بررسی اثرات پرومیکس باسیلوس سوبتیلیس و باسیلوس لیشنی فرمیس بر روی متابولیت ها و عناصر خونی و رشد گوساله‌های پرواری

غلامعلی مقدم[1]*، احمد نعمت‌الهی[2]

چکیده

پروبیوتیک‌ها میکرو ارگانیسم‌های مفیدی هستند که در دستگاه گوارش دام‌ها کلونیزه شده و از طریق مکانیسم‌های خاصی بر روی بعضی از پارامترهای خون تأثیر می‌گذارند. به این منظور آزمایشی ترتیب داده شده تا تأثیر پرومیکس حاوی اسپورهای زندهٔ باکتری باسیلوس سوبتیلیس (Bacillus subtilis CH 201) و باسیلوس لیشنی فرمیس (Bacillus Licheni formis CH 200)، بر روی افزایش وزن، متابولیت‌ها و عناصر خونی گوساله مشخص گردد. ۲۰ رأس گوساله نر نژاد هلشتاین در دو گروه ۱۰ رأسی در اصطبل های جداگانه تقسیم شدند. گروه کنترل با جیرهٔ استاندارد و گروه تیمار با همان جیره بعلاوه پرومیکس (۵۰۰ گرم در هر تن خوراک یا $1/6\times10^9$ cfu در گرم خوراک) به مدت ٤۵ روز تغذیه گردیدند و وزن گوساله‌ها در روزهای ۱، ۱۵، ۳۰ و ٤۵ اندازه گیری شد و از آنها برای اندازه‌گیری مقادیر برخی متابولیت‌ها و عناصر خونی خونگیری به عمل آمد. میانگین‌های به دست آمده با آزمون T مقایسه شدند. نتایج نشان داد که میانگین افزایش وزن روزانه با مصرف پرومیکس، بهبود غیر معنی‌داری (P>۰/۰۵) به میزان ٤/۸ درصد داشت. در هر کدام از ۳ دورهٔ آزمایش نیز میانگین افزایش وزن روزانه، بهبود غیر معنی‌داری نشان داد (P>۰/۰۵). فسفر و کلسیم خون گوساله‌ها تحت تأثیر پروبیوتیک افزایش معنی‌داری (P<۰/۰۱) نشان دادند که این افزایش در دورهٔ اول غیر معنی‌دار (P>۰/۰۵) ولی در دوره-های دوم و سوم معنی‌دار (P<۰/۰۱) بود. با افزودن پروبیوتیک میزان گلوکز، اوره و پروتئین خون افزایش غیر معنی‌داری (P>۰/۰۵) نسبت به گروه شاهد داشت. البته این افزایش در میزان گلوکز، اوره و پروتئین در دوره‌های دوم و سوم غیر معنی‌دار (P>۰/۰۵) و در دوره اول معنی دار بود (P<۰/۰۱).

مجله علوم تخصصی دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی تبریز، ۱۳۸٦، دوره ۱، شماره ۱، ٤۸-٤۱.

کلمات کلیدی: پروبیوتیک، پرومیکس، پارامترهای خون، افزایش وزن، گوساله‌ها

مقدمه

پروبیوتیک‌ها مکمل‌های غذایی میکروبی زنده هستند که برای سلامتی مصرف کننده بوسیله بقاء یا توسعه تعادل میکروبی روده مفید هستند (٦ و ۱۱). بقاء پروبیوتیک‌های مختلف در بخش‌های مختلف دستگاه گوارش متفاوت است. برخی‌ها به علت pH پایین روده خیلی سریع می‌میرند ولی برخی دیگر تعدادشان در روده به شدت افزایش می یابد (۳ و ۹).

