



## تاثیر استفاده از مکمل‌های افزودنی بر متابولیت‌های خون، جمعیت میکروبی، نشخوار و انتقال غیرفعال ایمونوگلوبین‌ها در گوساله‌های هلشتاین

مسعود دیدارخواه<sup>\*۱</sup> - موسی وطن دوست<sup>۲</sup>

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۱۲/۲۲

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۵/۰۶

### چکیده

در این پژوهش تاثیر افزودن مکمل‌های افزودنی به شیر بر شاخص‌های عملکردی، متابولیت‌های خون، جمعیت میکروبی و انتقال غیرفعال ایمونوگلوبین‌ها به مدت ۶۰ روز استفاده شد. تیمارها شامل: ۱- گروه شاهد (شیر فاقد افزودنی) ۲- گروه پروبیوتیک (شیر + دو گرم پروبیوتیک) ۳- گروه پری‌بیوتیک (شیر + چهار گرم پری‌بیوتیک) ۴- گروه سین بیوتیک (شیر + دو گرم پروبیوتیک چهار گرم پری‌بیوتیک) بود. گوساله‌های تغذیه شده با جیره دارای مکمل پروبیوتیک (گروه ۲) کمترین مصرف خوراک و بهترین ضریب تبدیل غذایی را در کل دوره نسبت به سایر تیمارها داشتند. غلظت کلسترول کل، غلظت پروتئین کل پلاسما و آلبومین پلاسما تحت تاثیر مکمل‌های پروبیوتیکی و پری‌بیوتیکی در جیره‌ها قرار نگرفت و هیچ گونه اختلاف معنی‌داری بین جیره‌ها مشاهده نشد. مصرف مکمل پروبیوتیک باعث کاهش معنی‌داری ( $P < 0.05$ ) غلظت تری‌گلیسیریدها در پلاسما، خون، گوساله‌های تغذیه شده با مکمل‌های افزودنی شد. بیشترین غلظت تری-گلیسیرید مربوط به گروه شاهد بود که اختلاف معنی‌داری ( $P < 0.05$ ) با سایر گروه‌ها داشت. کمترین غلظت بتا هیدروکسی بوتیرات مربوط به گروه شاهد بود که اختلاف معنی‌داری ( $P < 0.05$ ) با سایر گروه‌ها داشت. در گوساله‌های مصرف‌کننده پروبیوتیک مقدار جمعیت کل باکتریها به میزان اندک بعد از خوراک دهی افزایش یافت ولی هیچ گونه اختلاف معنی‌داری در سنین مختلف در بین گروه‌های دریافت‌کننده مکمل مشاهده نشد. بیشترین مقدار ایمونوگلوبولین G مربوط به گروهی بود که پروبیوتیک مصرف کرده بودند و با گروه‌های شاهد و گروه سین بیوتیک اختلاف معنی‌داری ( $P < 0.05$ ) داشت ولی از گروه پری بیوتیک بیشتر بود و این روند در همه سنین ۳، ۷ و ۳۰ روزگی ادامه داشت. در مجموع، نتایج حاکی از آن است که افزودن مکمل‌های پروبیوتیکی در جیره باعث بهبود عملکرد گوساله‌های شیری هلشتاین می‌شود.

**واژه‌های کلیدی:** ایمونوگلوبین‌ها، جمعیت میکروبی، گوساله، مکمل افزودنی، نشخوارکنندگان.

### مقدمه

استفاده از افزودنی‌های غذایی در تغذیه گوساله به عنوان یک راه حل هر چه بهتر در بکارگیری هر چه بهتر خوراک توسط گوساله محسوب می‌شود. آنتی‌بیوتیک‌ها از جمله افزودنی‌های غذایی هستند که به منظور جلوگیری از رشد عوامل بیماری‌زای روده ای و بهبود عملکرد در تغذیه گوساله بکار رفته اند. در صورتی که آنتی‌بیوتیک‌ها برای مدت زیادی در جیره غذایی گوساله استفاده شوند، عوامل بیماری‌زای موجود در دستگاه گوارش نسبت به آنها مقاوم می‌شوند. عیب دیگر استفاده از آنتی بیوتیک‌ها، امکان باقیماندن این مواد در محصولات دامی مانند گوشت است که با مصرف آنها به انسان منتقل می‌شوند و این امر باعث می‌شود که عوامل بیماری‌زای بدن انسان به آنتی بیوتیک‌ها مقاوم گردند، به طوری که در مواقع بروز بیماری یا عفونت در افراد، مصرف آنتی بیوتیک‌ها موثر واقع نگردد (۳۳ و ۵۵).

به هر حال، استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها در حیوانات مشکلات جدی از جمله افزایش مقاومت باکتریایی و ناهنجاری‌های گوارشی را به-

پرورش گوساله‌ی سالم تضمین کننده تولید و سودآوری گله گاو شیری می‌باشد. مدیریت گوساله‌ها در سه ماه اول بسیار مهم است. حساسیت گوساله به عوامل نامساعد محیطی و تغذیه ای بسیار بالا بوده و در برخی واحدها با تلفات گسترده‌ای همراه می‌باشد. به همین دلیل نحوه رشد و مدیریت گوساله‌ها از بارزترین فعالیت‌های مورد توجه پرورش دهندگان و متخصصان بخش است. طبیعتاً پرورش مطلوب گوساله نیازمند تغذیه مناسب رعایت اصول بهداشتی و رعایت مدیریت صحیح است (۱، ۹، ۲۲، ۲۳، ۲۹ و ۵۵).

۱- استادیار آموزشکده کشاورزی سرایان، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران.

۲- استادیار گروه کشاورزی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران.

\*- ایمیل نویسنده مسئول: masoodidarkhah@birjand.ac.ir

DOI: 10.22067/ijasr.v11i2.71644

با توجه به مطالب بحث شده هدف از انجام این پژوهش تعیین اثرات استفاده از مکمل‌های پروبیوتیکی و پری‌بیوتیکی در شیر بر عملکرد، مصرف خوراک، افزایش وزن، میزان جذب ایمونوگلوبولین‌ها و متابولیت‌های خونی گوساله‌های هلستاین بود.

### مواد و روش‌ها

این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی به مدت ۶۰ روز روی ۱۶ راس گوساله ماده نژاد هلستاین با میانگین وزن  $2 \pm 41/5$  کیلوگرم و سن ۱ تا ۳ روزگی در شرکت سهامی زراعی نیل شهر در ۱۷۰ کیلومتری شهرستان مشهد انجام شد. گوساله‌ها پس از تغذیه با آغوز به میزان ۱۰ درصد وزن بدنشان و از سن سه روزگی به بعد در چهار تیمار چهارتایی تقسیم شدند. تیمارها شامل: ۱- گروه شاهد (شیر فاقد افزودنی) ۲- گروه پروبیوتیک (شیر + ۲ گرم پروبیوتیک) ۳- گروه پری‌بیوتیک (شیر + ۴ گرم پری‌بیوتیک) ۴- گروه سین بیوتیک (شیر + ۲ گرم پروبیوتیک و ۴ گرم پری‌بیوتیک) بود. برنامه تغذیه ای و ترکیب خوراک آغازین (جدول ۱) با نرم افزار NRC 2001 تنظیم شد و از سن ۱۰ روزگی بصورت آزاد و به همراه آب در اختیار گوساله قرار گرفت. پروبیوتیک مورد استفاده محصول شرکت دانش بنیان زیست درمان ماهان با نام تجاری Bio-Rumia و حاوی هفت سویه باکتریایی و دو سویه قارچی با  $10^9 \times 2$  بود (سویه MUCL/BCCM/۳۹۸۸۵). پری‌بیوتیک مورد استفاده محصول ای مکس ساخت شرکت وایکور آمریکا حاوی مخمر ساکارومایسس سروسیسه و محیط کشت سوکروز-ملاس و عصاره ذرت بود، و بصورت مخلوط با شیر به گوساله‌ها خورانیده شد.

### نمونه برداری و ثبت داده‌ها

گوساله‌ها در سنین ۳، ۳۰ و ۶۳ روزگی پس از تغذیه شیر در وعده صبح وزن کنی شدند و وزن خوراک مصرفی از ۱۰ روزگی به بعد و تا پایان دوره بصورت روزانه برای هر گوساله اندازه گیری و ثبت گردید. متغیرهای رشد شامل: افزایش وزن بدن، متوسط افزایش وزن روزانه اندازه گیری شد. ضریب تبدیل خوراک مصرفی با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید. ضریب تبدیل خوراک مصرفی = کیلوگرم اضافه وزن کل دوره/کیلوگرم خوراک مصرفی کل دوره.

