Archive of SID

Iranian Journal of Animal Science
Vol 50, No 3, Autumn 2019 (185-196)
DOI: 10.22059/ijas.2019.272139.653673

علوم دامی ایران
دورهٔ ۵۰، شمارهٔ ۳، پاییز ۱۳۹۸ (ص ۱۹۶-۱۸۵)

مقایسه اثر دو نوع پروبیوتیک متفاوت بر فراسنجه‌های بیوشیمیایی و هورمونی خون، و عملکرد رشد گوساله‌های شیرخوار

مرتضی صباغی‌فریز[۱]، آرمین توحیدی[۲*]، مهدی ژندی[۳]، مهدی دهقان‌بنادکی[۲] و نسیم وکیلی[۱]
۱، ۲ و ۳. دانشجوی کارشناسی‌ارشد فیزیولوژی دام، استاد و دانشیار، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۰/۱۱ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۶/۲۷)

چکیده

آزمایش حاضر به‌منظور مقایسه اثر دو نوع پروبیوتیک متفاوت چند سویه‌ای بر عملکرد رشد، فراسنجه‌های بیوشیمیایی و هورمونی خون مورد مطالعه قرار گرفتند. برای این منظور تعداد ۲۱ راس گوساله‌ی نر و ماده هلشتاین در سن سه روزگی استفاده شد. گوساله‌های هلشتاین به‌طور تصادفی به یکی از سه تیمار شامل شاهد (بدون دریافت پروبیوتیک)، پروبیوتیک پروتکسین و پروبیوتیک دی‌پرو اختصاص داده شدند. ماده خشک مصرفی به صورت روزانه و وزن بدن در روزهای صفر، ۲۰، ۴۰ و ۶۰ ثبت شد. نمونه‌های خون در روزهای صفر، ۳۰ و ۶۰ به منظور ارزیابی فراسنجه‌های بیوشیمیایی و هورمونی جمع‌آوری شد. ضریب تبدیل خوراک در گروه دریافت کننده پروبیوتیک دی‌پرو کمتر از شاهد بود (P<۰/۰۵)، ولی میانگین افزایش وزن روزانه و مصرف خوراک در بین گروه‌ها اختلاف معنی‌داری نداشت. غلظت کورتیزول در گروه دی‌پرو کمتر از گروه پروتکسین و T3 پلاسما در گروه پروتکسین بیشتر از دو گروه دیگر بود (P<۰/۰۵)، اگرچه سایر فراسنجه‌های خونی تفاوت معنی‌داری نداشتند. نتایج نشان می دهد پروبیوتیک دی‌پرو می تواند عملکرد رشد را با کاهش ضریب تبدیل غذایی در گوساله‌های شیرخوار هلشتاین بهبود بخشد.

واژه‌های کلیدی: بازده غذایی، پروبیوتیک، گوساله‌های شیرخوار.

Comparison of two different probiotics effects on blood biochemical and hormonal parameters, and growth performance in suckling calves

Morteza Sabbaghi Feriz[1], Armin Towhidi[2*], Mahdi Zhandi[3], Mahdi Dehghan Banadaki[2] and Nasim Vakili[1]
1, 2, 3. M. Sc. Student, Professor and Associate Professor, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran
(Received: Jan. 1, 2019 - Accepted: Sep. 18, 2019)

ABSTRACT

This study was conducted to compare the influence of two kind of multi species probiotic on growth performance and biochemical and hormonal blood parameters. 21 male and female animals were used in thrid day of age. They were randomly allocated to 1 of 3 treatments including: control (without probiotic), probiotic Protexin and probiotic Di-pro. Dry mater intake was daily determined and body weight was measured on days 0, 20, 40 and 60. Blood samples were obtained on days 0, 30 and 60 to assess biochemical and hormonal parameters. Feed conversion ratio was lower (P<0.05) in Di-pro but there were no differences in average daily gain and dry mater intake compared to the other groups. Plasma cortisol level decreased in Di-Pro (P<0.05), and plasma T3 concentration increased in Protexin (P<0.05) compared to the other groups, while other blood parameters did not have any significant differences. The results suggest that probiotic Di-pro may improve growth performance by decreasing the feed conversion ratio in suckling Holstein calves.

Keywords: Feed efficiency, probiotic, Suckling calves.

* Corresponding author E-mail: atowhidi@ut.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها در خوراک دام و طیور از سال ۲۰۰۶ در اتحادیه اروپا و از سال ۲۰۱۶ در ایالات متحده ممنوع شده است. از طرفی هزینه آنتی‌بیوتیک‌ها همراه با افزایش باقی‌مانده آن‌ها و همچنین مقاومت آنتی‌بیوتیکی محققان را مجبور به یافتن گزینه‌های ارزان و مؤثر کرده است. از این‌رو استفاده از پروبیوتیک‌ها برای افزایش عملکرد، بهبود وضعیت سلامت و تغییر در اکوسیستم دستگاه گوارش و در نهایت کمک به مبارزه با چالش امنیت غذایی، یک جایگزین مناسب برای آنتی‌بیوتیک‌ها محسوب می‌شوند.

پروبیوتیک‌های مورد استفاده در خوراک حیوانات شامل گونه‌های باکتریایی از جمله: *Bacillus* spp.، *Enterococcus* spp.، *Bifidobacterium* spp.، *Lactobacillus* spp.، *Pediococcus* spp. و *Streptococcus* spp.، چندین نوع مخمر از جمله *Saccharomyces cerevisiae* و *Kluyveromyces* spp. می‌باشند (Fuller, 1999; Weese *et al*., 2008).

باکتری‌های اسید لاکتیک (LAB)، از جمله اعضای جنس لاکتوباسیلوس[1] و انتروکوکوس[2] (که قبلاً استرپتوکوکوس[3] نامیده می‌شدند)، به‌طور عمده به‌دلیل وجود عادی این باکتری‌ها در دستگاه گوارش سالم بیشتر موردمطالعه قرار گرفته‌اند. باکتری‌های اسید لاکتیک، با کاهش pH در دستگاه گوارش و از طریق اتصال رقابتی با انتروسیت‌ها، مانع از رشد باکتری‌های پاتوژن می‌شوند (FEFANA EU Feed Additives and Premixtures Association, 2005). بعضی از باکتری‌ها با تولید ترکیباتی مثل اسیدهای آلی، اتانول، پراکسید هیدرژن و ترکیبات پروتئینی شبیه باکتریوسین[4]، اثر ضدمیکروبی خود را اعمال می‌کنند (Chateau *et al*., 1993). لاکتوباسیل‌ها از استقرار کلی‌فرم‌ها در دستگاه گوارش گوساله‌ها و استرپتوکوک‌ها نیز از تکثیر کلی‌فرم‌ها در روده حیوانات غیرنشخوارکننده جلوگیری می‌کنند. به‌نظر می‌رسد آن‌ها در کاهش pH روده و کاهش رشد بیش از اندازه اشریشیاکلی دخالت داشته باشند. لاکتوباسیلوس لاکتیس[5] موجب فعال‌شدن سیستم تیوسیانات لاکتوپراکسیداز[6] در روده گوساله می‌شود که باعث کاهش قابلیت حفظ حیات اشریشیاکلی در دستگاه گوارش می‌شوند (Ng *et al*., 2008).

