

بررسی اثر سطوح کاهشی پروبیوتیک بیوپل بر اساس سن بر عملکرد، سیستم ایمنی و مورفولوژی روده در جوجه‌های گوشتی

- عبدالله شریفیان
دانشجوی کارشناسی ارشد علوم طیور، گروه پرورش و مدیریت طیور، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس
- حامد احمدی (نویسنده مسئول)
استادیار گروه پرورش و مدیریت طیور، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس.
- محمد امیر کریمی ترشیزی
دانشیار گروه پرورش و مدیریت طیور، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس

تاریخ دریافت: خرداد ۱۳۹۶ تاریخ پذیرش: خرداد ۱۳۹۷

شماره تماس نویسنده مسئول: ۰۲۱۴۸۲۹۲۳۶۰

Email: hamed.ahmadi@modares.ac.ir

شناسه دیجیتال (DOI): 10.22092/asj.2018.110918.1464

چکیده

آزمایش حاضر به منظور بررسی اثر مصرف سطوح کاهشی پروبیوتیک بیوپل بر اساس سن بر عملکرد، سیستم ایمنی و مورفولوژی روده باریک جوجه‌های گوشتی انجام گردید. به این منظور تعداد ۲۵۶ قطعه جوجه گوشتی ۱ روزه در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تیمار شامل: (۱ شاهد، ۲ سطوح ۳۰۰ (۱ تا ۱۰ روزگی)، ۲۰۰ (۱۱ تا ۲۴ روزگی)، ۱۰۰ (۲۵ تا ۴۲ روزگی) گرم در تن خوراک از پروبیوتیک بیوپل، ۳ سطوح ۱۵۰ (۱ تا ۱۰ روزگی)، ۱۰۰ (۱۱ تا ۲۴ روزگی)، ۵۰ (۲۵ تا ۴۲ روزگی) گرم در تن خوراک از پروبیوتیک بیوپل، ۴ سطح ثابت ۳۰۰ گرم در تن خوراک از پروبیوتیک بیوپل انجام شد. در پایان هیچ کدام از تیمارهای پروبیوتیکی اعمال شده تأثیری بر مصرف خوراک، افزایش وزن و ضریب تبدیل خوراک مصرفی نداشتند. اثر تیمارها بر درصد هماتوکریت معنی‌دار بود ($P < 0/05$) به طوری که تیمار دوم بیشترین درصد هماتوکریت را به خود اختصاص داده بود. تیتراکتی بادی تولید شده علیه گلبول قرمز گوسفند تحت تأثیر تیمارهای پروبیوتیکی قرار نگرفت. در ناحیه دئودنوم به طور معنی‌داری ($P < 0/05$) تعداد سلول‌های گابلت روی ویلی و همچنین تعداد سلول‌های گابلت در هر ۱۰۰ میکرومتر از طول ویلی تحت تأثیر تیمارها قرار گرفت ($P < 0/01$)، به طوری که بیشترین تعداد سلول گابلت و سلول‌های گابلت روی ویلی در تیمار شاهد مشاهده شد. ضخامت ویلی در ناحیه ایلئوم تحت تأثیر تیمارهای اعمال شده به طور معنی‌داری ($P < 0/01$) تغییر کرد، به طوری که بیشترین ضخامت ویلی در تیمار شاهد مشاهده شد، درحالی که بین سایر تیمارهای دریافت‌کننده پروبیوتیک اختلاف معنی‌دار وجود نداشت. به طور کلی نتایج این آزمایش نشان داد که استفاده از سطوح کاهشی پروبیوتیک بیوپل (بر اساس سن) ممکن است موجب بهبود وضعیت مورفولوژی روده و تحریک سیستم ایمنی جوجه‌های گوشتی شود.

واژه‌های کلیدی: عملکرد، پروبیوتیک، بیوپل، جوجه گوشتی

Animal Science Journal (Pajouhesh & Sazandegi) No 122 pp: 221-234

Feeding decreasing levels of a probiotic, Bio Poul®, based of age on growth performance, immune response and intestinal morphology of broiler chickens

By: A Sharifian¹, H Ahmadi^{*2}, MA Karimi Torshizi³

1- M.Sc. Student, Department of Poultry Science, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.

2- Assistant professor, Department of Poultry Science, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.

3- Associate professor, Department of Poultry Science, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.

Received: June 2017

Accepted: June 2018

This experiment was performed to investigate the effects of decreasing levels of a commercial probiotic, Bio Poul®, on performance, immunological response and intestinal morphology of broiler chickens. A total of 256 one-day old broiler chicks was allocated to a completely randomized design with four treatments including 1) control treatment, 2) birds fed diets including 300 (1 to 10-day old), 200 (11 to 24-day old) and 100 (25 to 42-day old), grams probiotic, Bio Poul® per ton of feed, 3) birds fed diets including 150 (1 to 10-day old), 100 (11 to 24-day old) and 50 (25 to 42-day old), grams probiotic, Bio Poul® per ton of feed, 4) birds fed diets including a fixed level of 300 grams probiotic, Bio Poul® per ton of feed. Results showed that, none of the probiotic treatments have effect on feed intake, weight gain and feed conversion ratio. The effect of treatments was significant on the percentage of hematocrit ($P < 0.05$) while this parameter is higher in the birds fed with treatment 2. Antibody production level against sheep red blood cells (SRBC) were not affected by treatments ($P < 0.05$). The duodenum part of intestine significantly was changed in term of goblet cells number on Villi ($P < 0.05$), as well as the number of goblet Villi per 100 micrometers in length by Bio Poul® treatment ($P < 0.01$). Villi thickness in the area of the ileum significantly was changed by treatments ($P < 0.05$). The highest of Villi thickness was observed in control group, whereas there were not significant differences between the other treatments receiving probiotics. In general, the results showed that the use of probiotic with decreasing levels (based on age) may improve intestinal morphology and stimulate the immune system of broilers.

Key words: Performance, Probiotics, Bio Poul®, Broiler chicken

مقدمه

آنتی‌بیوتیک‌ها در بسیاری از کشورها محدود شده است و تلاش بسیار به منظور یافتن جایگزین مناسب برای آنتی‌بیوتیک‌ها صورت می‌گیرد (دانش‌پور و همکاران، ۱۳۸۶).

