Reduction of mortality rate of broiler chicks by probiotic prepared with Lactic acid bacteria "Lactobacilli"

تقليل نسبة الهلاكات في فروج اللحم باستعمال المعزز الحيوي المحضر بواسطة سلالات لبكتريا حامض اللاكتيك Lactobacilli

أحمد صالح ساجت خميس حبيب مطلك عمر عادل عبود حميد عودة عبد
وزارة العلوم والتكنولوجيا ، دائرة البحوث الزراعية – مركز التقانات الغذائية والإحيائية

الملخص

استهدفت الدراسة تحديد تأثير مستحضر المعزز الحيوي المعد بواسطة بكتريا حامض للاكتيك ، حيث اختبرت ثلاثة سلالات منها من ناحية صفات كفاءة إنتاجها للحامض وتحملها لحموضة الوسط وأملاح الصفراء.

بينت نتائج الفحوصات الكيمياوية والحيوية المتحصل عليها أن السلالة Lact.19435 كانت الأعلى في إنتاجها لحامض اللاكتيك إذ وصلت النسبة إلى 1.5 غم/غم نموذج، كذلك كانت الأعلى في نسبة الخلايا الحية النامية في الرقم الهيدروجيني 2.5 بعد مرور 3 ساعات من الحضن ، وامتازت أيضا بكونها أكثر السلالات المدروسة مقاومة لأملاح الصفراء إذ بلغت نسبة الخلايا الحية 3.6% عند التركيز 0.3% أملاح صفراء. انتخبت سلالة بكتريا حامض اللاكتيك Lact.19435 نظرا لصفاتها الجيدة وأدخلت في تحضير المعزز الحيوي لفروج اللحم ، إذ أضيف منه التراكيز 50 ، 75 ، 100 و 125غم/لتر ماء الشرب للدواجن.أظهرت نتائج التجربة الحقلية للمعزز الحيوي على فروج اللحم أن جميع معاملات المعزز الحيوي كانت لها فروق معنوية مقارنة بمعاملة السيطرة بخصوص تثبيط أعداد بكتريا القولون في أمعاء الدجاج بعد الذبح، كما أوضحت النتائج عدم وجود فروق معنوية بين تراكيز المعزز 100 و 125غم/لتر المضافة لماء الشرب. وتوصلت النتائج إلى حصول زيادة في أوزان الدجاج المذبوح يقابلها انخفاض نسبة الهلاكات بالمقارنة مع معاملة السيطرة (بدون إضافة معزز حيوي) وباقي تراكيز المعزز.

Abstract

The study aimed to determine the effect of probiotic prepared by lactic acid bacteria. Three strains of lactic acid bacteria were tested in terms of acid production efficiency and survival rate in acidity of the medium and resistant to bile salts. Bio-chemical tests showed that strain Lact.19435 was the highest in the lactic acid production ratio up to 1.5 % percentage of survival rate at pH 2.5 after 3 hours of incubation, and characterized also by being more studied strains resistant to bile salts where the percentage of living cells 3.6 % at 0.3 % concentration Yellow salts. Lact.19435 was elected to preparation probiotic for chicken meat according its good characteristics. Prepared probiotic added to drinking water of poultry at concentrations 50, 75, 100 and 125 g / liter. Results of the experiment field showed that treatments enhanced with probiotics have significant differences compared to control treatment on the inhibition of coli form counts in the intestines of chickens after slaughter, as the results showed no significant differences between the concentrations of enhanced 100 and 125 g / L added to drinking water. The results found an increase in the weight of slaughtered chicken, and decrease in mortality rate compared with the control treatment (without the addition of any probiotic) and the other probiotics concentration.

المقدمة

ازدادت الحاجة للحوم الدواجن لكونها أحد المصادر المهمة للبروتينات الحيوانية في العالم ، لذا فأن حدوث الإصابات المرضية والهلاكات بالدواجن نتيجة لتواجد البكتريا المرضية بأعداد غير طبيعية في أمعاء الدواجن وبالتالي يعيق التوسع والتطور في صناعة الدواجن (1).

