مقاله علمی پژوهشی/نشریه پژوهش‌های علوم دامی/ جلد ۳۰ شماره ۳/ سال۱۳۹۹/ صفحات ۱۳ تا ۲۳

DOI: 10.22034/AS.2021.30955.1470

تأثیر تغذیه پری بیوتیک، پروبیوتیک و سین بیوتیک ها بر عملکرد، فاکتورهای خونی و وضعیت اشرشیاکولی مدفوع گوساله‌های شیرخوار هلشتاین

غلامرضا رحمانی[۱]، رضا ولی زاده[۲*] و عباسعلی ناصریان[۲]

تاریخ دریافت : ۹۷/۱۰/۱۹ تاریخ پذیرش: ۹۸/۲/۸

[۱] دانشجوی دکتری گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد

[۲] استاد گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد

*مسئول مکاتبه: Email: valizadeh@um.ac.ir

چکیده

زمینه مطالعاتی: افزودن برخی ترکیبات خاص به شیر مصرفی گوساله ها می تواند منجر به سلامتی بهتر و رشد بیشتر آنها شود. **هدف**: این آزمایش به منظور بررسی تأثیر شیر حاوی پروبیوتیک، پری بیوتیک و سین بیوتیک بر رشد و عملکرد گوساله های شیرخوار در یک گاوداری صنعتی انجام شد. **روش کار**: تعداد ۲۴ رأس گوساله شیرخوار نر هلشتاین(وزن اولیه ۳ ± ۴۲ کیلوگرم) به طور تصادفی به چهار تیمار غذایی اختصاص داده شدند . تیمارهای آزمایشی شامل: ۱) شاهد یا تغذیه شیر کامل بدون اضافه کردن هیچگونه افزودنی، ۲) شیر کامل همراه با ۱/۵ گرم پروبیوتیک، ۳) شیر کامل همراه با ۵ گرم پری بیوتیک، و ۴) شیر کامل همراه با ۱/۵ گرم پروتکسین و۵ گرم اینولین (سین بیوتیک یا مخلوط پروبیوتیک و پری بیوتیک) بود، که به مدت ۶ هفته در اختیار گوساله ها قرار گرفت. **نتایج**: میزان خوراک مصرفی و افزایش وزن روزانه گوساله های تیمارهای **۱، ۲ و ۳** به‌طور معنی‌دار (P<۰/۰۵) بالاتر از گوساله های گروه شاهد بود. همچنین تعداد اشرشیاکولی در مدفوع گوساله‌هایی که با پروبیوتیک، پری‌بیوتیک و سین بیوتیک تغذیه شده بودند کمتر از تعداد آنها در مدفوع گوساله های گروه شاهد بود (P<۰/۰۵). تفاوت قابل ذکری بین گوساله های گروه‌های مختلف در خصوص برخی از فاکتورهای خونی مشاهده نشد. **نتیجه گیری نهایی**: این مطالعه نشان داد که افزودن پروبیوتیک، پری بیوتیک و تلفیق این دو افزودنی به شیر، موجب ارتقای میانگین رشد روزانه و همچنین کاهش اشرشیاکولی مدفوع در بین گوساله‌های شیرخوار و یا در مجموع عملکرد بهتر آنها گردید.

واژگان کلیدی : پروبیوتیک، پری بیوتیک، سین بیوتیک، اینولین، پروتکسین

مقدمه

دوره زمانی تولد تا از شیرگیری به عنوان حساس ترین دوره پرورش گوساله درنظر گرفته می‌شود. در طول این مرحله بحرانی، گوساله تازه متولد شده باید با محیط تازه بیرون از محیط رحم سازگار شود.

سالیان زیادی است که از آنتی بوتیک ها جهت مقابله با عوامل بیماری زا و حتی بروز اثرات مثبت تغذیه‌ای استفاده می‌شود هرچند این کاربرد مزایای اقتصادی چون عملکرد بهتر گوساله‌ها و کاهش هزینه‌های دارویی را به همراه داشته ولی امروزه کاربرد آنها در دامپروری به دلیل تأثیرات سوء بر سلامتی انسان مورد سئوال قرار گرفته است. تحقیقات انجام شده وجود رابطه بین استفاده دارویی از آنتی‌بیوتیک‌ها و عملکرد منفی مقاومتی ناشی از

این کاربرد را نشان میدهند(آمبلی و همکاران۱۹۹۵و پیدوک و همکاران۱۹۹۶).

برای جایگزینی آنتی‌بیوتیک‌ها در غذای حیوانات، افزودنی‌های متنوعی پیشنهاد شده است که از جمله آن می‌توان به پروبیوتیک‌ها، پری بیوتیک‌ها و تلفیق این دو اشاره نمود (هنریش و همکاران ۲۰۰۳ومموریل و همکاران ۱۹۹۵).

