اثرات سطوح مختلف و روش استفاده از میکروارگانیسم موثر بر عملکرد و فلور میکروبی جوجه‌های گوشتی

امید افسریان[۱*]، محمد حسین شهیر[۲]، سید مرتضی موسوی[۳] و افشین حیدری‌نیا[۱]

تاریخ دریافت:۸۹/۹/۷ تاریخ پذیرش: ۹۰/۷/۲۶

۱- دانشجوی دکتری تغذیه طیور گروه علوم دامی دانشگاه زنجان
۲- استادیار گروه علوم دامی دانشگاه زنجان
۳- دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم دامی دانشگاه زنجان
*مسئول مکاتبه: E mail: omid.afsarian@znu.ac.ir

چکیده

در این مطالعه بازده پروبیوتیک‌های چند سویه‌ای که میکروارگانیسم موثر (EM) نامیده می‌شود، در قالب طرح کاملا" تصادفی به روش فاکتوریل ۳×۳ با سه تکرار و ۱۳ پرنده در هر تکرار مورد بررسی قرار گرفت. در این آزمایش از EM به صورت خوراک تخمیر شده (EM-بوکاشی) و یا به صورت محلول در آب آشامیدنی، در سه سطح (صفر، متوسط و بالا)، استفاده گردید. دوره آزمایش شامل دو دوره آغازین (۷تا۲۱روزگی) و رشد (۲۲تا۴۲روزگی) می‌شد. میزان افزایش وزن و مصرف خوراک به صورت هفتگی رکورد برداری می‌شد و تلفات به صورت روزانه ثبت می‌گردید. در پایان این آزمایش ۲ پرنده از هر پن به طور تصادفی انتخاب و نمونه‌های خون از رگ بال جمع آوری شد و در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد برای آنالیزهای بعدی جهت تعیین متابولیت‌های خونی ذخیره گردید. نمونه محتویات روده کور فورا" بعد از کشتار برای آنالیز جمعیت میکروبی برداشته شد. نتایج نشان داد که اثرات اصلی کاربرد EM (هم به صورت خوراکی و هم آشامیدنی)، وزن بدن و خوراک مصرفی را به طور معنی داری ($P<۰/۰۱$) افزایش داد. اثرات متقابل کاربرد EM-بوکاشی و EM محلول در آب بر افزایش وزن و خوراک مصرفی معنی دار بود ($P<۰/۰۱$)، ضریب تبدیل غذایی تحت تاثیر جیره‌های غذایی حاوی EM قرار نگرفت، ولی اثرات متقابل بین EM-بوکاشی و EM محلول در آب، ضریب تبدیل را بطور معنی داری کاهش داد($P<۰/۰۱$). متابولیت های سرم مانند تری گلیسرید و کلسترول با کاربرد EM کاهش یافتند ($P<۰/۰۵$). هر دو روش کاربرد EM و همچنین اثرات متقابل بین آنها، پاتوژن ها(کلستریدیوم، E_Coli، سالمونلا و کلی فرم) را در محتویات روده کور کاهش داد ($P<۰/۰۱$). در نهایت، نتایج این مطالعه نشان داد که EM دارای اثرات تحریک کنندگی رشد، به واسطه بهبود در مصرف خوراک و یا کاهش پاتوژن های دستگاه گوارش می‌باشد.

کلمات کلیدی: میکروارگانیسم موثر، جوجه گوشتی، عملکرد، میکروفلور

Archive of SID

www.SID.ir

Effects of Different Levels and Application Procedure of Effective Microorganism on Performance and Microflora in Broiler Chicken

O Afsarian[1*], M H Shahir[2], S M Mosavi[3] and A Heidari-nia[1]

Received: 28 November, 2010 Accepted: 18 October, 2011
[1]Ph D Student, Department of Animal Science, University of Zanjan, Zanjan, Iran
[2]Assistant professor, Department of Animal Science, University of Zanjan, Zanjan, Iran
[3] MSc Graduated, Department of Animal Science, University of Zanjan, Zanjan, Iran
[*]Corresponding author: E-mail: omid.afsarian@znu.ac.ir

ABSTRACT

In this study, the efficacy of multi strain probiotic known as effective microorganism(EM), in a 3×3 factorial procedure in a completely randomized design with 3 replicate (pen) and 13 birds per each pen was studied. In our experiment, EM was used as fermented feed (EM-Bokashi) or in water solution in three different concentrations (0, Medium and High). The experimental periods were included starter period (7 to 21d) and grower period (22 to 42d). Growth rate and feed intake were recorded weekly and mortality was recorded daily. At the end of experiment 2 birds from each pens were randomly selected and blood samples were collected by wing vein and stored in -20 ^{0}C for later analysis for blood metabolites. Sample of cecal content was rapidly taken for analysis of microbial population. The results showed that the main effects of application of EM (either fermented or in solution) were significantly increased (P<0.01) body weight and Feed intake. The interaction effects of applications EM-Bokashi and EM in water solution has significantly (P<0.01) effects on body weight and feed intake. Feed conversion ratio was not significantly affected by EM. However, the interaction effects between EM-Bokashi and EM in water solution were significantly reduced FCR. Serum metabolite such as triglycerides and cholesterol reduced significantly (P<0.05) using of EM. The main effects of application and interaction effects, EM caused significant reduction (P<0.05) of entro pathogenic bacteria (Clostridia, E. coli, Total bacteria and Salmonella). It was concluded that EM had a growth promoting effect through improvement of feed intake and/or reduced pathogenic bacteria on cecum.

Key words: Effective microorganism, Broiler, Performance

مقدمه

جمعیت میکروبی دستگاه گوارش، بر تغذیه و سلامتی گونه‌های مختلف حیوانی از جمله طیور تاثیر می‌گذارد. تراکم و ترکیب جمعیت میکروبی به طور موثری تحت تاثیر سه عامل: الف- ساختمان بافت پوششی روده میزبان ب- جیره غذایی و ج- ترکیب باکتریایی که جوجه در هنگام تولد دریافت می‌کند، قرار دارد (گوان و همکاران ۲۰۰۴).

تراکم نسبی باکتری‌ها در دستگاه گوارش، بر ضریب تبدیل غذایی و به طور کلی عملکرد طیور تاثیر می‌گذارد. باکتری‌ها در دستگاه گوارش به دو دسته مفید و مضر تقسیم بندی می‌شوند. باکتری‌های مضر عواملی از قبیل سلامت دستگاه گوارش و ضریب تبدیل غذایی را تحت تاثیر قرار داده و سبب زیان های اقتصادی به پرورش دهندگان می‌شود، با وارد نمودن مواد افزودنی به جیره مانند پروبیوتیک‌ها می‌توان از تکثیر باکتریهای مضر و اتصال آنها به دیواره دستگاه گوارش جلوگیری و زیان های اقتصادی را در این رابطه به حداقل رسانید (بلانکن شیپ و همکاران ۱۹۹۳، چامبرز و همکاران ۲۰۰۲ و تلز و همکاران ۲۰۰۶).