شاع استعمال المعززات الحيوية (Probiotic) في حقول الإنتاج الحيواني ، وأطلق على هذه المعززات حديثا اسم التغذية المباشرة بالأحياء المجهرية وذلك لكونها طريقة تغذية بالأحياء المجهرية المفيدة التي تحسن من صحة الحيوانات الداجنة وتزيد من إنتاجها(1). ولقد نالت الأحياء المجهرية العلاجية وبالذات الجنس Lactobacilli اهتماما كبيرا منذ أمد طويل وشغلت مساحة واسعة من البحوث العلمية ولاسيما في مجال الثروة الحيوانية والصناعات الغذائية (2) . لقد وضعت عدة معايير لتصنيف بكتريا حامض اللاكتيك كونها علاجية منها ما ذكرت من قبل (3) وهي قابلية البكتريا على مقاومة الانخفاض بالرقم الهيدروجيني بالمعدة وعلى مقاومة تراكيز أملاح الصفراء في الأمعاء وقابليتها على الاستيطان بأعداد وفيرة بالأمعاء، وقد أضاف (4) بعض المميزات منها مقدرة أنواع بكتريا حامض اللاكتيك في الإحلال بديلا عن بكتريا الأمعاء و امتلاكها ميزة خصوصية المضيف.

لقد أسهمت المعززات الحيوية في تطور صناعة الدواجن من خلال زيادة مقاومتها للأمراض التي تسببها البكتريا المرضية المعوية (5). لقد استعملت المضادات الحياتية مع العديد من الحيوانات الزراعية وخصوصا الدواجن في بداية نموها وذلك لدورها الرئيسي بالقضاء على الأحياء المجهرية المرضية في القناة الهضمية للطير بالإضافة إلى وصفها كعامل معد لتحسين النمو وكذلك لموازنة النبيت المعوي للقناة الهضمية بعد حصول اضطرابات فيها نتيجة تربية أعداد كثيفة من الطيور في وحدة المساحة أو للإجهاد الحاصل بسبب عوامل النقل و اللقاحات والتعرض إلى برودة شديدة أو حر شديد (6)، ولكن الاستعمال الواسع والطويل للمضادات الحيوية أدى إلى تزايد القلق فيما يتعلق بتطور مقاومة المستعمرات الميكروبية مما يجعل من الصعب معالجتها بالمضادات الحياتية لاحقا وحصول ترسبات لتلك المضادات في المنتجات الحيوانية (7) . ونتيجة لما سبق ذكره فقد تزايدت الضغوط من قبل الجماعات المعارضة لاستعمال المعززات الحيوية بوصفها إضافات غذائية ، لذا فقد عاد الاهتمام باستعمال بكتريا حامض اللاكتيك كوسيلة لإعادة إحياء المحتوى الطبيعي من الأحياء المجهرية في القناة الهضمية من جديد (8) . مما شجع على استعمال المعزز الحيوي في علائق الحيوانات الزراعية هو التطور الهائل في تقنيات تركيز وخزن الأحياء المجهرية منذ السبعينات من القرن الماضي. وفقا لما ذكره (9) فأن للمعزز الحيوي خصائص مميزة غير موجودة بالمضادات الحياتية عملت على تشجيع استعماله بوصفه بديلا للمضادات الحيوية التي عليها سلبيات عديدة وكذلك لكون المعزز لا يمتص في القناة الهضمية و لا يحدث لها تراكم في الأنسجة و لا تحدث طفرة للأحياء المجهرية (10).

يهدف البحث إلى تصنيع معزز حيوي بواسطة سلالة كفؤة من بكتريا حامض اللاكتيك وإيجاد التركيز المناسب لإضافته إلى ماء شرب الدجاج لإحداث تأثير خافض للهلاكات في فروج اللحم وزيادة نسبة تصافي اللحم بعد الذبح.

المواد وطرائق العمل

- سلالات بكتريا حامض اللاكتيك: استعملت سلالات مسجلة ومعروفة بكفائتها على إنتاج حامض اللاكتيك، وتم الحصول عليها من الشركة العامة لمنتوجات الألبان –بغداد ، وهي:

Lactobacillus Casei NRRL B- 441 ويرمز لها(Lact. B 441) .