پروبیوتیک‌ها میکرواورگانیسم های زنده غذایی هستند و تأثیر مثبت آنها بر ارتقای تعادل میکروبی حیوان میزبان به اثبات رسیده است(فولر۱۹۸۹). به اثرات مثبت کاربرد پروبیوتیک‌ها به صورت محافظت از حیوانات جوان در مقابل نارسایی‌های التهابی روده (تیمرمن و همکاران۲۰۰۵)، افزایش اثربخشی غذا و افزایش وزن اشاره شده است(کیوری واگن و همکاران ۱۹۹۵ و لسمیستر و همکاران۲۰۰۴). با وجود اینکه به طور دقیق مکانیسم عملکردی پروبیوتیک‌ها مشخص نشده است، اما می‌توان گفت پروبیوتیک‌ها همانند باکتری‌های تولیدکننده اسید لاکتیک، باعث کاهش pH در داخل روده بزرگ میشوند و موجبات کاهش رشد باکتری های بیماری زا را فراهم می کنند(ریدل و همکاران۲۰۱۰). عمده تحقیقات موجود در خصوص پروبیوتیک‌های یک و یا دوسویه صورت گرفته و بر روی باکتری‌های چندسویه پژوهش‌های کمتری انجام شده است، اما رولف (۲۰۰۰) بیان داشت که پروبیوتیک‌های چندسویه عملکرد به مراتب بهتری نسبت به پروبیوتیک‌های یک‌سویه دارند چرا که می‌توانند اسیدلاکتیک بیشتری به نسبت پروبیوتیک های یک سویه تولید کنند.

پری بیوتیک‌ها، کربوهیدرات‌ها غیرقابل هضمی هستند که در روده کوچک متابولیزه نمی شوند. بتا گلوکان‌ها و مانان الیگوساکاریدها، پری بیوتیک‌هایی هستند که از دیواره‌ی سلولی سایکرومایسیس سروزیه مشتق شده و قادر هستند تا از رشد و چسبیدن باکتری های بیماری زا به دیواره مخاطی دستگاه گوارش جلوگیری کنند (کوگان و کوچر۲۰۰۷).

استفاده از پری‌بیوتیک‌ها در تغذیه گوساله‌ها می‌تواند منجر به کاهش جمعیت کلی‌فورم مضر در روده بزرگ و کولون گوساله‌ها گردد(میگویل و همکاران۲۰۰۴). همچنین مطالعات اخیر نشان داده است که پری‌بیوتیک‌ها دارای ویژگی افزایش‌دهنده سیستم ایمنی نیز هستند. تانگ و همکاران(۲۰۰۵)، نشان دادند که الیگوساکاریدها همچون چیتاسون و گالاکتو مانان ها می‌توانند از طریق افزایش تولید هورمون رشد و انسولین موجبات استفاده بهتر از خوراک را فراهم کنند.

سین‌بوتیک‌ها حاصل ترکیب پروبیوتیک‌ها و پری‌بیوتیک‌ها می‌باشند. هنریش و همکاران(۲۰۰۲) دریافتند که پارامترهای ایمنی مانند لکوسایت ها و نوتروفیل ها بر اثر استفاده از سین‌بیوتیک‌ها افزایش یافت.

بنابراین هدف از این پژوهش بررسی تأثیر تغذیه شیر حاوی پروبیوتیک، پری بیوتیک و سین‌بیوتیک بر رشد و مصرف بیشتر خوراک و عملکرد ایمنی گوساله‌های شیرخوار بود.

مواد و روش‌ها

تعداد ۲۴ راس گوساله نر هلشتاین با وزن اولیه : ۳ ± ۴۲ کیلوگرم بر اساس وزن بدن به تیمارهای مختلف اختصاص داده شد. گوساله‌ها در روز اول از مادر جدا شدند و در جایگاه های انفرادی مخصوص گوساله‌ها قرار داده شدند. هر جایگاه انفرادی مجهز به سیستم تغذیه و آبخوری اختصاصی و تهویه هوا بود، و توزیع گوساله‌ها در این جایگاه‌ها بصورت تصادفی بود. برای بستر این جایگاه‌ها از پوشش کاه استفاده شد. این بستر بطور روزانه جمع‌آوری شد و با کاه تازه جایگزین گردید. میانگین دمای محیط این جایگاه‌ها ۳ ± ۳۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۳ ± ۱۸ درصد بود.

به گوساله‌ها در هنگام تولد از طریق ظروف سرپستانک دار ۱/۵ لیتر آغوز تازه خورانده شد و این عمل ۴ ساعت بعد تکرار گردید و پس از آن نیز هر ۱۲ ساعت تکرار شد. گوساله‌ها تا سه روز با آغوز تغذیه شدند و بعد از آن از شیر معمولی استفاده شد و این عمل تا انتهای ۶ هفته ادامه یافت.

گوساله ها در یک طرح کاملاً تصادفی به یکی از ۴ تیمار آزمایشی زیر بطور تصادفی اختصاص داده شد.

۱) گروه شاهد : تغذیه شیر معمولی فاقد هرگونه افزودنی

۲) شیر معمولی + ۱/۵ گرم پروبیوتیک پروتکسین (پروبیوتیک چند-رشته‌ای شامل ۷ باکتری رشته‌ای و ۲ مخمر رشته‌ای با غلظت $۲×۱۰^{۹}$ پرگنه)
۳) شیر معمولی + ۵ گرم پری بیوتیک اینولین
۴) شیر معمولی + ۱/۵ گرم پروتکسین + ۵ گرم اینولین

گوساله‌ها روزانه ۲ بار در ساعات ۷ و ۱۶ با شیر تغذیه شدند، همچنین خوراک شروع‌کننده (جدول ۱) و آب تا حد توان و خوردن گوساله‌ها به آن‌ها داده شد. خوراک شروع‌کننده عاری از هر گونه مواد تسریع‌کننده رشد بود. حجم غذای شروع‌کننده در حین دوره آزمایش به صورت روزانه ثبت گردید. وزن بدن نیز در روز تولد و همچنین پس از آن به صورت هفتگی تا هفته ششم مورد سنجش و ثبت قرار گرفت.