Archive of SID

www.SID.ir

یکی از پروبیوتیک‌هایی را کـه مـی‌تـوان بـه ایـن منظـور وارد جیره غـذایی نمـود میکروارگانیسـم مـوثر [۱](EM) می‌باشد. مکمل میکروارگانیسم موثر به توازن میکروبی روده کمک نموده و میزان میکروفلـور سـودمند روده را افـزایش داده و از ایـن رو سـرعت رشـد را بهبـود می‌بخشد. همچنین میکروارگانیسم مـوثر هضـم غـذا در روده و سرعت جـذب در روده جوجـه‌هـای گوشـتی را تغییر می‌دهـد و از ایـن رو بـازده متابولیسـم انـرژی را بهبود می‌بخشد (هیگا ۱۹۹۵). با توجه بـه اینکـه تـاکنون در مورد کاربرد میکروارگانیسم مـوثر در جیـره طیـور گوشـتی بـه روش‌هـای خـوراک تخمیـر شـده (EM-بوکاشـی) و آشـامیدنی (EM محلـول در آب) مطالعـات کمی انجام شـده اسـت، تحقیـق حاضـر در ایـن راسـتا طراحی و اجرا گردید.

مواد و روش ها

تعداد ۳۵۱ قطعه جوجه نر آربوراکرز به طـور تصـادفی در داخل ۲۷ واحـد آزمایشـی و ۱۳ پرنـده بـه ازای هـر واحد قرار گرفتند. جوجه های اختصـاص داده شـده بـه واحدهای آزمایشی دارای میانگین وزن ۵±۱۳۷ گرم در ۷ روزگـی بودنـد. جیـره‌هـای مـورد اسـتفاده در ایـن آزمایش عمدتا" بر اساس ذرت و کنجاله سـویا بـوده و بر اساس نیازهای غـذایی توصـیه شـده (NRC 1994) برای دوره آغازین (۷ تا ۲۱ روزگی) و رشـد (۲۲ تـا ۴۲ روزگی) تهیه شدند و تمام جیـره‌هـا از لحـاظ انـرژی و پروتئین یکسان بودند(جدول ۱). در انتهای آزمایش نیـز دو قطعه خروس که به میانگین وزن پن نزدیکتـر بودنـد کشتار و صفات لاشه اندازه گیری شد.

سطوح کاربرد EM در آزمایش

EM شامل مجموعـه‌ای از باکتریهـای مفیـد [خصوصـاً باکتریهـــای اســـید لاکتیـــک ($۱/۳\times۱۰^{۷}$cfu/ml) و فتوســـــــنتتیک ($۳/۳\times۱۰^{۴}$cfu/ml)، مخمـــــــر ($۱/۳\times۱۰^{۴}$cfu/ml)، اکتینومایســـیز (۲×۱۰^{۲}cfu/ml) و قارچ تخمیری ($۱/۵\times۱۰^{۲}$cfu/ml)] است که بـه صـورت تجاری توسـط پروفسـور هیگـا در دانشـگاه اوکینـاوای ژاپن ایجاد شده اسـت. EM بـه جیـره بـه صـورت یـک خوراک تخمیر شده که بوکاشی نامیده می‌شـود اضـافه گردید. بوکاشی یک کلمه ژاپنی است و بـه معنـای مـواد آلی تخمیر شده می‌باشد و به سادگی بـا محلـول کـردن ۱۵۰میلـی لیتـر EM در ۱۵۰میلـی لیترمحلـول مـلاس ۱ درصد و سپس مخلوط نمـودن ایـن محلـول بـا سـبوس گنـدم، پـودر مـاهی و کنجالـه سـویا سـاخته مـی‌شـود (۳۷درصـد سـبوس گنـدم ، ۳۵درصـد کنجالـه سـویا و ۲۸درصد پودر ماهی، که با افزودن ۱۵ لیتر آب رطوبـت مخلوط به ۳۵ درصد رسانده می‌شود) و در نهایـت ایـن مخلوط را به مدت ۵ روز در داخل کیسه‌هـای پلـی‌اتـیلن برای ایجاد شرایط بی‌هوازی قرار مـی‌دهنـد، تـا تخمیـر صـورت گیـرد. پـس از طـی ایـن مـدت مخلـوط EM-بوکاشی آماده مصرف در جیره‌های طیور طبـق جـدول ۲ بـود. همچنـین EM در آب آشـامیدنی بـا غلظـت‌هـای متوسط و بالا طبق جدول ۲ استفاده گردید.

خونگیری

بـه منظـور بررسـی اثـر میکروارگانیسـم مـوثر بـر فراسنجه‌های خونی از قبیل کلسترول، پـروتئین، تـری گلیسـرید و گلـوکز یـک مرحلـه خـونگیری در پایـان ۴۲ روزگی صورت پذیرفت. بدین منظور دو جوجه خـروس از هر تکرار به طـور تصـادفی انتخـاب گردیـد و نمونـه خون مورد نیاز از رگ بال گرفته شد. بعد از خـونگیری، نمونه‌ها برای جـداسـازی سـرم بـه مـدت ۱۰ دقیقـه در 3000×g سانتریفیوژ شدند. سطح گلوکز[۲] بلافاصله پس از خـونگیری تعیـین گردیـد. سـطوح پـروتئین تـام[۳]، کلسـترول[۴]، و تـری گلیسـرید[۵] سـرم بـا اسـتفاده از کیت‌هـای پـارس آزمـون[۶] و بـه روش اسـپکتوفتومتری اندازه گیری شد.

