دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
پژوهشهای تولیدات دامی

اثر زمان‌بندی مصرف پروبیوتیک بر پایه باکتری‌های اسید لاکتیکی بر عملکرد و فعالیت ضد میکروبی سلول‌های خونی گوساله‌های نر نژاد کردی

محمد همدانی پور[۱]، حمیدرضا علی اکبرپور[۲] و یدالله چاشنی دل[۳]

۱- دانش آموخته گروه دامپزشکی، واحد بابل، دانشگاه آزاد اسلامی، بابل، ایران
۲- گروه دامپزشکی، واحد بابل، دانشگاه آزاد اسلامی، بابل، ایران، (نویسنده مسوول: aliakbarpour@hotmail.com)
۳- دانشیار، گروه علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

تاریخ دریافت: ۹۶/۱۲/۲۵ تاریخ پذیرش: ۹۷/۴/۳

چکیده

هدف از این آزمایش بررسی تأثیر زمان بندی مصرف پروبیوتیک برپایه باکتری‌های اسید لاکتیکی و بر عملکرد رشد و فعالیت ضد میکروبی گلبول‌های سفید گوساله‌های نر کردی بود. از این رو تعداد ۱۲ راس گوساله نر با میانگین وزن ۱۰± ۱۹۵ کیلوگرم و سن ۱۰±۲۴۰ روز پس از دوره عادت‌پذیری و شرایط یکسان به‌طور تصادفی به سه گروه آزمایشی با چهار تکرار تقسیم شدند. گروه‌های آزمایشی شامل تیمار ۱) گوساله‌هایی که از جیره رایج بدون استفاده از پروبیوتیک تغذیه شدند (کنترل). ۲) گوساله‌هایی که از جیره کنترل و با پروبیوتیک استفاده نمودند. ۳) گوساله‌هایی که جیره کنترل و دو روز در میان پروبیوتیک را طی دوره ۱۰۵ روزه آزمایش مصرف نمودند. برای بررسی عملکرد رشد و ضریب تبدیل خوراک، در روز ۵۲ و ۱۰۵ آزمایش پس از ۱۴ ساعت گرسنگی، توزین و رکوردگیری وزن انجام شد. در انتهای آزمایش میزان اکسیژن فعال سلول‌های سفید خون به‌عنوان شاخص فعالیت ضد میکروبی اندازه‌گیری شد. افزایش وزن و ضریب تبدیل خوراک تیمار ۲ و ۳ در پایان دوره آزمایش نسبت به هم تفاوت معنی‌داری نداشت ولی به طور معنی‌داری نسبت به تیمار کنترل به ترتیب بیشتر و کمتر بود (p<۰/۰۵). طی این مدت میانگین مصرف خوراک تیمار۳ نسبت به تیمار ۲ نیز کمتر بود (p=۰/۰۴۲۴). تفاوت میانگین اکسیژن فعال میان تیمارهای آزمایشی معنی‌دار نبود. این نتایج نشان داد که اگر چه فعالیت ضد میکروبی سلول‌های خونی تحت تأثیر پروبیوتیک واقع نشد ولی استفاده از پروبیوتیک تأثیر مثبتی بر بهبود رشد و ضریب تبدیل خوراک گوساله‌های نژاد کردی داشت و در نتیجه می‌توان برنامه استفاده روزانه پروبیوتیک را به استفاده دو روز در میان تغییر داد.