Table 1- The starter feed ingredients of calves (%)

Feed ingredient of calf starter	%
Barely	26
Corn	17
Soybean meal	20
Flax seed	10
Wheat bran	9
Dried Sugar Beet Pulp	5
Cottonseed	4
Fish meal	4
Cottonseed Meal	3
Salt	0.1
Lime	0.1
Di-calcium phosphate	0.1
Bentonite	0.2
Vitamin supplement	0.75
Mineral supplement	0.75

نمونه‌گیری از مدفوع و خون

نمونه‌ی مدفوعی در هفته‌های دوم، چهارم و ششم بعد از تولد از مقعد با استفاده از دستکش‌های لاستیکی استریل برداشت گردیده و در لوله‌های پلاستیکی استریل درب دار نگهداری شد. نمونه ها تا زمان اندازه‌گیری نرخ بقاء اشرشیاکولی در فریزر با دمای منهای ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید. شمارش اشرشیاکولی بر اساس روش گو و همکاران (۲۰۰۶) انجام شد.

نمونه‌های خون از رگ وداجی در فاصله روزهای ۱۴ و ۴۲ بعد از تولد سه ساعت پس از وعده غذایی صبح گرفته شد. در آزمایشگاه ابتدا سرم خون از طریق استفاده از سانتریفیوژ دارای ۲۰۰۰ دور در دقیقه طی زمان ۱۰ دقیقه از خون جدا گردید و در دمای منهای ۲۰ درجه سانتی‌گراد منجمد گردید و سپس برای محاسبه نرخ نوتروفیل، لنفوسیت و مونوسیت مورد استفاده قرار گرفت.

تحلیل آماری

تمامی تحلیل‌های آماری بر اساس روش ANOVA با استفاده از فرآیند مدل خطی عمومی و استفاده از نرم افزار SAS انجام شده است. داده‌ها با عنایت به طراحی کامل تصادفی با فرض گوساله به عنوان واحد آزمایشی و سنجش مجدد، مورد تحلیل قرار گرفت. در زمان بررسی و تحلیل متغیرهای خونی، تأثیر زمان و همچنین تعاملات درونی بین زمان و رفتار به عنوان عاملی ثابت در نظر گرفته شد. نتایج به صورت میانگین خطای استاندارد گزارش گردید. مقایسه میانگین‌ها برای داده‌هایی که آنالیز واریانس یکطرفه داشتند به روش دانکن انجام گرفت.

برای مقایسه فاکتورهای افزایش وزن و مصرف خوراک از رویه mixed نرم افزار SAS استفاده شد. مقایسه میانگین‌ها به روش دو به دو صورت گرفت.

نتایج و بحث

با بررسی داده‌های مربوطه به مصرف خوراک نشان داد که بین مصرف خوراک گوساله‌ها در تیمارهای مختلف بین گروه شاهد و بقیه گروه‌ها تفاوت معناداری ($P<۰/۰۵$) وجود دارد (جدول۲).

در عمده آزمایش‌ها که تأثیر پروبیوتیک‌ها بر روی گوساله‌ها مورد مطالعه قرار گرفت، تحقیقات بر روی پروبیوتیک‌های یک یا دو رشته‌ای[1] متمرکز شده‌اند. کویگلی و دیگران (۱۹۹۲) هیچ گونه تأثیر معنی داری را در مخمر پروبیوتیک در مصرف ماده شروع‌کننده در گوساله‌های شیری را مشاهده نکردند. دونوان و همکاران (۲۰۰۲) گزارش دادند که مقدار مصرف خوراک شروع کننده بین گروه گوساله‌های که پروبیوتیک مصرف کردند

[1] Single or tow - strains

با گروه شاهد یکسان بود. راست و همکاران (۲۰۰۰) گزارش دادند که ماده خشک مصرفی در بین گوساله پرواری که پروبیوتیک (اسیدلاکتیک) را دریافت کرده‌اند، افزایش یافت. مایکل و آبنی (۲۰۰۱) گزارش کردند که هیچ‌گونه تفاوت معنی داری بین گروه کنترل با گوساله‌هایی که پری‌بیوتیک و پروبیوتیک دریافت کردند، مشاهده نگردید. جاتکاسکاس و همکاران (۲۰۱۰) دریافتند که افزودن پروبیوتیک انتروکوکوس فاسیم به جایگزین شیر گوساله‌ها ی شیر خوار باعث افزایش وزن روزانه و مصرف ماده خشک شد.