[1] Effective Microorganism

[2]. Glucotrend, England

[3]. Biuret method

[4]. GHOD-PAR enzymatic method

[5]. GPO-PAP

[6]. Pars Azmon Laboratory, Tehran, Iran

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۱. ترکیب جیره‌های آزمایشی

اجزای جیره	آغازین (۷ تا ۲۱ روزگی)			رشد(۲۱ تا ۴۲ روزگی)		
	شاهد	متوسط[1]	بالا[2]	شاهد	متوسط	بالا
ذرت	۵۹/۵۶	۵۶/۷۷	۵۶/۰۳	۶۲/۳۶	۶۲/۳۳	۶۰/۶۷
پودر ماهی	۶	۶	۵	۲/۲۵	۳	۲/۶۶
کنجاله سویا	۳۰	۳۰/۸۵	۲۹/۸۳	۳۰	۲۸	۲۸
روغن سویا	۲	۲/۸	۳	۲/۱	۲/۱۳	۲/۶۲
EM-بوکاشی	۰	۲	۴	۰	۱/۵	۳
پودر صدف	۰/۹۱	۰/۹۸	۰/۹۸	۱/۳۳	۱/۲۶	۱/۲۸
دی کلسیم فسفات	۰/۴۸	۰/۵۸	۰/۵	۰/۸۸	۰/۶۹	۰/۶۹
نمک	۰/۵	۰/۴۵	۰/۱	۰/۵	۰/۵	۰/۵
پرمیکس ویتامین[3]	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵
پرمیکس مواد معدنی[4]	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵
دی ال متیونین	۰/۰۷	۰/۰۷	۰/۰۷	۰/۰۸	۰/۰۷	۰/۰۸
ترکیب شیمیایی جیره‌های آزمایشی						
پروتئین خام	۲۱	۲۱	۲۱	۱۹	۱۹	۱۹
انرژی قابل متابولیسم	۲۹۷۶	۲۹۷۵	۲۹۷۵	۲۹۸۳	۲۹۸۳	۲۹۸۳
لیزین(٪)	۱/۲۲	۱/۲۰	۱/۲۰	۱/۰۹	۱/۰۸	۱/۰۷
متیونین(٪)	۰/۴۵	۰/۴۵	۰/۴۵	۰/۴۱	۰/۴۱	۰/۴۱
متیونین+سیستئین(٪)	۰/۸۲	۰/۸۲	۰/۸۲	۰/۷۷	۰/۷۶	۰/۷۶
کلسیم(٪)	۰/۹۵	۰/۹۵	۰/۹۵	۰/۹۲	۰/۹۲	۰/۹۲
فسفات(٪)	۰/۴۵	۰/۴۵	۰/۴۵	۰/۴۰	۰/۴۰	۰/۴۰

[1و2] سطوح متوسط و بالا در این جدول نشان دهنده سطح کاربرد EM-بوکاشی در جیره‌های آزمایشی است ، که در دوره آغازین به ترتیب ۲ و ۴ درصد، و در دوره رشد به ترتیب ۱/۵ و ۳ درصد می باشد.

[3]هر کیلوگرم جیره حاوی : ویتامین A، ۱۱۰۰۰ واحد بین المللی; کوله کلسیفرول، ۲۲۰۰ واحد بین المللی; ویتامین E، ۳۰ واحد بین المللی; ویتامین K، ۰/۵ میلی گرم; ویتامین B_{12}، ۰/۰۲ میلی گرم;تیامین، ۱/۵ میلی گرم; ریبوفلاوین، ۶ میلی گرم; اسید فولیک، ۰/۶ میلی گرم; بیوتین، ۰/۱۵ میلی گرم; نیاسین، ۶۰ میلی گرم; پریدوکسین، ۵ میلی گرم; کولین کلراید، ۷۸۸ میلی گرم.

[4]مس، ۲۰ میلی گرم; آهن، ۸۰ میلی گرم; منگنز، ۲۱/۸ میلی گرم; سلنیوم، ۰/۱ میلی گرم; ید، ۰/۳۵ میلی گرم و روی، ۱۰۰ میلی گرم.

جدول۲. میزان کاربرد EM در آب و خوراک به تفکیک دوره‌های پرورش

سن	میزان کاربرد EM-بوکاشی(٪جیره)		سطوح کاربرد EM در آب(ml/l)	
	متوسط(M)	بالا (H)	متوسط (M)	بالا (H)
۷ تا ۲۱ روزگی	۲	۴	۰/۵	۱
۲۱ تا ۴۲ روزگی	۱/۵	۳	۰/۲۵	۰/۵

Archive of SID

www.SID.ir

مطالعه تغییرات فلور میکروبی در روده کور

برای بررسی تغییرات جمعیت میکروبی در دستگاه گوارش جوجه‌های گوشتی در سن ۴۲ روزگی از محتویات روده کور نمونه برداری شد. برای این کار از هر تکرار یک پرنده به طور تصادفی انتخاب و کشتار شد. بلافاصله پس از کشتار، دستگاه گوارش خارج و پس از جدا شدن روده‌های کور مقدار یک میلی لیتر از محتویات آنها با استفاده از سمپلر برداشته و به ظرف استریل منتقل شد. نمونه‌های تهیه شده از تکرارهای هر تیمار به نسبت مساوی با هم مخلوط گردید و در نهایت ۱ سی سی نمونه که معرف آن تیمار بود تهیه و به لوله حاوی بافر فسفات منتقل و بخوبی مخلوط شد (میلر و ولین ۱۹۷۴).

تعیین فراوانی کلی فرم ها، کلستریدیوم، سالمونلا، E_coli

برای تعیین تعداد کل باکتری‌های متعلق به گونه‌های مختلف در محتویات روده کور نیاز به استفاده از محیط‌های کشت اختصاصی است. به همین منظور برای تعیین فراوانی کلی فرم‌ها، کلستریدیوم، سالمونلا و E_coli به ترتیب از محیط‌های کشت مک کانکی[۷]، ژلوز خون، SS[۸] و ای ام بی[۹] استفاده شد.

برای شمارش این گونه‌ها از روش شمارش کلنی استفاده شد. این روش بر اساس این فرضیه است که یک سلول باکتری ایجاد یک کلنی می‌کند. به همین منظور بایستی از نمونه اولیه رقت‌های مختلفی تهیه نمود و بر روی محیط‌های اختصاصی کشت داد و بعد از قرار گرفتن نمونه در انکوباتور، تعداد کلنی‌های تشکیل دهنده را شمارش نمود.

در این آزمایش از نمونه‌های اولیه رقت‌های ۱- تا ۷- تهیه شد. از محلول بافر فسفات به عنوان رقیق کننده استفاده شد. به این صورت که ۷ لوله آزمایش دربدار حاوی ۹ میلی لیتر بافر آماده شد. با استفاده از پیپت یک میلی لیتر از نمونه اولیه که حاوی یک گرم نمونه در ۱۰ میلی لیتر بافر بود، برداشته و به لوله شماره ۱ منتقل و کاملا" مخلوط شد. به همین ترتیب از لوله شماره یک، یک میلی لیتر به لوله شماره ۲ منتقل و این عمل تا رقت ۷- تکرار شد (میلر و ولین ۱۹۷۴).