فارما کوکینتیک پروبیوتیک‌ها در بدن بوسیله لوله معدی، نفوذ و تکنیک بیوپسی آزمایش شده است (۱۲). باکتری‌هایی که قدرت چسبندگی و تشکیل کلنی در روده میزبان دارند، نسبت به سایر باکتری‌ها در تولید متابولیت‌ها و اثرات ایمونومدولاتوری قدرت بیشتری دارند، به طوری که نشان داده شده است که لاکتوباسیل

۱. گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران.
۲. گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران.
* نویسنده مسئول مکاتبات: ghmoghaddam@hotmail.com

Evaluation of the effects of Bacillus subtilis and Bacillus Licheni formis promix on blood metabolites and elements and weight gain in rearing calves

Moghaddam, Gh[1]., Nematollahi, A[2].

1-Department of Clinical Science, Veterinary Faculty, University of Tabriz, Tabriz, Iran.
2-Department of Pathobiology, Veterinary Faculty, University of Tabriz, Tabriz, Iran.

Probiotics are beneficial microorganisms which are colonized in the digestive system of livestock and influence some of the blood parameters through special mechanisms. For this purpose, an experiment was conducted to clarify the influence of promix containing living spores of the two bacteria Bacillus subtilis and Bacillus licheniformis on body weight gain, blood metabolites and elements of calves. Twenty male Holstein calves were divided into two groups of ten calves and kept at separate bans. The control group were fed with a standard ration and the treatment group were fed with the same ration plus promix (1.6×10^9 cfu/g feed or 500 g/T feed) for 45 days. Calves were weighed in the 1st, 15th, 30th and 45th days and blood samples were collected for measurement of some metabolites and blood elements. The obtained means were compared using the T- test. The results indicated that the average daily weight gain using promix had a non-significant improvement of 4.8% ($p>0.05$). Also the average daily weight gain showed a non significant improvement in each of the 3 experimental periods ($p>0.05$). Blood phosphorus and calcium of calves increased significantly influenced by promix with the increase being non significant in the first experimental period and significant in the second and third periods ($p<0.01$). With the addition of the probiotic, the amounts of blood glucose, urea and protein increased non significantly compared to the control group with the increase being non significant in the second and third experimental periods and significant in the first period.

J. Spe. Vet. Sci. Islam. Azad. Uni. Tabriz. 1, 1: 41-48, 2007.
Keyword: Probiotic, promix, blood parameters, weight gain, calves
Corresponding author's email: ghmoghaddam@hotmail.com

اسیدوفیلوس زنده و مرده در اثر حرارت در آزمایشگاه توانسته است از چسبندگی پاتوژن‌ها جلوگیری کند (۲، ۱۳ و ١٤).

تطابق پروبیوتیک با دستگاه گوارش دام، به نوع دام و نوع فرآورده مصرفی بستگی دارد و زمانی که کلنیزاسیون پروبیوتیک در دستگاه گوارش مطرح است، معمولاً میکروارگانیسم یک ویژگی میزبانی را نشان می‌دهد و در نتیجه پروبیوتیکی که برای یک نوع دام مناسب است، ممکن است برای نوع دیگر دام مناسب نباشد (٦ و ۷).

یک پروبیوتیک بهتر است از دستگاه گوارش دام سالم تهیه شده باشد و حاوی میکرو ارگانیسم با امنیت مصرف در حیوان بوده و ویژگی‌های بیولوژیکی آن شامل قدرت زنده ماندن و فعالیت در دستگاه گوارش باشد و بتواند در برابر pH پایین، شیره معده، صفرا و شیره‌ی لوزالمعده مقاوم باشد. ویژگی‌های فیزیولوژی آن نیز باید شامل قابلیت اتصال به اپی‌تلیوم مخاط روده، قدرت آنتاگونسیمی با عوامل بیماریزا بوده و با فعالیت ضد میکروبی و ایجاد پاسخ ایمنی، موجب افزایش باکتری‌های مفید و کاهش باکتری های مضر و ایجاد تاثیر حفاظتی بر دستگاه گوارش گردد (٤، ۱۵ و١٦).