باکتری‌های باسیلوس سوبتلیس و باسیلوس لیکنی فورمیس جزو باسیل‌های اسپوردار (هاگ‌دار) هستند که پس از گذشتن از معده، در روده کوچک حیوانات فعال می‌شوند و آنزیم‌هایی نظیر پروتئاز، آمیلاز و لیپاز تولید می‌کنند. آنزیم‌های مذکور نه تنها هضم غذا را در دستگاه گوارش بهبود می‌بخشند، بلکه به فعالیت باکتری‌های مفید روده نیز کمک می‌کنند و در نهایت باعث افزایش وزن و تولید می‌شوند (Rolfe, 2000). این باکتری‌ها با تولید اسیدهای چرب با زنجیر کوتاه باعث کاهش pHدر دستگاه گوارش شده و از رشد باکتری‌های بیماری‌زا جلوگیری می‌کنند (Alexopoulos *et al*., 2004). به‌علاوه، این باسیل‌ها با مسدود کردن محل اتصال باکتری‌های بیماری‌زا در دیواره روده از کلنیزه شدن باکتری‌های پاتوژن در روده جلوگیری کرده و از رشد آنها ممانعت به‌عمل می‌آورند. همچنین باعث تحریک و تقویت سیستم ایمنی و افزایش اینترفرون‌ها و ایمونوگلوبین‌های نوع *G* و *M* می‌شود و میزان فعالیت ماکروفاژها را افزایش می‌دهند (Zidek *et al*., 1998).

به‌طورکلی، اهمیت تغذیه پروبیوتیک‌ها در حیوانات تازه‌زا، ایجاد و حفظ میکروارگانیسم‌های روده‌ای طبیعی به عنوان یک محرک تولید است. در نوزادان، جمعیت میکروبی دستگاه گوارش در حال گذار و بسیار حساس است (Nousiainen *et al*., 1993). تغییرات ناگهانی محیط یا رژیم غذایی باعث تغییر در جمعیت میکروبی دستگاه گوارش می‌شود که اغلب منجر به افزایش شیوع اسهال در گوساله‌ها می‌گردد که منجر به هضم و جذب غیرمؤثر مواد مغذی و در نهایت تأخیر رشد می‌شوند (Sadine *et al*., 1979). پروبیوتیک‌ها از طریق افزایش غلظت گلوبین‌ها، تعداد و فعالیت کشندگی نوتروفیل‌ها از یک‌سو و از سوی

1. Lactobacillus
2. Enterococcus
3. Streptococcus
4. Bacteriocin
5. Lactobacillus lactis
6. Lactoperoxidase thiocyanate system

www.SID.ir

Archive of SID

دیگر با کاهش میکروفلور مضر دستگاه گوارش از قبیل کلی‌فرم‌ها باعث تقویت سیستم دفاعی بدن و جلوگیری از ابتلای گوساله‌ها به بیماری‌های مختلف متابولیکی و عفونت می‌شود، از این‌رو، این مواد افزودنی در توسعه دستگاه گوارش (شکمبه) و در نتیجه افزایش قابلیت هضم مواد مغذی نقش دارد (Galvão *et al*., 2005).

در بسیاری از مطالعات، پروبیوتیک‌ها بر پایه باسیلوس اثرات مفیدی بر قابلیت هضم و جمعیت میکروبی روده داشته‌اند، که عملکرد رشد حیوانات را بهبود می‌بخشد (Aliakbarpour *et al*., 2012; Zhang *et al*., 2012; Tsukahara *et al*., 2013). باسیلوس‌ها در افزایش ارتفاع ویلی‌های روده و بهبود ساختار آن نقش دارند (Pluske *et al*., 1996). Lee *et al*. (2014) در بررسی نتایج خود نشان دادند که *B. subtilis* LS آثار گسترده‌ای بر مورفولوژی روده، جمعیت میکروبی و وضعیت ایمنی خوک‌های از شیرگیری شده دارند. اما اثر مستقیم آن‌ها بر عملکرد گوساله‌های شیرخوار مشخص نیست. با توجه به نوع پروبیوتیک مصرفی، نوع خوراک مصرفی، سطح مدیریت، نحوه مصرف پروبیوتیک و شرایط محیطی، اثرات استفاده از پروبیوتیک باکتریایی بر عملکرد، وضعیت سلامت و فراسنجه‌های خونی متفاوت گزارش شده است (Agarwal *et al*., 2002).

گزارش‌های اندکی در رابطه با مقایسه پروبیوتیک‌های برپایه اسیدلاکتیک با پروبیوتیک‌های برپایه باسیلوس در گوساله‌های شیرخوار وجود دارد. این پژوهش به منظور مقایسه اثر یک نوع پروبیوتیک داخلی تازه ساخته شده با نام‌تجاری دی‌پرو بر پایه باسیلوس با یک نوع پروبیوتیک خارجی بر پایه لاکتوباسیل‌ها و انتروکوکوس‌ها متداول در کشور با نام تجاری پروتکسین بر فراسنجه‌های بیوشیمیایی و هورمون‌های خون و عملکرد رشد گوساله‌های شیرخوار هلشتاین انجام شده است.

مواد و روش‌ها

محل اجرای طرح، ایستگاه تحقیقاتی علوم دامی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران واقع در کرج و زمان اجرای طرح آن هفته اول دی‌ماه ۹۵ تا پایان اردیبهشت‌ماه ۹۶ بود. تعداد ۲۱ راس گوساله هلشتاین با میانگین وزنی ۴۰ کیلوگرم در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با سه تیمار و هفت تکرار به‌مدت ۶۰ روز مورد آزمایش قرار گرفتند. گوساله‌ها از بدو تولد از مادرهایشان جدا و از سه روزگی به‌صورت تصادفی به جایگاه‌های انفرادی ضدعفونی شده که دارای بستر کلش بودند منتقل گردیدند. آغوز بعد از دوشش به دمای بدن گوساله (۳۹ درجه سانتی‌گراد) رسانده و به میزان ۱۰ درصد از وزن بدن گوساله‌ها، در بطری‌های سرپستانک‌دار ریخته و به میزان چهار کیلوگرم در روز در دو وعده به‌مدت دو روز به گوساله‌ها خورانده شد. گوساله‌ها در طول زمان شیرخوارگی روزانه با دو وعده شیر کامل در ساعت‌های ۷:۰۰ و ۱۵:۰۰ تغذیه شدند. استارتر از چهار روزگی حیوانات در اختیار گوساله‌ها قرار گرفت. گوساله‌ها دسترسی آزاد به آب و استارتر داشتند. تیمارهای آزمایش شامل ۱- گروه شاهد بدون مصرف هرگونه پروبیوتیک، ۲- گروه دریافت‌کننده پروبیوتیک پروتکسین (Probiotics International UK, Ltd, England) با ۷ سویه (حاوی: لاکتوباسیلوس پلانتاریوم، لاکتوباسیلوس دلبروکی، لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، لاکتوباسیلوس رامنوسوس، بیفیدوباکتریوم بیفیدوم، انتروکوکوس فاسیوم و استرپتوکوکوس سالیواریوس) به مقدار یک گرم در روز به‌ازای هر گوساله (۲×۱۰^{۹} *cfu/gr*) در شیر، ۳- گروه مصرف‌کننده پروبیوتیک دی‌پرو (شرکت تک‌ژن زیست، ایران) با دو سویه (حاوی: باسیلوس لیکنی فورمیس، باسیلوس سوبتیلیس) به مقدار یک گرم در روز به ازای هر گوساله ($۱/۶\times۱۰^{۹}$ *cfu/gr*) در شیر بود. مقدار ۱۰ درصد یونجه مرغوب به اندازه ۳-۲ سانتی‌متر در سن ۳۰ روزگی گوساله‌ها به خوراک آغازین اضافه شد. مقدار خوراک مصرفی هر گوساله در هر روز با توزین مقدار خوراک در دسترس قرار داده شده گوساله و باقی‌مانده خوراک در ظرف پس از گذشت ۲۴ ساعت تعیین شد. برای تعیین افزایش وزن و عملکرد گوساله‌ها در روزهای صفر (روز قبل از شروع پژوهش)، ۴۰،۲۰ و ۶۰ روزگی (پایان آزمایش) وزن‌کشی انجام

www.SID.ir

Archive of SID

شد. ضریب تبدیل خوراک مصرفی از نسبت مقدار ماده خشک مصرفی (خوراک آغازین و شیر) به اضافه وزن کل دوره محاسبه شد. آنالیز شیمیایی خوراک در آزمایشگاه تغذیه گروه علوم دامی تهران انجام شد. در ابتدا ماده خشک نمونه خوراک (آون با ۴۸ ساعت و ۶۰ درجه سانتی‌گراد) محاسبه شد. سپس با الک یک میلی‌متری آسیاب شدند و خاکستر آن‌ها (کوره الکتریکی ۳/۵ ساعت و ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد) اندازه‌گیری شد. الیاف نامحلول در شوینده‌های خنثی با روش Vansoest *et al.* (1991) و الیاف نامحلول درشوینده‌های اسیدی نیز از طریق روش استاندارد اندازه‌گیری شد. مقدار پروتئین به‌روش ون‌سوست اندازه‌گیری شد. ترکیب شیمیایی و مواد تشکیل دهنده خوراک آغازین در جدول یک نشان داده شده است. نمونه‌های خون در روزهای صفر، ۳۰ و ۶۰ به منظور ارزیابی فراسنجه‌های بیوشیمیایی و هورمونی جمع‌آوری شد. ضریب تغییرات (*CV*) داخل سنجش برای هورمون‌های کورتیزول، *T3* و *T4* به‌ترتیب ۶/۱، ۷/۵ و ۱۰/۳ بود.

