتسوکلا مولتی اسیدوس (R5)و انتروباکترکلوآسه(R6)، لاکتوباسیلوس کریسپاتوس(5G)، لاکتوباسیلوس سالیواروس (6G) و لاکتوباسیلوس براویس)

۷) شاهد + مکمل پروبیوتیک شامل (استرپتوکوکوس رومینانتیوم(R1)، میتسوکلا مولتی اسیدوس (R5)و انتروباکترکلوآسه(R6)، لاکتوباسیلوس کریسپاتوس (5 ceco)، لاکتوباسیلوس سالیواروس (9ceco)و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس)

۸) شاهد + مکمل پروبیوتیک شامل (کلبسیلا پونومونیه (R3) و پریوتلا رومینوکولا(R4)، لاکتوباسیلوس کریسپاتوس(5G)، لاکتوباسیلوس سالیواروس (6G) و لاکتوباسیلوس براویس)

۹) شاهد + مکمل پروبیوتیک شامل (کلبسیلا پونومونیه (R3) و پریوتلا رومینوکولا(R4)، لاکتوباسیلوس کریسپاتوس (5 ceco)، لاکتوباسیلوس سالیواروس (9ceco) و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس)

جهت اندازه‌گیری قابلیت هضم ظاهری مواد مغذی از روش جمع‌آوری کل فضولات استفاده شد. به‌طوری‌که از سن ۲۱ تا ۲۴ روزگی در قفس‌های متابولیکی به‌منظور عادت‌پذیری قرار گرفتند. بعد از سپری شدن دوره

انطباق پرندگان با خوراک آزمایشی و شرایط پرورش، به مدت ۱۲ ساعت به‌منظور تخلیه کامل دستگاه گوارش پرندگان مورد مطالعه گرسنگی داده شدند سپس ۴۸ ساعت تیمارهای آزمایشی در اختیار پرندگان قرار گرفت و بعد از گذر این زمان مجدداً ۱۲ ساعت گرسنگی اعمال شد. در کل مراحل گفته شده تمامی فضولات جمع‌آوری و تا زمان تجزیه شیمیایی در فریزر ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری شدند. نمونه‌های مواد هضمی در آون در دمای ۶۰ درجه‌ی سلسیوس به مدت ۷۲ ساعت خشک، توزین و آسیاب شد، پس از آن قابلیت هضم مواد مغذی (ماده خشک، پروتئین، چربی، فسفر فیتاته و نشاسته) طبق روش‌های AOAC (۱۹۹۵) در ۳ تکرار تخمین زده شدند.

این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد و در نهایت داده‌های به‌دست‌آمده از آزمایش با نرم‌افزار Excel پردازش و با استفاده از رویه مدل خطی با نرم‌افزار آماری SAS برای مدل آماری (رابطه یک) مورد تجزیه واریانس قرار گرفتند. مقایسات میانگین با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد صورت پذیرفت.

رابطه یک: $Yij=\mu+\alpha i+eij$

Yij = مقدار صفت اندازه‌گیری شده، μ = میانگین صفت در جامعه‌ی موردنظر، αi = اثر پروبیوتیک، eij= اثر خطای آزمایش.

جدول ۱- سویه‌های باکتری

نام اختصاری	سویه باکتری	شماره	نام اختصاری	سویه باکتری	شماره
2 C	لاکتوباسیلوس کریسپاتوس	24	*4 int*	لاکتوباسیلوس روتری	1
7 ceco	لاکتوباسیلوس کریسپاتوس	25	*6 int*	لاکتوباسیلوس سالیواریس	2
13 C	لاکتوباسیلوس کریسپاتوس	26	*Plant 14914*	لاکتوباسیل پلانتاروم	3
7 G	لاکتوباسیلوس کریسپاتوس	27	*4 G*	لاکتوباسیلوس جانسونی	4
1 C	لاکتوباسیلوس کریسپاتوس	28	*6 ceco*	لاکتوباسیلوس سالیواروس	5
3 C	لاکتوباسیلوس روتری	29	*8 int*	لاکتوباسیلوس کریسپاتوس	6
2 int	لاکتوباسیلوس کریسپاتوس	30	*8 C*	لاکتوباسیلوس کریسپاتوس	7
9 ceco	لاکتوباسیلوس کریسپاتوس	31	*3 int*	لاکتوباسیلوس سالیواروس	8
6 G	لاکتوباسیلوس سالیواروس	32	*8 G*	لاکتوباسیلوس جانسونی	9
5 C	لاکتوباسیلوس کریسپاتوس	33	*1 int*	لاکتوباسیلوس کریسپاتوس	10
4 ceco	لاکتوباسیلوس کریسپاتوس	34	*7 C*	لاکتوباسیلوس روتری	11
10 ceco	لاکتوباسیلوس روتری	35	*3 G*	لاکتوباسیلوس سالیواروس	12
10 C	لاکتوباسیلوس جانسونی	36	*5 G*	لاکتوباسیلوس سالیواروس	13
La5Acid	لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس	37	*8 ceco*	لاکتوباسیلوس سالیواروس	14
5 int	لاکتوباسیلوس براویس	38	*12 C*	لاکتوباسیلوس کریسپاتوس	15
7 int	لاکتوباسیلوس جانسونی	39	*11 C*	لاکتوباسیلوس اوریس	16
13 ceco	لاکتوباسیلوس کریسپاتوس	40	*1 G*	لاکتوباسیلوس کریسپاتوس	17
R1	استرپتوکوکوس رومینانتیوم	41	*2 ceco*	لاکتوباسیلوس روتری	18
R2	سلنوموناس رومینانتیوم	42	*1 ceco*	لاکتوباسیلوس اتروچ 5	19
R3	کلبسیلا پنومونیه	43	*5 ceco*	لاکتوباسیلوس کریسپاتوس	20
R4	پریوتلا رومینوکولا	44	*3 ceco*	لاکتوباسیلوس کریسپاتوس	21
R5	میتسوکلا مولتی اسیدوس	45	*10 ceco*	لاکتوباسیلوس سالیواروس	22
R6	انتروباکترکلوآسه	46	*2 G*	لاکتوباسیلوس روتری	23