Table 2- The feed intake of the experimental calves (g / day) with / without additives

	Experimental group					
Week	**Control**	**Inulin**	**Protexin**	**Synbiotic**	**SEM**	**P-Value**
2	49.83	55.50	83.33	84.00	0.84	0.0001
3	189.17	169.67	177.83	197.50	0.82	0.0001
4	550.50	566.67	600.00	617.50	1.64	0.0001
5	651.33	696.67	639.83	695.83	1.37	0.0001
6	747.83	747.17	699.50	768.33	1.31	0.0001
7	1040.00	1147.50	1133.50	1195.00	2.33	0.0001

داده‌های هفتگی میانگین افزایش وزن روزانه نشان می‌دهد که گوساله‌هایی که با پروبیوتیک و سین‌بیوتیک تغذیه شدند، به طور مداوم دارای افزایش وزن بالاتری به نسبت گوساله‌های گروه شاهد و پری‌بیوتیک بودند (جدول ۳). به طور کلی، نشان داده شد که گوساله‌هایی که با پروبیوتیک چند سویه، پری بیوتیک و سین‌بیوتیک مورد تغذیه قرار گرفته بودند، به طور معنی داری به نسبت گروه شاهد ($P<0.05$)، دارای افزایش وزن بالاتری بوده‌اند. با این حال بین دسته پروبیوتیک و پری‌بیوتیک تفاوت معنی داری دیده نشد.

در روده بزرگ، پروبیوتیک کلونیزه شده و باکتری‌های سودمند همچون لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و انتروکوکوس فوزیوم چند برابر می‌شوند و باکتری‌های مضر را بیرون رانده و خود را در سیستم هضمی تثبیت می‌کنند. پری‌بیوتیک در کولون و روده بزرگ به وسیله‌ی این باکتری‌های سودمند تخمیر می‌گردند. این می‌تواند موجب شود تا تغییراتی در جمعیت میکروارگانیسم‌های سودمند ایجاد شود. به علاوه، تولید اسیدهای چرب فرار توسط باکتری‌های تخمیری پری‌بیوتیک در حیوانات، می‌تواند منجر به افزایش انرژی و تغییر مورفولوژی روده‌ای گردد. این تغییرات محتمل در میکروبیولوژی و ماهیت شیمیایی روده بزرگ، می‌تواند عامل افزایش وزن در هفته‌های پایانی باشد. تحقیقات همچنین نشان داده که پروبیوتیک‌ها و پری‌بیوتیک‌ها می‌توانند قابلیت هضم ماده خشک، انرژی، پروتئین خام وآمینواسیدها را افزایش دهند (لی و همکاران۲۰۰۸ و کونگ و همکاران ۲۰۰۸و۲۰۱۱) همچنین، پروبیوتیک‌ها موجب تولید ویتامین B می‌شوند که ممکن است خود باعث افزایش متابولیسم در روده گردد و در نهایت رشد بیشتر دام را باعث گردد(کویگلی و همکاران ۱۹۹۷). لمیستر و همکاران (۲۰۰۴) بیان کردند در زمانی که ۲ درصد پروبیوتیک به خوراک گوساله‌ها اضافه شده، میانگین رشد روزانه، بالاتر بود. همچنین آبه و همکاران(۱۹۹۵) دو ترکیب پروبیوتیکی بیفیدو باکتریوم و لاکتوباسیبوس اسیدوفیلوس را در اختیار گوساله‌های ۷ تا ۳۵ روزه قرار دادند. طبق نتایج حاصله، هر دو نوع پروبیوتیک بر روی افزایش وزن تأثیر داشتند. در این آزمایش گوساله‌هایی که ترکیب پری بیوتیک و پروبیوتیک را داشته‌اند دارای افزایش وزن روزانه بالاتری به نسبت گوساله‌هایی که فقط پری‌بیوتیک یا پروبیوتیک را کسب کرده‌اند، داشته‌اند شاید دلیل آن هم‌افزایی تأثیر سین‌بیوتیک بر باکتری‌های سودمند در مقابل حالت پروبیوتیک و یا پری‌بیوتیک به تنهایی باشد.

Table 3- Average daily weight gain of calves during weeks (g / day) with / without additives

	Experimental group					
Week	**Control**	**Inulin**	**Protexin**	**Synbiotic**	**SEM**	**P-Value**
1	42.16	40.66	42.83	42.16	1.00	0.0001
2	42.48	41.40	43.46	42.91	0.99	0.0001
3	43.16	42.50	44.50	44.10	0.99	0.0001
4	44.58	45.01	46.58	47.08	0.90	0.0001
5	49.18	50.51	52.20	52.96	0.91	0.0001
6	55.01	59.25	61.11	62.31	0.92	0.0001
7	63.00	69.50	70.58	72.61	0.89	0.0001

شمارش اشرشیاکولی مدفوع نشان داد که گوساله‌هایی که پری‌بیوتیک، پروبیوتیک و یا سین‌بیوتیک را دریافت کرده‌اند، دارای مقدار اشرشیاکولی مدفوعی کمتری در مقابل گروه شاهد بودند (جدول۴). در این خصوص دو مکانیسم قابل پیش‌بینی است؛ ۱) میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک برخی مواد بازدارنده همچون ارگانیک اسیدها و باکتریوسین‌ها تولید می‌کنند که این ترکیبات ضد باکتری ممکن است در مقابل برخی از عوامل بیماری‌زا فعال باشند. ۲) به رقابت غیرسکونتی باکتری‌های مضر برای چسبیدن به سطح مخاطی روده مربوط می‌باشد.

اعلام و همکاران (۲۰۰۳) گزارش کردندکه لاکتوباسیلوس اسیدو فیلوس بر کاهش مقدار اشرشیاکولی مدفوع گوساله‌های نر تأثیر داشته است. لیو وهمکاران (۲۰۰۸) در آزمایشی که بر روی تأثیر پری‌بیوتیک‌ها بر میزان اشرشیاکولی مدفوع و لاکتوباسیلها در بچه خوک‌ها انجام دادند، بیان داشتند که جیره‌هایی که شامل پری‌بیوتیک بودند نرخ اشرشیاکولی را کاهش دادند و تعداد لاکتوباسیلاسهای مدفوع روز ۲۱ آزمایش نسبت به گروه کنترل بیشتر بود.