تجزیه و تحلیل آماری

طرح آزمایشی مورد استفاده، طرح کاملاً تصادفی با سه جیره آزمایشی و هفت تکرار در هر تیمار بود. تجزیه و تحلیل داده‌های تکرار شونده توسط نرم‌افزار آماری SAS 9.2 و رویه MIXED انجام شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون LSMeans و در سطح احتمال ۵ درصد صورت گرفت. مقدار اولیه اندازه‌گیری‌شده برای هر فراسنجه به‌عنوان عامل کواریت در نظر گرفته شد. مدل کلی طرح آزمایش به‌صورت زیر بود:

$$Y = \mu \pm A_i \pm B_j \pm C_K \pm D_l \pm AB_{ij} \pm e_{ijklm}$$

اجزای مدل به‌ترتیب میانگین، اثر تیمار، اثر زمان، اثر تصادفی حیوان، اثر جنس، اثر متقابل تیمار و زمان و خطای آزمایشی.

نتایج و بحث

عملکرد رشد

نتایج حاصل از میانگین وزن بدن، افزایش وزن روزانه، مصرف خوراک (از استارتر) و ضریب تبدیل خوراک در جدول ۲ نشان داده شده است.

جدول ۱. اجزا و ترکیب شیمیایی خوراک آغازین

Table 1. Ingredient and Chemical composition of feed

Feed ingredient	Quantity (%)	Chemical composition	Quantity
Barley grain	15	Dry Matter (%)	92.4
Corn grain	45	ME (Mcal/Kg)	3.55
Wheat straw	2	Crude Protein (%)	16.27
Soybean meal	20	NDF (%)	13.6
Corn Gluten	2.5	Ash (%)	5.35
Soybean Extruded	2.5	Ether Extract(%)	4.1
Calcium Fat Powder	1	-	-
Beet Pulpe	7	-	-
Min/Vit Mix[1]	1.2	-	-
Na Bicarbonate	1	-	-
White salt	0.5	-	-
Caco3	0.8	-	-
DCP	0.5	-	-
Zeolite	1	-	-

۱. هر کیلوگرم از مکمل ویتامینی و معدنی شامل موارد: ۴۵۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین A، ۴۵۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین D و ۲۶۰ واحد بین‌المللی ویتامین E، ۰/۱ گرم مس، ۰/۲ گرم آهن، ۰/۵ گرم منگنز، ۰/۵ گرم روی، ۰/۸ گرم منیزیوم، ۰/۰۰۸ گرم کبالت، ۰/۰۰۲ گرم سلنیوم و ۰/۰۰۲ گرم ید.

1. Each Kilogram of Vitamin–mineral consisted: 45,000 IU vitamin A, 4,500 IU vitamin D3, 260 IU vitamin E, 0.1 g Cu, 0.2 g Fe, 0.5 g Mn, 0.5 g Zn, 0.8 g Mg, 0.008 g Co, 0.002 g Se, 0.002 g I.

جدول ۲. میانگین حداقل مربعات صفات عملکردی در گوساله‌های شیرخوار هلشتاین در سه گروه آزمایشی

Table 2. Least square means of performance traits of Holstein suckling calves in three experimental groups

Item	Treats			SEM	P-Value		
	Control	Protexin	Di - Pro		Tr	Time	Tr* Time
N	7	7	7				
BW (Kg)	49.35	49.25	51.95	1.4	0.3	<0.001	0.9
Weight gain (Kg/day)	0.45	0.43	0.54	0.04	0.2	<0.001	0.8
Feed intake (Kg/day)	0.77	0.66	0.75	0.07	0.5	<0.001	0.7
Feed conversion	4.72[a]	3.58[ab]	3.19[b]	0.4	0.04	0.001	0.04

ab) درهر ردیف میانگین‌هایی که دارای حرف غیر مشترک لاتین هستند، دارای اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد هستند.

ab) Means in a same row with different superscripts are significantly different ($p<0.05$).

www.SID.ir

Archive of SID

نتایج حاصل از واکاوی داده‌های میانگین وزن بدن در گروه‌های آزمایشی تفاوت معنی‌داری نداشت. پروبیوتیک‌های بر پایه باسیلوس از طریق بهبود تعادل میکروبی، افزایش فعالیت آنزیم‌های گوارشی و تولید آنزیم‌های هضم کننده موجب افزایش قابلیت دسترسی مواد مغذی غیر قابل هضم و تغییرات مفید در متابولیسم مواد خوراکی و در نتیجه بهبود راندمان خوراک مصرفی می‌شوند لذا دام از مواد خوراکی بیشتر بهره‌برداری نموده که سبب رشد و افزایش وزن بیشتر می‌شود.

نتایج بررسی‌های پیشین نشان داده‌اند، استفاده از دوسویه *Bacillus licheniformis* و *Bacillus subtilis* (Kowalski *et al*., 2009)، پروبیوتیک برمبنای *Lactobacillus animalis*، *Lactobacillus paracasei* و *Bacillus coagulans* (Agazzi Alessandro *et al*., 2014)، استفاده از دو سویه *Bifidobacterium pseudolongum* و *Lactobacillus acidophilus* (Abe *et al*., 1995)، پروبیوتیک بر مبنای *Lactobacillus* (Cruywagen *et al*., 1996)، پروبیوتیک بر مبنای سه میکروارگانسیم حاوی *Lactobacillus casei DSPV 318*، *Lactobacillus salivarius DSPV 315 T*، *Pediococcus acidilactici DSPV 006 T* (Frizzo *et al*., 2011)، ۶ سویه از لاکتوباسیلوس (Timmerman *et al*., 2005)، منجر به بهبود میانگین وزن بدن گوساله‌های شیرخوار هلشتاین می‌شود. Bayatkouhsar *et al*. (2013) در بررسی نتایج خود نشان دادند که پروبیوتیک تجاری (حاوی *Lactobacillus acidophilus*، *Bifidobacterium bifidium*، *Enterococcus faecium*) و پروبیوتیک آزمایشگاهی (حاوی: *Lactobacillus acidophilus PTCC 1643*[1]، *Lactobacillus rhamnosus PTCC 1637*، *Lactobacillus casei PTCC 1608*، *Lactobacillus delbrueckii PTCC 1333*) منجر به بهبود میانگین وزن بدن گوساله‌های شیرخوار هلشتاین می‌شود.

در طی ۶۰ روز گروه دریافت‌کننده پروبیوتیک دی‌پرو افزایش وزن بهتری را با توجه به مصرف خوراک کمتر نشان داد، ولی در مجموع اختلاف معنی‌داری در افزایش وزن روزانه مشاهده نشد.