نتایج و بحث

بررسی فعالیت آنزیمی باکتری‌ها با استفاده از روش چاهک پلیت در جدول شماره ۲ آورده شده است. باتوجه‌به نتایج به‌دست‌آمده، همه‌ی باکتری‌ها به جز لاکتوباسیلوس جانسونی (4G)، لاکتوباسیلوس سالیواروس (3G)، لاکتوباسیلوس کریسپاتوس (3ceco) و لاکتوباسیلوس کریسپاتوس (3C) فعالیت پروتئازی داشتند، به طوریکه باکتری‌های کلبسیلاپونومونیه (R3)، پریوتلارومینوکولا (R4)، میتسوکلاملتی اسیدوس (R5) و انتروباکترکلوآسه (R6) بالاترین میزان تولید آنزیم پروتئاز را به خود اختصاص دادند. تمامی باکتری‌های به جز لاکتوباسیلوس کریسپاتوس (۱۳ C) و لاکتوباسیلوس روتری (7C) فعالیت آمیلازی از خود نشان دادند که در این بین باکتری‌های استرپتوکوکوس رومینانتوم (R1)، میتسوکلاملتی اسیدوس (R5)، انتروباکترکلوآسه (R6) و کلبسیلاپونومونیه (R3) بالاترین میزان فعالیت آمیلازی را نشان دادند. همچنین باکتری‌های لاکتوباسیلوس روتری (4int)، لاکتوباسیلوس سالیواریس (6int)، لاکتوباسیلوس جانسونی (4G)، لاکتوباسیلوس سالیواروس (5G)، لاکتوباسیلوس اتروچ ۵ (1ceco)، لاکتوباسیلوس کریسپاتوس (5ceco)، لاکتوباسیلوس کریسپاتوس (7G)، لاکتوباسیلوس کریسپاتوس (3C)، لاکتوباسیلوس کریسپاتوس (2int)، لاکتوباسیلوس سالیواروس (9ceco)، لاکتوباسیلوس کریسپاتوس (6G)، لاکتوباسیلوس روتری (4ceco)، لاکتوباسیلوس جانسونی (5int)، لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس (La5Acid) و لاکتوباسیلوس براویس (Brevis) دارای فعالیت آنزیم لیپازی بودند. بعلاوه تنها باکتری‌های استرپتوکوکوس رومینانتوم (R1)، سلنوموناس رومیناتیوم (R2) کلبسیلاپونومونیه (R3)، پریوتلارومینوکولا (R4)، میتسوکلاملتی اسیدوس (R5) و انتروباکترکلوآسه (R6) دارای فعالیت سلولازی و پکتینازی بودند. همچنین باکتری‌های لاکتوباسیلوس جانسونی (4G) و لاکتوباسیلوس جانسونی (8G) توانایی تولید آنزیم زایلاناز را نداشتند ولی سایر باکتری‌ها زایلاناز را ترشح می‌کنند و در این بین باکتری‌های لاکتوباسیلوس سالیواروس (8ceco)، لاکتوباسیلوس اوریس (11C)، لاکتوباسیلوس کریسپاتوس (5ceco)، لاکتوباسیلوس کریسپاتوس (3ceco)، لاکتوباسیلوس کریسپاتوس (2G)، لاکتوباسیلوس کریسپاتوس (7int)، لاکتوباسیلوس پلانتاروم (4C)، استرپتوکوکوس رومینانتوم (R1)، پریوتلارومینوکولا (R4) و انتروباکترکلوآسه (R6) بالاترین فعالیت زایلانازی را به خود اختصاص دادند. باکتری‌های لاکتوباسیلوس جانسونی(4G)، لاکتوباسیلوس سالیواروس(3G)، لاکتوباسیلوس کریسپاتوس (2G)، لاکتوباسیلوس سالیواروس (10ceco)، لاکتوباسیلوس کریسپاتوس (3ceco)، سلنوموناس رومیناتیوم (R2)، پریوتلارومینوکولا (R4) و میتسوکلاملتی اسیدوس (R5) فاقد فعالیت فیتازی و باکتری‌های لاکتوباسیلوس کریسپاتوس (7ceco)، لاکتوباسیلوس سالیواروس (9ceco)، کلبسیلا پونومونیه (R3) و لاکتوباسیلوس کریسپاتوس (6G) بیشترین فعالیت فیتازی را از خود نشان دادند.

