Iranian Journal of Animal Science
Vol 49, No 2, Summer 2018 (223-236)
DOI: 10.22059/ijas.2018.253102.653621

علوم دامی ایران
دورۀ ۴۹، شمارۀ ۲، تابستان ۱۳۹۷ (ص ۲۳۶-۲۲۳)

تعدیل تأثیر تنش القایی با تزریق کورتیکوسترون با استفاده از پروبیوتیک در جوجه‌های گوشتی

فخرالدین عابد درگاهی[۱]، حسن درمانی‌کوهی[۲]، رضا حسن ساجدی[۳] و علی روستایی علی‌مهر[۲]
۱ و ۲. دانشجوی دکتری تغذیۀ دام و دانشیار، دانشکدۀ کشاورزی دانشگاه گیلان، رشت
۳. دانشیار، گروه بیوشیمی دانشکدۀ علوم زیستی، دانشگاه تربیت مدرس تهران
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۱۲/۷ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۵/۱۷)

چکیده

این آزمایش در قالب طرح کامل تصادفی با آرایش فاکتوریل ۲×۳ با دو سطح تزریق کورتیکوسترون (تزریق روغن و تزریق کورتیکوسترون) و سه سطح مصرف پروبیوتیک (۱- بدون کاربرد پروبیوتیک، ۲ و ۳- به ترتیب $۰/۸\times۱۰^{۵}$ و $۱/۶\times۱۰^{۵}$ عدد از اسپور باسیلوس سوبتلیس در هر گرم خوراک) به منظور تعدیل تأثیر تنش القایی تزریق کورتیکوسترون با استفاده از پروبیوتیک در جوجه‌های گوشتی انجام شد. هر تیمار در چهار تکرار و در هر تکرار دوازده قطعه جوجه استفاده شد. در سنین ۷ تا ۹ و نیز ۲۵ تا ۲۷ روزگی دورۀ پرورش تزریق زیرپوستی روغن ذرت با و بدون ۲ میلی‌گرم کورتیکوسترون به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، دو بار در روز انجام شد. تزریق کورتیکوسترون موجب کاهش وزن نسبی و طول رودۀ کوچک در سنین ۲۸ و ۴۲ روزگی شد (P<۰/۰۵). وزن نسبی سینه در گروه‌های تحت تزریق کورتیکوسترون نسبت به گروه تزریق روغن کاهش نشان داد (P<۰/۰۵). طول پرزهای قسمت‌های مختلف روده و عیار پادتن علیه واکسن نیوکاسل با تزریق کورتیکوسترون کاهش معنی‌دار یافت (P<۰/۰۵). افزودن پروبیوتیک به جیره، طول پرز در قسمت‌های مختلف روده و نیز وزن نسبی روده را افزایش داد (P<۰/۰۵). بازدۀ استفاده از خوراک و میانگین افزایش وزن روزانه در گروه‌های مصرف‌کنندۀ پروبیوتیک افزایش پیدا کرد (P<۰/۰۵). جمعیت باکتری‌های کلی‌فرم و لاکتوباسیلوس ایلئوم توسط تزریق کورتیکوسترون تحت تأثیر قرار نگرفت، اما افزودن پروبیوتیک بر آن تأثیر معنی‌دار داشت (P<۰/۰۵). درمجموع نتایج این تحقیق دلالت بر اثرگذاری مثبت پروبیوتیک روی عملکرد و اندازۀ پرزهای رودۀ جوجه‌های گوشتی تحت تنش القاء شده با تزریق کورتیکوسترون دارد.

واژه‌های کلیدی: پروبیوتیک، تنش، جوجۀ گوشتی، کورتیکوسترون.

Modulating the effects of stress induced by corticosterone injection using probiotic administration in broiler chicks

Fakhredin Abeddargahi[1], Hassan Darmani kuhi[1*], Reza Hassan Sajedi[2] and M. Roostaei Ali-Mehr[1]
1. Ph. D. Candidate and Associate Professor, Department of Animal science, Faculty of Agriculture, University of Guilan, Rasht, Iran
2. Associate Professor, Department of Biochemistry, Faculty of Biological sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran
(Received: Feb. 26, 2018 - Accepted: Aug. 8, 2018)

ABSTRACT

This experiment was conducted in a completely randomized design with 2×3 factorial arrangement with two levels of corticosterone injections (oil injection and corticosterone injections) and three levels of probiotic supplementation (1- without probiotic, 2 and 3- supplemented with 0.8×10^5 and 1.6×10^5 spores of Bacillus *subtilis* per gram of feed, respectively) to modulate stress induced by corticosterone injection using probiotic admimistration in broiler chicks. Each of 6 treatments replicated 4 times of 12 birds per replicate. At 7 to 9 and 25 to 27 days of age, the chicks received one of the subcutaneous injections corn oil with/without CORT at 2 mg/kg BW twice per day. Corticosterone injection decreased the relative weight of intestine and its length at 28 and 42 days of ages (P<0.05). Relative weight of the breast was lower in corticosterone injected groups than in the oil injection groups (P<0.05). Villi height of different parts of the intestine and antibody levels against Newcastle disease decreased significantly with corticosterone injection. Adding probiotics increased the length of the villi and relative weight of the intestine. Feed to gain efficiency and average daily weight gain increased significantly in response to probiotic supplementation (P<0.05). Total coliforms and lactobacillus populations were not affected by corticosterone injections, but adding probiotic had a significant effect on ileal populations of these bacteria (P<0.05). Overall, the results of this study indicate a positive effect of probiotic on performance and intestine structure of broiler chicks under stress induced by corticosterone injection.

Keywords: Broiler chickens, corticosterone, probiotics, stress.

* Corresponding author E-mail: darmani_22000@yahoo.com

مقدمه

به هرگونه پاسخ زیستی بدن در برابر محرک‌های نامطلوبی که تعادل (هموستاز) طبیعی آن را دچار اختلال کنند، تنش اطلاق می‌شود (Lara & Rostagno, 2013; Ognik & Sembratowicz, 2012). مواردی مانند شرایط دمایی و بستر نامناسب، محرومیت و محدودیت‌های تغذیه‌ای، عامل‌های بیماری‌زا و سم‌ها به‌عنوان عامل‌های تنش‌زای متداول در واحدهای پرورشی طیور مطرح هستند (Virden & Kidd, 2009). هنگامی‌که حیوان در معرض عامل‌های تنش‌زا قرار می‌گیرد، شبکهٔ عصبی نوروژنیک که متشکل از نورون‌های اعصاب سمپاتیک و بافت مدولاری فوق کلیوی هستند، فعال می‌شوند (Virden & Kidd, 2009). فعال شدن محور هیپوتالاموس- هیپوفیز- غدهٔ فوق کلیوی[1]، نخست موجب ترشح هورمون آزادکنندهٔ کورتیکوتروپین[2] از هیپوتالاموس می‌شود که این هورمون موجب ترشح ACTH[3] از هیپوفیز می‌شود که به دنبال آن میزان ترشح کورتیکوسترون[4] از غدهٔ فوق کلیوی افزایش می‌یابد. اگر سطح کورتیکوسترون بالا باقی بماند، موجب تغییرهای چندی در اعمال سامانهٔ ایمنی و سوخت‌وساز (متابولیسم) گلوکز می‌شود (Ognik & Sembratowicz, 2012; Virden & Kidd, 2009). یکی از مهم‌ترین اثرگذاری‌های کورتیکوسترون، توانایی تغییر در فرآیندهای سوخت‌وسازی است که موجب افزایش زیست‌سوزی (کاتابولیسم) بافت‌های پروتئینی با القای گلوکونئوژنز می‌شود (Ognik & Sembratowicz, 2012; Virden & Kidd, 2009). ازآنجایی‌که ایمنی و پاسخ به عفونت‌ها توسط فعالیت بیش‌ازحد محور HPA تحت تأثیر قرار می‌گیرد، بنابراین مدیریت فعالیت این محور در رابطه با رشد و عملکرد دام اهمیت دارد. گزارش‌ها نشان می‌دهند، رودهٔ پرنده از جمله اندام‌هایی است که تحت تأثیر شرایط پرتنش، دچار تغییر ریخت‌شناختی (مورفولوژیکی) چندی می‌شود (Hu & Guo, 2008) . مجرای گوارشی پرنده، اقامتگاه جمعیت‌های متنوع و پویایی از ریزجانداران (میکروارگانیسم‌ها) است که با میزبان در ارتباط همزیستی هستند. این ارتباط متقابل برای تغذیه، سوخت‌وساز و ایمنی میزبان مهم است. به دلیل اینکه بوم‌نظام (اکوسیستم) میکروبی روده از طریق خوراک یا تنش می‌تواند تحت تأثیر واقع شود (Sohail *et al*., 2012)، بنابراین سلامت و عملکرد مجرای گوارشی پرنده می‌تواند از شرایط تنشی تأثیر بپذیرد. بررسی‌های اندکی در ارتباط با تأثیر تنش بر جمعیت میکروبی روده انجام گرفته است (Sohail *et al*., 2012).