در روز ۱۴، ۳۰ و ۶۳ روزگی برای کشت میکروبی از مدفوع همه گوساله‌ها نمونه گرفته شد. پس از تحریک رکتوم با انگشت سبابه، یک گرم از نمونه تازه مدفوع به وسیله ترازوی با دقت ۰/۱ گرم وزن شده و در داخل لوله‌های استریل حاوی بافر فسفات با pH ۷/۲  $\pm$  ریخته شد به مدت ۳۰ ثانیه مخلوط و یکنواخت گردید. برای تعیین تعداد باکتریها از شمارش کلنی استفاده شد. شمارش و تعداد باکتریها با ضرب کردن تعداد کلنی‌ها در ضریب رقت محاسبه

وجود آورده است. (۶، ۲۰، ۲۱، ۲۴ و ۵۷). از پری بیوتیک‌ها و پروبیوتیک‌ها به عنوان افزودنی‌هایی که جایگزین مناسبی برای آنتی بیوتیک‌ها باشند می‌توان نام برد. (۴۵، ۴۸ و ۵۰). امروزه، محققین به دنبال یافتن راهکارهای طبیعی برای افزایش فعالیت شکمبه از طریق بهبود باکتریهای مفید شکمبه هستند (۱۱، ۶ و ۱۲).

پروبیوتیک‌ها با ایجاد یک کلونی موقت جایگزین فلور طبیعی تخلیه شده می‌شوند تا فلور طبیعی مجدداً بتواند به توازن برسد. در واقع پروبیوتیک‌ها باعث بهبود تعادل میکروبی روده می‌شوند. پروبیوتیک‌های رایج شامل گونه‌های مختلف باکتریهای بیفیدوباکتریوم و لاکتوباسیلوس و همچنین مخمر می‌باشند. پروبیوتیک‌ها به تحریک رشد باکتریهای مفید روده و یا به کاهش بیماریزایی میکروب‌های مضر کمک می‌کنند و مکانیسم عمل آن‌ها متکی به جایگزینی و زنده ماندن آن‌ها در دستگاه گوارش است. پروبیوتیک‌ها مکمل‌های غذایی میکروبی زنده هستند که به طور مفیدی بر میزان از طریق بهبود بالانس میکروبی روده‌شان اثر می‌گذارد (۱۵، ۲۶، ۱۶، ۲۷ و ۴۶).

برخی از این باکتریهای مفید که از فلور طبیعی گوارش میزبان جداسازی و سپس تکثیر شده‌اند، نیاز به سطوح خاصی از لیاف قابل تخمیر به عنوان سوسترا دارند تا در شرایط رقابتی دستگاه گوارش بتوانند محیط اکولوژیک مناسبی برای خود اشغال کنند (۲۴، ۴۸ و ۵۰). پری‌بیوتیک‌ها: کربوهیدرات‌های غیرقابل هضم هستند که رشد را تحریک می‌کنند و روی باکتریهای مفید فلور میکروبی اثر مطلوب دارند. پری‌بیوتیک‌ها، ترکیباتی هستند که رشد و تکثیر میکروبیهای مفید را در دستگاه گوارش تحریک می‌کنند (۱۴، ۵۲ و ۵۵).

پری‌بیوتیک‌ها شامل انواع مختلفی از قبیل فروکتو اولیگوساکاریدها، گلوکوالیگوساکاریدها و مانان اولیگوساکاریدها می‌باشند (۳۳). مانان اولیگوساکاریدها از بخش دیواره بیرونی مخمر ساکارومایسس سروسیزه جدا شده‌اند و با اتصال به دیواره سلول باکتری (باکتری‌های نامطلوب) از آسیب باکتری‌ها به سلول‌های اپیتلیوم روده جلوگیری می‌کنند و یا با تحریک کردن تولید پادتن توان ایمنی را افزایش می‌دهند. پری‌بیوتیک‌ها با تحریک گزینشی رشد و فعالیت یک یا چند باکتری در روده بزرگ، در نهایت به بهبود سلامت میزبان می‌انجامند. معمولاً باعث افزایش رشد و فعالیت باکتری لاکتیک اسید و بیفیدوباکتری می‌شوند (۳۱، ۲۷، ۴۳، ۴۷ و ۵۵).

سین‌بیوتیک به ترکیبی از پروبیوتیک‌ها و پری‌بیوتیک‌ها گفته می‌شود که با اثر کنش‌افزایی باعث باعث کاهش جمعیت میکروبیهای بیماریزای دستگاه گوارش میشوند (۷، ۲۷ و ۴۹) این ترکیبات میتوانند باعث بهبود ضریب تبدیل غذایی و سلامتی حیوان نیز شوند (۷، ۳۶ و ۳۸).

نشخوار کردن و غذا خوردن به عنوان مدت زمان جویدن در نظر گرفته شد و به همین منظور فعالیت نشخوار کردن و غذا خوردن هر پنج دقیقه به مدت ۲۴ ساعت ثبت شد. طول مدت زمان نشخوار و غذا خوردن از حاصل ضرب تعداد هر مشاهده در فواصل پنج دقیقه به دست آمد (۱۹ و ۵۱).

### تجزیه و تحلیل آماری

یافته‌های بدست آمده در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تیمار و ۴ تکرار در هر تیمار بود و به شرح مدل زیر تجزیه شدند.  

$$Y_{ij} = \mu + T_i + \epsilon_{ij}$$
 که در آن  $Y_{ij}$  = مقدار هر مشاهده،  $\mu$  = اثر میانگین جامعه،  $T_i$  = اثر تیمارهای مختلف و  $\epsilon_{ij}$  = مقدار خطای باقیمانده بود. تجزیه تحلیل داده‌ها توسط نرم افزار (نسخه ۱/۹) (۵۴) و رویه Mixed انجام گرفت و مقایسات میانگین در سطح ( $P < 0.05$ ) توسط آزمون توکی صورت گرفت.

شد (۷). برای تعیین شمار کل باکتریها از رنگ‌آمیزی گرم بر اساس روش تشریح شده توسط بارون و فینگلد (۷) استفاده شد. برای تعیین غلظت کلسترول، گلوکز، تری گلیسرید، پروتئین کل و آلبومین با استفاده از لوله‌های تحت خلا دارای EDTA از سیاهرگ گردنی وداج در هفته پایانی، ساعت نه صبح (دو ساعت بعد از خوراک دهی صبح) خونگیری و نمونه‌های خون بلافاصله برای ۱۵ دقیقه و با ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند و پلاسماهای نمونه‌ها در دمای ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری شد. نمونه‌های پلاسما پس از ذوب در دمای اتاق، برای تعیین مقدار سرمی کلسترول، گلوکز، آلبومین، تری گلیسرید و پروتئین کل پلاسما از کیت‌های آزمایشگاهی بیوسامانه و دستگاه اتوآنالایزر (مدل A15، فرانسه) با دو تکرار اندازه‌گیری شد. غلظت IgG به روش ایمونوتوربیدیمتری و با استفاده از کیت COBAS INTEGRA در طول موج ۸۰۰-۴۰۰ نانومتر اندازه‌گیری شد (۳۴).

در هفته پایانی آزمایش، کل فعالیت جویدن به مدت ۲۴ ساعت به روش مشاهده مستقیم اندازه‌گیری شد (۲۸ و ۵۱). طول مدت زمان

جدول ۱- اجزای مواد خوراکی و ترکیب شیمیایی جیره آغازین گوساله‌های هلشتاین

Table 1- The Ingredients and chemical composition of the initial diet of Holstein calves

اجزای جیره آغازین (درصد در جیره) Components Initial diet	مقدار (درصد) Amount (percent)
Barley grain دانه جو	30
Corn grain دانه ذرت	25
Soybean meal کنجاله سویا	15
Cotton seed meal کنجاله پنبه دانه	12
Rapeseed meal کنجاله کلزا	8
Wheat bran سبوس گندم	8
Calcium carbonate کربنات کلسیم	0.5
Salt نمک	0.5
Inorganic vitamin supplement <sup>1</sup> مکمل ویتامینی معدنی	1
ترکیبات مواد مغذی محاسبه شده Chemical composition	
پروتئین خام (درصد) Crude protein (%)	23.81
ماده خشک (درصد) Dry matter (%)	93.00
الیاف نامحلول در شوینده خنثی Insoluble fiber in neutral detergent	26.5
خاکستر Ash	7.1

<sup>1</sup>195 g ca, 20 g Mg, 280 mg cu, 2 g Mn, 3 g zn, 100 mg co, 100 mg I, 3 g fe, 90 g p, 55g Na, 1 mg Se, 500,000 IU Vitamin A, 100,000 IU Cholecalciferol, 100 mg vitamin E.