مانان اولیگوساکاریدها می‌توانند لکتین موجود در دیواره سلولی باکتری‌های بیماری‌زای را مهار کنند. این اتصال پروبیوتیکی به دیواره سلول‌های بیماری‌زا می‌تواند محل‌های اتصال آن‌ها را غیرفعال کرده و در نهایت باعث می‌شود تا این باکتری‌ها بدون ایجاد هر گونه آسیبی، از طریق مدفوع خارج شوند. هرچند که مایکل و آبنی (۲۰۰۱) هیچ‌گونه تفاوت معنی‌داری برای جمعیت اشرشیاکولی مدفوعی را در بین گوساله‌های دریافت کننده پروبیوتیک، پری بیوتیک و کنترل مشاهده نکردند. تیرمن و همکاران (۲۰۰۵) گزارش کردند که پرو بیوتیک های چند سویه اضافه شده در جایگزین شیر، باعث کاهش اسهال در گوساله‌های شیرخوار شد. مان همکاران (۱۹۸۰) گزارش کردند در بره‌های شیرخواری که لاکتوباسیلوس دریافت کردند، اثرات اشرشیاکولی کاهش داشت.

شیم (۲۰۰۵) گزارش داد که ویژگی‌های خونی (نرخ گلبول‌های سفید، نوتروفیل، مونوسیت، لیمفوسیت) توسط پری‌بیوتیک، پروبیوتیک‌های چند رشته‌ای و سین‌بیوتیک‌ها در خوک‌های شیری بی تأثیر بوده است. هرچند، هنریش و همکاران (۲۰۰۲)، بیان کردند که متغیرهای ایمنی مانند لیمفوسیت‌ها، لکوسیت‌ها و نوتروفیل‌ها گرایش به افزایش در بچه خوک‌هایی که سین‌بیوتیک دریافت کرده‌اند را در مقایسه با گروه کنترل و گروهی که لاکتوباسیل دریافت کرده اند، نشان داده‌اند.

پاندا و همکاران (۲۰۰۷) گزارش دادند که پروبیوتیک‌ها برروی پاسخ ایمنی بین سلولی و پاسخ ایمنی خونی طیور موثر بوده‌اند. امانوئل و همکاران (۲۰۰۷) گزارش دادند که پروبیوتیک پاسخ‌های التهابی را در گوساله‌های نری که جیره پرغلات مصرف میکرده اندرا تحریک کرده است.

Table 4- E. coli counts (log cfu/g) in calf feces with / without additives

	Experimental group					
Week	**Control**	**Inulin**	**Protexin**	**Synbiotic**	**SEM**	**P-Value**
2	7.67^{c}	7.68^{a}	7.65^{b}	7.57^{ab}	0.033	0.0029
4	7.68^{b}	7.64^{a}	7.62^{a}	7.54^{a}	0.041	0.0401
6	7.71^{b}	7.61^{b}	7.58^{b}	7.51^{a}	0.036	0.0217

^{a,b,c,d} Means within the same line with different superscripts differ significantly ($P<0.05$)

داده‌های بیوشیمیایی سرم و پلاسمای خون نشان داد که تفاوت معناداری در بازه‌های زمانی مختلف برای نرخ نوتروفیل و لیمفوسیت وجود نداشته است (جدول ۵).

Table 5- Blood characteristics of the experimental calves fed with / without additives

Sampling day	Blood Variable	Experimental group					
		Control	Inulin	Protexin	Synbiotic	SEM	P-Value
14	Neutrophil	31.33	28	28	32.8	2.62	0.3936
	Lymphocyte	67.33	70.66	70.66	64.83	2.88	0.2564
42	Neutrophil	27.33	30.16	30.16	29	1.93	0.7012
	Lymphocyte	69	69.5	69.5	66.67	2.43	0.9265

نتیجه گیری

افزودن پروبیوتیک چند سویه، پری‌بیوتیک و سین‌بیوتیک به شیر کامل گوساله‌های نر شیرخوار باعث افزایش وزن روزانه و خوراک مصرفی شد. همچنین موجب کاهش اشرشیاکولی و باکتری‌های پاتوژنیک در دستگاه گوارش گردید. در مورد فاکتورهای خونی، مقدار نوتروفیل و لیمفوسیت دارای تفاوت معناداری با گروه شاهد بود، اما در مورد مونوسیت‌ها با گروه شاهد تفاوت معنی داری نداشت. به نظر می‌رسد رابطه بین سلامت و عملکرد گوساله های نر و ماده متناسب با این افزودنی ها باید بیشتر مورد تحقیق و مطالعه قرار گیرد.

در مجموع می توان گفت استفاده از این افزودنی های سازگار با محیط و سلامت گوساله‌ها جایگزین مناسبی برای مواد خطرآفرین و دارای اثرات جانبی مضر چون آنتی‌بیوتیک‌ها باشد.

منابع مورد استفاده

Abe F and Shimamura S, 1995. Effect of administration of Bifidiobacteria and Lactic acid bacteria to newborn calves and piglets. Journal of Dairy Science 78:2838-2846.