نتایج بررسی‌های نشان داده‌اند، مصرف پروبیوتیک بر پایهٔ اسپور باسیلوس سوبتلیس می‌تواند موجب بهبود عملکرد (Opalinski *et al*., 2007)، قابلیت هضم مواد مغذی (Reis *et al*., 2017)، بهبود ایمنی و تعادل جمعیت میکروبی روده (Deniz *et al*., 2011) در پرنده شود. با توجه به اینکه شرایط پرتنش می‌توانند موجب به هم ریختن تعادل جمعیت میکروبی، تغییر در قابلیت هضم مواد مغذی و نیز سرکوب پاسخ‌های ایمنی در پرنده شوند (Virden & Kidd, 2009)، بنابراین، یکی از رویکردهای کاربردی برای حفظ سلامت روده، به‌منظور بهبود عملکرد و ارتقا پاسخ‌های ایمنی پرنده‌های در معرض تنش، استفاده از ریزجانداران زیست‌یار یا فراسودمند (پروبیوتیک) است (Cengiz *et al*., 2015). در بین انواع ریزجانداران قابل استفاده به‌عنوان پروبیوتیک، پروبیوتیک‌های بر پایهٔ اسپور برخلاف پروبیوتیک‌های لاکتوباسیلی، به دلیل داشتن زمان ماندگاری بالا و مقاومت به تیمارهای فرآوری خوراک (مانند حرارات پلت) در صنعت طیور مورد توجه هستند (Latorre *et al*., 2014).

تنش‌هایی مانند تنش گرمایی افزون بر تأثیرگذار بودن از طریق افزایش سطح کورتیکوسترون، می‌تواند تأثیری مستقل از این هورمون نیز داشته باشد. برای مثال، افزایش دما می‌تواند به دلیل افزایش جریان گردش خون در عروق بافت‌های سطحی موجب کاهش جریان خون (ایسشمیا)[5]، در بافت‌هایی مانند مجرای

1. Hypothalamic-pituitary-adrenal (*HPA*) *axis*
2. Corticotropin-releasing hormone
3. Adrenocorticotropic hormone
4. Corticosterone
5. Ischemia

گوارشی شود (Liu *et al*., 2009). تنش مرتبط با تراکم بالا نیز می‌تواند، افزون برافزایش سطح کورتیکوسترون با محدودیت در دسترسی به آب و خوراک اثرگذار باشد (Cengiz *et al*., 2015). بنابراین در آزمایش‌های تنشی برای بررسی تأثیر افزایش سطح کورتیکوسترون که مستقل از تأثیر کاهش دسترسی به خوراک و یا کم‌خونی در روده باشد، از هورمون کورتیکوسترون و هورمون‌های همسان مانند ACTH و یا دگزامتازون استفاده می‌شود. هرچند در نتایج تحقیقات پیشین نشان داده شده است، افزایش سطوح مواد مغذی موجب تعدیل تأثیر تنش بر سامانهٔ ایمنی و ساختار مجرای گوارشی در پرنده می‌شود (Yang *et al*., 2015)، اما تحقیقی در ارتباط با تأثیر استفاده از پروبیوتیک که به‌طور غیرمستقیم موجب افزایش قابلیت دسترسی به مواد مغذی در شرایط تنشی می‌شود (Harrington *et al*., 2015; Kehlet *et al*., 2014; Zaghari *et al*., 2015; Zaghari *et al*., 2017) انجام نگرفته است. بنابراین هدف از اجرای این آزمایش، بررسی تأثیر تعدیل‌کنندگی استفاده از پروبیوتیک بر پایهٔ اسپور باسیلوس سوبتلیس در جوجه‌های گوشتی در معرض تنش القاء شده از طریق تزریق کورتیکوسترون است.

مواد و روش‌ها

این آزمایش با هدف بررسی تأثیر پروبیوتیک در شرایط تنش القاءشده با تزریق کورتیکوسترون، در جوجه‌های گوشتی در سن‌های ۷ تا ۹ روزگی و تکرار آن در ۲۵ تا ۲۷ روزگی انجام شد. بدین منظور سه سطح پروبیوتیک بر پایهٔ اسپور باسیلوس‌سوبتلیس در شرایط تزریق کورتیکوسترون به‌صورت دوره‌ای در قالب طرح کامل تصادفی به‌صورت آزمایش فاکتوریل ۲×۳ روی ۲۸۸ جوجهٔ نر یک‌روزهٔ سویهٔ تجاری راس ۳۰۸ با شش تیمار و چهار تکرار و در هر تکرار دوازده قطعه انجام گرفت. عامل‌ها شامل دو نوع تزریق (تزریق روغن بدون کورتیکوسترون و تزریق روغن حاوی کورتیکوسترون) و سه سطح مصرف پروبیوتیک با نام تجاری گالیپرو[1] (حاوی ۴×۱۰^{۹} اسپور باکتری باسیلوس‌سوبتلیس در هر گرم سویهٔ DSM 17299) به میزان ۰/۰۲ ($۰/۸\times۱۰^{۵}$ اسپور باسیلوس‌سوبتلیس در هر گرم خوراک) و ۰/۰۴ درصد ($۱/۶\times۱۰^{۵}$ اسپور باسیلوس‌سوبتلیس در هر گرم خوراک) بود. جیره‌های آزمایشی بنابر توصیهٔ دفترچهٔ راهنمای سویهٔ راس ۳۰۸ (۲۰۱۴) و بر پایهٔ دانهٔ ذرت و کنجالهٔ سویا در سه مرحلهٔ آغازین، رشد و پایانی به‌صورت آردی تهیه و در اختیار جوجه‌ها قرار داده شدند (جدول ۱). در دورهٔ آزمایش دسترسی جوجه‌ها به آب و خوراک به‌صورت آزادانه بود. میزان ساعت‌های روشنایی و تاریکی در دو روز نخست ۲۳ به ۱ و سپس ۲۱ به ۳ بود. دمای سالن در ۵ روز نخست ۳۲ درجه و سپس هر هفته ۲ درجه کاهش یافت تا در سن ۲۸ روزگی به ۲۱ درجهٔ سلسیوس رسید و از این زمان به بعد ثابت نگه‌داشته شد. جوجه‌ها روی بستر نگهداری شدند و همهٔ جدار قفس‌ها از کف تا ارتفاع ۲۵ سانتی‌متر با استفاده از ورق‌های انعطاف‌پذیر پلاستیکی به‌منظور محدود کردن ارتباط محتویات بستر، محصور شد. در روزهای ۷ تا ۹ دورهٔ پرورش به مدت سه روز متوالی، هر روز دومرتبه و در هر مرتبه به میزان ۲ میلی‌گرم از محلول‌های بدون هورمون (روغن ذرت خالص سیگما)[2] و حاوی کورتیکوسترون (هورمون کورتیکوسترون شرکت سیگما با بیش از ۹۸/۵ درصد خلوص) به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به گروه‌های شاهد (کنترل) و آزمایشی تزریق شد. تزریق به‌صورت زیرپوستی[3] و با حجم ۰/۱ میلی‌لیتر برای هر تزریق استفاده شد (Yang *et al*., 2015). با توجه به اینکه بدن به حدود دو هفته زمان برای بازگشت به شرایط پیش از تنش[4] نیاز دارد (Mehaisen *et al*., 2017; Puvadolpirod & Thaxton, 2000)، بنابراین مرحلهٔ دوم تزریق در سن ۲۵ تا ۲۷ با روش همسان در روزهای ۶ الی ۷ دوباره تکرار شد. وزن بدن و مصرف خوراک به‌صورت هفتگی و دوره‌ای اندازه‌گیری و میانگین‌های تصحیح‌شده بر پایهٔ تلفات برای افزایش وزن، مصرف خوراک روزانه و

1. *Gallipro*
2. *SIGMA*
3. Subcutaneous
4. Recovery period

ضریب تبدیل خوراک محاسبه شدند. در هفتهٔ پایانی دورهٔ پرورش (سن ۳۸ روزگی) به‌منظور سنجش عیار پادتن علیه واکسن نیوکاسل به‌طور تصادفی دو پرنده از هر قفس انتخاب و از رگ بال آن‌ها خون‌گیری انجام گرفت (Rahimi, 2009; Rahman & Sarker, 2017).

در سن‌های ۲۸ و ۴۲ روزگی دو جوجه که از نظر وزنی به میانگین وزن جوجه‌های همان قفس نزدیک‌تر بودند انتخاب و در ۲۸ روزگی با جابجایی مهرهٔ گردنی و ۴۲ روزگی با بریدن سر کشتار شدند. روده‌ها پس از جداسازی، در آغاز به‌آرامی تخلیه و آنگاه وزن و طول هر یک از قسمت‌های آن اندازه‌گیری شدند. در روز ۲۸ آزمایش نمونه‌های روده برای بررسی‌های ریخت‌شناختی به میزان ۲ سانتی‌متر از وسط قسمت‌های دوازدهه، میان‌روده (ژژنوم) و ایلئوم برداشت و با استفاده از محلول بافر فسفات (PBS) شستشو و در محلول فرمالین ۱۰ درصد در ظرف‌های مخصوص نگهداری و برای تهیهٔ برش به آزمایشگاه ارسال شد. طول پرز و عمق کریپ‌ها در برش‌های رنگ‌آمیزی‌شده روی لام، با استفاده از میکروسکوپ نوری قابل اتصال به رایانهٔ مدل المپیوس BH-2 و با استفاده از برنامهٔ داینوکپچر[1] سنجش شد (Seifi *et al.*, 2018).

۱ گرم از نمونه‌های مواد هضمی ایلئوم در ظرف‌های سترون (استریل) در دمای منفی ۲۰ درجهٔ سلسیوس نگهداری شد. کشت میکروبی نمونه‌ها به‌سرعت پس از نمونه‌برداری انجام پذیرفت. روش کار به‌طور خلاصه بدین‌صورت بود که نمونهٔ برداشته‌شده، با ترازوی حساس توزین و سپس با محلول رینگر سترون ده برابر رقیق شده (۱ میلی‌لیتر به ۹ میلی‌لیتر محلول) و از سری‌های رقیق‌شده روی محیط کشت مک‌کانکی[2] برای کلی‌فرم در شرایط هوازی و روی محیط کشت MRS برای لاکتوباسیل‌ها در شرایط بی‌هوازی استفاده شد (Olnood *et al.*, 2015).