در اغلب نقاط دنیا آزمایش‌هایی با افزودنی‌های خوراکی متنوعی صورت می‌گیرد که ممکن است برای حل مساله کنار گذاشتن آنتی‌بیوتیک‌ها از خوراک باشد. از جمله این مواد اسیدهای آلی، پروبیوتیک‌ها و آنزیم‌ها می‌باشند، که در این مورد پروبیوتیک‌ها از اهمیت بیشتری برخوردارند. پروبیوتیک‌ها ارگانیزم‌های زنده‌ای هستند که باعث ایجاد تعادل در جمعیت میکروبی دستگاه گوارش می‌شوند (کاکه باوه و همکاران، ۱۳۹۳). پروبیوتیک‌ها علاوه بر

در دهه‌های گذشته در صنعت طیور، از انواع آنتی‌بیوتیک‌ها به منظور پیشگیری، حفظ سلامت، جلوگیری از بیماری‌ها، ناهنجاری‌های ناشی از آلودگی‌های محیطی و همچنین به عنوان محرک رشد در جهت افزایش تولید استفاده شده است (Gadde و همکاران، ۲۰۱۷). اثر استفاده بی‌رویه از آنتی‌بیوتیک در صنعت دام و طیور به دلیل افزایش مقاومت باکتریایی و ایجاد سویه‌های مقاوم، امکان انتقال این مقاومت به سایر گونه‌ها به‌ویژه در سویه‌های مشترک بین طیور و انسان، ابقاء آنها در بافت و بروز بیماری‌های خطرناک مانند سرطان سبب نگرانی‌های زیادی در مصرف‌کنندگان شده است. از این‌رو امروزه استفاده از

مکمل پروبیوتیک Bio Poul® توسط بخش تحقیق و توسعه شرکت زیست درمان ماهان از منابع بومی کشور جداسازی شده و در پایگاه جهانی NCBI به طور اختصاصی ثبت شده است. فرمولاسیون این محصول به گونه‌ای است که پرورش‌دهنده را از استفاده همزمان چند محصول جداگانه پروبیوتیکی و پری بیوتیکی بی‌نیاز می‌سازد. با توجه به اهمیت مکمل‌های پروبیوتیکی و استفاده روزافزون آنها در صنعت پرورش طیور، این مطالعه به منظور اثر سطوح کاهش پروبیوتیک بیوپل بر روی عملکرد، مورفولوژی و سیستم ایمنی جوجه‌های گوشتی انجام شد.

مواد و روش‌ها

در این آزمایش تعداد ۲۵۶ قطعه جوجه گوشتی نر سویه راس ۳۰۸ استفاده شد. این آزمایش از سن یک روزگی تا ۴۲ روزگی در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ گروه آزمایشی و ۴ تکرار و در هر واحد آزمایشی ۱۶ قطعه جوجه انجام شد، گروه‌های آزمایشی شامل:

- ۱- کنترل (جیره پایه بدون پروبیوتیک بیوپل (جدول ۱))
 - ۲- جیره پایه + پروبیوتیک بیوپل (۳۰۰ گرم در تن خوراک از ۱ تا ۱۰ روزگی) + (۲۰۰ گرم در تن خوراک از ۱۱ تا ۲۴ روزگی) + (۱۰۰ گرم در تن خوراک از ۲۵ تا ۴۲ روزگی)
 - ۳- جیره پایه + پروبیوتیک بیوپل (۱۵۰ گرم در تن خوراک از ۱ تا ۱۰ روزگی) + (۱۰۰ گرم در تن خوراک از ۱۱ تا ۲۴ روزگی) + (۵۰ گرم در تن خوراک از ۲۵ تا ۴۲ روزگی)
 - ۴- جیره پایه + پروبیوتیک بیوپل در سطح ثابت ۳۰۰ گرم در تن خوراک از ۱ تا ۴۲ روزگی
- در طول دوره آزمایش مدت تاریکی: روشنایی ۲۳:۱ اعمال گردید و آب و خوراک (جدول ۱) به صورت آزاد در اختیار پرندها قرار گرفت.

این که موجب تحریک رشد در میکروارگانیسم‌های مفید در دستگاه گوارش می‌شوند، بر فعالیت آنزیم‌های گوارشی، بهبود سیستم ایمنی و بالابردن بازده تولید نیز تأثیر مثبت و به‌سزایی دارند (Balachandar و همکاران، ۲۰۰۵).

پروبیوتیک‌ها ضمن کاهش بیماری و بهبود ضریب تبدیل غذایی در دام و طیور، هیچ‌گونه باقی‌مانده بافتی نداشته و برخلاف آنتی-بیوتیک‌ها مقاومت میکروبی ایجاد نمی‌کنند (میاحی و همکاران، ۱۳۸۷: Abdelrahman و همکاران، ۲۰۱۲). ثابت شده است که پروبیوتیک‌ها دارای آثار مثبتی بر عملکرد جوجه‌های گوشتی می‌باشند (شیرزادی و همکاران، ۱۳۸۸). پروبیوتیک‌ها مکمل‌های خوراکی حاوی میکروب‌های زنده می‌باشند که اثرات مثبتی بر تعادل میکروب‌های روده میزبان خواهند گذاشت. تاکنون بیش از ۴۰۰ جنس متفاوت از باکتری به‌عنوان باکتری‌های پروبیوتیکی شناخته شده‌اند (Timmerman و همکاران، ۲۰۰۴). سه سازوکار اثر اصلی تعریف شده برای پروبیوتیک‌ها شامل: حذف رقابتی، ضدیت باکتریایی و تحریک سامانه ایمنی است (Ofong و Ohima، ۲۰۱۲). مهمترین سازوکار حذف رقابتی است که از راه رقابت بر سر فضا، مکانهای اتصال و مواد مغذی در دسترس عمل می‌کند (Dalloul و Cox، ۲۰۱۴) پروبیوتیک‌ها با تولید موادی همچون اسیدهای چرب کوتاه زنجیر، باکتریوسین و کولیسین موجب کاهش زنده‌مانی باکتریهای بیماریزا (Hume، ۲۰۱۱)، و محافظت از پرزها و سطح جذبی در برابر سموم تولیدشده توسط عامل‌های بیماریزا می‌شوند. بهبود سلامت روده با مصرف پروبیوتیک‌ها باعث کاهش هزینه‌ها می‌شود زیرا حیوان ناسالم دچار کاهش اشتها و دیگر ناهنجاری‌های گوارشی مانند اسهال شده و میزان استفاده از مواد مغذی کاهش می‌یابد و در نهایت تأثیر منفی بر عملکرد پرند خواهد داشت (Jabbar و همکاران، ۲۰۱۶).