باسیل های موجود در بیوپلوس ۲ب به نام های باسیلوس سوبتیلیس که از تخمیر دانه سویا به دست آمده و باسیلوس لیشنی فرمیس (به نسبت‌های مساوی) که از خاک ایزوله شده است، به طور طبیعی جزو میکروارگانیسم‌های مطلوب و غیر بیماری‌زای دستگاه گوارش می‌باشند و از اغلب قندهای موجود در دستگاه گوارش تغذیه کرده و آنزیم هایی مانند پروتئاز، لیپاز و آمیلاز را تولید می‌کنند. علیرغم PH پایین معده، قدرت بقای خود را حفظ می‌کنند و نیز به لحاظ ایجاد فرم های اسپوری، فرآیند پلت‌سازی را به خوبی تحمل می‌کنند (۱ و ۱۰).

همچنین نشان داده شده که این باسیل ها، ترکیبات ضد میکروبی تولید می‌کنند که بر بسیاری از باکتری‌های بیماری‌زا مثل کلستریدیوم پرفرنژنس و استافیلوکوکوس آرئوس اثر گذار است.

دستگاه گوارش همه حیوانات در زمان تولد عاری از هر گونه باکتری است ولی بلافاصله میکروارگانیسم‌های مختلف در اثر مصرف خوراک و تماس با محیط در آن مستقر می‌شوند و معلوم شده است هر عاملی که ابتدا وارد این دستگاه شود فرصت استقرار بیشتری دارد (۱۲).

از شیر گرفتن گوساله‌ها یک استرس تغذیه‌ای و روانی شدیدی می‌باشد. در گوساله‌های جوان تازه از شیر گرفته شده، به علت توسعهٔ کم دستگاه گوارش این ترکیب بسیار مؤثر می‌باشد. هدف از انجام این آزمایش بررسی اثرات پروبیوتیک پرومیکس بر روی افزایش وزن و رشد گوساله‌ها و نیز متابولیت‌ها و عناصر خونی گوساله‌های نر هلشتاین تازه از شیر گرفته شده، بوده است.

مواد و روش کار

برای انجام آزمایش تعداد بیست رأس گوسالهٔ نر هلشتاین تازه از شیر گرفته شده در دو گروه ۱۰ رأسی گروه بندی شدند. که گروه تیمار علاوه بر جیرهٔ استاندارد، میزان ۵۰۰ گرم در تن خوراک پرومیکس نیز دریافت کرد. در هر گرم از پرومیکس تعداد $۱/٦ \times ۱۰^{۹}$ عدد کلنی (Clony Forming Unit) از هر دو باسیل وجود دارد که در جدول ۱ ترکیبات پرومیکس نشان داده شده است. سن گوساله‌ها بین ۳ تا ٤/۵ ماه و میانگین وزن زندهٔ گروه شاهد ۸۱/۳۰ کیلوگرم و گروه تیمار ۸۲/۳۰ کیلوگرم بود. یک ماه قبل از شروع آزمایش سعی گردید که گوساله‌ها به جیره غذایی، محل و شرایط جدید نگهداری عادت کنند تا استرس وارده به حداقل برسد و فلور دستگاه گوارش آنها نیز به جیره غذائی و شرایط جدید عادت کند. مدت آزمایش ٤۵ روز بود که به سه دورهٔ ۱۵ روزه تقسیم شد. خونگیری و وزن‌کشی گوساله‌ها هر ۱۵ روز یکبار (بار اول در شروع آزمایش و بار دوم روز پانزدهم و بار سوم روز سی‌ام و بار چهارم روز چهل و پنجم) انجام شد. سرم خون‌ها با سانتریفوژ جدا شده و تا زمان آزمایش در داخل لوله‌های اپندرف در ۲۰- درجه سانتی‌گراد

نگهداری شدند. از کیت و دستگاه اسپکتروفتومتر برای تعیین میزان گلوکز، پروتئین تام، اوره، فسفر و کلسیم سرم خون‌ها در آزمایشگاه استفاده شد. برای مقایسهٔ میانگین‌های صفات اندازه‌گیری شده بین دو گروه از آزمون T استفاده شد و برای تفسیر داده‌ها و رسم نمودارها از نرم‌افزار SPSS12 و EXCEL استفاده گردید. جیره غذایی استفاده شده در این طرح در جدول ۲ تنظیم شده است.