جدول ۲- بررسی فعالیت آنزیمی باکتری‌ها با استفاده از روش چاهک پلیت

ردیف	سویه باکتری	فیتاز	پکتیناز	زایلاناز	سلولاز	لیپاز	آمیلاز	پروتئاز
1	لاکتوباسیلوس روتری 4 int	+	-	+	-	+	+	+
2	لاکتوباسیلوس سالیواریس 6 int	+	-	+	-	+	+	+
3	لاکتوباسیل پلانتاروم 14914	+	-	+	-	-	+	+
4	لاکتوباسیلوس جانسونی 4 G	-	-	-	-	+	+	-
5	لاکتوباسیلوس سالیواروس 6 ceco	+	-	+	-	-	+	+
6	لاکتوباسیلوس کریسپاتوس 8 int	+	-	+	-	-	+	+
7	لاکتوباسیلوس کریسپاتوس 8 c	+	-	+	-	-	+	+
8	لاکتوباسیلوس سالیواروس 3 int	+	-	+	-	-	+	+
9	لاکتوباسیلوس جانسونی 8 G	+	-	-	-	-	+	+
10	لاکتوباسیلوس کریسپاتوس 1 int	+	-	+	-	-	+	+
11	لاکتوباسیلوس روتری 7 C	+	-	+	-	-	+	+
12	لاکتوباسیلوس سالیواروس 3 G	-	-	+	-	-	+	-
13	لاکتوباسیلوس سالیواروس 5 G	++	-	+	-	++	++	+
14	لاکتوباسیلوس سالیواروس 8 ceco	++	-	++	-	-	+	+
15	لاکتوباسیلوس کریسپاتوس 12 C	+	-	+	-	-	+	+

جدول ۲- بررسی فعالیت آنزیمی باکتری‌ها با استفاده از روش چاهک پلیت

ردیف	سویه باکتری	فیتاز	پکتیناز	زایلاناز	سلولاز	لیپاز	آمیلاز	پروتئاز
16	لاکتوباسیلوس اوریس 11 C	+	-	++	-	-	++	+
17	لاکتوباسیلوس کریسپاتوس 1 G	+	-	+	-	-	+	+
18	لاکتوباسیلوس روتری 2 ceco	++	-	+	-	-	+	+
19	لاکتوباسیلوس اتروچ 5 1 ceco	+	-	+	-	++	+	+
20	لاکتوباسیلوس کریسپاتوس 5 ceco	+	-	++	-	++	+	+
21	لاکتوباسیلوس کریسپاتوس 3 ceco	-	-	++	-	-	+	-
22	لاکتوباسیلوس سالیواروس 10 ceco	-	-	+	-	-	+	+
23	لاکتوباسیلوس روتری 2 G	-	-	++	-	-	+	+
24	لاکتوباسیلوس کریسپاتوس 2 C	+	-	+	-	-	+	+
25	لاکتوباسیلوس کریسپاتوس 7 ceco	+++	-	+	-	-	+	+
26	لاکتوباسیلوس کریسپاتوس 13 C	+	-	+	-	-	-	+
27	لاکتوباسیلوس کریسپاتوس 7 G	+	-	+	-	+	_	+
28	لاکتوباسیلوس روتری 3 C	+	-	+	-	-	+	+
29	لاکتوباسیلوس کریسپاتوس 2 int	+	-	+	-	++	+	+
30	لاکتوباسیلوس کریسپاتوس 9 ceco	++	-	+	-	+	+	+
31	لاکتوباسیلوس سالیواروس 6 G	+++	-	+	-	+	+	+
32	لاکتوباسیلوس کریسپاتوس 5 C	+++	-	+	-	++	+	+
33	لاکتوباسیلوس کریسپاتوس 4 ceco	++	-	+	-	-	+	+
34	لاکتوباسیلوس روتری 10 ceco	++	-	+	-	+	+	+
35	لاکتوباسیلوس جانسونی 10 C	++	-	+	-	-	+	+
36	لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس La5Acid	+	-	+	-	++	++	+
37	لاکتوباسیلوس براویس	+	-	+	-	++	++	+
38	لاکتوباسیلوس جانسونی 7 int	+	-	+	-	+	+	+
39	لاکتوباسیلوس کریسپاتوس 13 ceco	+	-	++	-	-	+	+
40	لاکتوباسیلوس پلانتاروم 4 C	++	-	+	-	-	+	-
41	استرپتوکوکوس رومینانتیوم 1 R	++	+	++	+	-	+++	+
42	سلنوموناس رومینانتیوم 2 R	-	+	+	+	-	++	+
43	کلبسیلا پنومونیه 3 R	+++	++	+	+	-	+++	++
44	پریوتلا رومینوکولا 4 R	-	++	++	+	-	+	++
45	میتسوکلا مولتی اسیدوس 5 R	-	++	+	+	-	+++	++
46	انتروباکترکلوآسه 6 R	+	++	++	+	-	+++	+++

انتخاب باکتری‌ها براساس فعالیت این آنزیم‌ها انجام گرفته است.