جدول ۱- اجزای تشکیل دهنده جیره‌های غذایی در مرحله آغازین (۱-۱۰ روزگی)، رشد (۱۱-۲۴ روزگی) و پایانی (۴۲-۲۵ روزگی) بر حسب درصد

دوره پایانی (۴۲ تا ۲۵ روزگی)	دوره میانی (۲۴ تا ۱۱ روزگی)	دوره آغازین (۱ تا ۱۰ روزگی)	مواد خوراکی
۶۶/۲۶	۶۰/۵۷	۵۵/۳۳	ذرت
۲۷/۰۰	۳۲/۰۰	۳۷/۰۰	کنجاله سویا
۲/۵۰	۳/۰۰	۳/۰۰	روغن سویا
۱/۶۵	۱/۷۵	۱/۹۵	دی کلسیم فسفات
۰/۹۴	۰/۹۷	۱/۱۰	کربنات کلسیم
۰/۲۰	۰/۳۰	۰/۳۰	نمک طعام
۰/۴۰	۰/۲۵	۰/۱۰	جوش شیرین
۰/۰۷	۰/۰۹	۰/۱۰	ال- ترئونین
۰/۲۶	۰/۳۱	۰/۳۴	دی ال- متیونین
۰/۲۲	۰/۲۶	۰/۲۸	ال- لیزین هیدروکلراید
۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	مکمل معدنی*
۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	مکمل ویتامینی**
۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	جمع کل

ترکیبات شیمیایی

۳۰۵۰	۳۰۰۰	۲۹۵۰	انرژی متابولیسمی (کیلو کالری بر کیلو گرم)
۱۸	۱۹/۸	۲۱/۶	پروتئین خام (%)
۱/۵۶	۱/۴۶	۱/۳۶	اسید لینولئیک (%)
۱/۰۶	۱/۲۱	۱/۳۴	لیزین قابل دسترس (%)
۰/۸۳	۰/۹۳	۱/۰۰	متیونین + سیستین قابل دسترس (%)
۱/۱۰	۱/۲۳	۱/۳۷	آرژنین (%)
۰/۷۳	۰/۸۲	۰/۹۰	ترئونین
۰/۴۲	۰/۴۵	۰/۴۹	فسفر قابل دسترس (%)
۰/۸۵	۰/۹۰	۱/۰۰	کلسیم (%)
۰/۲۱	۰/۲۰	۰/۱۶	سدیم (%)
۰/۷۴	۰/۸۲	۰/۹۰	پتاسیم (%)
۰/۲۱	۰/۲۸	۰/۲۸	کلر (%)
۲۲۰	۲۲۰	۲۲۳	DCAD (mEq/kg)

* هر کیلوگرم از مکمل معدنی دارای ۲۶۴۰۰ میلی گرم منگنز، ۲۶۴۰۰ میلی گرم روی، ۱۳۲۰۰ میلی گرم آهن، ۳۵۲۰ میلی گرم مس، ۲۶۰ میلی گرم ید، ۱۲۰ میلی گرم سلنیوم بود. ** هر کیلوگرم از مکمل ویتامینه دارای ۳۰۸۰۰۰۰ (IU) ویتامین A، ۱۲۲۰۰۰۰ (IU) ویتامین D3، ۲۶۴۰ (IU) ویتامین E، ۸۸۰ میلی گرم B1، ۱۷۶۰ میلی گرم B2، ۱۷۶۰ میلی گرم B6، ۳۵۲۰ میکروگرم B12، ۸۸۰ میلی گرم نیاسین، ۲۴ میلی گرم فولیک اسید، ۲۲۰۰۰ میکروگرم بیوتین، ۱۱۰۰۰ میلی گرم کولین کلراید بود.

نتایج و بحث

عملکرد

اثر تیمارهای پروبیوتیک بیوپل بر مصرف خوراک، افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل خوراک جوجه‌های گوشتی در جدول ۲ نشان داده شده است. تیمارهای اعمال شده در هیچ کدام از دوره‌های مورد بررسی بر مصرف خوراک، افزایش وزن و ضریب تبدیل خوراک جوجه‌های گوشتی اثر معنی داری نداشت.

در بررسی‌های پیشین پاسخ پرندگان به پروبیوتیک‌ها متفاوت بوده است. برای مثال بعضی تحقیقات کارآمدی پروبیوتیک‌ها را به عنوان محرک‌های رشد در مقایسه با (Mountzouris و همکاران، ۲۰۰۷: Bai و همکاران، ۲۰۱۳) آنتی‌بیوتیک‌ها و بعضی دیگر ناکارآمدی آنها را گزارش کردند (Beik و همکاران، ۲۰۱۳). پاسخ حیوان به افزودنی‌ها به عامل‌هایی همچون میزان تنش، نوع جیره، ویژگی پرندگی (سن و گونه پرندگی، مرحله تولید) و ویژگی‌های خود محصول پروبیوتیک مانند ترکیب گونه‌های باکتریایی (تک یا چندسویه)، زنده‌مانی و میزان مصرف آن افزودنی بستگی دارد که به عنوان علل اختلاف در نتایج تحقیقات (Taheri و همکاران، ۲۰۱۴) مطرح می‌شود.

همسو با نتایج مطالعه ما در یک آزمایش که اثر ۹ نوع پروبیوتیک تجارتي را در جوجه‌های گوشتی بررسی نمودند، محققین عدم تأثیر این فرآورده‌ها را در طول دوره پرورش بر وزن بدن گزارش نمودند (Mulder و همکاران، ۱۹۹۷). همچنین توانافر و نعمت-زاده سوته (۱۳۹۲) اثر استفاده از پروبیوتیک پریمالاک را در سطوح ۰/۰۵، ۰/۱ و ۰/۱۵ درصد بر عملکرد جوجه‌های گوشتی مورد ارزیابی قرار دادند و به این نتیجه دست یافتند که استفاده از سطوح مختلف پروبیوتیک اثر معنی‌داری بر مصرف خوراک نداشت. از سوی دیگر در یک آزمایش گزارش شد که افزودن پروبیوتیک اثر معنی‌داری بر مصرف خوراک نداشت (Panda و همکاران، ۲۰۰۰). با توجه به مکانیسم اثرهای متفاوت پروبیوتیک‌ها، تفاوت در نتایج بدست آمده در آزمایش‌های مختلف چندان هم دور از انتظار نیست.

در طول دوره آزمایش سعی شد تمام شرایط محیطی از قبیل نور، دما، رطوبت و سایر عوامل تأثیر گذار برای کلیه گروه‌ها یکسان باشد. خوراک‌ها قبل از مصرف وزن شد، در پایان هر هفته نیز مقدار خوراک‌های باقیمانده اندازه‌گیری شد و مقدار خوراک مصرفی هر پن در آن دوره، به طور مجزا یادداشت شد. وزن-کشی جوجه‌ها نیز در پایان هر هفته با ترازوی دیجیتال به دقت $\pm 0/05$ گرم صورت گرفت و سپس اضافه وزن روزانه و ضریب تبدیل غذایی برای جوجه‌ها محاسبه شد. فراسنجه‌های مورد بررسی در این آزمایش شامل خوراک مصرفی، ضریب تبدیل، افزایش وزن، سیستم ایمنی همورال و مورفولوژی دئودنوم، ژرئونوم و ایلنوم بود.