تولید اسیدهای چرب فرّار (VFA) توسط باکتری‌ها باعث افزایش بهره‌وری انرژی و تغییر ساختار روده می‌شود که در نهایت منجر به بهبود افزایش وزن روزانه می‌گردد. Sun *et al*. (2010) در بررسی نتایج خود با استفاده از پروبیوتیک برپایه *B. subtilis natto* بهبود افزایش وزن روزانه مشاهده کردند. در استفاده از دو سویه *Bacillus subtilis B2* و *Lactobacillus plantarum GF103* افزایش وزن روزانه در گروه دریافت‌کننده پروبیوتیک بالاتر از گروه شاهد بود (Zhang *et al*., 2017). همچنین استفاده از پروبیوتیک‌ها بر پایه لاکتوباسیل‌ها اثرات مفیدی بر افزایش وزن روزانه داشته‌اند (Abe *et al*., 1995; Donovan *et al*., 2002; Timmerman *et al*., 2005). اگرچه برخی از مطالعات اثراتی از پروبیوتیک‌ها مشاهده نکردند (Morrill *et al*., 1977; Jenny *et al*., 1991; Nakanishi, 1993; Abu-Tarboush *et al*., 1996; Frizzo *et al*., 2011). دلایل چنین اختلاف نظراتی ممکن است از وضعیت سلامتی گله مادر، شرایط آزمایشگاهی و سیستم‌های مدیریتی حاصل شود. ممکن است استفاده از سویه‌ها یا گونه‌های غیرمیزبان دلیل عدم پاسخگویی به پروبیوتیک‌ها باشد (Krehbiel *et al*., 2003; Timmerman *et al*., 2005).

در برخی از مطالعات، افزایش وزن روزانه گوساله‌هایی که پروبیوتیک دریافت می‌کردند بیشتر در دو تا سه هفته اول بود (Jenny *et al*., 1991; Cruywagen *et al*., 1996; Timmerman *et al*.; 2005). مزایای استفاده از پروبیوتیک‌ها به وضوح مشخص نیست ولی ممکن است استفاده از آن‌ها در هفته‌های اول راهکار مناسبی برای کاهش تنش باشد (Timmerman *et al*., 2005). از این‌رو، پروبیوتیک‌ها بایستی بلافاصله پس از تولد به گوساله‌ها داده شود (Abe *et al*., 1995).

در آزمایش حاضر، مقدار مصرف خوراک در بین تیمارهای مورد آزمایش، تفاوت معنی‌دار نداشت (جدول ۲). به‌نظر می‌رسد دلیل کاهش مصرف خوراک در تیمارهای حاوی پروبیوتیک نسبت به گروه شاهد بهبود ضریب تبدیل خوراک و استفاده بهتر از ترکیبات

1. Persian Type Collection Culture

www.SID.ir

Archive of SID

مغذی خوراک آغازین باشد. باسیلوس‌ها با تولید انواع آنزیم‌های خارج سلولی از جمله فیتاز، α- آمیلاز، سلولاز، متالو پروتئازها و پروتئازها، هضم و جذب مواد مغذی را افزایش می‌دهد (Gould *et al*., 1975; Gracia *et al*., 2003; Lee *et al*., 2008). باسیلوس‌ها با ترشح باکتریوسین‌ها از قبیل *subtilin* و *barnase* رشد باکتری‌های بیماری‌زا مانند *Clostridium perfringens* و *Escherichia coli* را مهار می‌کنند (Lisboa *et al*., 2006; Ulyanova *et al*., 2011). پروبیوتیک‌هایی که حاوی لاکتوباسیلوس پلانتاروم می‌باشند می‌توانند با شکستن کربوهیدرات‌های ساده مثل گلوکز باعث تولید انرژی شوند. پروبیوتیک‌ها در روده بزرگ شروع به تکثیر خواهند نمود و باکتری‌های مفید مانند لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و انتروکوکوس فاسیم زیاد خواهند شد و برای ساخت خودشان باکتری‌های مضر را در مسیر گوارشی هضم می‌کنند. همچنین، پروبیوتیک‌ها تولید کلنی‌های باکتری‌های مفید را تشویق می‌کنند که این قضیه باعث کاهش باکتری‌های مضر می‌شود. همچنین، اعتقاد براین است که پروبیوتیک‌ها می‌توانند هضم ماده خشک، انرژی، پروتئین خام و اسیدآمینه را بهبود بخشند که به‌دنبال آن قابلیت زیستی مواد معدنی در روده را افزایش می‌دهد. علاوه بر این، پروبیوتیک‌ها گروه ویتامین B محلول در آب را تولید می‌کنند که ممکن است متابولیسم مواد مغذی در روده و به‌دنبال آن افزایش وزن روزانه را بهبود بخشد (Quigley *et al*., 1997).

Riddell *et al.* (2010) در پژوهش خود افزایش مقدار ماده خشک مصرفی با پروبیوتیک بر پایه *B. subtilis* و *B. lichenformis* را گزارش کردند. در بررسی نتایج پیشین استفاده از دو سویه *Bacillus subtilis B2* و *Lactobacillus plantarum GF103* مقدار ماده خشک مصرفی افزایش یافت (Zhang *et al*., 2017). اگرچه در برخی از مطالعات استفاده از پروبیوتیک بر پایه باسیلوس تفاوت معنی‌داری در خوراک مصرفی ایجاد نکرد (Jenny *et al*., 1991; Kowalski *et al*., 2009; Sun *et al*., 2010; Agazzi *et al*., 2014; Zhang *et al*., 2016) که مطابق با نتایج این پژوهش بود.

Roodposhti & Dabiri (2012) در بررسی نتایج خود نشان دادند که استفاده از پروبیوتیک باکتریایی پروتکسین با مخمر اختلاف معنی‌داری در مقدار مصرف ماده خشک تا انتهای آزمایش نداشت. در اکثر آزمایشاتی که اثرات پروبیوتیک‌ها را در گوساله‌ها مورد بررسی قرار دادند معمولاً روی یک یا دو نوع از پروبیوتیک مطالعه شده است. Quigley *et al*. (1992) در بررسی نتایج خود اثری از پروبیوتیک مخمری بر مصرف استارتر گوساله‌های شیری مشاهده نکردند. در بررسی مطالعات پیشین اثری از تغذیه پروبیوتیک مخمری و باکتریایی بر پایه لاکتوباسیل بر مصرف خوراک مشاهده نشده است (Abu-Tarboush *et al*., 1996; Cruywagen *et al*., 1996; Donovan *et al*., 2002; Kogan & Kocher, 2007). در پژوهش Mehrdad & Chashnidel (2017)، بیشترین مقدار مصرف خوراک تا سن ۶۰ روزگی مربوط به تیمار شاهد (بدون مصرف پروبیوتیک) در مقایسه با تیمارهای مصرف‌کننده پروبیوتیک بود. در پژوهش Moslemipur *et al*. (2014) با پروبیوتیک بر پایه لاکتوباسیلوس مصرف خوراک آغازین در تیمارهای مصرف‌کننده پروبیوتیک نسبت به تیمار شاهد تا قبل از قطع شیر کمتر بود که در راستای نتایج مطالعه حاضر است.

اما در برخی از مطالعات مقدار مصرف ماده خشک با مصرف پروبیوتیک افزایش یافته است (Rust *et al*., 2000; Abney, 2001). در گاوهای گوشتی که پروبیوتیک مبتنی بر لاکتوباسیل‌ها دریافت کرده بودند، افزایش ماده خشک مصرفی مشاهده شده است (Rust *et al*., 2000). Valencia *et al*. (2017) گزارش کردند که استفاده از پروبیوتیک موجب افزایش مصرف خوراک در گوساله‌ها می‌شود. Mesgaran *et al*. (2009) نشان داد که تغذیه ۱ گرم پروبیوتیک پروتکسین در مقایسه با گروه شاهد به‌مدت ۳۰ روز بالاترین مصرف خوراک را در بین گوساله‌ها دارند.