مدل آماری مورد استفاده طرح کامل تصادفی با آرایش فاکتوریل ۲×۳ بود. مدل آماری طرح به‌صورت زیر است.

$$Y_{ijk}= \mu+ A_i + B_j + AB_{ij} + e_{ijk}$$

Y_{ijk} مقدار هر مشاهده، μ میانگین جامعه، A_i اثر سطح iام کورتیکوسترون، B_j اثر سطح jام پروبیوتیک، AB_{ij} اثر متقابل کورتیکوسترون و پروبیوتیک و e_{ijk} خطای آزمایش است. تجزیهٔ داده‌ها با استفاده از رویهٔ مدل‌های خطی تعمیم‌یافته (GLM) نرم‌افزار آماری SAS 9.2 انجام و مقایسهٔ میانگین‌ها با استفاده از آزمون توکی در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ صورت گرفت.

نتایج

نتایج اثر اصلی و اثر متقابل تزریق کورتیکوسترون و استفاده از تیمارهای مختلف اسپور باسیلوس‌سوبتلیس روی میانگین مصرف خوراک، افزایش وزن بدن روزانه و ضریب تبدیل خوراک در جدول ۲ نشان داده شده است. نتایج برای خوراک مصرفی تفاوت معنی‌داری را بین تیمارهای تزریق‌شدهٔ کورتیکوسترون و گروه شاهد نشان نداد (P>۰/۰۵). میانگین افزایش وزن روزانه تحت تأثیر نوع تزریق قرار گرفت، به‌طوری‌که تزریق هورمون کورتیکوسترون در سن‌های ۲۴ و ۴۲ روزگی منجر به کاهش افزایش وزن روزانه شد، که این اثر برای سن ۲۴ روزگی معنی‌دار (P<۰/۰۵) و برای سن ۴۲ روزگی تمایل به معنی‌داری از خود نشان‌داد (P=۰/۰۷). تزریق کورتیکوسترون موجب افزایش ضریب تبدیل خوراک در همهٔ سنین شد (P<۰/۰۵). تفاوت برجسته‌ای از لحاظ آماری در ارتباط با مصرف خوراک بین تیمارهای استفاده‌کنندهٔ سطوح مختلف پروبیوتیک و گروه‌های شاهد مشاهده نشد. هرچند افزایش وزن روزانه در ده روز نخست پرورش تفاوت معنی‌داری را بین تیمارهای مصرف‌کنندهٔ پروبیوتیک و شاهد نشان نداد، اما در سن‌های ۱ تا ۲۴ روزگی و نیز کل دورهٔ پرورش، میانگین افزایش وزن روزانه در گروه‌های ۰/۰۴ درصد پروبیوتیک نسبت به گروه شاهد، بیشتر بود (P<۰/۰۵)، البته این تفاوت در گروه‌های ۰/۰۲ درصد از پروبیوتیک نسبت به گروه شاهد و گروه ۰/۰۴ درصد پروبیوتیک بارز نبود. کاهش ضریب تبدیل خوراک در ده روز نخست برای گروه‌های مصرف‌کنندهٔ ۰/۰۴ درصد پروبیوتیک، نسبت به شاهد از نظر آماری قابل‌ملاحظه بود (P<۰/۰۵)، ولی این تفاوت

1. DinoCapture 2.0
2. Macconkey agar

در گروه‌های ۰/۰۲ درصد پروبیوتیک معنی‌دار نبود. مقادیر ضریب تبدیل کل دوره برای هر دو سطح مصرف پروبیوتیک (۰/۰۲ و ۰/۰۴ درصد) نسبت به گروه شاهد بهبود یافت (P<۰/۰۵).

نتایج اثر اصلی و اثر متقابل نوع تزریق و پروبیوتیک روی وزن نسبی و طول رودهٔ کوچک جوجه‌های گوشتی در جدول ۳ نمایش داده شده است. تزریق کورتیکوسترون موجب کاهش معنی‌دار وزن نسبی روده در سن‌های ۲۸ و ۴۲ روزگی شد (P<۰/۰۵). افزون بر کاهش وزن نسبی، طول روده نیز در این سن‌ها (۲۸ و ۴۲ روزگی) در نتیجهٔ تزریق کورتیکوسترون کاهش یافت (P<۰/۰۵). مصرف پروبیوتیک موجب افزایش طول و وزن نسبی روده در سن ۲۸ روزگی شد (P<۰/۰۵). اما در ۴۲ روزگی این مقادیر تفاوت معنی‌داری را در بین تیمارها نشان ندادند. در رابطه با اثر متقابل نوع تزریق و پروبیوتیک روی وزن نسبی و طول روده در ۴۲ روزگی، این اثر روی وزن نسبی معنی‌دار بود (P<۰/۰۵). وزن نسبی سینه در ۴۲ روزگی تحت تأثیر تزریق کورتیکوسترون قرارگرفته و کاهش یافت (P<۰/۰۵)، اما تفاوت‌های مشاهده‌شده برای مصرف پروبیوتیک و یا اثر متقابل نوع تزریق و پروبیوتیک معنی‌دار نبود.

نتایج اثر اصلی و متقابل نوع تزریق و پروبیوتیک روی طول پرز، عمق کریپت و نسبت طول پرز به عمق کریپت قسمت‌های مختلف رودهٔ کوچک جوجه‌های گوشتی در سن ۲۸ روزگی در جدول ۳ نشان داده شده است. تزریق کورتیکوسترون طول پرز دوازدهه و ایلئوم و نیز نسبت طول پرز به عمق کریپت در قسمت ژژنوم در سن ۲۸ روزگی را کاهش داد (P<۰/۰۵).

جدول ۱. اجزاء و ترکیب مواد مغذی در جیرهٔ پایه

Table 1. Ingredients and chemical composition of the basal experimental diets

	Growth period		
Ingredients (%)	Starter (1-10 d)	Grower (11-24 d)	Finisher (25-43 d)
Corn garin	52.81	58.82	62.47
Soybean meal	39.5	33.5	29
Soybean oil	3	3.3	4.4
Dicalcium phosphate	1.95	1.75	1.65
$CaCO_3$	1.06	0.98	0.9
Salt	0.19	0.19	0.19
Sodium bicarbonate	0.25	0.25	0.25
Vitamin Premix*	0.25	0.25	0.25
Mineral Premix†	0.25	0.25	0.25
Choline Cl 60%	0.08	0.08	0.08
DL-Met	0.34	0.31	0.26
L-Lys	0.22	0.23	0.22
L-Thr	0.1	0.09	0.08
Total	100	100	100
Calculated composition			
ME (kcal/kg)	2910	3000	3110
CP%	22	19.7	18
Cl %	0.21	0.21	0.2
Na %	0.18	0.18	0.18
Ca %	0.94	0.84	0.78
Avail. P %	0.465	0.42	0.4
Dig. Lysine‡ %	1.24	1.11	1
Dig. Valine‡ %	0.935	0.84	0.762
Dig. Arginine‡	1.37	1.21	1.09
Dig. Met+Cys. ‡ %	0.92	0.84	0.755
Dig. Threonine‡ %	0.84	0.75	0.68

* پیش مخلوط مواد ویتامینی برای هر کیلوگرم حاوی: ویتامین A ۱۱۰۰۰ واحد بین‌المللی، ویتامین E ۶۰ میلی‌گرم، ویتامین D_3 ۴۵۰۰ واحد بین‌المللی، ویتامین k_3 ۲/۲ میلی‌گرم، نیاسین ۶۰ میلی‌گرم، اسید دی‌پانتوتنیک ۱۷ میلی‌گرم، ریبوفلاوین ۴ میلی‌گرم، تیامین ۳ میلی‌گرم، اسید فولیک ۱/۵ میلی‌گرم، بیوتین ۰/۱۸ میلی‌گرم و ویتامین B_{12} ۰/۰۱۷ میلی‌گرم است.

† پیش مخلوط مواد معدنی برای هر کیلوگرم حاوی: منگنز ۱۰۰ میلی‌گرم، روی ۱۰۰ میلی‌گرم، آهن ۴۰ میلی‌گرم، مس ۱۶ میلی‌گرم، ید ۱ میلی‌گرم و سلنیم ۰/۳ میلی‌گرم است.

‡ محاسبه شده بر اساس ضرایب هضمی اسیدهای آمینه فراهم شده توسط کمپانی اونیک

*The premix provided in kg of diet: vitamin A 11,000 IU; vitamin E, 60 mg; vitamin D_3 4,500 IU; Vitamin K3 2.2 mg; niacin 60.0 mg; D-pantothenic acid 17 mg; riboflavin 6.5 mg; pyridoxine 4 mg; thiamine 3 mg; folic acid 1.5 mg; biotin 0.18 mg; vitamin B12 0.017 mg;

†The premix provided in kg of diet: Mn 100 mg; Zn 100 mg; Fe 40 mg; Cu 16 mg; I 1 mg; Se 0.3 mg.

‡Calculated based on digestibility coefficients of amino acids provided by Evonik Co.