به منظوری بررسی سیستم ایمنی همورال در جوجه‌های گوشتی در روزهای ۲۸ و ۳۵ به دو قطعه پرندگی از هر پن مقدار ۰/۲ میلی‌لیتر از سوسپانسیون گلوبول قرمز گوسفند ۰/۵ درصد شسته شده در بافر فسفات استریل، از طریق عضله سمت راست سینه تزریق شد و پرندگان علامت‌گذاری شدند و در انتها جهت تعیین عیار آنتی-بادی تولیدشده علیه گلوبول قرمز گوسفند از روش هماگلوتیناسیون میکروتیتر استفاده شد (Peterson، ۱۹۹۹).

در رابطه با بررسی مورفولوژی روده باریک نمونه را در زیر میکروسکوپ با درشت‌نمایی ۴۰ برابر بررسی می‌کنیم. برای اندازه‌گیری ابعاد یکی از عدسی‌های چشمی میکروسکوپ به گراتیکول مجهز شد. سپس طول (از رأس پرز تا قاعده آن) و عمق کریپت (از قاعده پرز تا انتهای غدد) و تعداد سلول‌های گابلت (در حاشیه پرز) با انطباق گراتیکول بر ناحیه موردنظر را اندازه‌گیری کردیم (Bradley و همکاران، ۱۹۹۴). نهایتاً مقادیر یادداشت شده بر اساس کالیبراسیون انجام شده یا استفاده از اسلاید میلی‌متری مدرج، به میکرومتر تبدیل شد.

پس از اندازه‌گیری فراسنجه‌ها، داده‌ها در نرم افزار Excel وارد و با استفاده از نرم افزار آماری SAS و رویه‌های MEANS و GLM مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح معنی‌داری ($P < 0/05$) انجام شد.

کننده پروبیوتیک بیوپل در سطح ۱۰۰ گرم در تن خوراک بود (شکل ۱). درصد هماتوکریت خون جوجه‌های گوشتی در سایر تیمارها با تیمار شاهد تفاوت معنی‌داری نداشت. نتایج حاصل از بررسی تیترا آنتی‌بادی تولید شده علیه گلبول قرمز گوسفندی (SRBC) تحت تأثیر تیمارهای پروبیوتیک قرار نگرفت (شکل ۲). با این حال از لحاظ عددی بیشترین تیترا آنتی‌بادی در تیمار دریافت‌کننده پروبیوتیک بیوپل سطح ثابت ۳۰۰ گرم در تن خوراک و کمترین آن در تیمار شاهد مشاهده شد.

افزایش درصد هماتوکریت در تحقیق حاضر را می‌توان به مخمر *Saccharomyces cerevisiae* موجود در پروبیوتیک بیوپل نسبت داد. افزایش درصد هماتوکریت در جوجه‌های گوشتی متعاقب استفاده از پروبیوتیک‌های مخمیری نظیر ساکارومایسیس سروزیویه^۱ پیش‌تر نیز گزارش شده است (Shareef و Dabbagh, ۲۰۰۹). Stropfova و همکاران (۲۰۰۵) این افزایش در درصد هماتوکریت را مربوط به افزایش در کارکردهای سیستم ایمنی و کارکردهای اندام‌های مرتبط با تشکیل گلبول‌های خون نظیر تیموس، طحال و مغز قرمز استخوان میدانند. این تفاوت در مطالعه حاضر که فقط تیمار مصرف‌کننده پروبیوتیک بیوپل سطح ۱۰۰ گرم در تن خوراک به‌طور شاخص موجب افزایش معنی‌دار درصد هماتوکریت نسبت به تیمار شاهد و سایر تیمارها شد، ممکن است به خاطر دوز مصرف باشد. همسو با نتایج مطالعه ما، محمدیان و همکاران (۱۳۸۹) آزمایشی به منظور بررسی اثر پروبیوتیک بر سیستم ایمنی مرغان تخمگذار انجام دادند و اعلام کردند که پارامترهای مربوط به سیستم ایمنی (تیترا آنتی‌بادی علیه SRBC، تیترا آنتی‌بادی علیه واکسن نیوکاسل و ایمونوگلوبولین‌های IgM و IgG) تحت تأثیر سطوح مختلف پروبیوتیک قرار نگرفت. نتایج به دست آمده در این مطالعه با یافته‌های آزمایشی که گزارش کردند پاسخ ایمنی جوجه‌های گوشتی با تغذیه پروبیوتیک افزایش می‌یابد همخوانی نداشت (Lilburn, ۲۰۰۰). شاید دلیل این عدم مطابقت تفاوت در نوع باکتری‌های موجود در مکمل پروبیوتیک و یا سویه پرنده و همچنین روش تغذیه‌ای در این آزمایش‌ها باشد.

از نتایج این مطالعه چنین استنباط می‌شود که پروبیوتیک نتوانسته تأثیر معنی‌داری بر افزایش وزن بگذارد. تأثیر پروبیوتیک ممکن است به دلیل رقابت بین باکترهای موجود در ترکیبات پروبیوتیک با جمعیت‌های میکروبی مضر موجود در دستگاه گوارش در نتیجه وجود آلودگی یا بیماری باشد، که در مطالعه حاضر هیچگونه آلودگی و چالشی وجود نداشت. در این رابطه محققین گزارش کردند که در شرایط معمول پرورش و عدم وجود چالش با افزودن پروبیوتیک‌ها اثری روی افزایش وزن مشاهده نشد، اما در شرایط چالش با کوکسیدیوز افزودن مکمل پروبیوتیک موجب بهبود عملکرد پرنده‌گان می‌شود (Dersjant-Li و همکاران، ۲۰۱۴).

در دهه‌های گذشته در استفاده از پروبیوتیک‌های محرک رشد، افزایش چشمگیری در وزن بدن مشاهده شد (Graham و همکاران، ۲۰۰۷)، اما امروزه بنا به دلایلی چون انتخاب نژادهای مناسب، بهبود تنظیم ساختار جیره و شرایط بهداشتی، تأثیر استفاده از پروبیوتیک‌های محرک رشد کمتر شده (Jabbari و همکاران، ۲۰۱۶) است. مجموع عوامل گفته شده در بالا می‌تواند دلیلی بر پاسخ ندادن به افزودنی‌ها در دوره‌های پرورش باشد.