## نتایج و بحث

## شاخص‌های عملکردی

طبق نتایج جدول ۲، شاخص‌های عملکردی (میانگین ماده خشک مصرفی، ضریب تبدیل خوراک مصرفی، میانگین وزن نهایی و میانگین افزایش وزن ۳۰ روزگی) تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت. بطوری‌که بیشترین میانگین افزایش وزن مربوط به گروهی بود که پروبیوتیک مصرف کرده بودند و با سایر گروه‌ها اختلاف معنی‌داری داشت ( $P < 0.05$ ) و کمترین افزایش وزن مربوط به گروهی بود که پری‌بیوتیک مصرف کرده بودند.

نتایج میانگین وزن در سنین مختلف (۳۰ روزگی و ۶۳ روزگی) تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت و بیشترین میانگین وزن در سن ۳۰ روزگی مربوط به گوساله‌هایی بود که پروبیوتیک مصرف کرده بودند و کمترین آن مربوط به جیره سین‌بیوتیک بود. بیشترین میانگین وزن در سن ۶۳ روزگی مربوط به گوساله‌هایی بود که پروبیوتیک مصرف کرده بودند و اختلاف معنی‌داری با سایر گروه‌ها داشت ( $P < 0.05$ ). کمترین میانگین وزن در سن ۶۳ روزگی مربوط به جیره سین‌بیوتیک بود.

نتایج مربوط به ماده خشک مصرفی نشان داد که مصرف مکمل‌های افزودنی تاثیر معنی‌داری بر گوساله‌های مصرف‌کننده مکمل داشت. بیشترین میانگین ماده خشک مصرفی مربوط به گروه شاهد بود که بدون ماده افزودنی بودند و اختلاف معنی‌داری ( $P < 0.05$ ) با گروهی که پروبیوتیک مصرف کرده بودند، داشت و کمترین میانگین ماده خشک مصرفی مربوط به جیره پروبیوتیک بود و با سایر گروه‌ها اختلاف معنی‌داری داشت ( $P < 0.05$ ). بیشترین ضریب تبدیل خوراک مصرفی مربوط به گروه شاهد بود و اختلاف معنی‌داری با گروهی که پروبیوتیک مصرف کرده بودند، داشت ( $P < 0.05$ ). کمترین ضریب تبدیل خوراک مصرفی مربوط به جیره پروبیوتیک بود و با سایر گروه‌ها اختلاف معنی‌داری داشت ( $P < 0.05$ ).

پروبیوتیک اثر معنی‌داری بر میانگین وزن در سنین مختلف داشت. پروبیوتیک‌ها در دستگاه گوارش باعث کاهش رشد باکترهای مضر شده و جذب بهتر مواد مغذی را فراهم می‌کنند و زمینه خروج مواد مغذی هضم نشده در شکمبه را کاهش داده و منجر به افزایش وزن بیشتر می‌شوند.

این نتایج با نتایج کونگ و همکاران (۳۶) موافق بود. ولی با نتایج حسین‌آبادی و همکاران (۳۲) همخوانی نداشت. در مطالعه گروهی از محققین بدنال تجویز مکمل مخمر ساکارومایسس سرویسیه در

گوساله‌های گروه آزمایش نسبت به گوساله‌های گروه کنترل افزایش وزن معنی‌داری مشاهده نکردند (۴۸ و ۵۰).

ضریب تبدیل خوراک مصرفی بهتر در گروه‌های حاوی پروبیوتیک، می‌تواند بدلیل استفاده بهتر این گروه‌ها از ترکیبات مغذی خوراک آغازین باشد که باعث کاهش نیاز به مصرف خوراک شده است.

همانطور که اشاره شد پروبیوتیک‌ها باعث افزایش هضم پذیری و جذب مواد مغذی خوراک در گوساله‌ها می‌شوند. مصرف خوراک کمتر از یک سو و افزایش وزن بیشتر از سوی دیگر در گروه‌های پروبیوتیک، ضریب تبدیل خوراک مصرفی بهتر آنها را امکان‌پذیر می‌سازد (۵۶).

دکا (۱۴)، افزایش معنی‌دار ماده خشک مصرفی و بهبود میانگین افزایش وزن روزانه در بزهای نژاد جاموناپاری بر اثر مصرف پروبیوتیک را گزارش کرد که با نتایج این تحقیق مطابقت داشت. کرهیل و همکاران (۳۷)، افزایش ۲/۵ تا ۵ درصدی وزن وزانه و ۲ درصدی در بازده خوراک را در گاوهای پروراری در اثر مصرف پروبیوتیک گزارش کردند.

برخی از محققین گزارش کردند که ماده خشک مصرفی گوساله‌های تغذیه شده با پروبیوتیک باکتریایی در شیر و استارتر در مقایسه با گروه شاهد تحت تاثیر قرار نگرفت (۴۰ و ۵۱).

## متابولیت‌های خونی

نتایج حاصل از پژوهش حاضر نشان داد که غلظت گلوکز پلاسما در این آزمایش با افزایش مقدار پروبیوتیک در جیره‌ها افزایش پیدا کرد، بطوری‌که باعث کاهش معنی‌داری ( $P < 0.05$ ) در گروه شاهد در مقایسه با سایر جیره‌ها به غیر از گروه پری‌بیوتیک شد. این افزایش در غلظت گلوکز در جیره‌های مکمل شده احتمالاً می‌تواند به دلیل افزایش عددی در غلظت پروپیونات مایع شکمبه و پلاسما باشد. زیرا که پروپیونات پیش ساز اصلی گلوکز در مسیر گلوکونوژنز است (۲)، که مکانیسم آن به این صورت است که مخمر قادر است سبب تغییرات در جمعیت میکروبی شکمبه شود، به طوری که پروتئین میکروبی افزایش و مقدار اوره خون، به دلیل هم بستگی بالایی که با سطح آمونیاک مایع شکمبه دارد، کاهش می‌یابد. هنگامی که نشاسته به وسیله میکروارگانیسم‌های شکمبه تخمیر می‌شود، محصول نهایی اسیدپروپیرنیک می‌باشد. در کبد این اسید عمدتاً به گلوکز تبدیل می‌شود.

**جدول ۲- اثر جیره‌های آزمایشی بر عملکرد و میانگین وزن در سنین مختلف (۳ روزگی، ۳۰ روزگی و ۶۳ روزگی) گوساله‌های هلشتاین<sup>۱</sup>**  
**Table 2- Effect of experimental diets on average weight of different age (3 days, 30 days and 63 days) of Holstein calves<sup>2</sup>**

فراسنجه‌ها Factors	جیره‌های آزمایشی <sup>۲</sup> Experimental rations <sup>2</sup>				SEM	P-Value
	گروه شاهد Control group	گروه پروبیوتیک Probiotic group	گروه پری بیوتیک Prebiotic group	گروه سین بیوتیک Synbiotic group		
میانگین وزن ۳ روزگی (کیلوگرم) Average weight of 3 days (kg)	41.50	42.50	41.50	40.01	8.410	0.9281
میانگین وزن ۳۰ روزگی (کیلوگرم) Average weight of 30 days (kg)	50.75 <sup>ab</sup>	55.5 <sup>0a</sup>	49.5 <sup>1b</sup>	46.51 <sup>b</sup>	4.971	0.0410
میانگین وزن نهایی (۶۳ روزگی) (کیلوگرم) Average final weight (63 days)	61.75 <sup>b</sup>	72.25 <sup>a</sup>	61.25 <sup>b</sup>	61.05 <sup>b</sup>	6.021	0.0001
میانگین افزایش وزن کل (کیلوگرم) Average total weight gain(kg)	18.75 <sup>b</sup>	29.51 <sup>a</sup>	17.50 <sup>b</sup>	19.10 <sup>b</sup>	4.562	0.0026
میانگین ماده خشک مصرفی (کیلوگرم) Average dry matter (kg)	21.05 <sup>a</sup>	18.02 <sup>b</sup>	19.03 <sup>ab</sup>	20.25 <sup>ab</sup>	1.729	0.0326
ضریب تبدیل خوراک مصرفی Feed conversion ratio	1.092 <sup>a</sup>	1.152 <sup>a</sup>	0.615 <sup>b</sup>	1.155 <sup>a</sup>	0.0359	0.0040

<sup>۱</sup> اعداد با حروف متفاوت در هر ردیف با هم تفاوت معنی دار دارند ( $P < 0.05$ ).