Amabile-Cuevas C, Cardenas-Garcia S and Ludgar M, 1995. Antibiotic resistance. Journal Animal Science 83:320-332.

Cruywagen CW, Ina J and Venter L, 1995. Effect of *lactobacillus acidophilus* supplementation of milk replacer on preweaning performance of calves. Journal Dairy Science 79:483-486.

Donovan DC, Franklin ST, Chase CC and Hippen AR, 2002. Growth and health of Holstein calves fed replacer supplemented with antibiotics or Enteroguard. Journal Dairy Science 85: 947-950.

Elam NA, Gleghorn JF, Rivera JD, Galyean ML, Defoor PJ, Brashears MM and Yountsdahl SM, 2003. Effects of live cultures of *Lactobacillus acidophilus* (strains NP45 and NP51) and *propionibacteroum freudenreichii* on performance, carcass, and intestinal characteristics and *Escherichia coli* strain 0157 shedding of finishing beef steers. Journal Animal Science 81: 2686-2698.

Emmanuel DGV, Jafari A, Beauchemin KA and Leedle JAZ, 2007. Feeding live cultures of *Enterococcus faecium* and *Saccharomyces cerevisiae* induces an inflammatory response in feedlot steers. Journal Animal Science 85:233-239.

Fuller R, 1989. Probiotics in man and animal. A review. Journal of Applied Bacteriology 66:365-378.

Guo X, Li D, Lu W, Piao X and Chen X, 2006. Screening of *Bacillus* strains as potential probiotics and subsequent confirmation of the *in vivo* effectiveness of *Bacillus subtilis* MA139 in pigs. Antonie Van Leeuwenhoek 90:139-146.

Heinrichs AJ, Jones M and Heinrichs BS, 2003. Effects of mannanoligosaccharide or antibiotic in neonatal diets on health and growth of dairy calves. Journal Dairy Science 86:4064-4069.

Kogan G and Kocher A, 2007. Role of yeast cell wall polysaccharides in pig nutrition and health protection. Journal Livestock Science 75:1009-1016.

Jatkauskas J and Vrotniakiene V, 2010. Effect of probiotic dietary supplementation on diarrhea patterns, fecal microbiota and performance of early weaned calves. Veterinarni Medicina10:494-503

Kong XF, GY W and YL Yin, 2011. Roles of phytochemicals in amino acid nutrition. Front. Bio Science S3:372-384.

Kong XF, YL Yin, He QH, Yin QH, Liu QH, Li QH, Huang RL, Geng VZ, Ruan, Deng ZY, Xie MY and Wu G, 2008. Dietary supplementation with Chinese herbal powder enhances ileal digestibilities and serum concentrations of amino acids in young pigs. Amino Acids 37:573-582.

Lesmeister, Heinrichs KEA and Gabier MT, 2004. Effects of supplemental yeast culture on rumen development, growth character and blood parameters in neonatal dairy calves. Journal Dairy Science 87:1832-1839.

Li LL, Hou ZP, Yang CB, Wu GY, Huang RL, Tang ZR, Gong JH, Yu H, Li TJ, Kong XF, Pan CF, Deng J, Wang XQ, Yin G and Yin YL, 2008. Effects of probiotic supplementation on ileal digestibility of nutrients and growth performance in 1-d-old to 42-d-old broilers. Journal of The Science of Food and Agriculture 88:135-142.

Liu P, Piao XS, Kim SW, Wang L, Shen YB, Lee HS and Li SY, 2008. Effects of chito-oligosaccharides supplementation on the growth performance, nutrient digestibility, intestinal morphology, and fecal shedding of *Escherichia coli* and lactobacillus in weaning pigs. Journal Animal Science 86:2609-2618.

Mann SO, Grant C and Hobson PN, 1980. Intractions of *E.coli* and *lactobacilli* in lambs. Microbioslett 15:141-144.

Michael D and Abney BS, 2001. Effects of feeding direct-fed microbials and prebiotics on receiving calf performance, health, and fecal shedding of pathogens. MSc thesis, Texas Tech University, August 2001.

Miguel JC, Rodriguez-Zas SL and Pettigrew JE, 2004. Efficacy of a mannan oligosaccharide (Bio-Mos) for improving nursery pig performance. Journal Swine Health Prod 12: 296-307.

Morrill JL, Morrill M and Feyerherm AM, 1995. Plasma protein and probiotic as ingredients in milk replacer. Journal Dairy Science 78:902-907.

Panda AK, Rama-Rao SS, Raju MV and Sharma SS, 2007. Effect of probiotic feeding on egg production and quality, yolk cholesterol and humoral immune response of white leghorn layer breeders. Journal of The Science of Food and Agriculture 88:43-47.

Piddock LJV, 1996. Does the use of antimicrobial gent in veterinary medicine and animal husbandry select antibiotic resistant bacteria that can infect man and compromise antimicrobial chemotherapy? Journal Antimicrobial Chemotherapy 38:1-3.

Quigley JDL, Wallis B, Downlow H and Heitman RN, 1992. Sodium bicarbonate and yeast culture effects on ruminal fermentation, growth and intake in dairy calves. Journal Dairy Science 75:3531-3538.

Quigley JD, Drewry VL, Murray M and Ivey SJ, 1997. Body weight gain, feed efficiency, and fecal scores of dairy calves in response to galactosyl-lactose or antibiotics in milk replacers. Journal Dairy Science 80:1751- 1754.