قابلیت هضم ظاهری مواد مغذی در جوجه‌های گوشتی نژاد آرین در جدول ۳ آورده شده است. باتوجه‌به نتایج به‌دست‌آمده در این تحقیق قابلیت هضم ظاهری پروتئین تحت‌تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت (P>۰/۰۵) در حالی‌که قابلیت هضم ماده خشک، چربی، فسفر و نشاسته به طور معنی‌دار تحت‌تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفتند (P<۰/۰۵). به طوری‌که بیشترین میزان قابلیت هضم چربی و فسفر فیتاته را تیمار ۵ به خود اختصاص داد و همچنین بیشترین میزان قابلیت هضم ماده خشک و نشاسته در تیمار ۶ مشاهده شد. باتوجه‌به نتایج بدست آمده تیمار ۶ به دلیل بالاترین درصد قابلیت هضم نشاسته و ماده خشک (P>۰/۰۵) و همچنین قابلیت هضم چربی مناسب و همچنین تیمار ۵ به دلیل بالاترین قابلیت هضم فسفر فیتاته و چربی می‌توانند هر کدام یک مشارکت باکتریایی مناسبی را برای بهبود قابلیت هضم مواد مغذی در جوجه‌های گوشتی نژاد آرین ایجاد کنند.

مطابق با نتایج این پژوهش، گزارش شده است که لاکتوباسیل‌ها توانایی تولید لاکتاز، پروتئاز، پپتیداز، فروکتاناز، آمیلاز، هیدرولاز نمک صفراوی، فیتاز و استراز را به طور گسترده دارند (۱۵). همچنین نتایج پژوهش دیگری نشان داد که لاکتوباسیلوس پلانتاریوم می‌تواند آنزیم پروتئاز (۱۶) و آمیلاز (۱۷) را ترشح کند. باکتری سلنوموناس رومینانتیوم در محیط کشت حاوی گلوکز و لاکتوز به‌خوبی رشد کرده و آنزیم آلفا و بتا آمیلاز از خود ترشح می‌کنند (۱۸) و این باکتری توانایی تولید پروتئاز را نیز دارد (۱۹). بعلاوه باکتری‌های شکمبه نیز می‌توانند آنزیم‌های موردنیاز برای تجزیه سلولز، همی سلولزها و پلیمرهای فنلی تولید کنند (۲۰-۲۱). همچنین لاکتوباسیلوس سالیواریس توانایی تولید آنزیم فیتاز را دارد (۲۲). در مطالعات دیگری نیز بیان شد که گونه‌هایی مانند لاکتوباسیلوس سالیواریس و لاکتوباسیلوس کریسپاتوس فعالیت فیتازی دارند (۲۳-۲۴). محققین نشان دادند که باکتری لاکتوباسیلوس اسیدفیلوس دارای فعالیت لیپازی است (۲۵) و کربوهیدرات‌های ساده را به اسیدلاکتیک تبدیل می‌کند (۲۶-۲۷). Zhang و همکاران (۲۸) در بررسی که بر روی افزودن مکمل پروبیوتیک در آب آشامیدنی جوجه‌های گوشتی نر که به‌صورت تصادفی به ۷ تیمار که شامل شاهد، تیمار حاوی ۱ درصد لاکتوباسیلوس کازیی (P1)، تیمار حاوی ۱ درصد لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس (P2)، تیمار حاوی بیفیدوباکتریوم لاکتیس (P3) و سه تیمار بعدی به‌صورت مخلوط پروبیوتیک به ترتیب نسبت‌های ۲:۱:۱ (CP1)، ۱:۲:۱ (CP2) و ۱:۱:۲ (CP3) گزارش کردند که تیمارهای CP و P۳ فعالیت آمیلاز، لیپاز و تریپسین را به طور قابل‌توجهی افزایش دادند. از طرفی محققین بیان کردند که لاکتوباسیل‌ها می‌توانند آنزیم‌های لازم جهت هضم و جذب کربوهیدرات‌های غیرقابل‌هضم را تولید کنند (۲۹). Saleh و همکاران (۳۰) گزارش کردند که افزودن آویلامایسین و لاکتوباسیلوس به جیره قابلیت هضم CF ، CP، DM و EE در پرندگان افزایش می‌دهد، درحالی‌که به طور طبیعی پرندگان قادر به تولید آنزیم‌ها مانند سلولاز و زایلاناز نیستند در نتیجه این بهبود قابلیت هضم به دلیل ترشح آنزیم توسط پروبیوتیک‌ها می‌باشد (۳۱-۳۲-۳۳). بعلاوه لاکتوباسیلوس‌ها به‌وسیله تخمیر میکروبی سبب افزایش فعالیت‌های آمیلاز، پروتئیناز، تریپسین و لیپاز در روده کوچک طیور می‌شوند (۳۴-۳۵). اما در کل می‌توان چنین بیان کرد که تحت‌تأثیر قرارگرفتن قابلیت هضم مواد مغذی ممکن است به این دلیل باشد که پروبیوتیک‌ها سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های گوارشی