<sup>۲</sup> جیره‌های آزمایشی شامل: ۱- گروه شاهد (شیر فاقد افزودنی) ۲- گروه پروبیوتیک (شیر + ۲ گرم پروبیوتیک) ۳- گروه پری بیوتیک (شیر + ۴ گرم پری بیوتیک) ۴- گروه سین بیوتیک (شیر + ۲ گرم پروبیوتیک و ۴ گرم پری بیوتیک).

<sup>۱</sup> Means within same row with different superscripts differ significantly ( $P < 0.05$ ).

<sup>۲</sup> Experimental diets including: 1- control group (no additive milk) 2- probiotic group (milk + 2 gr probiotic) 3- prebiotic group (milk + 4 gr peribiotic) 4- synbiotic group (milk + 2 gr Probiotic and 4 gr of peribiotic).

پروبیوتیکی و پری بیوتیکی در جیره‌ها قرار نگرفت و هیچ گونه اختلاف معنی داری بین جیره‌ها مشاهده نشد. تجزیه آماری داده‌های مربوط به اثر تیمارها بر غلظت بتا هیدروکسی بوتیرات پلاسما خون دامها نشان داد که مصرف مکمل پروبیوتیک باعث افزایش معنی داری ( $P < 0.05$ ) غلظت بتا هیدروکسی بوتیرات در پلاسما خون گوساله‌های تغذیه شده با مکملهای افزودنی شد. کمترین غلظت بتا هیدروکسی بوتیرات مربوط به گروه شاهد بود که اختلاف معنی داری ( $P < 0.05$ ) با سایر گروه‌ها داشت. نسبت و مارتین (۴۴) پیشنهاد کردند که مخمر ممکن است با تأمین بعضی از ویتامین‌ها و مواد معدنی (سبب تحریک رشد باکتری‌ها گردد. رضایی (۱۳۸۲) گزارش کرد که به دلیل مصرف بسیار کم مخمر در آزمایش‌ها، احتمال اینکه مخمر از راه تأمین ویتامین‌های (تیماین) سبب تحریک رشد جمعیت‌های مخلوط شکمبه گردد جای شک وجود دارد. گیراد (۲۵) نشان داد که عصاره مخمر نمی‌تواند اثراتی را که مخمر زنده روی رشد باکتری‌ها و تخمیر شکمبه دارد، از خود نشان دهد. در تحقیقی الحسن و همکاران (۱۷) نشان دادند

سوبستراهای اصلی برای سنتز گلوکز، اسیدهای آلی حاصل از تخمیر، اسکلت کربنی اسیدهای آمینه دی آمینه شده و گلیسرول حاصل از شکستن تری گلیسریدها می‌باشند. بنابراین با افزایش فعالیت این باکتری‌ها در اثر مصرف مخمر در جیره، یکی از سوبستراهای اصلی برای سنتز گلوکز که همان پروپیونات است، افزایش یافته و به تبع می‌توان انتظار داشت که میزان گلوکز خون نیز افزایش یابد (۲). تجزیه آماری داده‌های مربوط به اثر تیمارها بر غلظت تری گلیسریدهای پلاسما خون گوساله‌ها نشان داد که مصرف مکمل پروبیوتیک باعث کاهش معنی داری ( $P < 0.05$ ) غلظت تری گلیسریدها در پلاسما خون گوساله‌های تغذیه شده با مکملهای افزودنی شد. بیشترین غلظت تری گلیسرید مربوط به گروه شاهد بود که اختلاف معنی داری ( $P < 0.05$ ) با سایر گروه‌ها داشت. بر خلاف گلوکز و تری گلیسرید، غلظت کلسترول کل، غلظت پروتئین کل پلاسما و آلبومین پلاسما تحت تاثیر مکمل‌های

میزان آمونیاک، اسیدهای چرب فرار و پروتئین میکروبی کار دشوار است.

مخمر اثر معنی‌داری بر جمعیت باکتری‌ها شکمبه ندارد. با توجه به گزارش‌های متضادی که در مورد اثر مخمر بر جمعیت باکتریایی و تخمیرات وجود دارد، قضاوت در مورد فراسنجه‌های خونی بدون انجام آزمایشاتی در خصوص تعیین جمعیت باکتری‌های شکمبه،

**جدول ۳- اثر جیره‌های آزمایشی بر متابولیت‌های پلاسما گوساله‌های هلشتاین<sup>۱</sup>**  
**Table 3 - Effect of experimental diets on plasma metabolites of Holstein calves<sup>1</sup>**

فراسنجه‌ها Factors	جیره‌های آزمایشی <sup>۲</sup> Experimental rations <sup>2</sup>				SEM	P-Value
	گروه شاهد Contro l group	گروه پروبیوتیک Probiotic group	گروه پری‌بیوتیک Preibiotic group	گروه سین‌بیوتیک Synbiotic group		
کلسترول (میلی گرم در دسی لیتر) Cholestrol (mg dl-۱)	98.182	86.130	96.950	94.725	4.690	0.1025
تری‌گلیسرید (میلی گرم در دسی لیتر) Triglyceride (mg dl-۱)	6.982 <sup>a</sup>	6.130 <sup>b</sup>	6.250 <sup>b</sup>	6.125 <sup>b</sup>	1.033	0.0001
گلوکز (میلی گرم در دسی لیتر) Glucose (mg dl-۱)	64.68 <sup>b</sup>	80.13 <sup>a</sup>	62.45 <sup>b</sup>	75.22 <sup>a</sup>	1.690	0.0001
کل پروتئین پلاسما (گرم در دسی لیتر) Total plasma protein (g dl-۱)	7.435	7.110	7.575	7.421	0.076	0.1091
آلبومین (گرم در دسی لیتر) Albumin (g dl-۱)	5.647	5.355	5.462	5.442	0.177	0.796
بتا هیدروکسی بوتیرات (میلی گرم در دسی لیتر) BHBA (mmol dl-۱)	0.422 <sup>a</sup>	0.362 <sup>b</sup>	0.372 <sup>b</sup>	0.352 <sup>b</sup>	0.012	0.0001

<sup>۱</sup> اعداد با حروف متفاوت در هر ردیف با هم تفاوت معنی دار دارند ( $P < 0.05$ ).

<sup>۲</sup> جیره‌های آزمایشی شامل: ۱- گروه شاهد (شیر فاقد افزودنی) ۲- گروه پروبیوتیک (شیر + ۲ گرم پروبیوتیک) ۳- گروه پری‌بیوتیک (شیر + ۴ گرم پری‌بیوتیک) ۴- گروه سین‌بیوتیک (شیر + ۲ گرم پروبیوتیک و ۴ گرم پری‌بیوتیک).

<sup>۱</sup> Means within same row with different superscripts differ significantly ( $P < 0.05$ ).

<sup>۲</sup> Experimental diets including: 1- control group (no additive milk) 2- probiotic group (milk + 2 gr probiotic) 3- preibiotic group (milk + 4 gr peribiotic) 4- synbiotic group (milk + 2 gr Probiotic and 4 gr of peribiotic).

تجزیه پروتئین در شکمبه باشد که مطابق با نتایج کره‌بیل و همکاران (۳۷) و ابدالا و همکاران (۴) بود. ژانگ و همکاران (۵۹) افزایش غلظت بتا هیدروکسی بوتیرات را به موازات افزایش سن نیز مشاهده کرده و آن را به افزایش دریافت خوراک خشک نسبت دادند.