Lactobacillus lactis WS 1042 ويرمز لها (Lact.WS 1042).

Lactobacillus lactis SP.Lactis ATCC 19435 ويرمز لها (Lact.19435).

- وسط التنمية: نميت السلالات أعلاه على وسط MRS- $CaCO_3$ الصلب (4).

حضنت الأطباق الملقحة في ظروف لا هوائية داخل الحاضنة نوع .Human Lab التي تعمل بجو من غاز ثاني أوكسيد الكاربون وفي درجة حرارة 37م°/48 ساعة.

أعيدت تنمية السلالات المنشطة على الحليب الفرز ا لمعاد تركيبه (12% مواد صلبة كلية) والمعامل حراريا لمدة 15 دقيقة/121م° ، ثم حضن الحليب الملقح في درجة حرارة 42 م° /3ساعة (11).

- طريقة تنشيط وحفظ بكتريا حامض اللاكتيك:

استخدم الوسط NGYC المتكون من 12% حليب فرز ، 2% كلوكوز ، 1% مستخلص الخميرة و 0.05% L-Cystein-HCl . لقح الوسط بلقاح بكتريا حامض اللاكتيك (3%) وتم الحضن بدرجة حرارة 37 م° /18 ساعة،بعدها حفظت النماذج بالثلاجة مع مراعاة التنشيط أسبوعيا (12).

- دراسة صفة مقاومة الحموضة:

لقح الوسط L-Cystein-HCl بنسبة 1% من لقاح البكتريا المنشطة و حضنت النماذج بدرجة حرارة 37 م24/ ° ساعة .ضبط الرقم الهيدروجيني للوسط NGYC بعد نمو البكتريا على الأرقام الهيدروجينية 2.5 . 3.5 و 4.5 باستعمال حامض الهيدروكلوريك 5ع . بعدها أجريت التخافيف للنماذج المسحوبة وبألاوقات 1 ،2 و 3 ساعة. نقل 1 مل من التخفيف المناسب إلى أطباق بتري وصب عليها الوسط الزرعي Agar MRS – Cysteine المحضر بإضافة 0.05% (وزن /حجم) من مادة L- Cystein- HCl نقلت الأطباق إلى حاضنة تعمل بجو من غاز ثاني اوكسيد الكاربون وفي درجة حرارة 37م° / 24ساعة.

حسبت أعداد البكتريا باستخدام جهاز عداد المستعمرات نوع Gallenkamp (14).