نتایج حاصل از ضریب تبدیل غذایی در جدول ۲ گزارش شده است. بررسی نتایج نشان داد که طی ۲۰ روز اول گروه‌های دریافت‌کننده پروبیوتیک‌ها تفاوت معنی‌داری با گروه شاهد داشت (شکل ۱)، گروه شاهد

www.SID.ir

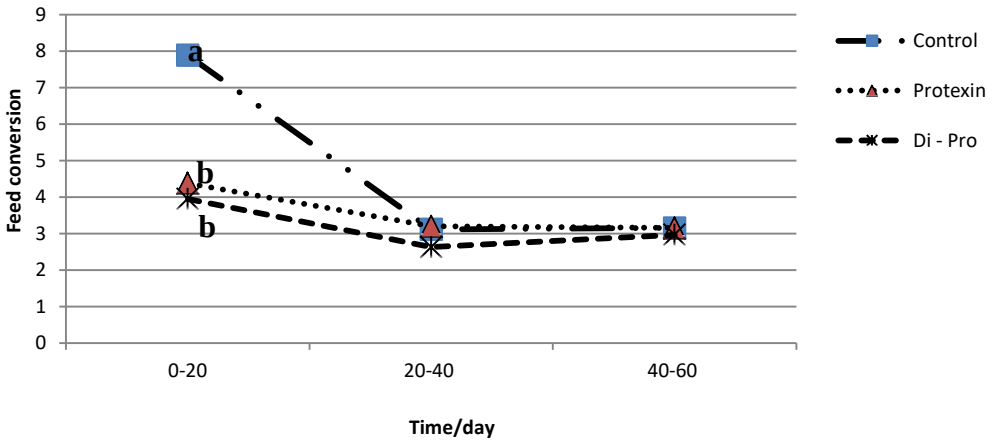
Archive of SID

به‌دلیل عدم مصرف پروبیوتیک ضریب تبدیل بالایی را نشان داد. طی روزهای ۴۰ و ۶۰ به‌واسطه توسعه شکمبه و افزایش قابلیت هضم ضریب تبدیل غذایی در همه گروه‌ها بهبود یافت و در گروه دریافت‌کننده پروبیوتیک بر پایه باسیلوس با تولید آنزیم‌های فیتاز، α-آمیلاز، سلولاز، متالو پروتئازها و پروتئازها ضریب تبدیل غذایی بهتری را نشان داد. باسیلوس‌ها در افزایش ارتفاع ویلی‌های روده و بهبود ساختار آن نقش دارند (Pluske *et al.*, 1996). Lee *et al.* (2014) در بررسی نتایج خود نشان دادند که *B. subtilis* LS اثرات گسترده‌ای بر مورفولوژی روده، جمعیت میکروبی و وضعیت ایمنی خوک‌های از شیرگیری شده دارند.

Sun *et al.* (2010) نشان دادند که با استفاده از پروبیوتیک برپایه *B. subtilis natto* در مقایسه با شاهد ضریب تبدیل غذایی در گوساله‌های شیرخوار بهبود می‌یابد. همچنین، تغذیه پروبیوتیک بر پایه *L. plantarum GF103* به گوساله‌های شیرخوار منجر به بهبود ضریب تبدیل غذایی شد، ولی با مصرف پروبیوتیک بر پایه *L. plantarum GF103* و *B. subtilis B27* تفاوت معنی‌داری با شاهد مشاهده نشد (Zhang *et al.*, 2016). Abe *et al.* (1995) با مصرف دو گونه بیفیدوباکتریا و لاکتیک اسید باکتریا روی دام‌های تازه متولدشده، بهبود قابل‌توجهی در ضریب تبدیل غذایی در گوساله‌ها مشاهده کردند که در راستای مطالعه حاضر است.

فراسنجه‌های بیوشیمیایی و هورمونی

تجزیه آماری پارامترهای خونی در طول زمان نمونه‌برداری در جدول ۳ گزارش شده است. در غلظت‌های پلاسمای کورتیزول و *T3* اختلاف معنی‌داری وجود داشت. اگرچه در غلظت پلاسمایی گلوکز، کلسترول، آلبومین، کراتینین، گلوبولین، نیتروژن اوره‌ای و *T4* تفاوت معنی‌داری وجود نداشت.



شکل ۱. روند تغییر ضریب تبدیل غذایی طی زمان در سه گروه آزمایشی

Figure 1. The LSMeans feed conversion ratio in three experimental groups during the time

جدول ۳. میانگین حداقل مربعات فراسنجه‌های خونی گوساله‌های شیرخوار در سه گروه آزمایشی

Table 3. Least square means of blood parameters of suckling calves in three experimental groups

Item	Treatments			SEM	p-value		
	Control	Protexin	Di - Pro		treat	time	Treat*Time
Glucose, mg/dL	87.33	80.62	88.21	8.9	0.8	0.0003	0.4
Total Protein, g/dL	15.48	16.01	15.99	0.2	0.1	0.7	0.1
Albumin, mg/dL	70.06	69.30	68.69	1.9	0.8	0.6	0.9
Globulin, g/dL	7.17	7.60	7.54	0.19	0.2	0.8	0.09
Creatinine, mg/dL	1.32	1.44	1.34	0.05	0.2	0.6	0.2
BUN, mg/dL	15.53	15.62	16.38	0.5	0.4	0.001	0.07
Cortisol, ng/ml	51.46^{ab}	60.42^{b}	49.11^{a}	3.9	0.04	<0.01	0.4
T3, ng/ml	0.48^{a}	0.53^{b}	0.49^{a}	0.009	0.01	0.7	0.1
T4, ng/ml	52.72	49.64	52.13	1.08	0.1	0.007	0.2

ab) درهر ردیف میانگین‌هایی که دارای حرف غیر مشترک لاتین هستند، دارای اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد هستند.

ab) Means in a same row with different superscripts are significantly different ($p<0.05$).

www.SID.ir

Archive of SID

تجزیه واریانس داده‌های مربوط به گلوکز، نشان داد که تیمارهای آزمایشی اثر معنی‌داری بر این صفت نداشت. سطح گلوکز نشان‌دهنده وضعیت فیزیولوژیکی حیوانات است. با افزایش سن، سطح گلوکز به غلظت طبیعی کاهش می‌یابد که نشان‌دهنده افزایش فعالیت و عملکرد شکمبه است که منجر می‌شود که تخمیر در شکمبه افزایش یابد که عمده گلوکز در شکمبه تبدیل به اسیدهای چرب فرّار شده و جذب روده‌ای گلوکز کاهش و سبب کاهش گلوکز خون شده است. Nemati *et al*. (2010) در نتایج خود گزارش کردند که استفاده از پروبیوتیک باکتریایی (پروتکسین) در استارتر گوساله‌های شیرخوار اثری بر غلظت گلوکز خون نداشته است که مطابق با مطالعه حاضر است، اگرچه برخی از مطالعات در تضاد با این آزمایش بود (Hossein Abadi *et al*., 2013; Valencia *et al*., 2017).

نتایج آزمایش نشان می‌دهد که پروبیوتیک اثر معنی‌داری برغلظت پروتئین کل نداشته است. پروتئین‌ها مهمترین ساختمان بلوک‌های سلول‌ها و بافت‌ها هستند. پروتئین‌ها برای رشد و سلامت حیوانات ضروری هستند از اینرو کمبود پروتئین‌ها باعث تضعیف ایمنی هومورال و ایمنی سلولی می‌شود، که حیوان مستعد به بیماری‌ها می‌شود (Adroby, 2004). خون دارای دو نوع پروتئین، آلبومین و گلوبولین است. سطح پروتئین سرم نشان دهنده وضعیت آنابولیسم و کاتابولیسم پروتئین در بدن است. سطح پروتئین‌های سرم در هر زمان به نوبه‌ی خود تابعی از تعادل هورمونی، وضعیت تغذیه‌ای، تعادل آب و سایر عوامل مؤثر بر سلامت حیوان است. در برخی از مطالعات، افزودن پروبیوتیک به جیره گوساله‌های شیرخوار، اثری بر پروتئین کل مشاهده نکردند که مشابه با نتایج این آزمایش بود (Riedel *et al*., 2010; Hossein Abadi *et al*., 2013). Nemati *et al*. (2010) در بررسی نتایج خود گزارش کردند که استفاده از پروبیوتیک باکتریایی در استارتر سبب افزایش کل پروتئین پلاسما گردید که در تضاد با این آزمایش بود.