### فعالیت نشخوار

نتایج آماری داده‌های حاصل از این آزمایش نشان داد که میانگین مدت زمان جویدن، نشخوار کردن و خوردن بین جیره‌های مختلف آزمایش اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (جدول ۴). بیشترین مدت افزایش فعالیت نشخوار باعث افزایش بیشتر بزاق شده و در نهایت باعث افزایش pH مایع شکمبه می‌گردد. مکمل‌های پروبیوتیکی و پری‌بیوتیکی با تنظیم جمعیت میکروبی شکمبه و تنظیم محیط شکمبه باعث افزایش فعالیت نشخوار گردیده و در نهایت باعث بهبود عملکرد تخمیرات شکمبه می‌گردد. البته خصوصیات فیزیکی جیره‌های گوساله‌ها تحت تاثیر نسبت علوفه به کنسانتره، نوع علوفه و

جمعیت میکروبی موجود در روده میزان کلسترول خون را تحت تاثیر قرار می‌دهد، میکروبهایی موجود با مصرف کلسترول از جذب آن توسط بافت‌های روده جلوگیری می‌کنند. پروبیوتیکها مانع جذب اسیدهای صفراوی از انتهای روده و طی شدن مسیر روده‌ای-کبدی اسیدهای صفراوی می‌شوند و از این طریق سبب تبدیل اسیدهای صفراوی اولیه (اسید کولیک و کتو داکسی کولیک) به اسیدهای صفراوی ثانویه (دزاکسی کولیک و اسیدلیتوکولیک) می‌شوند. این اسیدها با مواد غیرقابل جذب، ترکیب نامحلولی ایجاد می‌کنند که جذب نشده و از طریق مدفوع خارج می‌شوند. بازجذب و حضور اسیدها و نمک‌های صفراوی در کبد از جمله مهم‌ترین عوامل محرک تولید و ترشح صفرا به عنوان مهم‌ترین عامل هضم چربی‌ها است (۳۰). افزایش عددی و معنی‌دار در غلظت بتا هیدروکسی بوتیرات پلاسمای خون دام‌های تغذیه شده با مکمل‌های افزودنی می‌تواند نشانه جذب بیشتر اسیدهای چرب فرار (بوتیرات) از شکمبه و نیز افزایش تخمیر و

جویدن، نشخوار کردن و خوردن بین به گروهی بود که پروبیوتیک مصرف کرده بودند. گاوهایی که پروبیوتیک به تنهایی مصرف کرده بودند بیشترین طول مدت خوردن را به لحاظ عددی داشتند و با سایر گروه‌ها فقط از لحاظ عددی بیشتر بود. در مورد نشخوار کردن و طول مدت زمان خوردن هم همین روند وجود داشت. پروبیوتیک و پری‌بیوتیک در جدول ۵ نشان داده شده است.

کنسانتره، درصد منابع فیبر غیر علفی، اندازه ذرات و نوع فرآیند مواد خوراکی تشکیل دهنده جیره قرار می‌گیرد (۴۱). بالج مدت زمان جویدن به ازای هر کیلوگرم ماده خشک را به عنوان معیار بیولوژیکی خصوصیات فیزیکی علفی پیشنهاد کرد (۳۹).

### جمعیت کل باکتریها

نتایج مربوط به جمعیت کل باکتریها در سنین مختلف بعد از خوراک دهی حاصل از جیره های مکمل شده با مقادیر متفاوت زمان

جدول ۴- اثر جیره های آزمایشی بر فعالیت نشخوار در گوساله های هلشتاین<sup>۱</sup>  
Table 4- Effect of experimental diets on ruminal activity in Holstein Calves<sup>1</sup>

فراسنجه ها Factors	جیره‌های آزمایشی <sup>۲</sup> Experimental rations <sup>2</sup>				SEM	P-Value
	گروه شاهد Control group	گروه پروبیوتیک Probiotic group	گروه پری بیوتیک Prebiotic group	گروه سین بیوتیک Synbiotic group		
مدت زمان خوردن (دقیقه در ۲۴ ساعت) Eating time (Minutes in 24 hours)	324.875	340.485	344.420	330.328	8.143	0.1251
مدت زمان نشخوار کردن (دقیقه در ۲۴ ساعت) The duration of the rumination (Minutes in 24 hours)	365.150	385.685	375.200	374.225	7.645	0.1091
مدت زمان کل جویدن (دقیقه در ۲۴ ساعت) Total chewing time (Minutes in 24 hours)	690.025	726.143	719.620	704.553	12.711	0.1491
مدت زمان خوردن (دقیقه به ازای یک کیلوگرم ماده خشک مصرفی) Eating time (Minutes per kg of dry matter)	30.725	29.940	31.400	28.425	7.107	0.1291
مدت زمان نشخوار کردن (دقیقه به ازای یک کیلوگرم ماده خشک مصرفی) The duration of the rumination (Minutes per kilogram of dry matter)	40.375	44.940	41.650	41.675	5.820	0.2091
مدت زمان کل جویدن (دقیقه به ازای یک کیلوگرم ماده خشک مصرفی) Total chewing time (Minutes per kg of dry matter)	71.100	74.880	73.050	70.100	1.181	0.2091

<sup>۱</sup> اعداد با حروف متفاوت در هر ردیف با هم تفاوت معنی دار دارند ( $P < 0.05$ ).

<sup>۲</sup> جیره‌های آزمایشی شامل: ۱- گروه شاهد (شیر فاقد افزودنی) ۲- گروه پروبیوتیک (شیر + ۲ گرم پروبیوتیک) ۳- گروه پری بیوتیک (شیر + ۴ گرم پری بیوتیک) ۴- گروه سین بیوتیک (شیر + ۲ گرم پروبیوتیک و ۴ گرم پری بیوتیک).

<sup>1</sup>Means within same row with different superscripts differ significantly ( $P < 0.05$ ).

<sup>2</sup>Experimental diets including: 1- control group (no additive milk) 2- probiotic group (milk + 2 gr probiotic) 3- prebiotic group (milk + 4 gr peribiotic) 4- synbiotic group (milk + 2 gr Probiotic and 4 gr of peribiotic).

**جدول ۵- اثر جیره‌های آزمایشی بر جمعیت کل باکتریها بعد از خوراک دهی در گوساله‌های هلشتاین<sup>۱</sup>**

**Table 5- Effect of experimental diets on the total population of bacteria after feeding in Holstein calves<sup>1</sup>**

فراسنجه ها Factors	جیره‌های آزمایشی <sup>۲</sup> Experimental rations <sup>2</sup>				SEM	P-Value
	گروه شاهد Control group	گروه پروبیوتیک Probiotic group	گروه پری بیوتیک Prebiotic group	گروه سین بیوتیک Synbiotic group		
جمعیت کل باکتریها (ضربدر لگاریتم، واحد تشکیل دهنده کلنی) Total population of bacteria (multiplied by Log of 10 units of colony formation)	8.32	8.57	8.50	8.44	0.34	0.4121
میانگین Average	8.32	8.57	8.50	8.44	0.34	0.4121
۱۴ روزگی 14 days	7.98	8.22	8.35	8.29	0.39	0.3121
۳۰ روزگی 30 days	8.46	8.55	8.52	8.48	0.35	0.0621
۶۳ روزگی 63 days	8.52	8.71	8.65	8.55	0.41	0.0721

<sup>۱</sup> اعداد با حروف متفاوت در هر ردیف با هم تفاوت معنی دار دارند ( $P < 0.05$ ).

<sup>۲</sup> جیره‌های آزمایشی شامل: ۱- گروه شاهد (شیر فاقد افزودنی) ۲- گروه پروبیوتیک (شیر + ۲ گرم پروبیوتیک) ۳- گروه پری بیوتیک (شیر + ۴ گرم پری بیوتیک) ۴- گروه سین بیوتیک (شیر + ۲ گرم پروبیوتیک و ۴ گرم پری بیوتیک).

<sup>1</sup>Means within same row with different superscripts differ significantly ( $P < 0.05$ ).

<sup>2</sup>Experimental diets including: 1- control group (no additive milk) 2- probiotic group (milk + 2 gr probiotic) 3- prebiotic group (milk + 4 gr peribiotic) 4- synbiotic group (milk + 2 gr Probiotic and 4 gr of peribiotic).

تامین غلظت مناسبی از انرژی و پروتئین و مشابه بودن مواد مغذی در تمام جیره های آزمایشی اختلاف معنی داری در بین صفات فوق‌الذکر مشاهده نگردید.

### غلظت IgG در سنین مختلف

نتایج مربوط به IgG در سنین مختلف بعد از خوراک دهی حاصل از جیره های کامل شده با مقادیر متفاوت پروبیوتیک و پری بیوتیک در جدول ۶ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که افزودن مکمل پروبیوتیکی به شیر در سنین مختلف تاثیر معنی داری بر غلظت IgG خون داشت ( $P < 0.05$ ). بطوری که بیشترین میزان IgG مربوط به گروهی بود که پروبیوتیک مصرف کرده بودند و با گروه‌های شاهد و گروه سین بیوتیک اختلاف معنی داری ( $P < 0.05$ ) داشت ولی فقط از لحاظ عددی از گروه پری بیوتیک بیشتر بود و این روند در همه سنین ۳، ۷ و ۳۰ روزگی ادامه داشت.

الصیدی (۴) گزارش کرد که گوساله‌های دریافت کننده پروبیوتیک، ایمونوگلوبولین بیشتری درخون داشتند. بریکفیلد و همکاران (۱۰) گزارش دادند که افزودن پروبیوتیک به آغوز و پروتئین تام خون نشد.

این نتایج، با نتایج تحقیقات الصیدی و همکاران (۴) و آلبردا و همکاران (۳) مشابه بود ولی با یافته‌های ریدل و همکاران (۵۱) مطابقت نداشت.