جدول ۲. اثر اصلی و متقابل تزریق کورتیکوسترون و مصرف پروبیوتیک بر عملکرد جوجه‌های گوشتی

Table 2. Main and interaction effects of corticosterone (CORT.) injection and probiotic (*Bacillus subtilis* spore, BSS) supplementation on performance of broiler chicks

Main effects	Growth phase								
	Starter (1-10 d)			Grower (1-24 d)			Finisher (1-42 d)		
	ADG† (g/day)	ADFI† (g/day)	FCR†	ADG (g/day)	ADFI (g/day)	FCR	ADG (g/day)	ADFI (g/day)	FCR
Type of injection									
Oil (Control)	21.35	28.57	1.339[b]	38.7[a]	55.96	1.445[b]	57.40	101.8	1.77[b]
CORT.	20.95	29.42	1.405[a]	36.8[b]	56.18	1.528[a]	55.96	101.9	1.82[a]
SEM	0.35	0.464	0.011	0.586	0.622	0.012	0.538	0.9	0.012
P-Value	0.43	0.212	0.005	0.034	0.808	0.0011	0.073	0.98	0.015
Probiotic									
0% BSS	20.59	28.87	1.40[a]	36.33[b]	55.65	1.53[a]	54.83[b]	101.6	1.84[a]
0.02% BSS	21.05	28.9	1.37[ab]	37.71[ab]	56.45	1.50[a]	56.75[ab]	101.8	1.78[b]
0.04% BSS	21.8	29.23	1.34[b]	39.40[a]	56.11	1.43[b]	58.48[a]	102.4	1.75[b]
SEM	0.43	0.57	0.013	0.651	0.76	0.014	0.7	1.1	0.015
P-Value	0.16	0.88	0.02	0.025	0.78	0.0024	0.004	0.88	0.005
Injection × Probiotic									
Oil × 0% BSS	20.65	28.3	1.37	36.79	54.51	1.48	55.17	100.7	1.83
Oil × 0.02% BSS	21.06	28.1	1.33	38.99	56.39	1.45	57.53	102.1	1.78b
Oil × 0.04% BSS	22.23	29.3	1.31	40.50	57.01	1.41	59.52	102.8	1.73
CORT× 0% BSS	20.53	29.43	1.43	35.87	56.79	1.58	54.48	102.5	1.88
CORT×0.02% BSS	21.05	29.68	1.41	36.41	56.51	1.55	55.96	101.3	1.81
CORT×0.04% BSS	21.27	29.16	1.37	38.28	55.23	1.48	57.43	101.8	1.78
SEM	0.609	0.805	0.019	1.015	1.07	0.026	0.933	1.54	0.21
P-Value	0.64	0.551	0.86	0.69	0.19	0.37	0.8	0.61	0.88

† ADG: میانگین افزایش وزن روزانه، ADFI: میانگین مصرف خوراک روزانه، FCR: ضریب تبدیل خوراک.

a, b, c) حرف‌های ناهمسان در هر ستون به معنی تفاوت معنی‌دار بین میانگین تیمارهای آزمایشی است (P<۰/۰۵).

† ADG: Average daily gain, ADFI: Average daily feed intake, FCR: Feed conversion ratio.

a, b, c) within each column, values with different superscripts differ significantly (p<0.05).

استفاده از سطح ۰/۰۴ درصد پروبیوتیک به‌طور معنی‌داری طول پرز دوازدهه و ایلئوم و نیز نسبت طول پرز به عمق کریپت در ژژنوم و ایلئوم را افزایش داد (P<۰/۰۵). اثر متقابل نوع تزریق و پروبیوتیک روی عمق کریپت ۲۸ روزگی و طول پرز ایلئوم ۴۲ روزگی معنی‌دار (P<۰/۰۵) بود. بیشترین و کمترین میزان عمق کریپت در دوازدهه به ترتیب متعلق به تیمار ششم (تزریق کورتیکوسترون × مصرف ۰/۰۴٪ پروبیوتیک) و پنجم (تزریق کورتیکوسترون × مصرف ۰/۰۲٪ پروبیوتیک) بود. در بخش اثر متقابل پرزهای ایلئوم نیز بیشترین میزان مربوط به تیمار پنجم (تزریق کورتیکوسترون × مصرف ۰/۰۲٪ پروبیوتیک) و کمترین آن مربوط به تیمار دوم (تزریق روغن × مصرف ۰/۰۲٪ پروبیوتیک) بود. در دیگر موارد اثر متقابل نوع تزریق و پروبیوتیک معنی‌دار نبود (P>۰/۰۵).

نتایج اثر اصلی و متقابل نوع تزریق و پروبیوتیک روی جمعیت‌های کلی‌فرم و باکتری‌های اسیدلاکتیکی رودهٔ کوچک جوجه‌های گوشتی در سنین ۲۸ و ۴۲ روزگی و نیز عیار پادتن علیه واکسن نیوکاسل در سن ۳۸ روزگی در جدول‌های ۵ و ۶ نشان داده شده است. نوع تزریق تأثیر معنی‌داری روی جمعیت باکتریایی کلی‌فرم و لاکتوباسیل نداشت (P>۰/۰۵). افزودن پروبیوتیک به جیره موجب کاهش معنی‌دار در جمعیت کلی‌فرم در سن‌های ۲۸ و ۴۲ روزگی شد (P<۰/۰۵). در رابطه با تأثیرپذیری جمعیت لاکتوباسیل از پروبیوتیک جیره‌ای، این اثر تنها در ۲۸ روزگی منجر به افزایش معنی‌دار شد (P<۰/۰۵). اثر متقابل نوع تزریق و پروبیوتیک روی جمعیت کلی‌فرم و لاکتوباسیل ایلئوم تفاوت معنی‌داری نشان نداد (P>۰/۰۵). تزریق کورتیکوسترون موجب کاهش معنی‌دار در عیار پادتن علیه واکسن نیوکاسل شد (P<۰/۰۵)، اما افزودن پروبیوتیک تأثیر معنی‌داری بر این شاخص نداشت. اثر متقابل نوع تزریق و پروبیوتیک نیز بر عیار پادتن علیه واکسن نیوکاسل معنی‌دار نبود (P>۰/۰۵).

جدول ۳. اثر اصلی و متقابل تزریق کورتیکوسترون و مصرف پروبیوتیک بر وزن نسبی روده، طول روده ، وزن نسبی لاشه و سینهٔ جوجه‌های گوشتی

Table 3. Main and interaction effects of corticosterone (CORT.) injection and probiotic (*Bacillus subtilis* spore, BSS) supplementation on relative weights of intestine, carcass, breast and length of intestine

Main effects	28 day of age		42 day of age			
	Intestine weight (%BW)	Intestine length (cm)	Intestine weight (%BW)	Intestine length (cm)	Carcass weight (%BW)	Breast weight (%BW)
Type of injection						
Oil (Control)	3.85[a]	176.3[a]	2.36[a]	210.5[a]	66.87	26.3[a]
CORT.	3.47[b]	167.3[b]	2.21[b]	190.9[b]	66.16	25.5[b]
SEM	0.043	2.93	0.035	2.7	0.193	0.237
P-Value	0.0001	0.043	0.007	0.002	0.349	0.037
Probiotic						
0% BSS	3.447[c]	167.9	2.260	193.4	65.9	25.5
0.02% BSS	3.865[a]	174.2	2.305	204.9	66.5	25.9
0.04% BSS	3.672[b]	173.5	2.28	203.7	67.09	26.3
SEM	0.052	3.59	0.043	3.62	0.18	0.29
P-Value	0.0001	0.41	0.76	0.09	0.42	0.116
Injection × Probiotic						
Oil × 0% BSS	3.648	175.4	2.281[ab]	204	65.96	25.7
Oil × 0.02% BSS	4.046	171.6	2.498[a]	215	67.19	26.6
Oil × 0.04% BSS	3.841	182.1	2.304[ab]	210	67.46	26.7
CORT× 0% BSS	3.24	160.3	2.249[ab]	183	65.99	25.3
CORT×0.02% BSS	3.66	176.8	2.11[b]	191	65.75	25.29
CORT×0.04% BSS	3.502	164.9	2.265[ab]	197	66.72	26.0
SEM	0.074	5.07	0.061	5.12	0.503	0.412
P-Value	0.923	0.076	0.013	0.45	0.605	0.828

a, b, c) حرف‌های ناهمسان در هر ستون به معنی تفاوت معنی‌دار بین میانگین تیمارهای آزمایشی است (P<۰/۰۵).

a, b, c) within column, values with different superscripts differ significantly (p<0.05)

جدول ۴. اثر اصلی و متقابل تزریق کورتیکوسترون و مصرف پروبیوتیک (اسپور باسیلوس سوبتلیس) بر ریخت‌شناختی رودهٔ جوجه‌های گوشتی در سن ۲۸ روزگی

Table 4. Main and interaction effects of corticosterone (CORT.) injection and probiotic (*Bacillus subtilis* spore, BSS) supplementation on intestinal morphology of broiler chickens in 28 day of age