Riddell JB, Gallegos AJ, Harmon DL and Mcleod KR, 2010. Addition of a Bacillus based probitic to the diet of preruminant calves: influence on growth, health, and blood parameters. International Journal of Applied Research in Veterinary Medicine 8:78-85.

Rolfe RD, 2000. The role of probiotic cultures in the control of gastrointestinal health. Journal of Nutrition130:398S-402S.

Rust SR, Metz K and Ware DR, 2000. Effects of BovamineTM rumen culture on the performance and carcass characteristics of feedlot steers. Journal Animal Science 78(Supp2):83(Abstr.).

Shim SB, 2005. Effects of prebiotics, probiotics and synbiotics in the diet of young pigs. Ph.D. Thesis. Animal Nutrition Group, Wageningen Institute of Animal Sciences, Wageningen University and Research Center, Wageningen, Netherlands.

Tang ZR, Yin LY, Nyachoti CM, Huang RL, Li TG, Yang C B, Yang XG, Gong J, Peng J, Qi DS, Xing JJ, SunZH and Fan MZ, 2005. Effect of dietary supplementation of chitosan and galacto-mannan-oligosaccharide on serum parameters and the insulin like growth Factor-I mRNA expression in early-weaned piglets. Domestic Animal Endocrinology 28:430-441.

Timmerman HM, Mudler L, Everts H and Vanespan DC, 2005. Health and growth of veal calves fed milk replacer with or without probiotics. Journal Dairy Science 75:894-899.

The effect of using prebiotics, probiotics and synbiotics on performance, blood characteristics and *Escherichia coli* counts of Holstein suckling calves

GR Rahmani[1], R Valizadeh[2*] and AA Naserian[2]

Received: January 9, 2019 Accepted: April 28, 2019
[1]PhD Student, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran
[2]Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran
[*]Corresponding author: valizadeh@um.ac.ir

پژوهش‌های علوم دامی Animal Science Researches
Journal of Animal Science/vol.30 No.3/ 2020/pp 13-23
https://animalscience.tabrizu.ac.ir
OPEN ACCESS
© 2009 Copyright by Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran
This is an open access article under the CC BY NC license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/2.0/)
DOI: 10.22034/AS.2021.30955.1470

Introduction: Dairy calves, before weaning, are susceptible to various pathogens and nutritional problems. For decades, antibiotics were in use to increase the performance of calves and to lower the cost of medication. However, in the recent years, the use of antibiotics as growth enhancers in animal husbandry have been questioned by the scientific community due to the development of antibiotic resistance strains. Numerous studies have shown the association between the use of sub-therapeutic dose of antibiotics and antibiotic-resistant organisms (Amabile-Cuevas 1995, Piddock 1996). In an effort to replace antibiotics from animal feeds, many natural and synthetic additives have been proposed. Probiotic, prebiotics and combination of probiotic and prebiotic (synbiotics) are examples of these additives (Heinrich 2003, Morill 1995).

Probiotics are the live food micro-organisms and their positive effects on the microbial balance of the host animal have been repeatedly proved. Probiotics have been shown to have many biological functions, including protecting young animal against enteropathic disorders (Windschitle et al. 1991, Timmerman et al. 2005), increasing feed efficiency and weight gain (Cruywagen et al. 1995, Lesmiester et al. 2004) and improving the state of immune system (Yoon et al. 1995, Timmerman et al. 2005). Prebiotics are indigestible carbohydrates that are not digestible in whole gastro-intestinal tract of farm animals.

Mannanoligosaccharide (MOS) and *B-glucan* are prebiotics derived from *Saccharomyces cerevisiae* cell wall, are common prebiotics, could block fimbriae of pathogenic bacteria, and thus, prevent their adhesion to the mucosal epithelium (Kogan and Kocher 2007). Synbiotics are the feed additives derived from a combination of probiotics and prebiotics. The aim of this study was to investigate the effect of adding probiotic, prebiotic and synbiotic to whole milk on the growth, intake, and immune function of suckling calves.

Materials and methods: Twenty four Holstein male calves with an average live body weight of 42 ± 3 kg were assigned to the following treatments based on their live body weight: 1) Control group (feeding suckling calves with whole normal milk without any additive), 2) Feeding suckling calves with whole normal milk + 1.5 g per calf per day Protoxin probiotic (multivariate probiotic including seven filaments of bacteria and two filaments of yeast at a concentration of 2×10^9 cfu / g), 3) Feeding suckling calves with whole normal milk + 5 g per calf per day Inulin prebiotic, and 4) Feeding suckling calves with whole normal milk + 1.5 g per calf per day Protexin + 5 g per calf per day Inulin. Calves were fed twice daily at 7 and 16 hours. All the calves were fed by a starter contained: barely (26%), corn (17%), soybean meal (20%), flax seed (10%), wheat bran (9%), dried sugar beet pulp

(5%), cottonseed (4%), fish meal (4%), cotton seed meal (3%), salt (0.1%), lime (0.1%), dicalcium phosphate (0.1%), bentonite (0.2%), vitamin (0.75%), and mineral supplement (0.75%) for 60 days. Water was available at all times. Fecal samples were collected from rectum with sterile rubber gloves and placed in sterile plastic tubes with lid. The samples were stored in a freezer at -20°C until analysis for counts of *E. coli*. In-vitro survival and enumeration of *E. coli* were determined according to the method of Gue et al. (2006). Blood samples were collected from jugular veins on d 14 and 42, approximately 3 h after the morning feeding and transported to the laboratory. Serum was separated from blood by centrifugation at 2,000×g for 10 min. Serum was frozen at -25°C till analyzed for neutrophil, lymphocyte and monocyte concentration

Statistical analysis: Statistical analysis was performed based on ANOVA, general linear model (GLM) procedure by SAS software. The data were analyzed by complete randomized design assuming calf as test unit and re-calibration. The influence of time as well as the interactions between the time and the behavior were considered as a constant. when studying and analyzing blood variables.