بطوریکه مشاهده می‌شود، با مصرف پروبیوتیک مقدار جمعیت کل باکتریها بصورت عددی و ناچیز بعد از خوراک دهی افزایش یافت ولی هیچ‌گونه اختلاف معنی داری در سنین مختلف در بین گروه‌های دریافت کننده مکمل مشاهده نشد. مکملهای پروبیوتیکی جذب آمونیاک، توسط باکتری های سلولولایزیک را افزایش داده و شرایط رشد مناسبتری برای این گونه‌ی باکتریایی در شکمبه فراهم می‌کند و باعث تحریک رشد باکتریایها می‌شود. افزودن مخمر می‌تواند منجر به افزایش جمعیت باکتریایی شکمبه گردد که در نهایت باکتریها به عنوان منبع انرژی و پروتئین مورد مصرف پروتوزوا قرار می‌گیرند. از این طریق مخمر می‌تواند باعث تعادل نیتروژن در شکمبه نیز شود. مخمر می‌تواند باعث وتثبیت pH شکمبه شده و از این طریق می‌تواند باعث افزایش میزان خوراک، مصرفی و افزایش تعداد و فعالیت پروتوزوای شکمبه شود (۶).

در تأیید این استدلال، گزارش شده است که در بررسی‌هایی که در آن عوامل محیطی کاملاً کنترل شده بوده و عوامل تنش‌زا و بیماریزا به حد کافی وجود نداشته است، اثر مفید مکملهای پروبیوتیکی در جلوگیری از بیماری دیده نشده است (۶). همچنین عدم اختلاف در شمار باکتریهای کشت شده نیز تأیید کننده عدم بروز اختلال شدید در جمعیت باکتریایی روده است که در این آزمایش به دلیل معتدل بودن شرایط تغذیه‌ای گوساله‌های مورد آزمایش و نیز



چسبیدن پروبیوتیکها به دیواره روده عامل اصلی در ایجاد ایمنی در گوساله است. در این صورت پروبیوتیکها می‌توانند به باکتریهای مفید کمک کنند در ترشحات بدن حیوان، زنده باشند و باعث افزایش جمعیت پروبیوتیکها شوند (۵۳)، بنابراین افزایش جذب ایمونوگلوبولین‌ها با استفاده از پروبیوتیک در تحقیق حاضر را میتوان به بهبود سلامت روده نسبت داد (۵۳).

مطالعات پیشین نشان داده که وجود عوامل بیماریزا در آغوز در جذب غیرفعال ایمونوگلوبولینها از روده گوساله تداخل ایجاد می‌کنند. جیمز و همکاران (۳۵) نشان دادند که استفاده از آغوز پاستوریزه باعث افزایش جذب ایمونوگلوبولینها در گوساله می‌شود. عدم تاثیرگذاری تیمار سینبیوتیک میتواند ناشی از کاهش خوشخوراکی شیر و کاهش مصرف آنها باشد، زیرا مقدار پروبیوتیک و پری‌بیوتیک افزوده شده در این گروه به مراتب بیشتر از پروبیوتیک بوده است.

**جدول ۶-** اثر جیره‌های آزمایشی بر غلظت ایمونوگلوبولین‌ها در سنین مختلف بعد از خوراک دهی در گوساله‌های هلشتاین<sup>۱</sup>

**Table 6-** Effect of experimental diets on the concentration of immunoglobulins at different ages after feeding in Holstein calves<sup>1</sup>

Factors	جیره‌های آزمایشی <sup>۲</sup>				SEM	P-Value
	Experimental rations <sup>2</sup>					
	گروه شاهد Control group	گروه پروبیوتیک Probiotic group	گروه پری بیوتیک Prebiotic group	گروه سین بیوتیک Synbiotic group		
غلظت IgG در سنین مختلف (گرم در لیتر) Concentration of IgG at different ages (g / l)						
۳ روزگی 3 days	10.68 <sup>b</sup>	16.13 <sup>a</sup>	14.35 <sup>a</sup>	11.22 <sup>b</sup>	1.459	0.1801
۷ روزگی 7 days	9.23 <sup>b</sup>	15.32 <sup>a</sup>	13.23 <sup>a</sup>	9.892 <sup>b</sup>	1.392	0.1001
۳۰ روزگی 30 days	10.68 <sup>b</sup>	15.23 <sup>a</sup>	11.45 <sup>b</sup>	10.22 <sup>b</sup>	1.298	0.1201

<sup>۱</sup> اعداد با حروف متفاوت در هر ردیف با هم تفاوت معنی دار دارند ( $P < 0.05$ ).

<sup>۲</sup> جیره‌های آزمایشی شامل: ۱- گروه شاهد (شیر فاقد افزودنی) ۲- گروه پروبیوتیک (شیر + ۲ گرم پروبیوتیک) ۳- گروه پری بیوتیک (شیر + ۴ گرم پری بیوتیک) ۴- گروه سین بیوتیک (شیر + ۲ گرم پروبیوتیک و ۴ گرم پری بیوتیک).

<sup>1</sup>Means within same row with different superscripts differ significantly ( $P < 0.05$ ).

<sup>2</sup>Experimental diets including: 1- control group (no additive milk) 2- probiotic group (milk + 2 gr probiotic) 3- prebiotic group (milk + 4 gr peribiotic) 4- synbiotic group (milk + 2 gr Probiotic and 4 gr of peribiotic).

باعث بهبود شاخص‌های عملکردی گوساله مانند ضریب تبدیل غذایی شود. افزودن پری بیوتیک به همراه پروبیوتیک به صورت سین بیوتیک تاثیر مثبتی بر شاخص‌های عملکردی نداشت که باعث افزایش هزینه می‌شود. پیشنهاد می‌گردد در مطالعات آینده، اثر پری بیوتیک به تنهایی در سطوح مختلف نیز بررسی گردد.

### نتیجه گیری کلی

در مجموع، نتایج نشان داد که استفاده از پروبیوتیک می‌تواند باعث افزایش فعالیت نشخوار و در نتیجه باعث کاهش مصرف خوراک شود. همچنین، پروبیوتیک می‌تواند باعث افزایش معنی داری در جذب ایمونوگلوبولینها در گوساله‌ها شود. استفاده از پروبیوتیک می‌تواند

### منابع

- 1- Abe, F., N. Ishibashi, and S. Shimamura. 1995. Effect of administration of bifidobacteria and lactic acid bacteria to newborn calves and piglets. *Journal of Dairy Science*, 78: 2838-2846.
- 2- Afshar Mazandaran, N. V., and A. Rajab. 2002. Probiotics and their application in feeding livestock and poultry. Nourbakhsh Publication. (In Persian).