مدل آماری طرح آزمایش

در این تحقیق برای تعیین اثرات اصلی کاربرد EM-بوکاشی و EM محلول در آب (هر کدام در سه سطح صفر، متوسط و بالا) و همچنین تعیین اثرات متقابل بین آنها، از طرح کاملا" تصادفی به روش فاکتوریل استفاده گردید. مدل آماری طرح آزمایشی به صورت زیر است:

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

Y_{ijk} = کل مشاهدات مربوط به سطوح EM-بوکاشی در خوراک و سطوح EM محلول در آب آشامیدنی؛ μ= اثر میانگین؛ A_i= اثرات اصلی کاربرد EM-بوکاشی در خوراک؛ B_j= اثرات اصلی کاربرد EM در آب آشامیدنی؛ AB_{ij}= اثرات متقابل بین EM-بوکاشی و EM محلول در آب آشامیدنی؛ e_{ijk}= اشتباه آزمایشی.

برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم افزار SAS استفاده شد و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن صورت پذیرفت.

نتایج و بحث

نتایج عملکرد

نتایج مربوط به اثرات EM-بوکاشی و EM محلول در آب بر افزایش وزن، مصرف خوراک و ضریب تبدیل غذایی در جدول ۳ آورده شده است.

به طور کلی کاربرد هر دو سطح EM-بوکاشی وزن بدن را نسبت به گروه شاهد افزایش داد ($P<0/01$) و با افزایش سطح آن در جیره، حداکثر عملکرد در افزایش وزن مشاهده گردید. همچنین کاربرد هر دو سطح EM محلول در آب آشامیدنی، وزن بدن جوجه ها را افزایش داد ولی بیشترین اثر تحریک کنندگی افزایش وزن، مربوط به کاربرد سطح متوسط EM در آب آشامیدنی می‌باشد ($P<0/01$). اثرات متقابل بین EM-بوکاشی و EM محلول در آب، تاثیر معنی داری بر افزایش وزن بدن داشت.

[7].Merck KGaA, Darmstadt, Germany.

[8]. Salmonella Shigella Agar, France.

[9]. Eosin methylene-blue lactose sucrose Agar, for microbiology

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۳. اثر سطوح مختلف EM- بوکاشی و EM محلول در آب بر پارامترهای عملکردی(میانگین)

EM- بوکاشی	EM محلول در آب	افزایش وزن(گرم)	مصرف خوراک(گرم)	ضریب تبدیل(٪)
0		۲۲۳۵^{a}	۴۰۹۰^{a}	۱/۸۳۳
M_1		۲۲۷۰^{a}	۴۱۱۱^{a}	۱/۸۱۳
H_1		۲۳۴۹^{b}	۴۲۱۷^{b}	۱/۷۹۴
SEM		۲۲/۷۱	۱۰/۱۹	۰/۰۳۰
	0	۲۱۶۴^{a}	۳۹۲۵^{a}	۱/۸۱۶
	M_2	۲۳۷۶^{b}	۴۳۳۱^{c}	۱/۸۲۴
	H_2	۲۳۱۵^{b}	۴۱۶۲^{b}	۱/۸۰۰
	SEM	۲۲/۷۱	۱۰/۱۹	۰/۰۳۰
	اثرات متقابل			
	0×0	۲۰۸۰^{a}	۳۸۸۵^{a}	۱/۸۶۸^{cd}
	0× M_2	۲۴۱۷^{e}	۴۲۹۸^{d}	۱/۷۷۸^{abc}
	0× H_2	۲۲۰۹^{b}	۴۰۸۸^{c}	۱/۸۵۲^{bcd}
	M_1×0	۲۱۶۹^{ab}	۳۹۴۰^{b}	۱/۸۱۹^{abcd}
	M_1×M_2	۲۲۸۷^{bcd}	۴۳۱۳^{d}	۱/۸۸۷^{d}
	M_1×H_2	۲۳۵۴^{cde}	۴۰۸۷^{c}	۱/۷۳۳^{a}
	H_1×0	۲۲۴۴^{bc}	۳۹۴۸^{b}	۱/۷۶۰^{ab}
	H_1×M_2	۲۴۲۴^{e}	۴۳۸۳^{e}	۱/۸۰۸^{abcd}
	H_1×H_2	۲۳۸۱^{de}	۴۳۲۰^{d}	۱/۸۱۴^{abcd}
	SEM	۳۹/۳۴	۱۷/۶۶	۰/۰۳۰

a,b, c حروف غیر مشابه در هر ستون بیانگر تفاوت معنی دار می باشد($P<0.01$).

در موافقت با نتایج آزمایش اخیر سان و همکاران (۲۰۰۰) مشاهده کردند که با مکمل کردن EM- بوکاشی در جیره وزن بدن افزایش می‌یابد. این محققین اظهار کردند که وزن بدن با افزایش سطح EM- بوکاشی در جیره به میزان بیشتری بهبود می‌یابد. همچنین در آزمایش انجم و همکاران (۲۰۰۲) مشخص شد که مصرف EM- بوکاشی سبب بهبود معنی دار افزایش وزن بدن شد که این اثرات از هفته دوم قابل مشاهده بود. بهبود افزایش وزن بدن با کاربرد EM- بوکاشی توسط محققین دیگر نیز گزارش شده است (حسین و ال- اشری ۱۹۹۱ و حسین ۱۹۹۶).

در تحقیقاتی که توسط حسین و همکاران (۱۹۹۶) انجام شد گزارش شده است، که بهبود در افزایش وزن بدن در جوجه‌های گوشتی که میکروارگانیسم موثر را دریافت کرده‌اند، می‌تواند در رابطه با بهبود قابلیت هضم پروتئین و فیبر خام باشد، ولی موهان و همکاران (۱۹۹۶) اثرات تحریک کنندگی رشد پروبیوتیک‌ها را به بهبود مصرف انرژی قابل متابولیسم نسبت دادند، در حالی که جین و همکاران (۱۹۹۸) افزایش در مصرف خوراک را عامل این امر می‌دانند. همچنین اسمیت و همکاران (۲۰۰۱) افزایش وزن بدن را به سبب مصرف میکروارگانیسم موثر، در رابطه با افزایش خوراک مصرفی معرفی کردند.

طبق نتایج بدست آمده در این آزمایش مصرف خوراک با کاربرد EM- بوکاشی به طور تدریجی افزایش می‌یابد، به طوریکه حداکثر مصرف خوراک با کاربرد

Archive of SID

www.SID.ir

سطح بالای، EM- بوکاشی حاصل گردید (P<۰/۰۱). همچنین مصرف سطوح مختلف EM محلول نیز مصرف خوراک را به طور معنی داری افزایش داد و حداکثر مصرف خوراک مربوط به سطح متوسط کاربرد EM در آب آشامیدنی بود (P<۰/۰۱).

نتایج آزمایش اخیر در مورد مصرف خوراک در مطابقت با نتایج جین و همکاران (۱۹۹۸) و اسمیت و همکاران (۲۰۰۱) می باشد. این محققین گزارش کردند که در نتیجه کاربرد EM در آب و خوراک، مصرف خوراک به طور معنی داری افزایش می‌یابد و این عامل را دلیل بهبود افزایش وزن جوجه‌هایی که میکروارگانیسم موثر را دریافت کرده بودند می‌دانند.