آنالیز آماری نشان داد که پروبیوتیک اثر معنی‌داری بر غلظت آلبومین نداشته است. آلبومین یکی از پروتئین‌های مؤثر در انتقال مواد سمی از سراسر بدن به سلول‌های کبدی است که در کبد شکسته و از بدن دفع می‌گردد. افزایش مقادیر غلظت آلبومین خون می‌تواند نشانه جذب بیشتر پروتئین و خوراک جامد باشد، زیرا آلبومین در انتقال ویتامین‌ها، مواد معدنی، اسیدهای چرب غیراشباع، هورمون‌ها و سایر ترکیبات با ارزش دیگر در کل سیستم ایمنی نقش دارد و به عنوان یک آنتی اکسیدانت عمل کرده، به طوری که افزایش قدرت سیستم ایمنی بدن موجب افزایش غلظت آلبومین خون می‌شود.

Chaudhary *et al*. (2008) در بررسی نتایج خود نشان دادند که استفاده از پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس تأثیری بر غلظت آلبومین نداشت. برخی از مطالعات در تضاد با مطالعه حاضر بود (Nemati *et al*., 2010; Hossein Abadi *et al*., 2013).

پروتئین گلوبولین نقش مهمی در سیستم ایمنی بدن دارد. پروتئین کل بالا در حیوان ممکن است نشان‌دهنده التهاب، عفونت و اختلالات مغز استخوان باشد. گزارش داد که پروتئین کل کم ممکن است خونریزی، اختلال کبدی، اختلال کلیوی و سوء تغذیه را نشان دهد.

تیمارهای آزمایشی اثر معنی‌داری بر غلظت کراتنین نداشت. کراتینین پروتئینی است که از دهیدراته‌شدن کراتین در ماهیچه‌ها و بدون کاتالیزور، تولید و وارد خون می‌شود. دفع کراتینین از جریان خون تنها بر اثر فیلتراسیون گلومرولی و ترشح توبولی در کلیه‌ها صورت می‌گیرد، بنابراین، اندازه‌گیری غلظت کراتنین در خون می‌تواند نشان‌دهنده کارکرد کلیه‌ها باشد.

تیمارهای آزمایشی اثر معنی‌داری بر این نیتروژن اوره‌ای خون (BUN) نداشت. غلظت BUN می‌تواند برای اندازه‌گیری کارایی استفاده از پروتئین غذایی استفاده شود. با کاهش تولید پروتئین میکروبی مقدار نیتروژن آمونیاکی خون افزایش خواهد یافت. نتایج برخی از آزمایش‌ها مطابق با نتایج این آزمایش بود (Beauchemin *et al*., 2003; Chaudhary *et al*., 2008; Hossein Abadi *et al*., 2013). Bayatkouhsar *et al*. (2013)، در تیمارهای *LPP* و *CPP* در ۴۵ روزگی کاهش در غلظت نیتروژن اوره‌ای پلاسمای خون مشاهده کرد اما بعد از آن غلظت *BUN* افزایش یافت، این ممکن است نشان‌دهنده تخمیر پروتئین و

www.SID.ir

Archive of SID

جذب آمونیاک به جریان خون باشد. Fayed *et al.* (2005) در مطالعات خود نتایج متفاوتی را گزارش کردند.

تیمارهای آزمایشی اثر معنی‌داری بر غلظت کورتیزول داشت. غلظت کورتیزول در گروه دریافت‌کننده دی‌پرو کمترین مقدار بود، ولی اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد نداشت که این موضوع احتمالاً نشان‌دهنده بروز تنش کمتر در گروه دی‌پرو است. غدد فوق کلیوی، با متابولیسم کلی بدن و به‌ویژه متابولیسم گلوکز ارتباط دارند و نقش اصلی را در تنظیم متابولیسم بدن حیوان تازه‌زا و سازگارنمودن آن با شرایط جدید به عهده دارند. چون در گامه بحرانی بعد از تولد، محیط جدید از جنبه‌های گوناگون می‌تواند برای حیوان تازه‌زا تنش‌زا باشد. از این‌رو، در تنظیم هموستاز بدن نقش دارد. کورتیزول نقش کلیدی در حفظ هموستاز بدن ایفا می‌کند. در واقع گلوکوکورتیکوئیدها و از جمله کورتیزول جز عوامل کاتابولیک هستند و یا به تعبیر بهتر این عوامل آنابولیک نیستند. لذا آن‌ها را در گروه عوامل متوقف کننده روند رشد معرفی می‌کنند.

عوامل تنش‌زا باعث افزایش غلظت پلاسمایی کورتیزول می‌شود که متعاقب آن باید منتظر سرکوب سیستم ایمنی و شیوع بیماری‌های عفونی باشیم. زیرا گلوکوکورتیکوئیدها در غلظت های بالا از عوامل بسیار قوی سرکوب‌کننده سیستم ایمنی محسوب می‌شوند. در واقع با مصرف پروبیوتیک‌ها سطح کورتیزول کاهش یافته که نشانه کاهش تنش و به‌دنبال آن بهبود وضعیت سلامت حیوان است. Zhang *et al.* (2016) در مطالعه خود اثر مصرف خوراکی پروبیوتیک بر کورتیزول به عنوان شاخصی از تنش بررسی کردند، غلظت کورتیزول پلاسما در سن ۵۶ روزگی تفاوت معنی‌داری در تیمارها نداشت، اما در روز ۵۸ در گروه تغذیه شده با پروبیوتیک حاوی لاکتوباسیلوس پلانتروم (*Lactobacillus plantarum*) و باسیلوس سوبتلیس (*Bacillus subtilis*) نسبت به گروه شاهد تفاوت معنی‌داری داشت.

تیمارهای آزمایشی بر غلظت *T3* اثر معنی‌داری داشتند به‌طوری‌که گروه دریافت‌کننده پروتکسین بیشتر از شاهد بود. غلظت هورمون *T4* بین گروه‌های آزمایشی تفاوت معنی‌داری نداشتند. هورمون‌های غده تیروئید *T3* و *T4* از گروه هورمون‌های مشتقات اسید آمینه می‌باشند. *T4* (تیروکسین) از بیشترین نوع هورمون تیروئیدی موجود در خون بوده و فعالیت بیولوژیکی *T4* بستگی به تبدیل شدن *T4* به *T3* در بافت‌های مختلف می‌باشد. هورمون‌های تیروئیدی در رشد حیوان نقش دارند. کاهش سطح *T4* پلاسما و افزایش همزمان *T3* نشان‌دهنده بالا بودن متابولیسم بدن می‌باشد. زمانی‌که هورمون *T3* در پلاسمای خون افزایش می‌یابد، با تأثیر بر فولیکول‌های تیروئیدی موجب کاهش ترشح هورمون *T4* می‌شود، که می‌توان آن را به تأثیر فیدبک منفی در عملکرد این هورمون‌ها نسبت داد (Radcliff *et al.*, 2003).

نتیجه‌گیری

در مجموع به‌نظر می‌رسد استفاده از دو نوع پروبیوتیک تجاری یکی بر پایه باسیلوس‌ها (دی‌پرو) و دیگری بر پایه لاکتوباسیلوس‌ها و انتروکوکوس‌ها (پروتکسین) می‌توانند اثرات مفیدی بر ضریب تبدیل غذایی و عملکرد رشد گوساله‌های شیرخواردر مقایسه با گروه شاهد به‌ویژه در ۲۰ روز اول زندگی داشته باشد. همچنین، مصرف پروبیوتیک حاوی باسیل‌ها به‌دلیل تولید آنزیم‌ها در مقایسه با پروبیوتیک‌های حاوی لاکتوباسیل‌ها و انتروکوکوس‌ها در دوره‌هایی که حیوان از وضعیت شیرخوارگی به نشخوارکنندگی (۲۰ تا ۶۰ روزگی) در حال تبدیل است و خوراک جامد بیشتری می‌خورد، احتمالاً مفیدتر است.