Main effects	Duodenum			Jejunum			Ileum		
	VH[1] (µm)	CD[1] (µm)	VH:CD[1]	VH (µm)	CD (µm)	VH:CD	VH (µm)	CD (µm)	VH:CD
Type of injection									
Oil (Control)	1442.06[a]	170.0	8.19	1059.65	131.4	8.16[a]	651.32[a]	103.9	6.26
CORT.	1367.94[b]	166.2	8.27	1033.75	139.8	7.46[b]	610.41[b]	103.6	5.89
SEM	20.76	3.29	0.158	40.53	6.71	0.342	0.0395	0.656	0.233
P-Value	0.021	0.423	0.714	0.656	0.387	0.022	13.02	40.52	0.185
Probiotic									
0% BSS	1339.88[b]	163.1	8.22	1037.35	147.5	7.14[b]	555.65[b]	100.2	5.54[b]
0.02% BSS	1336.00[b]	165.8	8.13	1097.38	135.9	8.10[a]	688.83[a]	112.3	6.14[ab]
0.04% BSS	1539.13[a]	175.3	8.33	1005.38	123.6	8.18[a]	648.12[a]	98.78	6.53[a]
SEM	25.42	4.03	0.193	49.63	8.22	0.241	15.95	4.9	0.226
P-Value	0.001	0.106	0.717	0.429	0.151	0.012	0.001	0.429	0.0213
Injection × Probiotic									
Oil × 0% BSS	1391.25	163.9 [ab]	8.49	1016.2	141.8	7.31	575.63[b]	101.9	5.65
Oil × 0.02% BSS	1364.67	176.3 [ab]	7.74	1158	137.0	8.45	635.3[ab]	101.6	6.25
Oil × 0.04% BSS	1570.25	169.7 [ab]	8.33	1004.7	115.5	8.70	743.0[a]	108.1	6.87
CORT× 0% BSS	1288.50	162.2 [ab]	7.95	1058.5	153.1	6.97	535.67[b]	98.60	5.43
CORT×0.02% BSS	1307.33	155.33[b]	8.52	1036.7	134.7	7.74	742.33[a]	123.0	6.03
CORT×0.04% BSS	1508.00[a]	181.00[a]	8.33	1006	131.7	7.66	553.23[b]	89.39	6.19
SEM	35.96	5.71	0.274	70.19	11.63	0.598	22.56	70.19	0.643
P-Value	0.789	0.036	0.081	0.197	0.713	0.493	0.0001	0.493	0.319

[1]VH: طول پرز، CD: عمق کریپت، VH:CD: نسبت طول پرز به عمق کریپت.

a, b, c) حرف‌های ناهمسان در هر ستون به معنی تفاوت معنی‌دار بین میانگین تیمارهای آزمایشی است (P<۰/۰۵).

VH: Villus height, CD: Crypt depth, VH: CD: Ratio of villus height to crypt depth.

a, b, c) within each column, values with different superscripts differ significantly (p<0.05).

جدول ۵. اثر اصلی و متقابل تزریق کورتیکوسترون و استفاده از سطوح مختلف پروبیوتیک بر جمعیت لاکتوباسیل و کلی‌فرم ایلئوم

Table 5. Main and interaction effects of corticosterone (CORT.) injection and probiotic (*Bacillus subtilis* spore, BSS) supplementation on ileal microbial population (log_{10}) in broiler chickens

	28 days of age		42 days of age	
Main effects	Coli forms count	Lactobacilli count	Coli forms count	Lactobacilli count
Type of injection				
Oil (Control)	8.06	8.51	7.57	8.38
CORT.	8.05	8.33	7.41	8.24
SEM	0.949	0.151	0.49	0.273
P-Value	0.122	0.405	0.167	0.086
Probiotic effects				
0% BSS	8.46 [a]	7.94[b]	7.95[a]	8.38
0.02% BSS	7.94[b]	8.69[a]	7.33[ab]	8.43
0.04% BSS	7.78[b]	8.63[a]	7.19[b]	8.13
SEM	0.0121	0.0178	0.205	0.106
P-Value	0.149	0.185	0.0405	0.134
Injection × Probiotic				
Oil × 0% BSS	8.30	8.16	7.90	8.24
Oil × 0.02% BSS	8.04	8.64	7.65	8.53
Oil × 0.04% BSS	7.86	8.73	7.17	8.37
CORT× 0% BSS	8.62	7.71	8.00	8.52
CORT×0.02% BSS	7.84	8.74	7.01	8.32
CORT×0.04% BSS	7.70	8.53	7.21	7.89
SEM	0.403	0.593	0.378	0.0628
P-Value	0.211	0.263	0.290	0.150

a, b, c) حرف‌های ناهمسان در هر ستون به معنی تفاوت معنی‌دار بین میانگین تیمارهای آزمایشی است (P<۰/۰۵).

a, b, c) within each column, values with different superscripts differ significantly (p<0.05).

جدول ۶. اثر اصلی و متقابل تزریق کورتیکوسترون و استفاده از سطوح مختلف پروبیوتیک بر عیار پادتن در برابر نیوکاسل در جوجه‌های گوشتی

Table 6. Main and interaction effects of corticosterone (CORT.) injection and probiotic (*Bacillus subtilis* spore, BSS) supplementation on Newcastle titer at 38 days of age in broiler chicks

Main effects	Newcastle titer
Type of injection	
Oil (Control)	2.75[a]
CORT.	2.12[b]
SEM	0.154
P-Value	0.0106
Probiotic effects	
0% BSS	2.25
0.02% BSS	2.49
0.04% BSS	2.56
SEM	0.190
P-Value	0.48
Injection × Probiotic	
Oil × 0% BSS	2.62
Oil × 0.02% BSS	2.87
Oil × 0.04% BSS	2.75
CORT× 0% BSS	1.87
CORT×0.02% BSS	2.12
CORT×0.04% BSS	2.37
SEM	0.268
P-Value	0.72

a, b, c) حرف‌های ناهمسان در هر ستون به معنی تفاوت معنی‌دار بین میانگین تیمارهای آزمایشی است (P<۰/۰۵).

a, b, c) within each column, values with different superscripts differ significantly (p<0.05).

بحث

نتایج به‌دست‌آمده از این آزمایش در رابطه با تأثیرناپذیری مصرف خوراک از نوع تزریق صورت گرفته در همخوانی با نتایج مشاهده‌های Yang *et al.* (2015) است که برای القای تنش از تزریق کورتیکوسترون در جوجه‌های گوشتی استفاده کرده بودند. نتایج تزریق دگزامتازون برای القاء تنش، نشان داد که تزریق جوجه‌ها با دگزامتازون به مدت سه روز در سن ۷ روزگی موجب افزایش مصرف خوراک و تیمار کردن به مدت ۷ روز در همین سن موجب کاهش مصرف خوراک شد (Song *et al*., 2011). مشاهده‌های برخی محققان نیز گویای این است که استفادهٔ درازمدت از کورتیکوسترون به‌صورت خوراکی (۲ هفته) موجب کاهش مصرف خوراک شد (Dong *et al*., 2007; Hu *et al*., 2010). برخلاف مشاهده‌های بالا، Puvadolpirod & Thaxton (2000) در نتایج بررسی‌های خود مشاهده کردند، در حین تنش القاءشده با تزریق ATCH، مصرف خوراک در آغاز افزایش یافت، ولی در ادامهٔ دورهٔ پرورش روند کاهشی را از خود نشان داد. Kampen & Siegel (1984)

افزایش زودگذر در مصرف خوراک را در پاسخ به تزریق کورتیکوسترون گزارش کردند. در زمان رویارویی با عامل‌های تنش‌زا، پرنده توانایی انتخاب نوع خوراک را بر پایهٔ نوع مواد مغذی آن دارد و بنابراین وابسته به ترکیب خوراک ممکن است در برخی موارد خوراک بیشتر و یا کمتری را در شرایط تنش مصرف کند (Lin *et al*., 2006). در برخی تنش‌های محیطی مانند تنش گرمایی، پرنده برای جلوگیری از ایجاد گرما افزایشی مضاعف میزان مصرف خوراک را محدود می‌کند (Cheng *et al*., 1997; Laganá *et al*., 2007)، که این اثر مستقل از اثر مربوط به افزایش سطح هورمون کورتیکوسترون است. نتایج این پژوهش نشان داد، مکمل باسیلوس‌سوبتلیس تأثیر معنی‌داری روی مصرف خوراک نداشت که این نتیجه در همخوانی با نتایج Opalinski *et al*. (2007) و در مغایرت با نتایج Deniz *et al*. (2011) بود. نتایج آزمایش Deniz *et al*. (2011) و Molnar *et al*. (2012) با همان پروبیوتیک، نشان‌دهندهٔ تأثیرناپذیری مصرف خوراک از پروبیوتیک با غلظت معمول اما افزایش در مصرف خوراک با افزایش ۱۰۰ برابری مصرف پروبیوتیک بود. پیشنهاد شده است، پروبیوتیک‌ها می‌توانند با افزایش سطوح آنزیم‌های هضمی موجب بهبود هضم مواد مغذی شده و بدین ترتیب میزان مصرف خوراک را تحریک کنند (Cengiz *et al*., 2015).

نتایج بررسی Rodiguez *et al*. (2013) روی تأثیر مصرف پروبیوتیک در دو سطح تراکم پرورشی استاندارد و بیش‌ازحد (۱۶ قطعه در هر مترمربع)، تأثیر معنی‌داری از تیمارها را روی مصرف خوراک نشان نداد که در همخوانی با نتایج این آزمایش است (Vargas-Rodriguez *et al*., 2013). به نظر می‌رسد، تنوع نتایج در مورد مصرف خوراک در آزمایش‌های مختلف به دلیل شمار بالای عامل‌های تأثیرگذار و اثر متقابل آن‌ها روی‌هم باشد. نتایج به‌دست‌آمده از این آزمایش در رابطه با تأثیر نامطلوب تزریق کورتیکوسترون بر میزان افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل خوراک با نتایج گزارش‌های چندی در این زمینه همخوانی دارد (Dong *et al*., 2007; Lin *et al*., 2006; Song *et al*., 2011). بنابر گزارش Puvadolpirod & Thaxton (2000)، روند کاهش در افزایش وزن جوجه‌های گوشتی یک هفته پس از قطع تزریق ACTH به شرایط معمول بازگشت کرد. همچنین نتایج Siegel & Van Kampen (1984) نیز نشان داد، سرعت رشد در دورهٔ تنش القاءشده با تزریق کورتیکوسترون سه روز پس از توقف تزریق کورتیکوسترون به حالت معمول بازگشت. تأثیر کورتیکوسترون برافزایش وزن روزانه می‌تواند تحت تأثیر عامل‌های چندی از جمله روش و مدت‌زمان مصرف کورتیکوسترون و سن القا تنش در جوجه‌های گوشتی باشد. کورتیکوسترون با ایجاد تغییر در مسیرهای سوخت‌وسازی (متابولیکی) از جمله افزایش گلوکونئوژنز و تجزیهٔ پروتئین[1] موجب می‌شود، بازدهٔ ابقای پروتئین کاهش یابد که درنهایت به‌صورت کاهش در افزایش وزن و یا کاهش بازدهٔ استفاده از خوراک ظهور می‌یابد (Lin *et al*., 2004).