جدول۱- ترکیبات پروبیوتیک پرومیکس

ردیف	مواد	درصد
۱	سیلیکات آلومینیوم سدیم	۱
۲	شیر پس چرخ یا آب پنیر (به عنوان حامل یا همراه)	۹۸
۳	اسپور باسیلوس لیشنی فرمیس CH 200 $۱/٦ \times ۱۰^{۹}$	۰/۵
٤	اسپور باسیلوس سوبتیلیس CH 201 $۱/٦ \times ۱۰^{۹}$	۰/۵

جدول۲- درصد مواد خوراکی تشکیل دهنده جیره آزمایش و ترکیب مواد مغذی آن

اجزاء	درصد	DM%	CP%	TDN%	NEg Mcal/kg	NEm Mcal/kg
یونجه	۲۲	۸۹/۳	۱٤/۲	٤۷/٦	۰/۵۲	۱/۱۳
تفاله خشک	۸	۹۱	۸/۸	٦۷	۰/۹۸	۱/۵٤
جو	۲۸	۸۸	۱۱/۹	۷٤	۳/۲۷	۲/۹۰
سبوس گندم	۱٤	۸۹	۱۵/۲	٦۳	۲/۷٤	۲/۳۷
کنجاله تخم پنبه	۱۲/٦	۹۲	۸۳/٦	٦۷	۲/۹۷	۲/۵۸
پنبه دانه	۲/۸	۹۲	۲۲	۸۸	۳/۸۹	۳/۵۲
ذرت	۷/۷	۸۹	۹/٦	۷۷	۳/۹۳	۳/۰۰
DCP	۱/۰۵					
مکمل دامی[۱]	۰/۷۷					
آنزیمیت[۲]	۲/۱					
نمک	۰/۳۵					
جوش شیرین	۰/۷۷					
جمع	۱۰۰					

۱. مکمل مصرفی به فرمول زیر می‌باشد؛ ۲ میلیون واحد بین‌المللی ویتامین A، ۸۰۰ هزار واحد بین‌المللی ویتامین D، ۲ هزار واحد بین‌المللی ویتامین E، ۱۲۵۰۰ میلی‌گرم آنتی اکسیدان.
۲. یک هزار میلی‌گرم مس، ۱۵۰۰ میلی‌گرم کبالت، ۳۰۰ میلی‌گرم ید، یک هزار میلی‌گرم آهن، ۸ هزار میلی‌گرم منگنز، ۱۰ هزار میلی‌گرم روی و ۷۵ میلی‌گرم سلنیوم

نتایج

نتایج آزمایش نشان داد با اینکه در اثر افزودن پرومیکس به خوراک گوساله‌های تازه از شیر گرفته شده، میانگین افزایش وزن روزانهٔ گوساله‌ها در کل دورهٔ ٤٥ روزه ٤/٨ درصد بهبود داشت (جداول ٣ و ٤) و تفاوت معنی‌داری بین دو گروه در کل دوره مشاهده نشد (P>٠/٠٥) ولی این بهبود در ٣٠ روز آخر دوره چشمگیر بود.

در اثر مصرف پرومیکس، میزان گلوکز خون گوساله‌ها افزایش چندانی نداشت و اختلاف غیر معنی‌داری را در افزایش گلوکز خون نشان داد (جدول ٥). پروتئین تام خون گوساله‌ها هم افزایش غیر معنی‌داری را داشت . میزان اورهٔ خون گوساله‌ها نیز در اثر مصرف این پروبیوتیک به خصوص در دورهٔ آخر کاهش چشمگیری را نشان داد. با مقایسهٔ میانگین‌های مربوط به کلسیم و فسفر مشاهده شد که میزان هر دو عنصر به صورت معنی‌دار با مصرف این پروبیوتیک افزایش یافته است که این افزایش در دوره اول غیر معنی دار ولی در دوره های دوم و سوم معنی دار بود (P<٠/٠١).