جدول ۳- قابلیت هضم ظاهری مواد مغذی در جوجه‌های گوشتی نژاد آرین (درصد)

تیمارها	نشاسته	فسفر فیتاته	چربی	پروتئین	ماده خشک
شاهد	12.60^{h}	41.65^{g}	88.274^{bc}	73.137	88.43^{d}
تیمار 2	56.87^{c}	51.17^{e}	91.555^{b}	74.841	82.03^{f}
تیمار 3	29.65^{f}	61.43^{b}	88.420^{bc}	73.249	93.18^{b}
تیمار 4	29.88^{e}	21.62^{i}	85.070^{cd}	73.911	77.52^{g}
تیمار 5	54.28^{d}	71.05^{a}	93.808^{a}	73.827	83.76^{e}
تیمار 6	84.97^{a}	55.00^{c}	91.512^{b}	73.176	95.45^{a}
تیمار 7	15.89^{g}	53.84^{d}	91.524^{b}	72.767	60.40^{i}
تیمار 8	66.21^{b}	36.00^{h}	83.137^{d}	72.202	89.81^{c}
تیمار 9	10.22^{i}	50.1^{f}	90.200^{b}	70.436	75.73^{h}
SEM	6.063	0.033	1.101	0.435	2.464
P-Value	0.0001	0.0001	0.0001	0.605	0.0001

میانگین‌های هر ستون با حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند (P<۰/۰۵).

می‌شوند این افزایش فعالیت آنزیم‌های گوارشی به بهبود استفاده از خوراک و در دسترس قرار دادن مواد مغذی در روده برای طیور منجر می‌شود (۲۸). مطالعات نشان داده است که لاکتوباسیل‌ها می‌توانند فعالیت آنزیم‌های گوارشی در روده کوچک را تحریک کنند (۳۶-۳۷). از طرفی محققین بیان کردند که تعداد زیادی از SCFAs تولید شده در طی متابولیسم پروبیوتیک، انرژی لازم برای رشد سلول‌های اپیتلیال روده را فراهم می‌کند، رشد مخاط روده را تحریک می‌کند، سطح جذب روده را افزایش می‌دهد و کارایی استفاده از خوراک را نیز در جوجه‌های گوشتی بهبود می‌بخشد (۳۸-۳۹). علاوه بر این، پروبیوتیک‌ها به دلیل فعالیت آنتی‌اکسیدانی خود می‌توانند ریخت‌شناسی روده را بهبود ببخشند (۲۸). آن‌ها می‌توانند تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن را مهار کنند، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی را افزایش دهند و از آسیب اکسیداتیو به پرزهای روده جلوگیری کنند (۴۰). به‌علاوه رشد باکتری‌های مضر را مهار کنند، دستگاه روده را از عفونت محافظت کند و محیط بهتری را برای بقای آنزیم فراهم کند (۴۱). در نتیجه سبب بهبود هضم و جذب مواد مغذی می‌شوند (۲۸). همچنین باکتری لاکتوباسیلوس براویس متابولیسم لیپید و فعالیت آنزیم‌های گوارشی در جوجه‌های گوشتی را بهبود بخشید (۴۲). همچنین در مطالعه‌ی دیگری بیان شد که لاکتوباسیلوس کریسپاتوس در متابولیسم لیپید کبد برای کاهش رسوب چربی شکمی در جوجه‌های گوشتی شرکت می‌کند و نقش مهمی در متابولیسم چربی دارد و سبب کاهش کلسترول تام و تری‌گلیسرید در جوجه‌های گوشتی می‌شود (۴۳). به‌علاوه تحقیقات نشان داد که لاکتوباسیلوس سالیواروس به نوبه خود، سطح نمک صفراوی مزدوج را افزایش می‌دهد و هضم چربی را در جوجه‌های گوشتی بهبود می‌بخشد (۴۴). نتایج مطالعه‌ی دیگری بیان کرد که باکتری لاکتوباسیلوس کریسپاتوس جدا شده از روده جوجه‌های گوشتی توانایی تجزیه‌کردن نشاسته را دارا بوده و توانایی تولید آنزیم آمیلاز را دارد (۴۵).