- 3- Alberda, C., L. Gromlish, J. Meddings, C. Field, and L. McCargar. 2007. Effects of probiotic therapy in critically ill patients: A randomized double-blind, placebocontrolled trial. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 85: 816-823.
- 4- Aldana, C., S. Cabra, A. Carlos, F. Carvajal, and F. Rodriguez. 2009. Effect of probiotic compound in rumen development, diarrhea incidence and weight gain in young Holstein calves. *World Academy of Science, Engineering and Technology*, 33 pp.
- 5- Al-Saidy, M. Y. 2010. Effect of bacteria on immunoglobulin G concentration and other blood components of newborn calves. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 9: 604-609.
- 6- Azimzadeh, A., A. Asadi al-Mutati, A. Akbar Khadem, and J. Mohammad Moradi. 2015. Effects of feeding a synbiotic additive on the growth and health performance of Holstein calves. *Animal production research*. Sixth year Number, 12:113-105. (In Persian).
- 7- Baron, E. J., and S. M. Finegold. 1990. *Diagnostic Microbiology*. 8th ed. the CV. Mosby Company. Toronto, Canada.
- 8- Bayat Koharsar, J., A. Tahmasebi, A. Nasserian and M.R. Rezaei. 2014. Effect of using probiotic produced in laboratory on the performance of infant calves. 6th Iranian Congress of Animal Sciences. Tabriz University, (In Persian).
- 9- Bomba, A., R. Nemcova, D. Mudronova, and P. Guba. 2002. The possibilities of potentiating the efficacy of probiotics. *Trends in Food Science, Tech*. 13: 121-126.
- 10- Brakefield, K., S. Godden, J. Fetrow, P. Rapnicki, C. Jones, R. Bey, and D. Haines. 2010. Effect of feeding Bovamine® probiotic on passive transfer of immunoglobulin G in newborn calves. *Proceeding of Minnesota Dairy Health Conference, University of Minnesota, USA*, Pp: 103-104.
- 11- Chimwano, A. M., E. R. Orskov, and C. S. Stewart. 1976. Effect of dietary proportions of roughage and concentrate on rate of dried grass disappearance in the rumen of sheep. *Proceedings of the Nutrition Society*, 35(2): 101A-102A.
- 12- Cruywagen, C. W., I. Jordaan, and L. Venter. 1996. Effect of *Lactobacillus acidophilus* supplementation of milk replacer on preweaning performance of calves. *Journal of Dairy Science*, 79: 483486.
- 13- Darreh Zarashkipour, M., Kh. Parsaei Mehr, F. Hossein Zadeh, and P. Farhomand. 2013. The effect of different levels of prebiotic supplementation (E-max) on digestibility and some biochemical parameters of serum of West Azarbaijan native pups. *Veterinary Clinic Pathology*. Volume 7, Number 4, Thousands. 2. Page 321-314, (In Persian).
- 14- Deka, R. S. 2009. Effect of probiotic Biobloom as growth promoter in kids. *Indian Veterinary*, 86(11): 1192-1193.
- 15- Dvorak, R. A., K. A. Jacques, and K. E. Newman. 1998. Mannanoligosaccharide, fructooligosaccharide and Carbadox for pigs 0-21 dayspost-weaning. *Journal of Animal Science*, 76(Suppl. 2): 64.
- 16- El-Hassan, S. M., C. J. New bold, and I. E. Edwards. 1996. Effect of yeast culture on rumen fermentation, microbial protein flow the rumen and live weight gain in bulls given high concentrate diets. *Animal Production Science*, 62:43-48.
- 17- Elizondo-Salazar, J.A. and A.J. Heinrichs. 2009. Feeding heat-treated colostrum to neonatal dairy Heifers; effect on growth characteristics and blood parameters. *Journal of Dairy Science*. 92: 3265-3273.
- 18- Enjalbert, F., J.E. Garrett, R. Moncoulon, C. Bajourthe and P. Chicoteau. 1999. Effects of yeast culture (*saccharomyces cerevisiae*) on ruminal digestion in non-lactating dairy cows. *Animal Feed Science and Technology*, 183: 140-151.
- 19- Fowler, J., R. Kakani, A. Haq, J. Byrd, and C. Bailey. 2015. Growth promoting effects of prebiotic yeast cell wall products in starter broilers under an immune stress and clostridium perfringens challenge. *The Journal of Applied Poultry Research*, 24: 66-72.
- 20- Frizzo, L.S., M. V. Zbruna, L. P. Sotoa and M. L. Signorinib. 2011. Effects of probiotics on growth performance in young calves: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Animal Feed Science and Technology* 169, 147-156.
- 21- Fujiwara, K., M. Yamazaki, H. Abe, K. Nakashima, Y. Yakabe, M. Otsuka, Y. Ohbayashi, Y. Kato, K. Namai, A. Toyoda, Y. Miyaguchi, and Y. Nakamura. 2009: Effect of *Bacillus subtilis* var. natto fermented soybean on growth performance, microbial activity in the caeca and cytokine gene expression of domestic meat type chickens. *The Journal of Poultry Science*, 46: 116-122.
- 22- Fuller, R. 1977. The importance of lactobacilli in maintaining normal microbial balance in the crop. *British Poultry Science*, 18: 85-94.
- 23- Fuller, R. 1992. *Probiotics: the scientific basis* Chapman and Hall. London. pp:1-20 Galip N, 2006. Effects of dietary *Saccharomyces cerevisiae* live Yeast culture supplementation on ruminal digestion and protozoa count in rams fed with diets with or high ratio forage / concentrate. *Faculty of veterinarymedicine*. 16059 bursa /Turkey, 157(12): 609-613.

- 24- Galvao, K. N., J. E. Santos, A. Coscioni, M. Villasenor, W. M. Sischo, and A. C. Berge. 2005. Effect of feeding live yeast products to calves with failure of passive transfer on performance and patterns of antibiotic resistance in fecal *E. coli*. *Reproduction Nutrition Development*, 45: 427-440.
- 25- Gibson, G. R. 2004. Fibre and effects on probiotics (the prebiotic concept). *Clinical Nutrition Supplements*, 1(2): 25-31.
- 26- Gibson, G. R. and M. B. Roberfroid. 1995. Dietary modulation of the human colonicmicrobia: Introducing the concept of prebiotics. *Journal of Nutrition*, 125: 1401-1412.
- 27- Girard, I.D. 1995. Stimulation of ruminal bacteria by difference fractions derived from culture of *Saccharomyces cerevisiae* strain 1026. *J. Anim. Sci.* 73: (Suppl.1): 264 (Abstr).
- 28- Heinrichs, A.J., C. M. Jones and B. S. Heinrichs. 2003. Effects of mannan oligosaccharide or antibiotics in neonatal diets on health and growth of dairy calves. *Journal of Dairy Science*, 86:4064.
- 29- Heydari Khormizy, S., R. Dehghan, M. Benadiki, K. Researcher, and A. Zali. 2007. Study of the effect of probiotic and fungal probiotics on production performance of Holstein cattle in early lactation. Master's thesis, University of Tehran, (In Persian).
- 30- Hood, S., and E. Zoitola. 1988. Effect of low pH on the ability of *Lactobacillus acidophilus* to survive and adhere to human intestinal cells. *Journal of Food Science*, 53(5): 1514-1520.
- 31- Hossain, S. A., S. Parnerkar, N. Haque, R. S. Gupta, D. Kumar, and A. K. Tyagi. 2012. Influence of dietary supplementation of live yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) on nutrient utilization ruminal and biochemical profiles of Kankrej calves. *Int. Journal of Applied Animal Research*, 1(1): 30-38.
- 32- Hossein Abadi, M., M. Dehghan Banadaki, and A. Zali. 2013. Effect of adding probiotic bacteria in milk or initial feed on growth performance, health condition, blood and stomatal parameters of Holstein calves. *Animal production research*. forth year. Number, 8: 69-57 (In Persian).
- 33- Houdijk, J. G. M., M. W. Bosch, S. Tamminga, M. W. A. Verstegen, and E. B. Berenpas. 1999. Apparent ileal and total-tract nutrient digestion by pigs as affected by dietary non-digestible oligosaccharides. *Journal of Animal Science*, 77: 148-158.
- 34- James, R. E., C. E. Polan, and K. A. Cummins. 1981. Influence of administered indigenous microorganisms on uptake of [<sup>125</sup>Iodine] {gamma}-globulin in vivo by intestinal segments of neonatal calves. *Journal Dairy Science*, 64: 52-61.
- 35- Jin, M., H. Shao, Z. Jiang, F. Jin, T. Chen, and J. Wang. 2012. A reliable immunoturbidimetry method for immunoglobulin G in bovine colostrum. *Food and Agricultural Immunology*, 23: 133-144.
- 36- Kaske, M., and W. Von-Engelhardt. 1990. The Effects of size and density on mean retention time of particles in the gastrointestinal tract of sheep. *British Journal Nutrition*, 63:457.
- 37- Kogan, G., and A. Kocher. 2007. Role of yeast cell wall polysaccharides in pig nutrition and health protection. *Livestock Science*, 109-165.
- 38- Krehbiel, C. R., S. R. Rust, G. Zhang and S. E. Gilliland. 2003. Bacterial direct-fed microbials in ruminant diets: Performance response and mode of action. *Journal of Animal Science*, 81: E120-E132.
- 39- Kritas, S. K., and R. B. Morrison. 2005. Evaluation of probiotics as a substitute for antibiotics in a large pig nursery. *The Veterinary Record*, 156: 447-448.
- 40- Mainardi, S. R., B. A. Hengst, S. G. Nebzydoski, L. M. Nemecek, and T. F. Gressly. 2012. Effects of obomasal oligofructose on blood and feces of Holstein steers. *Department of Animal and Food science*, 45: 155-161.
- 41- Mertens, D. R. 1997. Creating a system for meeting the fiber requirements of dairy cow. *Journal of Dairy Science*, 80: 1463-1481.
- 42- Mohamadi, P., and N. Dabiri. 2012. Effects of probiotic and prebiotic on average daily gain, fecal shedding of *Escherichia coli*, and immune system status in newborn female calves. *Asian-Australian Journal of Animal Sciences*, 25: 1255-1261.
- 43- Morrison, S. J., S. Dawson and A. F. Carson. 2010. The effects of mannan oligosaccharide and *Streptococcus faecium* addition to milk replacer on calf health and performance. *Livestock Science*, 131: 292-296.
- 44- Nakanishi, Y., C. W. Arave, and P. H. Stewart. 1993. Effect of feeding *Lactobacillus acidophilus* yogurt on performance and behavior of dairy calves. *Journal of Dairy Science*, 76(Suppl.1): 244 pp.
- 45- Nisbet, D. J., and S. A. Martin. 1991. Effect of *Saccharomyces cerevisiae* culture on lactate utilization by the ruminal bacterium *Selenomonas ruminantium*. *Journal of Animal Sciences*, 69:4628-4633
- 46- Novak, K. N., E. Davis, C. A. Wehnes, D. R. Shields, J. A. Coalson, A. H. Smith, and T. G. Rehberger. 2012. Effect of supplementation with an electrolyte containing a *Bacillus*-based direct-fed microbial on immune development in dairy calves. *Research in Veterinary Science*, 92: 427-434.
- 47- Pieper, R., P. Janczyk, V. Urubshurov, U. Korn, B. Pieper and W. B. Souffrant. 2009. Effect of a single oral administration of *Lactobacillus plantarum* DSMZ 8862/8866 before and at the time point of weaning on intestinal microbial communities in piglets. *International Journal of Food Microbiology*, 130: 227-232.
- 48- Piras, C., and S. Bovolenta. 1995. The use of brewer's yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) for weaning calves. *Zootecnica e Nutrizione Animale*, 21: 57-61.