جدول۳- مقایسهٔ میانگین افزایش وزن گوساله‌ها در دو گروه شاهد و تیمار (درکل دوره)

گروه های آزمایشی	تعداد (رأس)	میانگین وزن اولیه (کیلوگرم)	SD	SEM	میانگین وزن نهائی (کیلوگرم)	SD	SEM	افزایش وزن روزانه (گرم در روز)	اختلاف افزایش وزن (گرم در روز)	اختلاف به درصد	t	sig
شاهد	۱۰	۸۱/۳۰	۵/۳۹	۱/۷۰	۱۱۰/۱	۱۰/۹٤	۳/٤٦	٦۳۵	۳۱	+٤/۸	۰/۹۵۵	ns
تیمار	۱۰	۸۲/۳۰	۵/٤۳	۱/۷۱	۱۱۱/۳۰	۱۰/۳۱	۳/۲٦	٦٦٦				

ns: اختلاف غیرمعنی‌دار

انحراف استاندارد = SD

انحراف استاندارد میانگین‌ها = SEM

جدول٤- مقایسهٔ اثرپرومیکس بر روی افزایش وزن در سه دورهٔ آزمایشی (۱۵-۱ ، ۳۰-۱۵ ، ٤۵-۳۰ روز)

دوره‌های آزمایشی	گروه های آزمایشی	تعداد (رأس)	میانگین افزایش وزن (کیلوگرم)	SD	SEM	میانگین افزایش وزن روزانه (گرم)	اختلاف افزایش وزن روزانه (گرم)	اختلاف به درصد	t	sig
دورهٔ ۱	شاهد	۱۰	۸/۱۰	۱/۸۵	۰/۵۸	۵٤۰	۲۰	+۳/۷	۰/۳۳۲	ns
	تیمار	۱۰	۸/٤۰	۲/۱۷	۰/٦۸	۵٦۰				
دورهٔ ۲	شاهد	۱۰	۹/٦۰	۱/۸۹	۰/٦۰	٦٤۰	٤۰	+٦/۲۵	۰/٦۵۳	ns
	تیمار	۱۰	۱۰/۲۰	۲/۲۰	۰/٦۹	٦۸۰				
دورهٔ ۳	شاهد	۱۰	۱۰/۹۰	۲/۵۱	۰/۷۹	۷۲٦	۳٤	+٤/٦	۰/۹٦۸	ns
	تیمار	۱۰	۱۱/٤۰	۲/٤۱	۰/۷٦	۷٦۰				

ns: اختلاف غیرمعنی‌دار

انحراف استاندارد = SD

انحراف استاندارد میانگین‌ها = SEM

جدول۵- مقایسه اثر پرومیکس بر روی متابولیت‌ها و عناصر خونی در کل دوره

صفات اندازه‌گیری شده	گروه‌ها	میانگین صفت‌ها	SD	SEM	اختلاف میانگین صفت‌ها	اختلاف درصد	t	Sig
فسفر mg/dl	شاهد	۷/٤۰	۰/٤۰	۰/۱۲	۱/۱۹	+۱٦/۰۸	٤/۹۰٥	***
	تیمار	۸/٥۹	۰/٦٤	۰/۲۰				
کلسیم mg/dl	شاهد	۷/٤٦	۰/٤۳	۰/۱۳	۱/۱٤	+۱٥/۱٤	٥/۷٦	***
	تیمار	۸/٥۹	۰/٤٤	۰/۱٤				
گلوکز mg/dl	شاهد	٥۹/٦٥	۲/۸۷	۰/۹۰	۱/۲٦	+۲/۱	۰/۹۱۷	ns
	تیمار	٦۰/۹۱	۳/۲۷	۱/۰۳				
پروتئین gr/dl	شاهد	۷/۱۷	۰/۳۳	۰/۱۰	۰/۱۲	+۱/٦۷	۰/٥۳	ns
	تیمار	۷/۳۰	۰/٦٥	۰/۲۰				
اوره mg/dl	شاهد	۳۳/۸۰	۳/۱۹	۱/۰۱	۲/٥۳	+۷/٤۸	۱/۷٥	*
	تیمار	۳۱/۲۷	۳/۲۸	۱/۰۳				