نتیجه‌گیری کلی

باتوجه به مشاهدات این آزمایش می‌توان چنین نتیجه گرفت که به ترتیب تیمارهای ۶ (شامل شش گونه باکتری شامل ۳ جدایه لاکتوباسیل از منبع دستگاه گوارش مرغ و ۳ جدایه از شکمبه گاو شیری) و ۵ (شامل ۳ جدایه از دستگاه گوارش مرغ) یک ساختار مناسبی از مشارکت باکتریایی ایجاد کردند. بطوری که تیمار ۶ در بهبود قابلیت هضم ماده خشک، نشاسته و تا حدودی چربی خوراک و تیمار ۵ بر قابلیت هضم فسفر فیتاته و چربی بهتر از سایر تیمارها بودند. لذا با توجه به نزدیک بودن عملکرد این دو مکمل بر قابلیت هضم، پیشنهاد می‌شود که اثر آنها بر شاخص‌های عملکردی تولید در مرغ گوشتی نیز آزمون شود تا مکمل بهتر مشخص گردد.

تعارض منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان وجود ندارد.

منابع مورد استفاده

1-Patel N, Borase H, Belewu MA, Krishnamurthy R. Production, Cost Analysis, and Marketing of Livestock and Poultry Probiotic. Food Microbiol. Based Entrepreneurship: Making Money From Microbes 2023 Jan 1 (pp. 233-251). Singapore: Springer Nature Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-19-5041-4_13.

2- Hussien A, Ismael E, Elleithy EM, Kamel S, Hamza DA, Ismail EY, Fahmy KN. Influence of Bacillus subtilis and Bacillus licheniformis probiotic supplementation via the drinking water on performance and gut health of broiler chickens. J. Adv. Vet. Res. 2023 Jan 2;13(1):94-102.

3- Wang B, Wu Q, Yu S, Lu Q, Lv X, Zhang M, Kan Y, Wang X, Zhu Y, Wang G, Wang Q. Host-derived bacillus spp. as probiotic additives for improved growth performance in broilers. Poult. Sci. 2023 Jan 1;102(1):102240. https://doi.org/10.1016/j.psj.2022.102240

4- Tarradas J, Tous N, Esteve-Garcia E, Brufau J. The control of intestinal inflammation: A major objective in the research of probiotic strains as alternatives to antibiotic growth promoters in poultry. E.M. 2020 Jan 21;8(2):148. https://doi.org/10.3390/microorganisms8020148

5- Corcoran BM, Stanton C, Fitzgerald GF, Ross R. Survival of probiotic lactobacilli in acidic environments is enhanced in the presence of metabolizable sugars. AEM. 2005 Jun;71(6):3060-7. https://doi.org/10.1128/AEM.71.6.3060-3067.2005

6- Singhal N, Maurya AK, Mohanty S, Kumar M, Virdi JS. Evaluation of bile salt hydrolases, cholesterol-lowering capabilities, and probiotic potential of Enterococcus faecium isolated from rhizosphere. Front. microbiol. 2019 Jul 16;10:1567. https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01567

7- Han S, Lu Y, Xie J, Fei Y, Zheng G, Wang Z, Liu J, Lv L, Ling Z, Berglund B, Yao M. Probiotic gastrointestinal transit and colonization after oral administration: A long journey. Front. cell. infect. microbiol. 2021 Mar 10;11:609722. https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.609722

8- Lebeer S, Vanderleyden J, De Keersmaecker SC. Host interactions of probiotic bacterial surface molecules: comparison with commensals and pathogens. Nat. Rev. Microbiol. 2010 Mar;8(3):171-84. https://doi.org/10.1038/nrmicro2297.

9- Gerbaldo GA, Barberis C, Pascual L, Dalcero A, Barberis L. Antifungal activity of two Lactobacillus strains with potential probiotic properties. FEMS Microbiol. Lett. 2012 Jul 1;332(1):27-33. https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2012.02570.x.

10- Sankarapandian V, Venmathi Maran BA, Rajendran RL, Jogalekar MP, Gurunagarajan S, Krishnamoorthy R, Gangadaran P, Ahn BC. An update on the effectiveness of probiotics in the prevention and treatment of cancer. Life. 2022 Jan 2;12(1):59. https://doi.org/10.3390/life12010059.

11- Assan D, Kuebutornye FK, Hlordzi V, Chen H, Mraz J, Mustapha UF, Abarike ED. Effects of probiotics on digestive enzymes of fish (finfish and shellfish); status and prospects: a mini review. CBP Part B: BMB. 2022 Jan 1;257:110653. https://doi.org/10.1016/j.cbpb.2021.110653.

12- Heravi RM, Kermanshahi H, Sankian M, Nassiri MR, Moussavi AH, Nasiraii LR, Varasteh AR. Screening of lactobacilli bacteria isolated from gastrointestinal tract of broiler chickens for their use as probiotic. Afr. J. Microbiol. Res. 2011 Jul 18;5(14):1858-68. https://doi.org/10.5897/AJMR11.416.