نتایج آزمایش حاضر در مغایرت با نتایج ماری و همکاران (۲۰۰۶) می‌باشد، این محققین گزارش کردند که مصرف پروبیوتیک از سن یک تا بیست و یک روزگی هیچ تاثیری بر مصرف خوراک ندارد، در حالی که مصرف پروبیوتیک از سن بیست و دو تا چهل و دو روزگی سبب کاهش مصرف خوراک می شود و در نتیجه اثرات خود را از طریق بهبود ضریب تبدیل غذایی اعمال می‌کنند. همچنین مونت زوریز و همکاران(۲۰۰۷) گزارش کردند که مصرف پروبیوتیک در کل دوره آزمایش هیچ تاثیری بر مصرف خوراک ندارد.

به نظر می‌رسد با مصرف EM جمعیت باکتری‌های بیماریزا مستقر در روده توسط روش حذف رقابتی به شدت کاهش می‌یابد، در نتیجه یک عامل تنش‌زا و بیماریزا برای پرنده از روده حذف می‌شود و در نهایت با افزایش رشد موجب افزایش مصرف خوراک نسبت به پرندگان گروه شاهد می‌شود. از طرفی نیز کاربرد EM سبب بهبود در هضم و جذب غذا و بهبود رشد می‌شود که به نوبه خود افزایش مصرف خوراک را در پی خواهد داشت.

ضریب تبدیل غذایی در کل دوره آزمایشی با کاربرد EM در خوراک و آب آشامیدنی به طور عددی کاهش یافت اما این اثر از لحاظ آماری معنی دار نبود (P>.۰۵). ولی اثرات متقابل بین سطوح مختلف EM- بوکاشی و EM محلول در آب آشامیدنی بر ضریب تبدیل غذایی معنی دار بود (P<۰/۰۵).

نتایج آزمایش حاضر در مغایرت با نتایج آزمایشات ماری و همکاران (۲۰۰۶) می‌باشد، این محققین گزارش کردند که مصرف پروبیوتیک سبب کاهش ضریب تبدیل غذایی می‌گردد، همچنین این محققین گزارش کردند که کاهش در ضریب تبدیل غذایی ممکن است در رابطه با سویه‌های لاکتوباسیلوس موجود در مکمل پروبیوتیک باشد. این محققین پیشنهاد کردند برای دست‌یابی به اثرات بهتر کاربرد لاکتوباسیلوس به عنوان محرک رشد، باکتری‌های مورد استفاده باید قادر به زنده ماندن و تجمع در دستگاه گوارش باشند. سان و همکاران (۲۰۰۰) نیز گزارش کردند که ضریب تبدیل غذایی به تدریج با افزایش سطح کاربرد EM- بوکاشی کاهش می‌یابد. همچنین موهان و همکاران (۱۹۹۶) و جین و همکاران (۱۹۹۸) نیز گزارشات مشابهی با گزارشات ماری و همکاران (۲۰۰۶) داشتند.

در حالی که چایواتناسین و همکاران (۱۹۹۸) گزارش کردند که کاربرد میکروارگانیسم موثر هیچ تاثیری بر ضریب تبدیل غذایی در سنین مختلف ندارد. همچنین اسمیت و همکاران (۲۰۰۱) گزارش کردند که مصرف میکروارگانیسم موثر، ضریب تبدیل غذایی را بهبود می‌بخشد، اما این اثر از لحاظ آماری معنی دار نیست. همچنین این محققین گزارش کردند که کاهش تدریجی ضریب تبدیل غذایی در نتیجه بهبود در روند افزایش وزن می‌باشد که نتایج این محققین در موافقت با نتایج آزمایش ما می‌باشد.

نتایج اوزان اندام ها

اثرات خوراندن EM-بوکاشی و EM محلول در آب آشامیدنی بر اوزان نسبی سنگدان، دئودنوم، ژژنوم، ایلئوم و روده کور در جدول ۴ آورده شده است.

اوزان نسبی دئودنوم، ژژنوم و ایلئوم با کاربرد EM- بوکاشی و EM محلول در آب آشامیدنی کاهش یافت، اما این کاهش از لحاظ آماری معنی دار نبود. کاربرد هر دو سطح EM- بوکاشی در خوراک وزن روده کور را به طور معنی داری کاهش داد (P<۰/۰۵)، ولی کاربرد

Archive of SID

www.SID.ir

EM در آب آشامیدنی هیچ تاثیری بر درصد وزنی روده کور نداشت. همچنین اثرات متقابلی بین سطوح EM-بوکاشی در خوراک و سطوح EM محلول در آب مشاهده گردید.

درصد وزنی سنگدان با کاربرد EM-بوکاشی و EM محلول در آب آشامیدنی به طور معنی داری نسبت به گروه شاهد کاهش یافت ($P<0/05$)، ولی اثرات متقابل بین این دو عامل به لحاظ آماری معنی دار نبود.

در توافق با نتایج این آزمایش احمد دی انجم و همکاران(۲۰۰۲) گزارش کردند که درصد وزنی سنگدان و روده کور در جوجه هایی که EM را دریافت کردند، به طور معنی داری نسبت به گروه شاهد کمتر بود.

جدول ۴. اثرات کاربرد EM- بوکاشی و EM محلول در آب آشامیدنی بر اوزان بعضی از قسمت های دستگاه گوارش