* دراسة صفة المقاومة لأملاح الصفراء :
لقح وسط NGYC بنسبة 1% من لقاح البكتريا المنشطة وحضنت النماذج في درجة حرارة 37م°/24 ساعة ضبط الرقم الهيدروجيني للمعاملات كافة على القيمة 4.5. حضر محلول أملاح الصفراء بإذابة 30غم من أملاح الصفراء في 100 مل ماء مقطر وعقم المحلول في درجة حرارة 121م° / 15دقيقة. أضيف محلول أملاح الصفراء إلى وسط NGYC بالتراكيز 0.1 ، 0.2 و 0.3%. حسب الأعداد الحية للبكتريا بعد مرور 3 ساعات من الحضن (13) .
* تقدير الحموضة الكلية وقياس الرقم الهيدروجيني .
قدرت الحموضة الكلية واحتسبت النسبة المئوية للحموضة الكلية على أساس حامض اللاكتيك من المعادلة التالية بعد التبسيط (11):
الحموضة الكلية (%حامض لاكتيك) = عدد مللترات القاعدة (0.1N)NaOH /10
أما قياس الرقم الهيدروجيني فتم بوساطة الجهاز pH - Meter (WTW-Germany).
* حساب الأعداد الكلية الحية للبكتريا :-
حسب أعداد البكتريا باستخدام جهاز عد المستعمرات, واحتسبت النسبة المئوية لأعداد البكتريا الحية استنادا للمعادلة التالية :
% لأعداد البكتريا الحية = س- ص / ص × 100
حيث إن:
ص = الأعداد الحية من البكتريا / سم^3 للمنتوج في معاملة السيطرة .
س = الأعداد الحية من البكتريا في المعاملة المحورة (15).
*العدد الميكروبي لبكتريا القولون: جمعت عينات البراز من أمعاء الطير (منطقة الأمعاء الغليظة) بعد ذبح اجري العد الميكروبي على وسط McConkey agar لحساب أعداد للبكتريا القولون بعد حضن الأطباق في درجة حرارة 37م24/° ساعة
العدد الجرثومي في العينة = العدد الكلي للمستعمرات × 10 × مقلوب التخفيف
* تحضير المعزز الحيوي للدواجن :-
استعمل الحليب الفرز المجفف المعاد تركيبه (12% مواد صلبة) والمضاف له خليط الفيتامينات المتحصل عليه من الأسواق المحلية بالاسم التجاري (Darcovet) المحتوي على فيتامينات مجموعة B المعقدة بالإضافة لفيتامينات (A,D,E,K) أضيفت للحليب بنسبة 1غم / 10 لتر حليب فرز) حسب الطريقة التي وصفها (16) لقح الحليب المحضر بالبادئ بنسبة 3% ثم الحضن بدرجة حرارة 42 م3/ °ساعة .بعد إتمام عملية التخثر نقل الحليب المختمر إلى صواني مسطحة وجفف بالفرن الهوائي في درجة حرارة 45م° ثم إجراء الطحن للمنتوج المجفف . أضيفت أملاح الصوديوم الثلاثية الفوسفات بنسبة 40% من وزن منتوج الحليب المخثر الجاف.
* تقييم كفاءة المعزز الحيوي المحضر:
جرى تقييم خلطات المعززات الحيوية المحضرة وتأثيره في تقليل هلاكات فروج اللحم وذلك بإجراء تجربة أضيف فيها المعزز الحيوي المحضر بالنسب 50 ، 75، 100 و 125 غم/لتر ماء الشرب لقاعة الدواجن .

* دراسة تأثير الفعل التثبيطي لبكتريا حامض اللاكتيك ضد أعداد البكتريا الكلية في بكتريا القولون :
أجري التشريح والزرع البكتيري لمقطع من أمعاء الدواجن خلال مراحل تربية دجاج اللحم البالغة 8 أسابيع
أنجزت التجربة في أحد الحقول الأهلية في منطقة الخالص ضمن محافظة ديالى على فروج اللحم (نوع فابرو) بعمر أسبوع واحد , وزعت التجربة عشوائيا على خمسة معاملات حيث خصصت لكل معاملة 20 طير وبواقع 3 مكررات لكل معاملة.

النتائج والمناقشة

اختبرت كفاءة السلالات المختارة والتي لها القدرة على تخمر سكر اللاكتوز أنتاج حامض اللاكتيك ، وتبين النتائج في الجدول رقم 1 أن سلالة بكتريا حامض اللاكتيك Lact. 19435 أعطت أعلى إنتاجية لحامض اللاكتيك (1.5 غم حامض اللاكتيك/غم Lac. 19435) وهذا يتفق مع دراسة سابقة (11) حول كفاءة هذه السلالة وتميزها بإنتاج حامض اللاكتيك.

جدول (1): اختيار كفاءة سلالات بكتريا حامض اللاكتيك على تخمر اللاكتوز وإنتاج حامض اللاكتيك المنماة في وسط النمو* .

السلالة	الحصيلة (%)
Lac. B441	1.20
Lac.ws 1042	0.96
Lac. 19435	1.50

* وسط النمو هو MRS ذو رقم هيدروجيني 6.2 والحضن بدرجة حرارة 37م /3 ساعة تحت ظروف لا هوائية.
درست صفة مقاومة الحموضة لسلالات بكتريا حامض اللاكتيك قيد الدراسة ، ويلاحظ من الجدول رقم 2 أن نسبة من الخلايا الحية كانت لدى السلالة Lact. 19435 إذ بلغت 3.5% في الرقم الهيدروجيني 2.5 ، بينما كانت نسبة الخلايا الحية لسلالتان Lact.B

441 و Lact.WS 1042 2.5 و 2.0 على التوالي بعد مرور ثلاث ساعات من الحضن. وقد ذكر (16) أن بكتريا حامض اللاكتيك حتى يكون لها فعل مؤثر يجب أن تكون مقاومة للعصير المعدي ، وأن المدة الزمنية التي يبقى فيها المنتوج اللبني في المعدة لا تتجاوز الساعتين.