Results and Discussion: The data analysis showed that there was a significant difference (P<0.05) between the control and the treatment groups in terms of feed intake. In majority of the previous experiments that have studied the effects of probiotics in calves, researchers focused on a one and or two strain of probiotics. Quigly et al. (1992) found no significant effect of yeast probiotic on intake of starter in dairy calves. Similarly, Donovan et al. (2002) reported that intake of dry matter of starter was similar between prebiotic-fed and normal diet -fed calves. However, Rust et al. (2000) reported increased dry matter intakes (DMI) in beef steers which received lactic acid-based probiotic. In contrary, Michael and Abney et al. (2001) reported no significant difference in DMI between calves received probiotic and prebiotic and control group. In line, our findings show that multi-strain probiotic fed, prebiotic-fed and synbiotic-fed calves had significantly (P<0.05) higher daily weight gain than the control group.

However, there was no significant difference (P>0.05) between the calves fed on milk containing probiotic and prebiotic additives. The effect of probiotics can be explained by the fact that, upon consumption these beneficial microorganisms (e.g., *lactobacillus acidophilus* and *enterococcus faecium*) will start to colonize and multiply in the large intestine excluding harmful bacteria from the digestive system. Prebiotic in the colon and large intestine are readily fermented by these beneficial bacteria increasing the population of beneficial microorganisms subsequently repressing the number of harmful bacteria in the digestive tract.

In addition, the production of volatile fatty acid (VFA) by prebiotic fermenting bacteria in animals may improve energy efficiency and alter intestinal morphology. These possible changes in the microbiology and chemistry of the large intestine may be responsible for improved average daily gain (ADG) at the ending weeks. It is also believed that probiotics and prebiotics can improve digestibility of dry matter, energy, crude protein, and amino acids (Li 2008, Kong 2008 and 2011) and increase bioavailability of minerals in the gut. Jatkauskas et al. (2010) found that adding *Enterococcus faecium* probiotic to milk would increase ADG and dry matter intake by calves. As presented in table 3, fecal *Escherichia coli* counts were lower in probiotic-, prebiotic- or symbiotic-fed calves than the control group (P<0.05).

Two mechanisms by which probiotics may reduce harmful bacteria such as *E. coli* in intestinal tract and fecal matter have been previously proposed. Firstly, probiotics microorganisms produce metabolites such as organic acids, hydrogen peroxide, and bacteriocins, which may act as antimicrobials against some pathogens. Second mechanism would be related to competitive inhabitation and attachment of harmful bacteria to the intestinal epithelial surfaces. Elam et al. (2003) reported that lactobacillus acidophilus decreased fecal *E. coli* shedding in beef steers. Mannanoligosaccharides (MOS) prebiotic is thought to bind the lectins in the cell wall of certain pathogenic bacteria. This binding of the MOS to the pathogenic cell wall inactive the binding sites of

the bacteria; thus, they are flushed out of the gastrointestinal tract without causing pathogenic effects. Liu et al. (2008) studied the effects of prebiotic on fecal shedding of *E. coli* and lactobacillus in weaning pigs. They concluded prebiotic containing that diet decreased *E. coli* count and increase lactobacillus in the feces on d 21 compared with the control diet. However, Michael and Abney et al. (2001) observed no significant difference in fecal E. coli populations of calves received probiotic, prebiotic, and control calves. Timmerman et al. (2005) reported that adding multi-strain probiotics to milk substitutes reduced diarrhea in suckling calves. Mann et al. (1980) reported the effects of *E. coli* in infant lambs receiving Lactobacillus.

Serum and blood plasma biochemical data showed that there was no significant difference in neutrophil and lymphocyte rates in different time intervals.

Shim et al. (2005) reported that hematological traits (WBC count, neutrophil, monocyte, lymphocyte and hemoglobin) were not affected by prebiotic, multi-strain probiotic and synbiotic in weaned pigs. However, Heinrich et al. (2002) found that immune parameters such as lymphocytes, leukocyte and neutrophils tended to increase by supplementation of synbiotic (combining lactobacillus and fructooligosaccharide).

Conclusion: Addition of multi-strain probiotic, prebiotic and synbiotic to whole milk of suckling calves increases their daily weight gain and feed intake. These treatments also reduced the *E. coli* and pathogenic bacteria counts in the gastrointestinal tract of calves. There was no significant difference in blood neutrophil and lymphocyte levels of calves fed milk containing additives in comparison with the control calves. It can be concluded that feeding the suckling calves with whole milk containing prebiotics, probiotics, or their mixture would result in better performance in terms of daily weight gain, feed conversion ratio as well as health of the animals.

Keywords: Inulin**,** Prebiotics, Probiotics, Protexin, Synbiotic