ns : اختلاف غیرمعنی‌دار

***: اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۰۱

*: اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۱۰

بحث

محققین بعد از آزمایش اثر بیوپلوس ۲ب بر روی گوساله‌های نر و ماده نژاد هولشتاین با مشاهده ٤/٤ درصد اختلاف در افزایش وزن و ۳/٤ درصد اختلاف در بهبود ظرفیت تبدیل غذایی آن را خیلی موثر و خوب اعلام کردند (۸ و۱۰). نتایج مشابهی نیز توسط سایر محققین ارائه شده که با این نتایج همخوانی دارد (۱۳).

Saleveski و همکاران در سال ۱۹۹۳ با آزمایش تاثیر بیوپلوس ۲ب بر روی گوساله‌های ماده نژاد هولشتاین مقدار افزایش وزن را ۷ درصد گزارش کردند و چنین نتیجه گرفتند که با افزایش بهبود عملکرد رشد و کاهش هزینه‌های تغذیه، مصرف این پروبیوتیک اقتصادی است (۱۳). این نتیجه را می‌توان با جایگزینی و استقرار بیشتر باسیل های موجود در پرومیکس با مصرف مداوم و طولانی مدت در لوله گوارشی گوساله‌ها توجیه نمود.

Yokoyama و همکاران در سال ۱۹۹۸ گزارش کردند که میکروفلور دستگاه گوارش دام سالم حاوی بیش از صدها نوع باکتری است که از نظر بیولوژی بسیار مهم هستند و در این میان پروبیوتیک‌های باکتریایی برای برقراری تعادل بهتر و مناسب‌تر این باکتری‌ها در جهت هضم متناسب مواد غذایی بسیار موثرند (۱۸). Tannock در سال ۱۹۸۸ بعد از مطالعه روی اکوسیستم جمعیت میکروبی دستگاه گوارش دام‌ها، از تاثیر بسیار بالای این تعادل در هضم و جذب مواد مغذی و نیز افزایش مقاومت بدن دام در برابر عفونت‌های بیماریزای حاصل از شرایط محیط مانند آلودگی، استرس و غیره گزارش داد (۱۷). در آزمایش گزارش شده در گوساله‌های پرواری که میکروب‌های خوراکی تجارتی مصرف نموده بودند، بازدهی ۳۳٪ و میزان مصرف خوراک آنها ۱۲٪ بیشتر از حیوانات شاهد بود و در توجیه بهبود افزایش وزن

روزانهٔ گوساله‌ها، علاوه بر تاثیر پروبیوتیک به مسألهٔ افزایش برداشت غذا نیز اشاره کرده‌اند (۱ و ۸).

در مورد کاهش میزان اوره خون در اثر مصرف پروبیوتیک لازم به ذکر است که پروبیوتیک با اثر روی بهبود تخمیر در شکمبه و در نتیجه آن تولید آمونیاک سمی به حداقل می رسد (۵). همچنین در مورد افزایش کلسیم و فسفر خون متعاقب مصرف پروبیوتیک لازم به ذکر است که پرومیکس بطور مستقیم روی پارامترهای خون تأثیرگذار نیست بلکه باسیل های موجود در این محصول با تغییراتی که در شکمبه ایجاد می‌کنند، موجب تغییر در میزان متابولیت ها و عناصر خونی می‌شوند.

باسیل های موجود در این محصول پس از استقرار در لولهٔ گوارش به رقابت با سایر باکتری های مضر می‌پردازند و شروع به تولید آنزیم هایی مثل آمیلاز، پروتئاز و لیپاز می‌کنند. همچنین در اثر بهبود تخمیر در شکمبه میزان اسید پروپیونیک بالا می‌رود (۵ و ۱۰).