REFERENCES

1. Abe, F., Ishibashi, N. & Shimamura, S. (1995). Effect of Administration of Bifidobacteria and Lactic Acid Bacteria to Newborn Calves and Piglets. *Journal of Dairy Science*, *78*(12), 2838-2846.
2. Abney, M. D. (2001). Effects of feeding direct-fed microbials and prebiotics on receiving calf performance, health, and fecal shedding of pathogens. Texas Tech University.
3. Abu-Tarboush, H. M., Al-Saiady, M. Y. & Keir El-Din, A. H. (1996). Evaluation of diet containing lactobacilli on performance, fecal coliform, and lactobacilli of young dairy calves. *Animal Feed Science and Technology*, *57*(1-2), 39-49.

www.SID.ir

Archive of SID

4. Agarwal, N., Kamra, D. N., Chaudhary, L. C., Agarwal, I., Sahoo, A. & Pathak, N. N. (2002). Microbial status and rumen enzyme profile of crossbred calves fed on different microbial feed additives. *Letters in Applied Microbiology*, *34*(5), 329-336.
5. Agazzi, A., Tirloni, E., Stella, S., Maroccolo, S., Ripamonti, B., Bersani, C., … Savoini, G. (2014). Effects of species-specific probiotic addition to milk replacer on calf health and performance during the first month of life. *Annals of Animal Science*, *14*(1), 101-115.
6. Alexopoulos, C., Georgoulakis, I. E., Tzivara, A., Kritas, S. K., Siochu, A. & Kyriakis, S. C. (2004). Field evaluation of the efficacy of a probiotic containing Bacillus licheniformis and Bacillus subtilis spores, on the health status and performance of sows and their litters. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, *88*(11-12), 381-392.
7. Aliakbarpour, H. R., Chamani, M., Rahimi, G., Sadeghi, A. A. & Qujeq, D. (2012). The Bacillus subtilis and lactic acid bacteria probiotics influences intestinal mucin gene expression, histomorphology and growth performance in broilers. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, *25*(9), 1285.
8. Bayatkouhsar, J., Tahmasebi, A. M., Naserian, A. A., Mokarram, R. R. & Valizadeh, R. (2013). Effects of supplementation of lactic acid bacteria on growth performance, blood metabolites and fecal coliform and lactobacilli of young dairy calves. *Animal Feed Science and Technology*, *186*(1-2), 1-11.
9. Beauchemin, K. A., Yang, W. Z., Morgavi, D. P., Ghorbani, G. R., Kautz, W. & Leedle, J. A. Z. (2003). Effects of bacterial direct-fed microbials and yeast on site and extent of digestion, blood chemistry, and subclinical ruminal acidosis in feedlot cattle. *Journal of Animal Science*, *81*(6), 1628-1640.
10. Chateau, N., Castellanos, I. & Deschamps, A. M. (1993). Distribution of pathogen inhibition in the Lactobacillus isolates of a commercial probiotic consortium. *Journal of Applied Bacteriology*, *74*(1), 36-40.
11. Chaudhary, L. C., Sahoo, A., Agrawal, N., Kamra, D. N. & Pathak, N. N. (2008). Effect of direct fed microbials on nutrient utilization, rumen fermentation, immune and growth response in crossbred cattle calves. *Indian Journal of Animal Science*, *78*, 515-521.
12. Cruywagen, C. W., Jordaan, I. & Venter, L. (1996). Effect of Lactobacillus acidophilus Supplementation of Milk Replacer on Preweaning Performance of Calves. *Journal of Dairy Science*, *79*(3), 483-486.
13. Donovan, D. C., Franklin, S. T., Chase, C. C. L. & Hippen, A. R. (2002). Growth and Health of Holstein Calves Fed Milk Replacers Supplemented with Antibiotics or Enteroguard. *Journal of Dairy Science*, *85*(4), 947-950.
14. Fayed, A.M., M.A.Ei. Ashry, K.M. Yossef and F.A. Salem. (2005). Effect of feeding flavomycin or yeast feed supplement on ruminal fermentation and some blood constituents of sheep in Sinai. Egyptian Journal of Nutrition and Feeds, 8: 619-634.
15. Frizzo, L. S., Soto, L. P., Zbrun, M. V., Signorini, M. L., Bertozzi, E., Sequeira, G., … Rosmini, M. R. (2011). Effect of lactic acid bacteria and lactose on growth performance and intestinal microbial balance of artificially reared calves. *Livestock Science*, *140*(1-3), 246-252.
16. Fuller, R. (1999). Probiotics for farm animals. *Probiotics: A Critical Review*.
17. Galvão, K. N., Santos, J. E. P., Coscioni, A., Villaseñor, M., Sischo, W. M. & Berge, A. C. B. (2005). Effect of feeding live yeast products to calves with failure of passive transfer on performance and patterns of antibiotic resistance in fecal Escherichia coli. *Reproduction Nutrition and Development*, *45*(4), 427-440.
18. Gould, A. R., May, B. K. & Elliott, W. H. (1975). Release of extracellular enzymes from Bacillus amyloliquefaciens. *Journal of Bacteriology*, *122*(1), 34-40.
19. Gracia, M. I., Aranibar, M., Lazaro, R., Medel, P. & Mateos, G. G. (2003). Alpha-amylase supplementation of broiler diets based on corn. *Poultry Science*, *82*(3), 436-442.
20. Hosseinabadi, M., Dehghan-Banadaky, M and Zali A. (2013). The Effect of Feeding of Bacterial Probiotic in Milk or Starter on Growth Performance, Health, Blood and Rumen Parameters of Suckling Calves. Research on Animal Production Vol.4, No. 8.
21. Jenny, B. F., Vandijk, H. J. & Collins, J. A. (1991). Performance and Fecal Flora of Calves Fed a Bacillus subtilis Concentrate. *Journal of Dairy Science*, *74*(6), 1968-1973.
22. Kogan, G. & Kocher, A. (2007). Role of yeast cell wall polysaccharides in pig nutrition and health protection. *Livestock Science*, *109*(1-3), 161-165.
23. Kowalski, Z. M., Górka, P., Schlagheck, A., Jagusiak, W., Micek, P. & Strzetelski, J. (2009). Performance of Holstein calves fed milk-replacer and starter mixture supplemented with probiotic feed additive. *Journal of Animal and Feed Sciences*, *18*(3), 399-411.
24. Krehbiel, C. R., Rust, S. R., Zhang, G. & Gilliland, S. E. (2003). Bacterial direct-fed microbials in ruminant diets: Performance response and mode of action 1,2. *Journal of Animal Science*, *81*(2), 120-132.
25. Laborde, J. M. (2008). Effects of probiotics and yeast culture on rumen development and growth of dairy calves.