13- Abou Akkada A, Blackburn T (1963) Some observations on the nitrogen metabolism of rumen proteolytic bacteria. Microbiology 31(3):461-469. https://doi.org/10.1099/00221287-31-3-461

14- Soudi M, Nasr S. Isolation of yeasts from rice farms and study of secretory enzyme profile in two species of the genus Pseudozyma. Cellular and Molecular Research (Iran. J. Biotechnol.). 2015 May 22;28(1):23-34.

15- Maske BL, de Melo Pereira GV, Vale AD, de Carvalho Neto DP, Karp SG, Viesser JA, Lindner JD, Pagnoncelli MG, Soccol VT, Soccol CR. A review on enzyme-producing lactobacilli associated with the human digestive process: From metabolism to application. Enzyme Microb. Technol. 2021 Sep 1;149:109836. https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2021.109836.

16- Mtshali PS, Divol B, Van Rensburg P, Du Toit M. Genetic screening of wine-related enzymes in Lactobacillus species isolated from South African wines. J. Appl. Microbiol. 2010 Apr 1;108(4):1389-97. https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2009.04535.x.

17- Woo SH, Shin YJ, Jeong HM, Kim JS, Ko DS, Hong JS, Choi HD, Shim JH. Effects of maltogenic amylase from Lactobacillus plantarum on retrogradation of bread. J. Cereal Sci. 2020 May 1;93:102976. https://doi.org/10.1016/j.jcs.2020.102976.

18- Kamio Y, Terawaki Y, Nakajima T, Matsuda K. Structure of glycogen produced by Selenomonas ruminantium. Agric. Biol. Chem. 1981 Jan 1;45(1):209-16. https://doi.org/10.1271/bbb1961.45.209.

19- Ravindran B, Gayathri V, Priya DM, Kanimozhi S, Sekaran G. Hydrolysis of proteinaceous tannery solid waste for the production of extracellular acidic protease by Selenomonas ruminantium. AJB. 2012;11(56):11978-90. https://doi.org/10.5897/AJB11.2484.

20- Adeyemi OA, Familade F. Replacement of maize by rumen filtrate fermented corn-cob in layer diets. Bioresour. Technol. 2003 Nov 1;90(2):221-4. https://doi.org/10.1016/S0960-8524(03)00108-1.

21- Wang Y, and McAllister TA. Rumen microbes, enzymes and feed digestion-a review. AJAS. 2002. 15(11), pp.1659-1676.

22- Lee NK, Lee EK, Paik HD. Potential probiotic properties of phytase-producing Lactobacillus salivarius FC113. Ann. Microbiol. 2013 Jun;63:555-60. https://doi.org/10.1007/s13213-012-0503-y.

23- NCBI. National Center for Biotechnology Information, Bethesda, MD (2016) Accessed Feb. 2020 www.ncbi.nlm.nih.gov.

24- Nuobariene L, Cizeikiene D, Gradzeviciute E, Hansen ÅS, Rasmussen SK, Juodeikiene G, Vogensen FK. Phytase-active lactic acid bacteria from sourdoughs: Isolation and identification. LWT- FS&T. 2015 Sep 1;63(1):766-72. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.03.018.

25- Akter MN, Hashim R, Sutriana A, Siti Azizah MN, Asaduzzaman M. Effect of Lactobacillus acidophilussupplementation on growth performances, digestive enzyme activities and gut histomorphology of striped catfish (Pangasianodon hypophthalmusSauvage, 1878) juveniles. Aquac. Res. 2019 Mar;50(3):786-97. https://doi.org/10.1111/are.13938.

26- Gaggìa F, Mattarelli P, Biavati B. Probiotics and prebiotics in animal feeding for safe food production. Int. J. Food Microbiol. 2010 Jul 31;141:S15-28. https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.02.031.

27- Sugiharto S. Role of nutraceuticals in gut health and growth performance of poultryJ. Saudi Soc. Agric. Sci. 2016 Jun 1;15(2):99-111. https://doi.org/10.1016/j.jssas.2014.06.001.

28- Zhang L, Wang Y, Zhang R, Jia H, Liu X, Zhu Z. Effects of three probiotics and their interactions on the growth performance of and nutrient absorption in broilers. PeerJ. 2022 May 17;10:e13308. https://doi.org/10.7717/peerj.13308.

29- Mahdavi AH, Rahmani HR, Pourreza J. Effect of probiotic supplements on egg quality and laying hen's performance. Int. j. poult. sci. 2005;4(7):488-92. https://doi.org/10.3923/ijps.2005.488.492.

30- Saleh AA, Amber K, Mohammed AA. Dietary supplementation with avilamycin and Lactobacillus acidophilus effects growth performance and the expression of growth-related genes in broilers. Anim. Sci. J. 2020 Apr 23;60(14):1704-10. https://doi.org/10.1071/AN19030.