جدول (2) : دراسة صفة مقاومة الحموضة لبكتريا حامض اللاكتيك المنماة في وسط النمو N6YC.

السلالة	مدى الرقم الهيدروجيني	% للخلايا الحية		
		وقت الحضن		
		1 ساعة	2 ساعة	3 ساعة
Lact. B 441	2.5 3.5 4.5	7.8 15.0 98.0	5.0 8.2 96.6	2.5 7.0 95.3
Lact.WS1042	2.5 3.5 4.5	6.5 11.5 97.0	3.5 7.0 95.5	2.0 5.4 94.0
Lact. 19435	2.5 3.5 4.5	9.0 25.0 99.0	7.0 13.8 98.2	3.5 10.0 97.0

جدول (3) : دراسة صفة المقاومة لأملاح الصفراء لبكتريا حامض اللاكتيك المنماة في وسط NGYC .

السلالة	تركيز أملاح الصفراء (%)	% للخلايا الحية
Lact. B441	0.1 0.2 0.3	68.4 50.5 3.5
Lact.WS1042	0.1 0.2 0.3	64.3 49.0 3.0
Lact. 19435	0.1 0.2 0.3	70.2 52.5 3.6

أظهرت نتائج دراسة صفة المقاومة لأملاح الصفراء المبينة في جدول رقم 3 مدى تأثر الإعداد الحية للبكتريا في وسط يحتوي على 0.1 ،0.2 و 0.3%أملاح صفراء، ويلاحظ انه في تركيز 0.3%استطاعت السلالة Lact.19435 أن تحتفظ بنسبة خلايا حية هي 3.6 % تلتها السلالة Lact.B 441 بنسبة 3.5%. وقد فسر (4) أن أملاح الصفراء تعمل على خفض الشد السطحي وذلك عن طريق استحلابها للدهون ومن ثم إذابة الحوامض الدهنية لجدران خلايا البكتريا.

وعلل الباحث Robinson (3) قدرة سلالات بكتريا حامض اللاكتيك على مقاومة أملاح الصفراء إلى طبيعة البروتين الموجود في جدار الخلية ،إذ وجد أن 30% من الحوامض الامينية لهذا البروتين هي من النوع الكاره للماء وأنه كلما تأثرت هذه الطبقة أصبحت البكتريا حساسة تجاه تراكيز قليلة لا تتجاوز 0.2% أملاح الصفراء.

و في ضوء النتائج المتحصل عليها للصفات المدروسة سابقا ، انتخبت السلالة Lact.19435 لكونها الأفضل لتحضر المعزز الحيوي لدواجن اللحم ، ويظهر جدول رقم 4 نتائج التأثير التثبيطي لبكتريا القولون، ويلاحظ عدم وجود فروق معنوية في العدد الكلي لبكتريا القولون بالكتلة البرازية في الأمعاء لمعاملة السيطرة و إضافة المعزز الحيوي بالأسبوع الأول، في حين ازدادت أعداد بكتريا القولون خلال الأسبوع الثاني من عمر فروج اللحم، ولم يلاحظ وجود فروق معنوية في الأسبوعين السادس والثامن للتجربة وكذلك الحال عند المقارنة بين أعمار الطيور لنفس العمر.

جدول (4): التأثير التثبيطي للمعزز الحيوي ضد بكتريا القولون والمحضر بواسطة السلالة والمضاف إلى ماء الشرب للدواجن *Lact.19435.