www.SID.ir

Archive of SID

26. Lee, S. H., Ingale, S. L., Kim, J. S., Kim, K. H., Lokhande, A., Kim, E. K., … Chae, B. J. (2014). Effects of dietary supplementation with Bacillus subtilis LS 1–2 fermentation biomass on growth performance, nutrient digestibility, cecal microbiota and intestinal morphology of weanling pig. *Animal Feed Science and Technology*, *188*, 102-110.
27. Lee, Y.-J., Kim, B.-K., Lee, B.-H., Jo, K.-I., Lee, N.-K., Chung, C.-H., … Lee, J.-W. (2008). Purification and characterization of cellulase produced by Bacillus amyoliquefaciens DL-3 utilizing rice hull. *Bioresource Technology*, *99*(2), 378-386.
28. Lisboa, M. P., Bonatto, D., Bizani, D., Henriques, J. A. P. & Brandelli, A. (2006). Characterization of a bacteriocin-like substance produced by Bacillus amyloliquefaciens isolated from the Brazilian Atlantic forest. *International Microbiology*, *9*(2), 111-118.
29. Mehrdad, N., Chashnidel, Y., A. T. Y. and M. K. (n.d.). (2017). Effects of two kinds of probiotics on performance, blood and ruminal parameters in Holstein male calves, *4*, 23–44.
30. Mesgaran, D., Torbatinejad, N., Hassani, S., Gharagozloo, A., Jafarpour, J and Roshanak. (2008). Influence of Protein-rich or Probiotic-containing Feeds on Holistic Calf Production Indicators. the 3rd Congress of Animal Science of the country.
31. Morrill, J. L., Dayton, A. D. & Mickelsen, R. (1977). Cultured Milk and Antibiotics for Young Calves1. *Journal of Dairy Science*, 60(7), 1105-1109.
32. Morrill, J. L., Morrill, J. M., Feyerherm, A. M. & Laster, J. F. (1995). Plasma Proteins and a Probiotic as Ingredients in Milk Replacer1. *Journal of Dairy Science*, 78(4), 902-907.
33. Moslemipur, F., Moslemipur, F. & Mostafaloo, Y. (2014). Effects of using probiotic and synbiotic in colostrum and milk on passive immunoglobulin transfer rate, growth and health parameters of calf. *Journal of Ruminant Research*, 1 (4).
34. Nakanishi, Y. (1993). Effects of feeding Lactobacillus acidophilus yogurt on performance and behavior of dairy calves. *Journal of Dairy Science*, *76*(1), 244.
35. Nemati, A., S.N. Tabatabaie, A. Davar Frouzandekey Shahraki and Sh. Eghbal Saeed. 2010. Comparison effect of *Saccharomyces cerevisiae* yeast and Protexin probiotic in starter on blood parameter, Immunity blood, behavior and fecal score in suckling calves. *The 4th congress on Animal Science*, Karaj, Iran, 2141-2144 pp.
36. Ng, S. C., Hart, A. L., Kamm, M. A., Stagg, A. J. & Knight, S. C. (2008). Mechanisms of action of probiotics: recent advances. *Inflammatory Bowel Diseases*, *15*(2), 300-310.
37. Nousiainen, J. (1993). *Lactic acid bacteria as animal probiotics*. Lactic Acid Bacteria.
38. Pluske, J. R., Thompson, M. J., Atwood, C. S., Bird, P. H., Williams, I. H. & Hartmann, P. E. (1996). Maintenance of villus height and crypt depth, and enhancement of disaccharide digestion and monosaccharide absorption, in piglets fed on cows' whole milk after weaning. *British Journal of Nutrition*, *76*(3), 409-422.
39. Quigley III, J. D., Wallis, L. B., Dowlen, H. H. & Heitmann, R. N. (1992). Sodium bicarbonate and yeast culture effects on ruminal fermentation, growth, and intake in dairy calves. *Journal of Dairy Science*, *75*(12), 3531-3538.
40. Quigley, J. D., Drewry, J. J., Murray, L. M. & Ivey, S. J. (1997). Body weight gain, feed efficiency, and fecal scores of dairy calves in response to galactosyl-lactose or antibiotics in milk replacers. *Journal of Dairy Science*, *80*(8), 1751-1754.
41. Radcliff, R. P., Lookingland, K. J., McMahon, C. D., Chapin, L. T. & Tucker, H. A. (2003). Thyrotropin-releasing hormone mediates serotonin-induced secretion of GH in cattle. *Domestic Animal Endocrinology*, *24*(2), 137-153.
42. Riddell, J. B., Gallegos, A. J., Harmon, D. L. & McLeod, K. R. (2010). Addition of a Bacillus based probiotic to the diet of preruminant calves: Influence on growth, health, and blood parameters1, 2, 3.
43. Rolfe, R. D. (2000). The role of probiotic cultures in the control of gastrointestinal health. *The Journal of Nutrition*, *130*(2), 396S-402S.
44. Roodposhti, P. M. & Dabiri, N. (2012). Effects of probiotic and prebiotic on average daily gain, fecal shedding of Escherichia coli, and immune system status in newborn female calves. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, *25*(9), 1255-1261.
45. Rust, S. R., Metz, K. & Ware, D. R. (2000). Effects of Bovamine™ rumen culture on the performance and carcass characteristics of feedlot steers. *Journal of Animal Science*, *78*(Suppl 2), 82.
46. Sandine, W. E. (1979). Roles of Lactobacillus in the intestinal tract. *Journal of Food Protection*, *42*(3), 259-262.
47. Sun, P., Wang, J. Q. & Zhang, H. T. (2010). Effects of Bacillus subtilis natto on performance and immune function of preweaning calves. *Journal of Dairy Science*, *93*(12), 5851-5855.
48. Timmerman, H. M., Mulder, L., Everts, H., Van Espen, D. C., Van Der Wal, E., Klaassen, G., Rouwers, S. M. G., Hartemink, R., Rombouts, F. M. & Beynen, A. C. (2005). Health and growth of veal calves fed milk replacers with or without probiotics. *Journal of Dairy Science*, *88*(6), 2154-2165.

www.SID.ir

Archive of SID

49. Tsukahara, T., Tsuruta, T., Nakanishi, N., Hikita, C., Mochizuki, M. & Nakayama, K. (2013). The preventive effect of B acillus subtilus strain DB 9011 against experimental infection with enterotoxcemic E scherichia coli in weaning piglets. *Animal Science Journal*, *84*(4), 316-321.
50. Ulyanova, V., Vershinina, V. & Ilinskaya, O. (2011). Barnase and binase: twins with distinct fates. *The FEBS Journal*, *278*(19), 3633-3643.
51. Valencia, G. L., Zapata-Ramirez, O., Nunez-Gonzalez, L., Nunez-Benitez, V., Landeros-Lopez, H., Lopez-Soto, M., … Zinn, R. (2017). Effective use of probiotic-glyconutrient combination as an adjuvant to antibiotic therapy for diarrhea in rearing dairy calves. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, *41*(4), 578-581.
52. Van Soest, P. J., Robertson, J. B. & Lewis, B. A. (1991). Methods for Dietary Fiber, Neutral Detergent Fiber, and Nonstarch Polysaccharides in Relation to Animal Nutrition. *Journal of Dairy Science*, *74*(10), 3583-3597.
53. Weese, J. S., Sharif, S. & Rodriguez-Palacios, A. (2008). Probiotics in veterinary medicine. In *Therapeutic microbiology* (pp. 341–356). American Society of Microbiology.
54. Zhang, R., Dong, X., Zhou, M., Tu, Y., Zhang, N., Deng, K. & Diao, Q. (2017). Oral administration of Lactobacillus plantarum and Bacillus subtilis on rumen fermentation and the bacterial community in calves. *Animal Science Journal*, *88*(5), 755-762.
55. Zhang, R., Zhou, M., Tu, Y., Zhang, N. F., Deng, K. D., Ma, T. & Diao, Q. Y. (2016). Effect of oral administration of probiotics on growth performance, apparent nutrient digestibility and stress-related indicators in Holstein calves. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, *100*(1), 33-38.
56. Zhang, Z. F., Zhou, T. X., Ao, X. & Kim, I. H. (2012). Effects of β-glucan and Bacillus subtilis on growth performance, blood profiles, relative organ weight and meat quality in broilers fed maize–soybean meal based diets. *Livestock Science*, *150*(1-3), 419-424.
57. Zidek, Z., Tučková, L., Mara, M., Barot-Ciorbaru, R., Prokešovác, L. & Tlaskalova-Hogenova, H. (1998). Stimulation of macrophages by Bacillus firmus: production of nitric oxide and cytokines. *International Journal of Immunopharmacology*, *20*(7), 359-368.

www.SID.ir