استفاده از پروبیوتیک بر پایهٔ اسپور باسیلوس سوبتلیس با غلظت $۰/۸\times۱۰^{۵}$ در هر گرم خوراک در جیرهٔ جوجه‌های گوشتی، تفاوت معنی‌داری را در میزان افزایش وزن نسبت به گروه شاهد ایجاد نکرد (Zaghari *et al*., 2015; Mahmoud *et al*., 2017). در آزمایش Deniz *et al*. (2011)، وزن بدن جوجه‌های گوشتی مکمل‌شده با پروبیوتیک بر پایهٔ اسپور باسیلوس سوبتلیس به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه شاهد در هفتهٔ ششم پرورش افزایش یافت. Mokhtari *et al*. (2010) نیز در نتایج آزمایشی گزارش کردند، پروبیوتیک بر پایهٔ اسپور باسیلوس‌سوبتلیس به‌طور معنی‌داری موجب افزایش عملکرد در وزن بدن و ضریب تبدیل خوراک شد (Mokhtari *et al*., 2010). Gao *et al*. (2017) در نتایج بررسی‌های خود پیشنهاد کردند، تأثیر پروبیوتیک باسیلوس‌سوبتلیس بر عملکرد پرنده به‌صورت فوری نیست و نیازمند سپری شدن زمان است. باسیلوس‌سوبتلیس می‌تواند موجب بهبود قابلیت هضم مواد مغذی در مجرای گوارشی از طریق ترشح طیف متنوعی از آنزیم‌های هضمی با فعالیت پروتئازی، آمیلازی و لیپازی شوند (Gao *et al*., 2017; Jin *et al*., 2000; Rajput *et al*., 2013; Wang & Gu, 2010; Zhang *et al*., 2016).

1. Proteolysis

نتایج به‌دست‌آمده از این آزمایش در رابطه با کاهش وزن نسبی روده در نتیجهٔ تزریق کورتیکوسترون با نتایج گزارش‌های پیشین در این رابطه همخوانی داشت (Hu & Guo, 2008; Hu *et al*., 2010). پیشنهاد شده است، کاهش در وزن روده می‌تواند به دلیل کاهش طول پرزهای روده باشد (Hu & Guo, 2008). تزریق کورتیکوسترون موجب کاهش وزن سینه در سن ۴۲ روزگی شد که می‌تواند به دلیل تغییر مسیر سوخت‌وساز به سمت تحریک گلوکلونئوژنز باشد (Virden & Kidd, 2009). این نتیجه با نتایج تحقیقات گذشته همخوانی داشت (Lin *et al*., 2006; Wang *et al*., 2013). در نتایج بررسی دیگری گزارش شده است، کاهش وزن نسبی سینه در زمان تیمار کردن با کورتیکوسترون به دلیل اولویت تجزیهٔ بافت‌های پروتئینی سینه در جهت گلوکلونئوژنز در بدن باشد. اولویت بدن حفظ وزن نسبی ران‌ها نسبت به وزن نسبی سینه است (Lin *et al*., 2006). در این آزمایش افزون بر کاهش وزن نسبی، طول روده نیز به‌صورت معنی‌داری کاهش‌یافت (P<۰/۰۵). کاهش در طول روده، بیانگر کاهش سطح جذب مواد مغذی است. کاهش طول روده توسط Hu *et al*. (2011) نیز گزارش شده است (Hu *et al*., 2011). تزریق کورتیکوسترون به‌صورت معنی‌داری موجب تغییرپذیری‌های ریخت‌شناختی در رابطه با طول پرز و یا نسبت طول پرز به عمق کریپت قسمت‌های مختلف روده در سن ۲۸ روزگی شد که با چندین گزارش از محققان پیشین همخوانی داشت (Hu & Guo, 2008; Porto *et al*., 2015; Song *et al*., 2014). به‌هرحال Quinteiro-Filho *et al*. (2010) در آزمایشی با ایجاد شرایط تنش گرمایی تفاوت معنی‌داری در ارتفاع پرزهای روده مشاهده نکردند. پیشنهاد شده است سازوکار کورتیکوسترون در تغییرپذیری ریخت‌شناختی روده به تأخیر انداختن تکثیر یاخته‌های روده است (Hu & Guo, 2008).

افزودن پروبیوتیک به جیرهٔ جوجه‌های گوشتی در این پژوهش موجب افزایش وزن نسبی و طول پرز روده در دوازدهه و ایلئوم و نیز افزایش نسبت طول پرز به عمق کریپت در ژژنوم در سن ۲۸ روزگی شد (P<۰/۰۵) که در همخوانی با آزمایش‌های پیشین است (Awad *et al*., 2009; Olnood *et al*., 2015; Sen *et al*., 2011; Sen *et al*., 2012; Song *et al*., 2014; Wang *et al*., 2016). هرچند برخی از گزارش‌ها نیز تأثیر نگذاشتن پروبیوتیک را در این زمینه‌ها گزارش کرده‌اند (Fernandes *et al*., 2014; Gómez *et al*., 2012). این تنوع در نتایج می‌تواند وابسته به نوع ریزجانداران مورد استفاده در پروبیوتیک، سن و نوع پرنده و شرایط آزمایش باشد. سازوکارهای چندی برای تأثیر پروبیوتیک بر ریخت‌شناختی روده متصور است. پیشنهاد شده است، پروبیوتیک‌های بر پایهٔ باسیلوس سوبتلیس، می‌توانند با مصرف اکسیژن آزاد در مجرای گوارشی، موجب تحریک رشد لاکتوباسیل‌ها شده و شرایط را برای باکتری‌های بیماری‌زایی مانند ای‌کولای نامساعد کند. با کاهش حضور باکتری‌های نامطلوب و در پی آن کاهش در سموم تولیدی آن‌ها، یاخته‌های روده آسیب کمتری خواهند دید (Gao *et al*., 2017; Jeong & Kim, 2014).

افزون براین، مواد به‌دست‌آمده از فعالیت ریزجانداران فراسودمند در روده، مانند اسیدهای آلی کوتاه زنجیر، می‌توانند روی افزونش یاخته‌های روده مؤثر باشند (Fernandes *et al*., 2014). در این تحقیق، به ترتیب افزایش و کاهش مشاهده‌شده در جمعیت لاکتوباسیل و کلی‌فرم در پاسخ به استفاده از پروبیوتیک با مشاهده‌های ریخت‌شناختی روده همخوانی دارد. باسیلوس سوبتلیس به‌عنوان یک ترکیب پروبیوتیکی با حذف رقابتی[1] و رقابت برای محل اتصال و تولید متابولیت‌های ضدباکتریایی مانند باکتریوسین‌ها[2] و آنزیم‌هایی مانند سوبتلیسین[3] و کاتالاز[4] و بهبود شرایط رشد جمعیت باکتری‌های لاکتیکی، موجب کاهش جمعیت باکتری‌های کلی‌فرم می‌شود (Deniz *et al*., 2011; Gao *et al*., 2017). نتایج مشاهده‌شده در این تحقیق با نتایج آزمایش‌های محققان گذشته همخوانی داشت (Gao *et al*., 2017; Jeong & Kim, 2014; Sen *et al*., 2011). نتایج اثر متقابل تزریق کورتیکوسترون و پروبیوتیک در رابطه با عمق کریپت دوازدهه و طول پرز ایلئوم تفاوت

1. Competitive exclusion
2. Bacteriocins
3. Subtilisin
4. Catalase

معنی‌داری نشان داد. عمق کریپت و طول پرز روده به ترتیب به‌عنوان معیاری از میزان جایگزینی[1] یاخته‌ای (یاخته‌های جدید) و نرخ تقسیم‌های میتوزی (عمر یاخته‌های اینتروسیت) در این ناحیه در نظر گرفته می‌شوند (Laudadio *et al*., 2012). در این آزمایش اگرچه اثر متقابل تزریق کورتیکوسترون و مصرف پروبیوتیک برای عمق کریپت و طول پرز معنی‌دار بود اما تفاوت‌های مشاهده‌شده برای نسبت طول پرز به عمق کریپت به‌عنوان یک عامل اصلاحی برای بازدهٔ جایگزینی یاخته‌ای (Laudadio *et al*., 2012)، معنی‌دار نبود.