- 49- Piva, G., S. Belladonna, G. Fusconi, and F. Sicoaldi. 1993. Effects of yeast on dairy cow performance, ruminal fermentation, blood composition and milk manufacturing properties. *Journal of Dairy Science*, 76:2717-2722.
- 50- Rameshwar S., L. C. Chaudhary, D. N. Kamra, and N. N. Pathak. 1998. Effect of dietary supplementation with yeast cell suspension (*Saccharomyces cerevisiae*) on nutrient utilisation and growth response in crossbred calves. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 11: 268-271.
- 51- Riddell, J. B., A. J. Gallegos, D. L. Harmon, and K. R. Mcleod. 2010. Addition of a *Bacillus* based probiotic to the diet of pre ruminant calves: influence on growth, health and blood parameters. *Intern. Journal of Applied Research in Veterinary Medicine*, 8: 78-85.
- 52- Sami, N., S. Salminen, G. Bylund, and A. Ouwehand. 2001. Characterization of properties of human- and Dairy-derived probiotic for prevention of infectious disease in fish. *Appl. Environ. Microbiol*, 67: 2430-2435.
- 53- Santoso, B., B. Mwenya, C. Sar, Y. Gamo, T. Kobayashi, and R. Morikawa. 2004. Effects of supplementing galacto-oligosaccharids, *Yucca schidigra* or nisin on rumen metanogenesis, nitrogen and energy metabolism in sheep. *Livestock Production Science*, 91: 209-217.
- 54- SAS, Institute. 2003. *SAS User's Guide*. Version 9.1 ed. SAS Institute Inc., Cary, NC.
- 55- Savage, D. C. 1987. Microorganisms associated with epithelial surfaces and the stability of the indigenous gastrointestinal microflora. *Die Nahrung*. 5-6:383-390.
- 56- Taylor, D. J. 2001. Effects of antimicrobials and their alternative. *British Journal of Poultry Science*, 42: 67.
- 57- Timmerman, H. M., L. Mulder, H. Everts, D. C. van Espen, E. van der Wal, G. Klaassen, S. M. G. Rouwers, R. F. Hartemink, M. Rombouts, and A. C. Beynen. 2005. Health and growth of veal calves fed milk replacers with or without probiotics *Journal of Dairy Science*, 88: 2154-2165.
- 58- Vakili-Saleh, F., F. Moslemipur, Y. Mostafaloo., and R. Ghorbani. 2012. Study of effects of heating and antibiotic addition to colostrum on passive transfer of immunoglobulins, growth and health parameters in calves. M.Sc. thesis, University of Gonbad Kavoo. (In Persian)
- 59- Zhang, R., M. Zhou, Y. Tu, N. F. Zhang, K. D. Deng, T. Ma, and Q. Y. Diao. 2015. 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: 33-38.



## The Effect of Additive Supplementation on Blood Metabolites, Microbial Population, Ruminants and Inactive Transmission of Immunoglobulins in Holstein Calf

Masood Didarkhah<sup>1\*</sup> - Moosa Vatandoost<sup>2</sup>

Received: 13-03-2018

Accepted: 28-07-2018

**Introduction** In ruminant animals, the microbial population of the digestive tract can be controlled by several factors such as growth promoters, probiotics, periobacters, enzymes, essential oils, oligosaccharides and plant additives. Before weaning, dairy calves are susceptible to many pathogens and nutritional problems. For several years antibiotics have been used to overcome these problems also to obtain economic benefits in terms of improved calves performance and reduced medication costs. However, the use of antibiotics in animal husbandry is in question because of antibiotic resistance of microorganisms. Research shows an association between the use of sub-therapeutic dose of antibiotics and antibiotic-resistance organisms. Probiotics are live microbial feed supplements which beneficially affect the host animal by improving its microbial balance. Most of probiotic studies that were reported in the literatures used single or two strains probiotics rather than multi strains bacteria, Prebiotics are non-digestible carbohydrates which are not metabolized in the small intestine and fermented in large intestine. reported that dietary chitosan oligosaccharides supplementation was effective in increasing the ileal digestibilities of nutrients and feed efficiency in broilers. Also reported that broilers fed diet supplemented with oligochitosan prebiotic had higher serum IgG, IgM and IgA concentration compared with broiler fed control diet. Dietary supplementation with Chinese herbal ultra-fine 3 powder as a prebiotic enhances cellular and humoral immunity in early weaned piglets. In this study, the effect of adding supplements to milk on functional parameters, blood metabolites, microbial population and inactivation of immunoglobulins to calves were investigated.

**Materials and methods** Sixteen newly-born Holstein male calves were used in four completely randomized treatments for 60 days. Treatments included: 1- control group (no additive milk) 2- probiotic group (milk + 2 gr probiotic) 3- prebiotic group (milk + 4 gr perbiotic) 4- synbiotic group (milk + 2 gr probiotic and 4 gr perbiotic). Calves were weighed at 3, 30 and 63 days of age after feeding the milk at the morning meal, and the feed intake was measured and recorded daily from day 10 to the end of the period for each calf. On the 14, 30 and 63 days samples of all calves were taken from the feces for microbial culture. Blood samples were taken at nine o'clock in the morning (two hours after the morning meal) on weekdays. To measure the concentration of metabolites, plasma samples were melting at room temperature to determine the serum levels of serum cholesterol, glucose, albumin, triglyceride and total protein plasma from a biosorbent kit and an autoanalyzer (model A15, France) with two replications measured. IgG concentrations were measured by immunoturbidimetry method using the COBAS INTEGRA kit at a wavelength of 800-400 nm on the fourth day of the course, the total activity was measured for 24 hours by direct observation (28 and 51). The duration of rumination and eating was considered as the duration of maturation, and the activity of rumination and eating every five minutes was recorded for 24 hours.

1- Assistant Professor, Faculty of Agriculture Sarayan, University of Birjand, Birjand, Iran,

2- Department of Agriculture, Payame Noor University, PO BOX 19395-3697, Tehran, Iran.

(\* Corresponding Author E-mail: masooddidarkhah@birjand.ac.ir)

The duration of rumination and eating from the product of the number of each observation was obtained at intervals of five minutes.

**Results and discussion** In calves fed with a diet containing probiotic supplement The lowest feed intake and the best feed conversion ratio were observed in all periods compared to other treatments. Glucose and Triglyceride, total cholesterol concentration, total plasma protein and plasma aliquin concentrations were not affected by probiotic and peri-biotic supplements in diets and no significant differences were found between diets. Probiotic supplementation significantly reduced the concentration of triglycerides in the blood plasma of calves fed with supplement supplements ( $P < 0.05$ ). The highest concentration of triglyceride was in the control group, with a significant difference ( $P < 0.05$ ) with other groups. The lowest concentration of beta-hydroxybutyrate was in the control group, with a significant difference ( $P < 0.05$ ) with other groups. In the calf Fed with probiotic The total amount of bacteria increased slightly after feeding, but there was no significant difference between different age groups in the complementary recipient groups. The highest IgG levels were in the group that consumed probiotics and there was a significant difference between the control group and the synbiotic group ( $P < 0.05$ ), but it was only numerically higher than the prebiotic group and this trend All ages 3, 7 and 30 continued.

**Conclusion** In general, the results showed that supplementation with probiotic additive could improve the livestock's economic indices.

**Key words:** Additive supplement, Calves, Immunoglobulins, Microbial population, Ruminants.