EM- بوکاشی	EM محلول در آب	سنگدان(٪)	دئودنوم (٪)	ژژنوم (٪)	ایلئوم (٪)	سکوم (٪)
0		۲/۶۸^{b}	۰/۵۹	۱/۲۲	۰/۷۶	۱/۱۷^{b}
M_1		۲/۶۲^{b}	۰/۵۵	۱/۱۵	۰/۷۳	۱/۱۲^{ab}
H_1		۲/۲۹^{a}	۰/۵۰	۱/۱۲	۰/۶۴	۱/۰۱^{a}
SEM		۰/۱	۰/۰۳۹	۰/۰۹۵	۰/۰۶۸	۰/۰۴۳
	0	۲/۷۴^{b}	۰/۵۷	۱/۲۱	۰/۷۳	۱/۱۵
	M_2	۲/۴۹^{ab}	۰/۵۴	۱/۱۸	۰/۷۲	۱/۱۱
	H_2	۲/۳۶^{a}	۰/۵۳	۱/۱۱	۰/۶۸	۱/۰۴
	SEM	۰/۱	۰/۰۳۹	۰/۰۹۵	۰/۰۶۸	۰/۰۴۳
	اثرات متقابل					
	0×0	۲/۷۱^{bc}	۰/۵۶	۱/۳۴	۰/۸۰	۱/۱۵^{abc}
	0× M_2	۲/۸۱^{c}	۰/۵۹	۱/۲۸	۰/۷۳	۱/۳۰^{c}
	0× H_2	۲/۵۵^{abc}	۰/۵۱	۱/۰۳	۰/۶۵	۱/۰۶^{abc}
	M_1×0	۲/۹۱^{c}	۰/۶۱	۱/۲۱	۰/۷۷	۱/۲۳^{bc}
	M_1×M_2	۲/۴۸^{abc}	۰/۶۲	۱/۱۵	۰/۷۶	۱/۰۹^{abc}
	M_1×H_2	۲/۴۸^{abc}	۰/۵۴	۱/۰۹	۰/۷۶	۱/۰۳^{ab}
	H_1×0	۲/۶۱^{abc}	۰/۴۵	۰/۹۹	۰/۶۰	۱/۰۹^{abc}
	H_1×M_2	۲/۱۸^{ab}	۰/۵۲	۱/۲۰	۰/۷۰	۰/۹۳^{a}
	H_1×H_2	۲/۰۸^{a}	۰/۵۵	۱/۲۲	۰/۶۳	۱/۰۴^{ab}
	SEM	۰/۱۷	۰/۰۶۸	۰/۱۶۴	۰/۱۱۹	۰/۰۷۴

a,b,c حروف غیر مشابه در هر ستون بیانگر تفاوت معنی دار می باشد($P<0.05$).

فراسنجه های خونی

نتایج تجزیه فراسنجه های خونی در جدول ۵ ارائه شده است.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول. ۵. اثرات کاربرد EM- بوکاشی و EM محلول در آب آشامیدنی بر فراسنجه های خونی (میانگین)

EM- بوکاشی	EM محلول در آب	کلسترول (ml/dl)	گلوکز (ml/dl)	پروتئین (gr/l)	تری گلیسرید (ml/dl)
0		۱۴۷/۸۸	۱۶۶^{b}	۳/۶۱	۷۸
M_1		۱۴۸/۷۷	۱۶۰^{b}	۳/۵۷	۷۵
H_1		۱۴۴/۵۵	۱۴۱^{a}	۳/۳۴	۷۷
SEM		۴/۶۵	۸/۱۹	۰/۲۴	۵/۵۰
	0	۱۵۳^{a}	۱۶۸^{b}	۳/۷۳^{b}	۸۵^{b}
	M_2	۱۴۵/۷^{ab}	۱۴۹^{a}	۳/۵^{ab}	۷۵^{a}
	H_2	۱۴۱/۴۴^{b}	۱۵۰^{a}	۳/۳۰^{a}	۶۹^{a}
	SEM	۴/۶۵	۸/۱۹	۰/۲۴	۵/۵۰
	اثرات متقابل				
	0×0	۱۶۰^{b}	۱۸۷^{c}	۴/۳۳^{c}	۹۲^{c}
	0× M_2	۱۴۱^{a}	۱۴۳^{a}	۳/۱۷^{ab}	۷۷^{abc}
	0× H_2	۱۴۱^{a}	۱۵۱^{a}	۳/۳۳^{ab}	۶۴^{a}
	M_1×0	۱۵۵^{ab}	۱۷۸^{bc}	۳/۷۶^{abc}	۷۸^{abc}
	M_1×M_2	۱۴۵^{a}	۱۶۱^{ab}	۳/۴^{ab}	۷۴^{ab}
	M_1×H_2	۱۴۳^{a}	۱۵۹^{ab}	۳/۵۶^{abc}	۷۲^{ab}
	H_1×0	۱۴۳^{a}	۱۳۸^{a}	۳/۱^{a}	۸۵^{bc}
	H_1×M_2	۱۵۰^{ab}	۱۴۴^{a}	۳/۹۳^{bc}	۷۵^{abc}
	H_1×H_2	۱۳۹^{a}	۱۴۰^{a}	۳/۰۰^{a}	۷۲^{ab}
	SEM	۴/۶۵	۸/۱۹	۰/۲۴	۵/۵۰

a,b,c حروف غیر مشابه در هر ستون بیانگر تفاوت معنی دار می باشد($P<0.05$).

سطح گلوکز سرم در جوجه‌هایی که EM-بوکاشی و EM محلول در آب آشامیدنی را دریافت کردند نسبت به گروه شاهد به طور معنی داری کاهش یافت($P<۰/۰۵$). اثرات متقابل بین سطوح مختلف EM- بوکاشی در خوراک و EM محلول در آب آشامیدنی معنی دار بود.

این نتیجه در مطابقت با نتایج آزمایش سان و همکاران (۲۰۰۰) است، آنها گزارش کردند که کاربرد EM سطح گلوکز خون را کاهش می‌دهد، اما این اثر از لحاظ آماری معنی دار نبود. در کل این محققین گزارش نمودند که کاهش در متابولیت‌های سرم خون همزمان با کاربرد EM، به دلیل مصرف شدن این متابولیت‌ها به عنوان منبع انرژی است، که این عامل نیز به بهبود افزایش وزن نسبت داده شده است.

سطح کلسترول سرم تحت تاثیر کاربرد EM- بوکاشی در خوراک قرار نگرفت، اما کاربرد سطوح مختلف EM محلول در آب آشامیدنی، سطح کلسترول سرم را به طور معنی داری ($P<۰/۰۵$) در مقایسه با گروه شاهد کاهش داد، همچنین اثرات متقابل بین سطوح مختلف EM-بوکاشی و EM محلول در آب معنی دار بود.

در توافق با نتایج آزمایش حاضر جین و همکاران (۱۹۹۸) گزارش کردند که سطوح کلسترول سرم با کاربرد مکمل لاکتوباسیل در جیره به طور معنی داری

Archive of SID

www.SID.ir

کاهش می‌یابد. این محققین گزارش کردند که کاهش سطوح کلسترول سرم با مصرف لاکتوباسیل می‌تواند در رابطه با جذب (و یا برداشت) کلسترول توسط سلول‌های لاکتوباسیل بوده (گلیلند و همکاران ۱۹۸۵، بوک و گلیلند ۱۹۹۴) و یا در رابطه با دکنژوگه شدن اسیدهای صفراوی باشد (کلاور و وان در میر ۱۹۹۳). سان و همکاران (۲۰۰۰) گزارش کردند که سطح کلسترول سرم خون با به کار بردن ۳ درصد EM-بوکاشی در جیره به میزان ۱۷ درصد کاهش یافت. همچنین ایسن (۱۹۷۳) گزارش کرد که دکنژوگه شدن شدن اسیدهای صفراوی در روده کوچک ممکن است مسئول کاهش غلظت کلسترول سرم باشد، زیرا اسیدهای صفراوی دکنژوگه ساختمانی به خوبی اسیدهای صفراوی کنژوگه در حلالیت و جذب لیپیدها ندارند. چیکای و همکاران (۱۹۸۷) گزارش کردند که چسبیدن اسیدهای صفراوی دکنژوگه به باکتریها و فیبر جیره، دفع اسیدهای صفراوی را افزایش می‌دهد و بدلیل اینکه پیش ساز اسیدهای صفراوی، کلسترول می‌باشد، سطح کلسترول سرم از این طریق می‌توانند تحت تاثیر EM قرار گیرد.