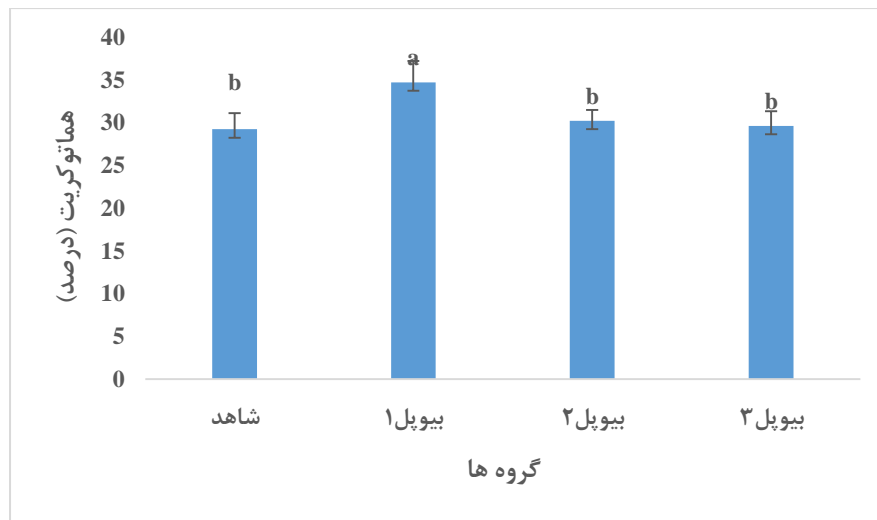
مطابق نتایج حاصل از این آزمایش در تحقیق Vale و همکاران (۲۰۰۴)، که اثر پروبیوتیک ساخته شده در آزمایشگاه و پروبیوتیک تجاری را بر جوجه‌های گوشتی بررسی کردند، هیچکدام از مکمل‌های پروبیوتیکی استفاده شده در آزمایش موجب بهبود ضریب تبدیل غذایی به شکل معنی‌دار نشدند.

در رابطه با عدم معنی‌داری ضریب تبدیل تیمارهای پروبیوتیک در مقایسه با تیمار شاهد محققین زیادی گزارش کردند که استفاده از پروبیوتیک در جیره جوجه‌های گوشتی زمانی که شرایط مدیریتی مناسبی در محیط پرورش وجود دارد و دمای محیط پرورش مناسب باشد و استرسی به گله وارد نشود هیچ تأثیر معنی‌داری بر عملکرد پرنده ندارد (Anderson و همکاران، ۱۹۹۹).

سیستم ایمنی

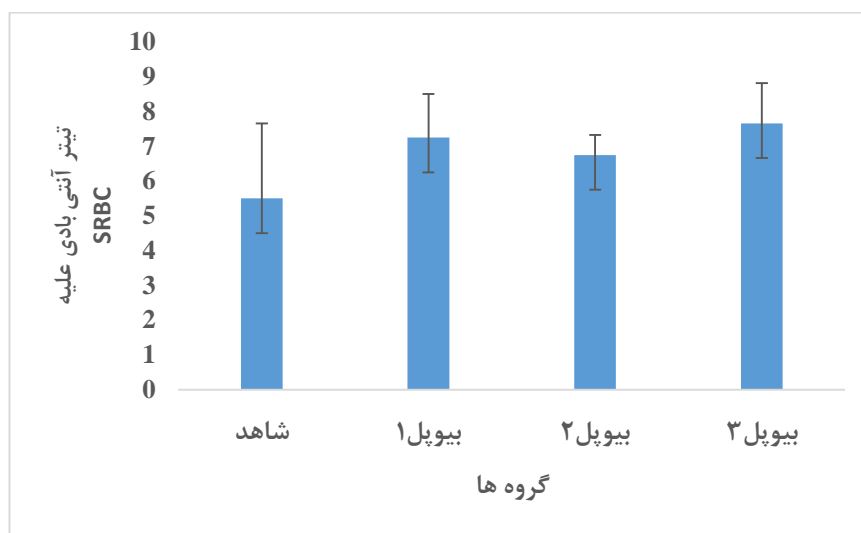
اثر تیمارهای اعمال شده بر درصد هماتوکریت خون معنی‌دار بود ($P < 0.05$). بیشترین درصد هماتوکریت مربوط به تیمار دریافت-

¹*Saccharomyces cerevisiae*



شکل ۱: مقایسه میانگین عملکرد حاصل از تیمارهای اعمال شده بر درصد هماتوکریت در جوجه‌های گوشتی

پروبیوتیک بیوپل ۱ در ۳ سطح ۳۰۰ (۱ تا ۱۰ روزگی)، ۲۰۰ (۱۱ تا ۲۴ روزگی)، ۱۰۰ (۲۵ تا ۴۲ روزگی) گرم در تن خوراک. پروبیوتیک بیوپل ۲ در ۳ سطح ۱۵۰ (۱ تا ۱۰ روزگی)، ۱۰۰ (۱۱ تا ۲۴ روزگی)، ۵۰ (۲۵ تا ۴۲ روزگی) گرم در تن خوراک. پروبیوتیک بیوپل ۳ در سطح ثابت ۳۰۰ گرم در تن خوراک از ۱ تا ۴۲ روزگی.



شکل ۲: مقایسه میانگین عملکرد حاصل از تیمارهای اعمال شده روی تیترا آنتی بادی علیه SRBC در جوجه‌های گوشتی

پروبیوتیک بیوپل ۱ در ۳ سطح ۳۰۰ (۱ تا ۱۰ روزگی)، ۲۰۰ (۱۱ تا ۲۴ روزگی)، ۱۰۰ (۲۵ تا ۴۲ روزگی) گرم در تن خوراک. پروبیوتیک بیوپل ۲ در ۳ سطح ۱۵۰ (۱ تا ۱۰ روزگی)، ۱۰۰ (۱۱ تا ۲۴ روزگی)، ۵۰ (۲۵ تا ۴۲ روزگی) گرم در تن خوراک. پروبیوتیک بیوپل ۳ در سطح ثابت ۳۰۰ گرم در تن خوراک از ۱ تا ۴۲ روزگی.