نتایج تزریق کورتیکوسترون روی عیار پادتن علیه واکسن نیوکاسل معنی‌دار و منجر به کاهش در آن شد که با نتایج برخی پژوهش‌ها در این زمینه همخوانی دارد (Mustafa *et al*., 2010; Tuekam *et al*., 1994). کورتیکوسترون عامل تغییرپذیری‌های چندی در اعمال سامانهٔ ایمنی است. کورتیکوسترون به‌عنوان یک عامل سرکوب‌کننده ایمنی[2] موجب تحلیل اندام‌های ایمنی شده و تولید پادتن از لمفوسیت‌های B و همچنین افزونش یاخته‌های T را کاهش می‌دهد (Sadeghi *et al*., 2015; Shini *et al*., 2010). اگرچه برخی از محققان (Hatab *et al*., 2016; Rahimi, 2009)، تأثیر مثبت مصرف پروبیوتیک را روی پاسخ سامانهٔ ایمنی در برابر واکسن نیوکاسل در جوجه‌های گوشتی گزارش کردند، در این آزمایش تفاوت معنی‌داری در بین تیمارهای آزمایشی مشاهده نشد که با گزارش‌های برخی دیگر از محققان در این زمینه همخوانی دارد (Fathi *et al*., 2017; Sadeghi *et al*., 2015). در آزمایش Sadeghi *et al*. (2015) باوجود نبود تفاوت معنی‌دار در عیار پادتن علیه واکسن نیوکاسل بین جوجه‌های مصرف‌کنندهٔ اسپور باسیلوس سوبتلیس و گروه شاهد، در جوجه‌های آلوده به سالمونلا این عیار نسبت به گروه شاهد و مصرف‌کنندهٔ پروبیوتیک پایین‌تر بود. این محققان تأثیر سالمونلا روی کاهش عیار پادتن علیه واکسن نیوکاسل را به دلیل افزایش سطح کورتیکوسترون دانستند. (2012) Zhang *et al*. نیز با مصرف پروبیوتیک گرما دیدهٔ غیرفعال چند سویه به‌صورت مخلوط و اسپور باسیلوس سوبتلیس در مرغ تخم‌گذار تفاوتی در عیار پادتن علیه واکسن نیوکاسل در ۱۵ روز پس از واکسینه شدن (واکسیناسیون) مشاهده نکردند اما با گذشت زمان (پس از ۴۵ روز)، تفاوت مشاهده‌شده نسبت به گروه شاهد معنی‌دار بود (Zhang *et al*., 2012).

نتیجه‌گیری کلی

با توجه به نتایج این آزمایش، هورمون کورتیکوسترون به‌عنوان یک هورمون تنشی با تغییر در ساختار روده و پاسخ سامانهٔ ایمنی موجب کاهش در افزایش وزن، درصد گوشت سینه، بازدهٔ مصرف خوراک و عیار پاسخ به واکسن نیوکاسل در جوجه‌های گوشتی شد. مکمل پروبیوتیکی بر پایهٔ اسپور باسیلوس سوبتلیس، توانست با کاهش در جمعیت باکتری‌های کلی‌فرم و افزایش در جمعیت باکتری‌های لاکتیکی در ایلئوم و همچنین با افزایش در طول پرز و نسبت طول به عمق کریپت روده موجب بهبود عملکرد جوجه‌ها شود. لذا، در شرایط تنشی به‌منظور تعدیل اثرگذاری‌های نامطلوب ناشی از تنش روی عملکرد جوجه‌های گوشتی، استفاده از ترکیب‌های پروبیوتیکی ضرورت دارد.

REFERENCES

1. Awad, W., Ghareeb, K., Abdel-Raheem, S. & Böhm, J. (2009). Effects of dietary inclusion of probiotic and synbiotic on growth performance, organ weights, and intestinal histomorphology of broiler chickens. *Poultry Science*, *88*(1), 49-56.
2. Cengiz, Ö., Köksal, B. H., Tatlı, O., Sevim, Ö., Ahsan, U., Üner, A. G., Yakan, A. (2015). Effect of dietary probiotic and high stocking density on the performance, carcass yield, gut microflora, and stress indicators of broilers. *Poultry Science*, *94*(10), 2395-2403.
3. Cheng, T. K., Hamre, M. L. & Coon, C. N. (1997). Effect of environmental temperature, dietary protein, and energy levels on broiler performance. *Journal of Applied Poultry Research*, *6*(1), 1-17.

1. Turnover
2. Immune suppressive

4. Deniz, G., Orman, A., Cetinkaya, F., Gencoglu, H., Meral, Y. & Turkmen, I. (2011). Effects of probiotic (Bacillus subtilis DSM 17299) supplementation on the caecal microflora and performance in broiler chickens. *Revue de Medecine Veterinaire, 162*(11), 538-545.
5. Dong, H., Lin, H., Jiao, H., Song, Z., Zhao, J. & Jiang, K. (2007). Altered development and protein metabolism in skeletal muscles of broiler chickens (Gallus gallus domesticus) by corticosterone. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology, 147*(1), 189-195.
6. Fathi, M., Ebeid, T., Al-Homidan, I., Soliman, N. & Abou-Emera, O. (2017). Influence of probiotic supplementation on immune response in broilers raised under hot climate. *British poultry Science, 58*(5), 512-516.
7. Fernandes, B., Martins, M., Mendes, A., Milbradt, E., Sanfelice, C., Martins, B., Bresne, C. (2014). Intestinal integrity and performance of broiler chickens fed a probiotic, a prebiotic, or an organic acid. *Revista Brasileira de Ciência Avícola, 16*(4), 417-424.
8. Gao, Z., Wu, H., Shi, L., Zhang, X., Sheng, R., Yin, F. & Gooneratne, R. (2017). Study of Bacillus subtilis on growth performance, nutrition metabolism and intestinal microflora of 1 to 42 d broiler chickens. *Animal Nutrition, 3*(2), 109-113.
9. Gómez, S., Angeles, M., Mojica, M. & Jalukar, S. (2012). Combination of an enzymatically hydrolyzed yeast and yeast culture with a direct-fed microbial in the feeds of broiler chickens. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences, 25*(5), 665.
10. Harrington, D., Sims, M. & Kehlet, A. (2015). Effect of Bacillus subtilis supplementation in low energy diets on broiler performance. *Journal of Applied Poultry Research, 25*(1), 29-39.
11. Hatab, M., Elsayed, M. & Ibrahim, N. (2016). Effect of some biological supplementation on productive performance, physiological and immunological response of layer chicks. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences, 9*(2), 185-192.
12. Hu, X. & Guo, Y. (2008). Corticosterone administration alters small intestinal morphology and function of broiler chickens. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences, 21*(12), 1773-1778.
13. Hu, X., Guo, Y., Huang, B., Bun, S., Zhang, L., Li, J., Jiao, P. (2010). The effect of glucagon-like peptide 2 injection on performance, small intestinal morphology, and nutrient transporter expression of stressed broiler chickens 1. *Poultry Science, 89*(9), 1967-1974.
14. Hu, X. F., Guo, Y. M., Li, J. H., Yan, G. L., Bun, S. & Huang, B. Y. (2011). Effects of an early lipopolysaccharide challenge on growth and small intestinal structure and function of broiler chickens. *Canadian Journal of Animal Science, 91*(3), 379-384.
15. Jeong, J. & Kim, I. (2014). Effect of Bacillus subtilis C-3102 spores as a probiotic feed supplement on growth performance, noxious gas emission, and intestinal microflora in broilers. *Poultry Science, 93*(12), 3097-3103.
16. Jin, L., Ho, Y., Abdullah, N. & Jalaludin, S. (2000). Digestive and bacterial enzyme activities in broilers fed diets supplemented with Lactobacillus cultures. *Poultry Science, 79*(6), 886-891.
17. Kehlet, A., da Silva, L., Salguero, S., Albino, L., Rostagno, H. & Harrington, D. (2014). *The use of GalliPro® to improve broiler performance in energy-reduced diets.* Paper presented at the Proc. Annual Meeting Poultry Sci. Assoc., Corpus Christi, TX, USA.
18. Laganá, C., Ribeiro, A. M. L., Kessler, A. d. M., Kratz, L. R. & Pinheiro, C. C. (2007). Effects of the reduction of dietary heat increment on the performance, carcass yield, and diet digestibility of broilers submitted to heat stress. *Revista Brasileira de Ciência Avícola, 9*(1), 45-51.
19. Lara, L. J. & Rostagno, M. H. (2013). Impact of heat stress on poultry production. *Animals, 3*(2), 356-369.
20. Latorre, J., Hernandez-Velasco, X., Kallapura, G., Menconi, A., Pumford, N., Morgan, M., Téllez, G. (2014). Evaluation of germination, distribution, and persistence of Bacillus subtilis spores through the gastrointestinal tract of chickens. *Poultry Science, 93*(7), 1793-1800.
21. Laudadio, V., Passantino, L., Perillo, A., Lopresti, G., Passantino, A., Khan, R. & Tufarelli, V. (2012). Productive performance and histological features of intestinal mucosa of broiler chickens fed different dietary protein levels. *Poultry Science, 91*(1), 265-270.
22. Lin, H., Decuypere, E. & Buyse, J. (2004). Oxidative stress induced by corticosterone administration in broiler chickens (Gallus gallus domesticus): 1. Chronic exposure. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology, 139*(4), 737-744.
23. Lin, H., Sui, S., Jiao, H., Buyse, J. & Decuypere, E. (2006). Impaired development of broiler chickens by stress mimicked by corticosterone exposure. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology, 143*(3), 400-405.
24. Liu, F., Yin, J., Du, M., Yan, P., Xu, J., Zhu, X. & Yu, J. (2009). Heat-stress-induced damage to porcine small intestinal epithelium associated with downregulation of epithelial growth factor signaling. *Journal of Animal Science, 87*(6), 1941-1949.