کاربرد EM- بوکاشی در خوراک تاثیر معنی داری بر پروتیئن تام سرم نداشت ولی سطوح مختلف EM محلول در آب آشامیدنی، سطح پروتئین تام سرم را در مقایسه با گروه شاهد به طور معنی داری ($P<0/05$) کاهش داد. اثرات متقابل بین سطوح مختلف EM-بوکاشی و EM محلول در آب معنی دار بود.

سان و همکاران (۲۰۰۰) نیز گزارش کردند که سطح پروتئین سرم با کاربرد EM- بوکاشی کاهش یافت، اما این اثر از لحاظ آماری معنی دار نبود.

سطح تری گلیسرید سرم تحت تاثیر جیره‌های غذایی حاوی EM- بوکاشی قرار نگرفت، ولی کاربرد EM محلول در آب آشامیدنی سطوح تری‌گلیسرید سرم را به طور معنی داری کاهش داد. اثرات متقابل بین سطوح مختلف EM-بوکاشی و EM محلول در آب معنی دار بود.

در مطابقت با نتایج آزمایش حاضر، آرون و همکاران (۲۰۰۶) مشاهده کردند که سطوح تری گلیسرید سرم با کاربرد مکمل لاکتوباسیلوس اسپوراجنز[10] در خوراک به طور معنی داری کاهش می‌یابد.

شمارش باکتری های موجود در روده کور

نتایج مربوط به شمارش باکتری های موجود در روده کور در جدول ۶ آورده شده است.

سالمونلا

کاربرد سطوح مختلف EM-بوکاشی و EM محلول در آب، تعداد باکتری سالمونلا را در روده کور جوجه‌های گوشتی در مقایسه با گروه شاهد، به طور معنی داری کاهش داد ($P<0/01$). اثرات متقابل بین سطوح مختلف EM-بوکاشی و EM محلول در آب معنی دار بود.

نتایج این آزمایش در مطابقت با نتایج آزمایشات هیگینز و همکاران (۲۰۰۸) بود. این محققین دریافتند که پروبیوتیک‌هایی با غلظت 10^4 هیچ تاثیر معنی داری در جهت کاهش جمعیت سالمونلا ندارد. اما پروبیوتیک‌هایی با غلظت 10^6 و 10^8 (Cfu/chick) جمعیت سالمونلا را در روده کور به طور معنی داری کاهش داد. به نظر میرسد که باکتریهای سودمند (از قبیل لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتریوم) می‌توانند از طریق حذف رقابتی تعداد باکتری مضر همانند سالمونلا را در روده کاهش دهند.

کلستریدیوم

نتایج آزمایش اخیر نشان داد که استفاده از سطوح مختلف EM-بوکاشی و EM در آب آشامیدنی، تعداد باکتری کلستریدیوم را در روده کور به طور معنی داری کاهش داد($P<0/01$). همچنین بین کاربرد EM-بوکاشی و EM محلول در آب، اثرات متقابل مشاهده گردید.

این نتایج در مطابقت با نتایج ماری و همکاران (۲۰۰۶) می‌باشد. این محققین گزارش کردند که مخلوط لاکتوباسیل سالیواریس و لاکتوباسیل پلانتاروم با تخمیر کربوهیدرات‌های موجود در خوراک، اسید استیک و اسید لاکتیک فراوانی را تولید می‌کنند که منجر

[10] . L. sporogenes

Archive of SID

www.SID.ir

جدول. ۶. اثرات کاربرد EM- بوکاشی و EM محلول در آب آشامیدنی بر میکروفلور سکوم (میانگین×10^7)

EM- بوکاشی	EM محلول در آب	سالمونلا	کلستریدیوم	اشرشیاکلی	کلی فرم ها
0		۲۹/۵۷^c	۲۶/۶۲^c	۳۵/۹۰^c	۲۱/۳۵^c
M_1		۱۹/۵۵^b	۲۰/۷۱^b	۲۵/۲۵^b	۱۹/۷۳^b
H_1		۸/۱۴^a	۱۳/۸۱^a	۱۹/۳۱^a	۱۷/۸۳^a
SEM		۰/۲۴	/۵	۰/۱۲	۰/۴
	0	۲۳^c	۲۲^b	۳۴/۶۱^c	۲۵/۶۶^c
	M_2	۱۸/۲۵^b	۱۹/۰۸^a	۱۸/۸۱^a	۱۶/۶۶^a
	H_2	۱۵/۷۱^a	۱۹/۰۳^a	۲۷/۰۴^b	۱۸/۵۸^b
	SEM	۰/۲۴	۰/۵	۰/۱۲	۰/۴
	اثرات متقابل				
	0×0	۳۰	۴۴	۴۷/۳۰	۴۰
	0× M_2	۲۰	۴۰/۴۶	۱۱/۷۳	۲۵
	0× H_2	۸/۶۶	۱۷	۱۵/۶۶	۱۶/۵۰
	M_1×0	۲۵/۶۶	۱۶/۸	۱۲/۴۷	۱۷
	M_1×M_2	۱۳/۵۰	۱۹/۵۰	۱۵/۸۳	۱۶/۲۰
	M_1×H_2	۲۰	۲۵/۱۳	۱۳/۸	۱۵
	H_1×0	۱۸/۴۳	۲۷/۱۶	۲۸/۸۶	۱۸/۷۵
	H_1×M_2	۹/۶۶	۱۰	۱۱/۰۶	۲۳/۸۰
	H_1×H_2	۱۰	۲۴/۹۶	۱۸	۲۱/۵۰
	SEM	۰/۲۴	۰/۸۷	۰/۱۹۸	۰/۸

A,b,c حروف غیر مشابه در هر ستون بیانگر تفاوت معنی دار می باشد($P<0.05$).

به کاهش pH بخش تحتانی دستگاه گوارش می‌شوند و در نتیجه این عمل، از رشد کلستریدیوم پرفرانژ ممانعت می‌کنند.

اشریشیاکلی

کاربرد سطوح مختلف EM-بوکاشی و EM محلول در آب، تعداد باکتری E-coli را در روده کور جوجه‌های گوشتی در مقایسه با گروه شاهد، به طور معنی داری ($P<۰/۰۱$) کاهش داد. اثرات متقابل بین سطوح مختلف EM-بوکاشی و EM محلول در آب معنی داری بود.