جدول ۳: اثر پروبیوتیک بیوبل بر مورفولوژی روده در نواحی دندونوم ژژونوم و ایلموم در جوجه‌های گروشی

نسبت ارتفاع ویلی	تعداد گابلت در ۱۰۰			نسبت ارتفاع به عرض ویلی	نسبت ارتفاع ویلی	تعداد گابلت روی ویلی	عمق کریت (μm)	ضخامت ویلی (μm)	ارتفاع ویلی (μm)										
	دندونوم ژژونوم	ایلموم	دندونوم ژژونوم																
۵۴۱	۶۲۲۱	۹۰۳ ^۳	۱۴۹۷	۲۲۰۵	۱۲/۲	۱۰/۱	۱۱ ^۳	۱۲/۸	۱۳۰/۵۰	۲۱۰۷۳ ^۳	۲۵۰	۲۳۷/۵۰	۳۲۰	۱۱۰ ^۳	۹۲/۵۰	۱۰۵	۱۰۰۰	۱۷۸۱/۲۵	۱۹۱۲/۵۰
۵۹۵	۶۷۶	۱۰۸/۳ ^۳	۸۸/۸	۱۷/۵۰	۱۱/۴	۱۱/۵	۷/۲ ^۴	۱۰۹/۰۵	۱۶۳/۲۷	۱۲۹/۵۰ ^۳	۲۲۷/۵۰	۲۳۷/۵۰	۳۶۰	۹۱/۲۵ ^۳	۸۱/۲۵	۱۰۷/۵۰	۹۵۶/۲۵	۱۴۱۲/۵۰	۱۷۹۸/۷۵
۵۷۴	۶/۵۰	۱۱/۶ ^۳	۱۸/۶۳	۱۵/۵۱	۱۰/۴	۱۱/۳	۸/۹ ^۳	۱۰۷/۸	۱۷۳/۹۲	۱۶۳/۶۳ ^۳	۲۶۰	۲۲۲/۵۰	۲۸۷/۵۰	۹۰ ^۳	۸۳/۷۵	۱۲۱/۲۵	۱۰۳۱/۲۵	۱۵۳۷/۵۰	۱۸۴۳/۷۵
۵/۵۶	۶/۰۲	۱۱/۸ ^۳	۱۸/۰۳	۲۱/۸/۶	۱۱/۸	۱۰/۶	۹/۲ ^۳	۱۱۵/۹۵	۱۴۸/۲۵	۱۹۳/۸۷ ^۳	۲۶۷/۵۰	۲۵۵	۲۵۷/۵۰	۸۳/۷۵ ^۳	۷۷/۵۰	۱۱۵	۹۸۱/۲۵	۱۳۹۳/۷۵	۲۰۹۳/۷۵
۰/۴۳	۰/۵۴	۱/۰۹	۲/۱۱	۴/۳۷	۰/۸۷	۰/۷۶	۰/۵۵	۱۲/۷۰	۱۶/۰۸	۱۵/۷۵	۱۶/۵۵	۱۳/۵۴	۲۲/۸۹	۶/۲۱	۸/۲	۱۱/۸۱	۹۶/۳۰	۷۹/۴۸	۱۲۲/۳۱
۰/۹۲	۰/۸۲	۰/۰۰۲	۰/۵۳	۰/۲۷	۰/۴۰	۰/۶۹	۰/۰۰۴	۰/۱۴	۰/۴۱	۰/۰۲	۰/۶۰	۰/۳۱	۰/۰۸	۰/۰۱	۰/۶۱	۰/۱۴	۰/۱۶	۰/۲۴	۰/۴۵

یک بیوبل در ۳ سطح (۳۰۰ تا ۱۰ روزگی)، ۲۰۰ (۱۱ تا ۱۴ روزگی)، ۱۰۰ (۲۵ تا ۲۲ روزگی) گرم در تن خوراک.
 یک بیوبل در ۳ سطح (۱۵۰ تا ۱۰ روزگی)، ۱۰۰ (۱۱ تا ۱۴ روزگی)، ۵۰ (۲۵ تا ۲۳ روزگی) گرم در تن خوراک.
 یک بیوبل در سطح ثابت ۳۰۰ گرم در تن خوراک از ۱ تا ۲۱ روزگی.
 انحراف استاندارد.

مورفولوژی

اثر تیمارهای اعمال شده بر مورفولوژی ناحیه دئودنوم در جوجه‌های گوشتی در جدول (۳) نشان داده شده است. تیمارهای اعمال شده منجر به تغییر معنی‌داری در ارتفاع ویلی، ضخامت ویلی، عمق کریپت، نسبت ارتفاع به عرض ویلی و نسبت ارتفاع ویلی به عمق کریپت نشد، اما به طور معنی‌داری ($P < 0/05$) تعداد سلول‌های گابلت روی ویلی و همچنین تعداد سلول‌های گابلت در هر ۱۰۰ میکرومتر از طول ویلی را تغییر داد ($P < 0/01$). از لحاظ عددی کمترین تعداد گابلت روی ویلی در تیمار دریافت‌کننده سطوح ۳۰۰، ۲۰۰ و ۱۰۰ گرم در تن خوراک پروبیوتیک بیوپل مشاهده شد و اختلاف آن با سایر تیمارها، به جز تیمار دریافت‌کننده سطوح ۱۵۰، ۱۰۰ و ۵۰ گرم در تن خوراک پروبیوتیک بیوپل معنی‌دار بود. بیشترین تعداد گابلت روی ویلی نیز در تیمار شاهد و تیمار دریافت‌کننده ۳۰۰ گرم در تن خوراک پروبیوتیک بیوپل مشاهده شد. همچنین بیشترین تعداد گابلت در هر ۱۰۰ میکرومتر از طول ویلی در تیمار شاهد مشاهده شد. کمترین تعداد گابلت در هر ۱۰۰ میکرومتر از طول ویلی متعلق به تیمار دریافت‌کننده سطوح ۳۰۰، ۲۰۰ و ۱۰۰ گرم در تن خوراک پروبیوتیک بیوپل بود، اما بین تیمارهای دریافت‌کننده سطوح ۱۵۰، ۱۰۰ و ۵۰ گرم و ۳۰۰ گرم پروبیوتیک بیوپل اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد. اثر تیمارهای اعمال شده بر خصوصیات مورفولوژیکی ناحیه ژرونوم در جوجه‌های گوشتی در جدول (۳) نشان داده شده است. هیچ کدام از خصوصیات مورد بررسی در این ناحیه تحت تأثیر تیمارهای اعمال شده به طور معنی‌داری تغییر نکرد.

اثر تیمارهای اعمال شده بر مورفولوژی ناحیه ایلئوم در جوجه‌های گوشتی در جدول (۳) نشان داده شده است. ضخامت ویلی در ناحیه ایلئوم تحت تأثیر تیمارهای اعمال شده به طور معنی‌داری ($P < 0/01$) تغییر کرد. بیشترین ضخامت ویلی در تیمار شاهد مشاهده شد، در حالی که بین سایر تیمارهای دریافت‌کننده پروبیوتیک اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. نسبت ارتفاع به

عرض ویلی نیز به طور معنی‌داری ($P < 0/01$) تحت تأثیر تیمارهای اعمال شده قرار گرفت. اگرچه در تیمارهای دریافت‌کننده پروبیوتیک بیوپل نیز نسبت ارتفاع به عرض ویلی از لحاظ عددی بزرگتر از تیمار شاهد بود، اما اختلاف بین آن‌ها معنی‌دار نبود.