در کل نتایج حاصل از این پژوهش حاکی از آن است که مصرف پروبیوتیک فوق از لحاظ اقتصادی مقرون به صرفه بوده و قابل تعمیم و توصیه به گاوداران می‌باشد. اثرات رضایت بخش پرومیکس بر روی افزایش وزن و افزایش میزان کلسیم و فسفر خون، حاکی از افزایش بهره‌وری در پرورش گوساله‌ها می‌باشد و با مستقر کردن باکتریهای مفید در دستگاه گوارش گوساله‌های جوان در دامداری، در آینده گاوهای سالم‌تر و قوی‌تری خواهیم داشت.

فهرست منابع

1- Alexpoulos, C., Georgoulakis, I. E., Tzivara, A., Kritas, C. K. Suchu, A. and Kyriakis, S.C. (2004): Field evaluation of the efficacy of a probiotic containing Bacillus L and Bacillus spores on the health status and performance of sows and their litters. J. of Animal physiology and animal nutrition. 88 (11-12): 381-392.

2- Conway, P.L., Gorbach, S.L. and Goldin, B.R. (1987): Survival of lovlic acid bacteria in the human stomach and adhesion to intestinal cells. J. Dairy Sci. 70: 1-12.

3- Dietrich, K. (1998): Technology aspects related to microorganisms in functional foods. Trends in Food Science and Technology. 9 (8-9): 295.

4- Fang, H., Tuomola, E., Arvilommiad, A. and Salminen, S. (2000): Modulation of humoral immune response through probiotic intake. Immunology and Medical Microbiology. 29 (1): 47-52.

5- Francisco, C.C., Chamberlain, C.S., Waldner, D.N., Wetteman, R.P. and Spicer, L.Y. (2002): Propionibacteria fed to dairy cows: Effect on energy balance, plasma metabolites and hormones and reproduction. American Dairy Science Association. 85: 1738-1751.

6- Fuller, R. (1989): Probiotics in man and animals. J. Applied Bacteriology. 66: 365-378.

7- Fuller, R. (1997): Probiotics 2: Applications and practical aspects. Chapman and Hall, London.

8- Jenny, B.F., et al. (1991): Performance and fecal flora of calves Bacillus subtilis concentration. J. Dairy Science. 74: 1968-1973.

9- Marteau, P., Pochart, P., Bouhnikad, Y. and Rambaud, J. (1993): Fate and effects of some transiting microorganisms in the human gastrointestinal tract. World Rev. Natr. Diet. 78: 1-21.

10- Rolfe, R.D. (2000): The role of probiotic cultures in the control of gastrointestinal health. Journal of Nutrition. 130:396-402.

11- Roberfroid, M.B. (1998): Probiotics and synbiotics: concepts and nutritional properties, Br. J. Nutr. 80: 197-202.

12- Saarela, M., Mogensen, G., Fonden, R. and Mattoadt, J. (2000): Probiotic bacteria: Safety,

functional and technological properties. Journal of Biotechnology. 84: 197-215.

13- Saleweski, A. and Fried, K. (1993): Effect of Bioplus 2B on performance and economy in calf raising. LVAV, Neonuhle, Germany.

14- Salminen, S., Ouwehand, A.C. and Isolauri, E. (1998): Clinical applications of probiotic bacteria. International dairy journal. 8 (5-6): 563-572.

15- Short, C. (1999): The probiotic century historical and cument perspectives. Trends in food science and technology. 10: 411-417.

16- Swenson, M. J. and Reece, W.O. (1996): Duke's physiology of domestic animals, Eleventhed, Comstock cornell university press Ithaca and London, pp: 42, 410, 417-422.

17- Tannock, G.W. (1998): Domestic animals digestive tract microbial ecosystem. Journal of microbial science. 5(4): 386-400.

18-Yokoyama, M.T. and Johnson, K.A. Microbiology of the rumen and intestine. In: Church, D.C. (1988):The ruminant animal digestive physiology and nutrition. Areston book, pp: 125-144.