نتایج آزمایش اخیر در مغایرت با نتایج ماری و همکاران(۲۰۰۶) بود می‌باشد. این محققین نتیجه گرفتند که کاربرد پروبیوتیک تاثیر معنی داری به لحاظ آماری بر جمعیت اشریشیاکلی ندارد و به لحاظ عددی تعداد این باکتری را در روده کور جوجه های گوشتی کاهش داد.

کلی فرم ها

کاربرد EM- بوکاشی و EM محلول در آب آشامیدنی، تعداد کلی‌فرم‌ها را در روده کور به طور معنی داری کاهش داد($P<۰/۰۱$).

جین و همکاران(۱۹۹۸) نیز گزارش کردند که جمعیت کلی فرم در روده کور جوجه‌هایی که لاکتوباسیل را بمدت ۱۰ روز دریافت کرده بودند به طور معنی داری کاهش می‌یابد.

Archive of SID

www.SID.ir

تشکر و قدردانی

در انتها برخود لازم می‌دانیم که از زنده‌یاد استاد دکتر محسن برجی که در دوران حیات پربرکت خود از هیچ‌گونه کمک و مساعدتی دریغ نفرمودند، سپاسگزاری نماییم.

منابع مورد استفاده

Anjum AD, Hussain T, Razvi F, Gilani G and Javid T, 2002. Influence of Effective microorganism on health and Immune system of broiler under experimental condition. *www.emtech.org*.

Arun KP, Savaram V, Rama R, Mantena VLN and Sita RS, 2006. Dietary supplementation of *Lactobacillus Sporogenes* on performance and serum biochemico-lipid profile of broiler chickens. J Poult Sci 43:235-240.

Blankenship LC, Bailey JS, Cox NA, Stern NJ, Brewer R and Williams O, 1993. Two-step mucosal competitive exclusion flora treatment to diminish salmonellae in commercial broiler chickens. J Poult Sci 72:1667–1672.

Buck LM and S. Gilliland E, 1994. Comparisons of freshly isolated strains of *Lactobacillus acidophilus* of human intestinal origin for ability to assimilate cholesterol during growth. J Dairy Sci 77:2925–2933.

Chaiwatanasin W, Chantsawang S and Triwutanon O, 1998. Effect of microbial fermented plant extract on production of broiler chicken. Department of Animal Science, Kasetsart University, Thailand. *www.emtech.org*.

Chambers JR and Lu X, 2002. Probiotics and maternal vaccination for *Salmonella* control in broiler chickens. J Appl Poult Res 11:320–327.

Chikai T, Naka H and Ushida K, 1987. Deconjugation of bile acids by human intestinal bacteria implanted in germ-free rats. Lipids 22:669.

Essen H, 1973. Role of gut microfelora in metabolism of lipids and strols. Proc Nutri Sco 32:59.

Gilliland SE, Nelson CR and Maxwell C, 1985. Assimilation of cholesterol by *Lactobacillus acidophilus*. Appl Environ Microbiol. 49:377–381.

Guan LL, Hagen KE, Grayson TL, Tannock GW, Korver DR, Fasenko GM and Allison GE, 2004. Detection of *Lactobacillus acidophilus* species in the gut of chickens. 104th Gen. Meet. Am. Soc. Microbiol., New Orleans, LA. Am. Soc. Microbiol., Washington, DC.

Higa T, 1995. EM Application manual for APNAN countries. University Ryukyus, Okinawa, Japan.

Hussain I, 1996. Effect of microbial culture (EM4) on the performance of male broiler chicks. M. Sc. Thesis, Department of Poultry Husbandry, UAF, Pakistan.

Hussein HH and El-Ashry MA, 1991. Some studies on the beneficial effect of Lactobacillus concentrate supplementation on broiler performance. Egyptian J Anim Rep 28(1):85-91.

Jin LZ, HO YW, Abdullah N and Jalaludin S, 1998. Growth performance, Intestinal microbial populations, and serum cholesterol of broilers fed diets containing *Lactobacillus* cultures. J Poult Sci 77:1259–1265.

Klaver FAM and van der Meer R, 1993. The assumed assimilation of cholesterol by Lactobacilli and Bifidobacterium bifidum is due to their bile salt-deconjugating activity. Appl Environ Microbiol 59:1120–1124.

Miller TL and Wolin MJ, 1974. A serum bottle modification of the Hungate technique for cultivating obligate anaerobes. Appl Microbiol 27:985–987.

Archive of SID

www.SID.ir

Mohan B, Kadirvel R, Natarajan A and Bhaskaran M, 1996. Effect of probiotic supplementation on growth, nitrogen utilisation and serum cholesterol in broilers. Br Poult Sci 37:395–401.

Mountzouris K C, Tsirtsikos P, Kalamara E, Nitsch S, Schatzmayr G and Fegeros K, 2007. Evaluation of the efficacy of a probiotic containing *Lactobacillus, Bifidobacterium, Entrococcus* and *Pediococcus* strains in promoting beroiler performance and modulating cecal microflora composition and metabolic activities. J Poult Sci 86:309-317.

Murry AC, Hinton A and Buhr RJ, 2006. Effect of botanical probiotic containing *Lactobacilli* on growth performance and populations of Bacteria in the ceca, cloaca, and carcass Rinse of broiler chickens. International J Poult Sci 5(4):344-350.

Smith GA, 2001. Effective microorganism (EM) as an alternative to antibiotic in broiler diet: effect on broiler growth performance, feed utilization and serum cholesterol. *www.emtech.org.*

Sun SS, Song HY and Lee KH, 2000. Effects of EM-Bokashi supplementation on feed efficiency and serum metabolites in broiler chickens. *www.emtech.org.*

Tellez G, Higgins SE, Donoghue AM and Hargis BM, 2006. Diestive physiology and the role of microorganism. J Appl Poult Res 15:136-144.

Higgins SE, Higgins JP, Wolfenden AD, Henderson SN, Torres-Rodriguez A, Tellez G and Hargis B, 2008. Evaluation of a *Lactobacillus*-based probiotic culture for the reduction of *Salmonella Enteridis* in neonatal broiler chicks. J Poult Sci 87:27-31.

Murry AC, Hinton A and Buhr RJ, 2006. Effect of botanical probiotic containing *Lactobacilli* on growth performance and populations of bacteria in the ceca, cloaca, and carcass Rinse of broiler chickens. International J Poult Sci 5(4):344-350.

Perry GC, 2006. Avain Gut function in health and disease. Poultry science symposium series, vol 28. CABI, Bristol.

Archive of SID

www.SID.ir