از آن‌جا که در این تحقیق خصوصیات مورفولوژیکی روده هم در ناحیه دئودنوم و هم در ناحیه ایلئوم تحت تأثیر تیمارهای پروبیوتیک اعمال شده تغییر کرد، می‌توان نتیجه گرفت که باکتری و مخمرهای موجود در پروبیوتیک استفاده شده توانایی استقرار در قسمت‌های مختلف روده کوچک را دارند. در پژوهشی مشخص شده است که مصرف پروبیوتیک چند سویه بر پایه لاکتوباسیلوس باعث افزایش طول پرز، کاهش عمق کریپت، بهبود در شاخص پرز و عدم تفاوت معنی‌دار در سطح پرز می‌شود (Ashayerizadeh و همکاران، ۲۰۱۶). در بررسی که توسط Tsirtsikos و همکاران (۲۰۱۲) انجام شد، افزودن پروبیوتیک به جیره جوجه‌های گوشتی موجب تغییر معنی‌دار در ارتفاع و ضخامت ویلی‌ها در ناحیه ایلئوم شد. پروبیوتیک‌ها می‌توانند در مجرای روده کولنیزه شده و با اثر پتویی خود ویلی‌ها را از باکتری‌های پاتوژن محافظت کنند، این محافظت موجب کاهش تخریب بافت روده و در نتیجه آن موجب افزایش ارتفاع ویلی روده می‌شود (Song و همکاران، ۲۰۱۴). باکتریهای پروبیوتیکی بر سر نقاط اتصال در روده با عامل‌های بیماری‌زا رقابت می‌کنند و گیرنده‌های مشترک مخاط روده را اشغال می‌کنند (Abdelrahman و همکاران، ۲۰۱۴) که این کار مانع اتصال عامل‌های بیماری‌زا به مخاط روده و در پی آن کاهش آسیب به پرزها و افزایش سلامت آن‌ها می‌شود. خنثی کردن سموم تولیدشده توسط عامل‌های بیماری‌زای موجود در روده بوسیله میکروارگانسیم‌های پروبیوتیک و در نتیجه محافظت از پرزها و سطح جذبی روده می‌تواند بخشی دیگر از (Torshizi Karimi و همکاران، ۲۰۱۰)، اثر سودمند پروبیوتیک‌ها را توضیح دهد.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج بدست آمده از تحقیقات مختلف با استفاده از انواع پروبیوتیک‌ها بر عملکرد، سیستم‌ایمنی، مورفولوژی روده در جوجه‌های گوشتی بسیار متغیر است. این اختلاف در نتایج می‌تواند به فاکتورهای مهمی همچون متفاوت بودن سویه‌های پروبیوتیکی و کیفیت تولید و نگهداری آن‌ها، زمان (براساس سن) استفاده از پروبیوتیک و همچنین میزان استفاده از هر کدام در جیره مربوط باشد. نتایج استفاده از پروبیوتیک بیوپل روی عملکرد، سیستم‌ایمنی و مورفولوژی روده نشان داد که استفاده از سطوح کاهشی پروبیوتیک (براساس سن) اثر منفی بر فراسنجه‌های یاد شده نداشت. با توجه به نحوه‌ی تأثیرگذاری پروبیوتیک در اوایل و اواخر دوره سطوح کاهشی پروبیوتیک توصیه می‌شود. در تحقیق حاضر نیز سطوح کاهشی پروبیوتیک بیوپل در بسیاری از موارد از جمله تحریک سیستم‌ایمنی بسیار بهتر از تیمار شاهد عمل کرد.

کریپت ویلی به‌عنوان کارخانه ویلی‌سازی عمل می‌کند و کریپت‌های عمیق‌تر نشان دهنده سرعت بالای ساخت و ساز بافت اپیتلیال روده جهت بازسازی ویلی در هنگام نیاز یا در پاسخ به التهاب ناشی از یک پاتوژن است (Yason و همکاران، ۱۹۸۷). سلول‌های اپیتلیال روده در کریپت متولد شده و در سطح رویی ویلی به سمت نوک آن مهاجرت می‌کنند و در نهایت پس از ۴۸ الی ۹۶ ساعت به لومن روده می‌ریزند (Potten و همکاران، ۱۹۹۸). کوتاهی ویلی و عمیق بودن کریپت که نشانه افزایش ترشح به داخل لومن روده است، می‌تواند منجر به جذب ضعیف مواد مغذی در نتیجه تخریب بافت روده و کاهش سطح جذب شود (Xu و همکاران، ۲۰۰۳). از سوی دیگر، افزایش در ارتفاع ویلی و نسبت ارتفاع ویلی به عمق کریپت دارای رابطه مستقیم با کاهش نرخ ساخت و ساز سلول‌های اپیتلیال بوده و ویلی‌های بلندتر موجب افزایش جذب مواد مغذی و بهبود عملکرد می‌شوند (Samanya و Yamauchi، ۲۰۰۲).

با توجه به این مسئله که افزایش ضخامت دیواره ویلی یک پاسخ دفاعی در برابر اثرات منفی باکتری‌های بیماری‌زا می‌باشد (Loddi و همکاران، ۲۰۰۴)، عدم استفاده از پروبیوتیک در تیمار شاهد و وجود باکتری‌های بیماری‌زا تخریب‌کننده بافت روده این افزایش ضخامت را توجیه می‌کند.