31- Saleh AA, Hayashi K, Ohtsuka A. Synergistic effect of feeding Aspergillus awamori and Saccharomyces cerevisiae on growth performance in broiler chickens; promotion of protein metabolism and modification of fatty acid profile in the muscle. Poult. Sci. 2013 Jul 25;50(3):242-50. https://doi.org/10.2141/jpsa.0120153.

32- Saleh AA, Eid YZ, Ebeid TA, Kamizono T, Ohtsuka A, Hayashi K. Effects of feeding Aspergillus awamori and Aspergillus niger on growth performance and meat quality in broiler chickens. Poult. Sci. 2011 Jul 25;48(3):201-6. https://doi.org/10.2141/jpsa.011019.

33- Yamamoto M, Saleh F, Ohtsuka A, Hayashi K. New fermentation technique to process fish waste. Anim. Sci. J. 2005 Jun;76(3):245-8. https://doi.org/10.1111/j.1740-0929.2005.00262.x.

34- Xu ZR, Hu CH, Xia MS, Zhan XA, Wang MQ. Effects of dietary fructooligosaccharide on digestive enzyme activities, intestinal microflora and morphology of male broilers. Poult. Sci. 2003 Jun 1;82(6):1030-6. https://doi.org/10.1093/ps/82.6.1030.

35- Abdel-Moneim AM, Selim DA, Basuony HA, Sabic EM, Saleh AA, Ebeid TA. Effect of dietary supplementation of Bacillus subtilis spores on growth performance, oxidative status, and digestive enzyme activities in Japanese quail birds. Trop. Anim. Health Prod. 2020 Mar;52:671-80. https://doi.org/10.1007/s11250-019-02055-1.

36- Jin LZ, Ho YW, Abdullah N, Jalaludin S. Digestive and bacterial enzyme activities in broilers fed diets supplemented with Lactobacillus cultures. Poult. Sci. 2000 Jun 1;79(6):886-91. https://doi.org/10.1093/ps/79.6.886.

37- 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 Jun 1;97(6):2034-43. https://doi.org/10.3382/ps/pey035.

38- Wang S, Peng Q, Jia HM, Zeng XF, Zhu JL, Hou CL, Liu XT, Yang FJ, Qiao SY. Prevention of Escherichia coli infection in broiler chickens with Lactobacillus plantarum B1. Poult. Sci. 2017 Aug 1;96(8):2576-86.

39- Biasato I, Ferrocino I, Biasibetti E, Grego E, Dabbou S, Sereno A, Gai F, Gasco L, Schiavone A, Cocolin L, Capucchio MT. Modulation of intestinal microbiota, morphology and mucin composition by dietary insect meal inclusion in free-range chickens. BMC Vet. Res. 2018 Dec;14:1-5. https://doi.org/10.1186/s12917-018-1690-y.

40- Bai K, Feng C, Jiang L, Zhang L, Zhang J, Zhang L, Wang T. Dietary effects of Bacillus subtilis fmbj on growth performance, small intestinal morphology, and its antioxidant capacity of broilers. Poult. Sci. 2018 Jul 1;97(7):2312-21. https://doi.org/10.3382/ps/pey116.

41- Zhang L, Zhang L, Zhan XA, Zeng X, Zhou L, Cao G, Chen AG, Yang C. Effects of dietary supplementation of probiotic, Clostridium butyricum, on growth performance, immune response, intestinal barrier function, and digestive enzyme activity in broiler chickens challenged with Escherichia coli K88. JASB. 2016 Dec;7:1-9. https://doi.org/10.1186/s40104-016-0061-4.

42-. Li HL, Li ZJ, Wei ZS, Liu T, Zou XZ, Liao Y, Luo Y. Long-term effects of oral tea polyphenols and Lactobacillus brevis M8 on biochemical parameters, digestive enzymes, and cytokines expression in broilers. J. Zhejiang Univ. Sci. B. 2015 Dec;16(12):1019. https://doi.org/10.1631/jzus.B1500160.

43-Ding C, Wu H, Cao X, Ma X, Gao X, Gao Z, Liu S, Fan W, Liu B, Song S. Lactobacillus johnsonii 3-1 and Lactobacillus crispatus 7-4 promote the growth performance and ileum development and participate in lipid metabolism of broilers. Food & Function. 2021;12(24):12535-49. https://doi.org/10.1039/D1FO03209G.

44-. Guban J, Korver DR, Allison GE, Tannock GW. Relationship of dietary antimicrobial drug administration with broiler performance, decreased population levels of Lactobacillus salivarius, and reduced bile salt deconjugation in the ileum of broiler chickens. Poult. Sci. 2006 Dec 1;85(12):2186-94. https://doi.org/10.1093/ps/85.12.2186.

45- Taheri HR, Moravej H, Tabandeh F, Zaghari M, Shivazad M. Screening of lactic acid bacteria toward their selection as a source of chicken probiotic. Poult. Sci.. 2009 Aug 1;88(8):1586-93. https://doi.org/10.3382/ps.2009-00041.