السلالة	العمر بالاسابيع	أعداد بكتريا القولون في أمعاء الطير ** 10^{10} (CFU/gm)					مستوى المعنوية
		تركيز المعزز الحيوي (غم / لتر ماء شرب)					
		معاملة السيطرة	50	75	100	125	
Lact.19435	1	a 4.54± A 2.83	a 4.30 ± A 2.60	a 4.25 ± A 2.30.5	a 4.05± A 2.1	a 3.9± A 2.0	*
	2	b 30.6 ± B 28.2	b 26.5 ± B 26.6	b 28.3± B 25.8	a 25.6 ± B 25.2	b 25.0 ± B 24.8	*
	6	c 1.5 ± C 0.05	d 0.88± C 0.05	d 0.80 ± C 0.04	e 0.53 ± C 0.03	e 0.51 ± C 0.03	NS
	8	c 1.4± C 0.07	d 0.79 ± C 0.04	d 0.75± C 0.036	e 0.50 ± C 0 .032	e 0.48 ± C 0.032	NS
مستوى المعنوية		*	*	*	NS	NS	

*: بلغت أعداد الخلايا الحية لبكتريا حامض اللاكتيك بالمعزز الحيوي 10^8 بكتريا /غم معزز حيوي.
**: الحروف الكبيرة للمقارنة بين الأسابيع عموديا، والحروف الصغيرة للمقارنة بين تراكيز المعزز الحيوي أفقيا.

درس تأثير إضافة تراكيز من المعزز الحيوي المحضر بواسطة البكتريا Lact 19435 المضافة إلى ماء شرب لقاعة الدواجن ، وتبين نتائج الجدول رقم 5 وجود فروق معنوية لأوزان الطيور المذبوحة وجود فروق معنوية بين المعاملات المضاف لها المعزز مقارنة مع معاملة السيطرة ، بينما لا توجد فروق معنوية بين معاملتي المعزز الحيوي 100 و 125 غم/لتر وكذلك وحدت نفس الملاحظات في نسبة تصافي اللحم.
وعند مطالعة نتائج نسبة الهلاكات في طيور اللحم وجدت فروق معنوية بين معاملة السيطرة وبين معاملات المعزز 50 ،75 و 100 غم/لتر ، ولكن لم يلاحظ وجود فروق معنوية بين المعاملتان 100 و 125 غم/لتر حيث انخفضت نسبة الهلاكات إلى 3% لكلا المعاملتين19435.

جدول رقم 5: إضافة تراكيز من المعزز الحيوي المحضر بواسطة البكتريا Lact.19435 وتأثيره في وزن الدجاج ونسبة الهلاكات.*

المعاملات **	الصفات المدروسة			
	وزن جسم الذبيحة (غم)	نسبة تصافي اللحم (%)	نسبة الهلاكات (%)	الفحوص العينية
معاملة السيطرة (بدون إضافة المعزز الحيوي)	a 1250 ± 3.25	a 70.0 ± 1.22	a 22 ± 0.005	وجود بقع نزفية في الأمعاء وشحوب الكبد واحتقان الأمعاء
50 غم معزز حيوي	b 1450 ± 2.86	b 73.3 ± 1.30	b 12 ± 0.06	وجود بقع نزفية محدودة في الأمعاء
75 غم معزز حيوي	b 1500 ± 2.56	c 76.5 ± 1.45	c 8 ± 0.01	وجود بقع نزفية محدودة في الأمعاء
100 غم معزز حيوي	c 1590 ± 3.18	d 79.8 ± 1.36	d 3 ± 0.08	عدم وجود أية علامات مرضية
125 غم معزز حيوي	c 1575 ± 3.03	d 79.2 ± 1.24	d 3 ± 0.005	عدم وجود أية علامات مرضية

*: حجم العينة 20 فروج لحم لكل معاملة.
**: الحروف المتشابهة ضمن العمود الواحد تدل على عدم وجود فروق معنوية بين المعاملات عند مستوى احتمالية 0.01 .

الاستنتاج

1- اختيار سلالة بكتريا حامض اللاكتيك Lact.19435 لتميزها في إنتاج حامض اللاكتيك واحتفاظها بأعداد جيدة من الخلايا الحية في وسط ذو رقم هيدروجيني 2.5 وتركيز أملاح الصفراء 0.3% ، وأدخلت في تحضير المعزز الحيوي.