منابع

- immune response of broiler chickens. *World Applied Sciences Journal*, 18(3), 305-316.
- Abdelrahman, W., Mohnl, M., Teichmann, K., Doupovec, B., Schatzmayr, G., Lumpkins, B. & Mathis, G. (2014). Comparative evaluation of probiotic and salinomycin effects on performance and coccidiosis control in broiler chickens. *Poultry Science*, 93(12), 3002-3008.
- Anderson, D.B., McCracken, V., Aminovi, R., Simpson, J., Mackie, R., Verstegen, M. and Gaskins, H. (1999). Gut microbiology and growth-promoting antibiotics in swine. *Pig News and Information*. 20; 115-122.
- Ashayerizadeh, O., Dastar, B., Samadi, F., Khomeiri, M., Yamchi, A. & Zerehdaran, S. (2016). Effects of lactobacillus-based probiotic on performance, gut microflora, hematology and intestinal morphology in young broiler chickens challenged with *Salmonella Typhimurium*. *Poultry Science Journal*, 4(2), 157-165
- Bai, S.P., Wu, A.M., Ding, X.M., Lei, Y., Bai, J., Zhang, K.Y. & Chio, J.S. (2013). Effects of probiotic-supplemented diets on growth performance and intestinal immune characteristics of broiler chickens. *Poultry Science*, 92(3), 663-670.
- Balachandar, J., Reddy, P.S. and Reddy, P.V.V.S.N. (2005). Effect of probiotics supplementation with or without enzymes on the performance of male broiler chicks. Department of Poultry Science., College of Veterinary Science, Tirupati. 3; 211-215.
- Beiki, M., Dayyani, N. & Hashemi, S. M. (2013). The effects of Fermacto, Bactocell and Biostrong in antibiotic-free diets on the performance of broilers. *International Journal of Advanced Biological and Biomedical Research*, 12, 1535-1542.
- Bradley, G.L., Savage, T.F. and Timm, K.I. (1994). The effects of supplementing diets with *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* on male poult performance and ileal morphology. *Poultry Science*. 73(11); 1766-1770.
- توانافر، ا. نعمت‌زاده سوتنه، ح. (۱۳۹۲). بررسی اثر استفاده از سطوح مختلف پروبیوتیک پریمالاک بر عملکرد جوجه‌های گوشتی. همایش ملی دام و طیور، ۱۲ اردیبهشت ۱۳۹۲، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ۱۰.
- دانش پور، م.ع. شریعتمداری، ف و کریمی، م.ا. (۱۳۸۶). بررسی اثرات استفاده از گیاهان دارویی، پری‌بیوتیک و پروبیوتیک و آنتی‌بیوتیک بر عملکرد و سیستم ایمنی جوجه‌های گوشتی. نشریه دامپزشکی (پژوهش و سازندگی)، شماره ۱۳، ص ص. ۱۱-۱۷.
- شیرزادی، ح. مروج، ح و شیوازاد، م. (۱۳۸۸). مقایسه اثر چهار نوع آنزیم مختلف تجاری بر عملکرد برخی از خصوصیات دستگاه گوارش جوجه‌های گوشتی تغذیه شده بر پایه جو، مجله علوم دامی ایران، دوره ۴۰، شماره ۳، ص ص. ۹-۱۰.
- کاکه باوه، م. طاهری، ح و هرکی‌نژاد، م.ط. (۱۳۹۳). بررسی اثرات جیره‌های حاوی پروبیوتیک، پریوتیک و سین‌بیوتیک بر صفات عملکرد و جمعیت میکروبی در ایلئوم و سکوم جوجه‌های گوشتی. پژوهش‌های تولیدات دامی، سال پنجم، شماره ۱۰، ص ص. ۴۵-۵۶.
- میاحی، م. خواجه، غ و لوابی منفرد، ع. (۱۳۸۷). بررسی افزودن مواد افزودنی در جیره غذایی بر روی برخی از پارامترهای هماتولوژیکی و بیوشیمیایی سرم خون جوجه‌های گوشتی. سومین کنگره علوم دامی کشور در مشهد.
- محمدیان، ا. مهدی‌زاده، م. لطف‌الهیان، ه. نوروزیان، ح. (۱۳۸۹). اثر سطوح مختلف پروبیوتیک بر عملکرد و سیستم ایمنی مرغ‌های تخم‌گذار. دانش و پژوهش علوم دامی، سال پنجم، شماره ۷، ص ص. ۶۵-۷۲.
- Abdelrahman, A. H., Kamel, H. H., Ahmed, W. M., Mogoda, O. S. & Mohamed, A. H. (2012). Effect of Bactocell® and Revitilyte-Plus as probiotic food supplements on the growth performance, hematological, biochemical parameters and humoral

- Cox, C. M. & Dalloul, R. A. (2014). Immunomodulatory role of probiotics in poultry and potential in ovo application. *Beneficial Microbes*, 6, 45-52.
- Dersjant-Li, Y., Awati, A., Schulze, H. and Partridge, G. (2014). Phytase in non-ruminant animal nutrition: a critical review on phytase activities in the gastrointestinal tract and influencing factors. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 95; 878-896.
- Gadde, U., Kim, W. H., Oh, S. T. & Lillehoj, H. S. (2017). Alternatives to antibiotics for maximizing growth performance and feed efficiency in poultry: a review. *Animal Health Research Reviews*, 1-20.
- Graham, J. P., Boland, J. J. & Silbergeld, E. (2007). Growth promoting antibiotics in food animal production: an economic analysis. *Public Health Reports*, 122, 79-87
- Hume, M. E. (2011). Historic perspective: prebiotics, probiotics, and other alternatives to antibiotics. *Poultry Science*, 90(11), 2663-2669.
- Jabbari, N., Fattah, A. & Shirmohammad, F. (2016). The effects of Protexin probiotic and aquablend avian antibody on performance and immune system of broiler chickens. *Iranian Journal of Applied Animal Science*, 6(4), 951-956.
- Karimi Torshizi, M. A., Moghaddam, A. R., Rahimi, S. & Mojangani, N. (2010). Assessing the effect of administering probiotics in water or as a feed supplement on broiler performance and immune response. *British Poultry Science*, 51(2), 178-184.
- Lilburn, M. (2000). Modulation of humoral immunity in commercial laying hens by a dietary probiotic. *Poultry Science*. 79(1): 38.
- Loddi, M.M., Gonzales, E., Takita, T.S., Mendes, A.A. and Roça, R.d.O. (2000). Uso de probiótico e antibiótico sobre o desempenho, o rendimento e a qualidade de carcaça de frangos de corte. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 1124-1131.
- Mountzouris, K. C., Tsirtsikos, P., Kalamara, E., Nitsch, S., Schatzmayr, G. & Fegeros, K. (2007). Evaluation of the efficacy of a probiotic containing *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus*, and *Pediococcus* strains in promoting broiler performance and modulating cecal microflora composition and metabolic activities. *Poultry Science*, 86(2), 309-317.
- Mulder, R.W.A.W., Havenaar, R., and Huis in't Veld, J.H.J. (1997). Intervention strategies: the use of probiotics and competitive exclusion microfloras against contamination with pathogens in pigs and poultry. In: *Probiotics 2. Applications and practical aspects*. Chapman and Hall, London, UK, 212p.
- Ohimain, E. I. & Ofongo, R. T. (2012). The effect of probiotic and prebiotic feed supplementation on chicken health and gut microflora: a review. *International Journal of Animal and Veterinary Advances*, 4(2), 135-143.
- Panda, A. K. Reddy, M.R., RamaRao, S.V., Raju. M.V.L.N., and Paraharaj, N.K. (2000). Growth, carcass characteristics, immunocompetence and response to *Escherchia coli* on broiler fed diets with various level of probiotic. *Archive fur Geflugelqund*. 64; 152-156.
- Peterson, A., Qureshi, M., Ferket, P. and Fuller, J. (1999). Enhancement of cellular and humoral immunity in young broilers by the dietary supplementation of β -hydroxy- β -methylbutyrate. *Immunopharmacology and Immunotoxicology*. 21(2); 307-330.
- Potten, C. S. (1998). Stem cells in gastrointestinal epithelium: numbers, characteristics and death. *Philos. Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*. 353; 821-830.