25. Mahmoud, K., Obeidat, B., Al-Sadi, M. & Hatahet, S. R. (2017). Effect of Bacillus subtilis supplementation and dietary crude protein level on growth performance and intestinal morphological changes of meat type chicken. *Livestock Science, 195*, 99-104.
26. Mehaisen, G. M., Eshak, M. G., Elkaiaty, A. M., Atta, A.-R. M., Mashaly, M. M. & Abass, A. O. (2017). Comprehensive growth performance, immune function, plasma biochemistry, gene expressions and cell death morphology responses to a daily corticosterone injection course in broiler chickens. *PloS One, 12*(2), e0172684.
27. Mokhtari, R., Yazdani, A. R., Rezaei, M. & Ghorbani, B. (2010). The effects of different growth promoters on performance and carcass characteristics of broiler chickens. *Journal of Animal and Veterinary Advances, 9*(20), 2633-2639.
28. Molnár, A., Podmaniczky, B., Kürti, P., Tenk, I., Glávits, R., Virág, G. & Szabo, Z. (2011). Effect of different concentrations of Bacillus subtilis on growth performance, carcase quality, gut microflora and immune response of broiler chickens. *British Poultry Science, 52*(6), 658-665.
29. Mustafa, M. Y., Muneer, M. A., Anjum, A. A. & Din-Ahamd, M. (2010). Influence of stocking density on immune response of broilers against newcastle disease virus. *Pakistan Journal of Life and Social Sciences, 8*(1), 7-10.
30. Ognik, K. & Sembratowicz, I. (2012). Stress as a factor modifying the metabolism in poultry. A review. *Annales Universitatis Mariae Curie-Skłodowska. Sectio EE: Zootechnica, 30*(2).
31. Olnood, C. G., Beski, S. S., Choct, M. & Iji, P. A. (2015). Novel probiotics: Their effects on growth performance, gut development, microbial community and activity of broiler chickens. *Animal Nutrition, 1*(3), 184-191.
32. Olnood, C. G., Beski, S. S., Iji, P. A. & Choct, M. (2015). Delivery routes for probiotics: Effects on broiler performance, intestinal morphology and gut microflora. *Animal Nutrition, 1*(3), 192-202.
33. Opalinski, M., Maiorka, A., Dahlke, F., Cunha, F., Vargas, F. & Cardozo, E. (2007). On the use of a probiotic (*Bacillus subtilis-strain* DSM 17299) as growth promoter in broiler diets. *Revista Brasileira de Ciência Avícola, 9*(2), 99-103.
34. Porto, M., Givisiez, P., Saraiva, E., Costa, F., Moreira Filho, A., Andrade, M., ... Guerra, R. (2015). Glutamic acid improves body weight gain and intestinal morphology of broiler chickens submitted to heat stress. *Revista Brasileira de Ciência Avícola, 17*(3), 355-362.
35. Puvadolpirod, S. & Thaxton, J. (2000). Model of physiological stress in chickens 4. Digestion and metabolism 1 2. *Poultry Science, 79*(3), 383-390.
36. Quinteiro-Filho, W., Ribeiro, A., Ferraz-de-Paula, V., Pinheiro, M., Sakai, M., Sá, L., ... Palermo-Neto, J. (2010). Heat stress impairs performance parameters, induces intestinal injury, and decreases macrophage activity in broiler chickens. *Poultry Science, 89*(9), 1905-1914.
37. Rahimi, M. (2009). Effects of probiotic supplementation on performance and humoral immune response of broiler chickens. *Book of proceedings, 2nd Mediterranean Summit of WPSA*, 67-69.
38. Rahman, M. M. & Sarker, R. D. a. M. N. (2017). Evaluation of serum antibody titer level against Newcastle disease virus in vaccinated broiler chickens. *Annals of Veterinary and Animal Science, 4*(3), 94-98.
39. Rajput, I. R., Li, Y. L., Xu, X., Huang, Y., Zhi, W. C., Yu, D. Y. & Li, W. (2013). Supplementary effects of Saccharomyces boulardii and Bacillus subtilis B10 on digestive enzyme activities, antioxidation capacity and blood homeostasis in broiler. *International Journal of Agriculture & Biology, 15*(2), 231-237.
40. Reis, M., Fassani, E., Júnior, A. G., Rodrigues, P., Bertechini, A., Barrett, N., Schmidt, C. (2017). Effect of Bacillus subtilis (DSM 17299) on performance, digestibility, intestine morphology, and pH in broiler chickens. *Journal of Applied Poultry Research, 26*(4), 573-583.
41. Sadeghi, A. A., Shawrang, P. & Shakorzadeh, S. (2015). Immune response of salmonella challenged broiler chickens fed diets containing Gallipro®, a Bacillus subtilis probiotic. *Probiotics and Antimicrobial Proteins, 7*(1), 24-30.
42. Santin, E., Maiorka, A., Polveiro, W., Paulillo, A., Laurentiz, A., Borges, S. & Fischer da Silva, A. (2003). Effect of environmental temperature on immune response of broilers. *Journal of Applied Poultry Research, 12*(3), 247-250.
43. Seifi, K., Karimi-Torshizi, M. & Deldar, H. (2018). Probiotics intake from proximal or distal gastrointestinal tract: The investigation on intestinal morphology and performance of Japanese quail. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 102*(1).
44. Sen, S., Ingale, S., Kim, J., Kim, K., Kim, Y., Khong, C., Kwon, I. (2011). Effect of supplementation of Bacillus subtilis LS 1-2 grown on citrus-juice waste and corn-soybean meal substrate on growth performance, nutrient retention, caecal microbiology and small intestinal morphology of broilers. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 24(8), 1120-1127.

45. Sen, S., Ingale, S., Kim, Y., Kim, J., Kim, K., Lohakare, J., & Kwon, I. (2012). Effect of supplementation of Bacillus subtilis LS 1-2 to broiler diets on growth performance, nutrient retention, caecal microbiology and small intestinal morphology. *Research in Veterinary Science*, 93(1), 264-268.
46. Shini, S., Huff, G., Shini, A. & Kaiser, P. (2010). Understanding stress-induced immunosuppression: Exploration of cytokine and chemokine gene profiles in chicken peripheral leukocytes 1. *Poultry Science, 89*(4), 841-851.
47. Siegel, H. V. & Van Kampen, M. (1984). Energy relationships in growing chickens given daily injections of corticosterone. *British Poultry Science, 25*(4), 477-485.
48. Sohail, M., Hume, M., Byrd, J., Nisbet, D., Ijaz, A., Sohail, A., & Rehman, H. (2012). Effect of supplementation of prebiotic mannan-oligosaccharides and probiotic mixture on growth performance of broilers subjected to chronic heat stress. *Poultry Science*, 91(9), 2235-2240.
49. Song, J., Xiao, K., Ke, Y., Jiao, L., Hu, C., Diao, Q., Zou, X. (2014). Effect of a probiotic mixture on intestinal microflora, morphology, and barrier integrity of broilers subjected to heat stress. *Poultry Science, 93*(3), 581-588.
50. Song, Z., Yuan, L., Jiao, H. & Lin, H. (2011). Effect of corticosterone on hypothalamic corticotropin-releasing hormone expression in broiler chicks (Gallus gallus domesticus) fed a high energy diet. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 24(12), 1736-1743.
51. Song, Z., Zhang, X., Zhu, L., Jiao, H. & Lin, H. (2011). Dexamethasone alters the expression of genes related to the growth of skeletal muscle in chickens (Gallus gallus domesticus). *Journal of Molecular Endocrinology, 46*(3), 217-225.
52. Tuekam, T., Miles, R. & Butcher, G. (1994). Performance and humoral immune response in heat-stressed broilers fed an ascorbic acid supplemented diet. *Journal of Applied Animal Research, 6*(2), 121-130.
53. Vargas-Rodriguez, L., Duran-Melendez, L., Garcia-Masias, J., Arcos-Garcia, J., Joaquin-Torres, B. & Ruelas-Inzunza, M. (2013). Effect of probiotic and population density on the growth performance and carcass characteristics in broiler chickens. *International Journal of Poultry Science, 2*, 390-395.
54. Virden, W. & Kidd, M. (2009). Physiological stress in broilers: Ramifications on nutrient digestibility and responses 1 2. *Journal of Applied Poultry Research, 18*(2), 338-347.
55. Wang, S., Ni, Y., Guo, F., Fu, W., Grossmann, R. & Zhao, R. (2013). Effect of corticosterone on growth and welfare of broiler chickens showing long or short tonic immobility. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 164(3), 537-543.
56. Wang, X., Farnell, Y., Peebles, E., Kiess, A., Wamsley, K. & Zhai, W. (2016). Effects of prebiotics, probiotics, and their combination on growth performance, small intestine morphology, and resident Lactobacillus of male broilers. *Poultry Science, 95*(6), 1332-1340.
57. Wang, Y. & Gu, Q. (2010). Effect of probiotic on growth performance and digestive enzyme activity of Arbor Acres broilers. *Research in Veterinary Science, 89*(2), 163-167.
58. Yang, J., Liu, L., Sheikhahmadi, A., Wang, Y., Li, C., Jiao, H., Song, Z. (2015). Effects of corticosterone and dietary energy on immune function of broiler chickens. *PloS One, 10*(3), e0119750.
59. Zaghari, M., Derakhshani Diba, M., Moravej, H. & Zahroojian, N. (2017). Estimation of metabolizable energy equivalency of Bacillus Subtilis spore for male broiler chickens. *Journal of Livestock Science and Technologies, 5*(1), 9-18.
60. Zaghari, M., Zahroojian, N., Riahi, M. & Parhizkar, S. (2015). Effect of Bacillus subtilis spore (GalliPro®) nutrients equivalency value on broiler chicken performance. *Italian Journal of Animal Science, 14*(1), 3555.
61. Zhang, J., Xie, Q., Ji, J., Yang, W., Wu, Y., Li, C., Bi, Y. (2012). Different combinations of probiotics improve the production performance, egg quality, and immune response of layer hens. *Poultry Science, 91*(11), 2755-2760.
62. Zhang, L., Zhang, L., Zeng, X., Zhou, L., Cao, G. & Yang, C. (2016). 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. *Journal of Animal Science and Biotechnology, 7*(1), 3.