2- وجد أن استعمال تركيز المعزز الحيوي (100 غم /لتر ما شرب) في تربية فروج اللحم لغية عمر 8 أسابيع ، أدى زيادة وزن الدجاج وتصافي اللحم بعد الذبح وكذلك انخفضت نسبة الهلاكات إلى 3% مقارنة مع معاملة السيطرة (نسبة هلاكات 22%).

المصادر

1--زنكنة، بشرى سعدي رسول (2007)."أنتاج المعزز الحيوي Probiotic والخليط التأزري Synbiotic محليا ومقارنة تأثيرها في إنتاج البيض وصفاته النوعية وصفات السائل المنوي لدجاج اللكهورن الأبيض". أطروحة دكتوراه، كلية الزراعة – جامعة بغداد.

2--Gilliland, S.E.(1989)."Acidophilus milk products. A review of potential benefits to consumers". J.Dairy Sci., 72: 2483 – 2494.

3-- Robinson, R.K.(1991)."Therapeutic properties of fermented milk". Elsevier applied Sci.London & New York.

4-الشيخ ظاهر،عامر عبد الرحمن (1999)."دراسة مقارنة للصفات الكيميوحيوية لعزلة محلية وسلالة مستوردة من بكتريا *Lact. Acidophilus* و استخدامها في تصنيع منتجات علاجية". أطروحة دكتوراه، كلية الزراعة- جامعة بغداد.

5- Claudia,D.(2008)."The use of probiotic in poultry feed". J. of Renal nutrition, 12 (2) : 76-86.

6- Abu-Tarboush,H.M.; M.Y. Al-Saiady and A.H.Keir El-Din (1996)."Evaluation of diet containing lactobacilli of performance, fecal Colifom and lactobacilli of young dairy calves". Animal Feed Sci., 57: 39-49.

7-- Cummings, J.H. and G.T. McFarlane (2002)."Gastrointestinal effect of prebiotics". Br. J. Nutr., 87 (2):145-151.

8- Krehbiel,C.R.; S.R. Rust ; G.Zhang and S.E. Gilliland (2003)." Bacterial direct-fed microbial in ruminant diets : performance response and mode of action". J. Anim. Sci, 81 (E-Suppl. 2): E 120-E 132.

9-- Zewell, H.S. ; S.G.Genedy and M.Bassiouni (2006)."Effect of probiotic and medicinal plant supplement on the production and egg quality of laying Japanese quail hens". Egypt Poult. Sci., 26 (11): 450-457.

10 - Elijah,I.O. and Ruth,T.S.(2012)."The effect of probiotic feed supplementation on chicken health and gut microflora: A review". Inter, J. of animal and veterinary advance, 4(2):135-143.

11-عبد، حميد عودة ؛ ساجت, أحمد صالح ؛الدرة، عمر عادل و علي، منى قدوري (2012).
" دراسة الظروف المثلى لإنتاج حامض اللاكتيك بطريقة التخمرات". مجلة البصرة للعلوم الزراعية، مجلد 25، عدد 3: 663-673.

12-Lankapurtha, W.E. and N.P.Shah (1995)."Simple method for selective enumeration of *Lact. Acidophilus* in yoghurt supplemented with *Lact.acidophilus* and Bifidobacter spp.".Milchwissensch aft ,51,(8): 96-104.

13-Lankapurtha, W.E. and N.P.Shah (1996)."Survival of *Lact.Acidophilus* and Bifidobacterium spp. In presence of acid and bile salt. Cultured dairy products J.,30(50): 36-45.

14- Kiss,I.(1983)."Testing method in food microbiology". Elsevier Amsterdam, Oxford.

15- Dave,R.I. and Shah, N.P.(1997)."Viability of yoghurt and probiotic bacteria in yoghurt is made from commercial starter culture".Inter.dairy J., 7 :31-41.

16-ساجت ،أحمد صالح؛ العاني، سعود رشيد ؛ عبيد ، رافد حسين و حياوي، فلاح حسن.(2012).: استخدام بكتريا حامض اللاكتيك *Lact. bulgaricus* في تحضير المعزز الحيوي وتأثيره في تقليل الإجهاد الحراري لفروج اللحم". المجلة العراقية للعلوم والتكنولوجيا، مجلد 3 (3): 160-168.