واژه‌های کلیدی: پروبیوتیک، اکسیژن فعال، رشد، گوساله

مقدمه

دستگاه گوارش علاوه بر نقشی که در هضم و جذب خوراک به عهده دارد بخشی از سیستم ایمنی ذاتی بدن نیز محسوب می‌گردد. باکتری‌های مفید روده جزء مهمی از سیستم ایمنی روده محسوب می‌شوند. وظایفی که به‌طور طبیعی روده به عهده دارد تحت تأثیر تعادل میان سه عامل جذب، ترشح و ظرفیت مانع شوندگی روده در برابر جذب پاتوژن‌ها یا ماکرومولکول‌های مضر از اپیتلیال روده می‌باشد. هر عاملی که تعادل میان این عوامل را بر هم زند می‌تواند زمینه‌های التهاب مزمن روده، اسهال، برخی بیماری‌ها، کاهش راندمان تولید و حتی مرگ به‌ویژه در گوساله‌ها را فراهم نماید (۴). پروبیوتیک‌ها از مهم‌ترین افزودنی‌های خوراکی محسوب می‌شوند که قادرند شرایط اکولوژیک و عملکرد وظایف دستگاه گوارش را بهبود داده (۱) و همچنین کارایی سلول‌های ایمنی بدن مانند ماکروفاژها را نیز افزایش دهند (۶). بر اساس تعریف ارائه شده توسط سازمان غذا و دارو و همچنین سازمان بهداشت جهانی، پروبیوتیک‌ها به میکروارگانیسم‌های زنده‌ای اتلاق می‌شود که اگر به مقدار لازم مصرف شوند قادرند در حفظ سلامت حیوان میزبان مؤثر واقع شوند (۹،۲۲). بر اساس گزارش‌های موجود، پروبیوتیک‌ها قادرند قابلیت هضم میکروبی شکمبه را بهبود دهند (۳،۱۲). بررسی‌های محققین نشان می‌دهد که استفاده از پروبیوتیک با تعدیل اسیدیته شکمبه (۱۳)، کاهش عوامل پاتوژن (۲۴) یا متأثر نمودن فعالیت ضد میکروبی سلول‌های سفید خون (۱۰) در بهبود ایمنی بدن، کاهش اختلالات و یا بیماری‌های نشخوارکنندگان مؤثر است. انفجار تنفسی به‌عنوان شاخصی از فعالیت ضد میکروبی سلول‌های ایمنی بدن معرفی شده است و پژوهش‌گران نشان دادند که این شاخص می‌تواند تحت تأثیر عوامل محیطی و تغذیه‌ای یا مصرف پروبیوتیک تحت تأثیر قرار گیرد (۶،۱۸). انفجار تنفسی[۱] بخشی از سیستم ایمنی ذاتی سلول‌های سفید ماکروفاژ مهره‌داران محسوب می‌شود که طی عمل آن اکسیژن‌های فعال[۲] شامل آنیون سوپر اکسید (O_2^-) یا هیدروژن پراکسید (H_2O_2) تولید می‌شوند که دارای تأثیرات سمی برای عوامل پاتوژن است (۲۰). با استفاده از معرف ۲، ۷ دی کلرو هیدروفلوروسین دی استات[۳] که به نام ۲، ۷ دی کلرو وفلوروسین دی استات[۴] نیز خوانده می‌شود میزان اکسیژن فعال قابل اندازه‌گیری است. این معرف ترکیب شیمیایی غیر قطبی پایدار، غیر فلورسنت و قابل نفوذ به داخل سلول می‌باشد که پس از ورود به سلول توسط آنزیم‌های استراز داخل سلولی هیدرولیز شده و به ترکیبی قطبی به نام ۲، ۷ دی کلرو هیدروفلوروسین تبدیل می‌شود که تا چند ساعت در سلول باقی می‌ماند. ترکیب حاصل تحت تأثیر اکسیژن فعال موجود در سلول ترکیبی با قابلیت فلورسنت شدید به نام ۲، ۷ دی کلرو فلوروسین تبدیل می‌شود (۶). اگر چه تاکنون تحقیقات زیادی در خصوص اهمیت استفاده از پروبیوتیک‌ها در تغذیه نشخوارکنندگان به عمل آمده است (۸،۲۲) ولی برخی از گزارش‌ها نتایج ضد و نقیضی در رابطه با کارآیی مصرف پروبیوتیک‌ها منتشر نمودند به‌طوری‌که در

1- Oxygen brust
2- Reactive oxygen species
3- Dichlorodihydrofluorescein diacetate (DCFH-DA)
4- Dichloro fluorescin diacetate

برخی از گزارش‌ها مشاهده می‌گردد که میزان عملکرد دام تحت تأثیر مصرف پروبیوتیک بهبود یافت (۲،۲۵) ولی وجود دارند تحقیقاتی که با استفاده از پروبیوتیک تغییری در عملکرد یا صفات بیولوژیک حیوان مشاهده ننمودند (۱۸،۲۳). بر اساس گزارش‌های موجود، برنامه مصرف و یا الگوی زمانی دوره استفاده پروبیوتیک یکی از عوامل مهمی است که تعداد و میزان ماندگاری باکتری‌های مفید در کانال گوارش حیوان میزبان و تأثیرگذاری پروبیوتیک‌ها را متأثر می‌نماید (۱،۴،۲۵) و می‌توان استنباط نمود که اگر باکتری‌های پروبیوتیکی ماندگاری لازم در کانال گوارشی را داشته باشند الزاما نیاز به مصرف روزانه آن‌ها نیست (۱،۲۲) ولی با این وجود متاسفانه گزارش‌های اندکی در خصوص الگوی زمانی دوره استفاده از پروبیوتیک برای تغذیه نشخوارکنندگان در دسترس می‌باشد. از این رو هدف از این آزمایش بررسی تأثیر مصرف پروبیوتیک برپایه باکتری‌های اسید لاکتیکی و تغییر برنامه زمانی استفاده از آن بر عملکرد رشد و میزان اکسیژن فعال حاصل از شاخص انفجار تنفسی برای فعالیت ضد پاتوژنی سلول‌های سفید خون گوساله‌های نژاد کردی ایران می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در یک گاوداری واقع در ورامین به انجام رسید. در شروع آزمایش گوساله‌ها به‌طور انفرادی با استفاده از ترازوی دیجیتال وزن شدند و ۱۲ راس گوساله نر نژاد کردی منطقه نقده با میانگین وزن ۱۰± ۱۹۵ کیلوگرم و سن ۱۰±۲۴۰ روز پس از گذراندن یک دوره عادت‌پذیری ۳۰ روزه به خوراک و محیط آزمایش در شرایط یکسان، به طور تصادفی به ۳ گروه آزمایشی با ۴ تکرار تقسیم شدند. همه گروه‌های آزمایشی به‌طور مشابه در طول دوره پرورش از جیره‌های خوراکی مرسوم برای رشد، بر پایه کنسانتره و علوفه تغذیه شدند. جیره آزمایشی با استفاده از نرم‌افزار NRC (2000) تنظیم گردید (۱۶) که در جدول ۱ نشان داده شده است.

جدول ۱- اجزاء مواد خوراکی و ترکیب شیمیایی جیره کنترل

Table 1. Ingredients and chemical composition of control diet

مواد خوراکی	(درصد)
دانه جو	۱۴
دانه ذرت	۱۰
کنجاله سویا	۴/۴
سبوس گندم	۱۰
مکمل معدنی و ویتامین	۰/۶۴
کربنات کلسیم	۰/۷۶
نمک	۰/۲
کاه گندم	۲۷
یونجه	۳۳
ترکیب شیمیایی بر حسب ماده خشک	
ماده خشک (درصد)	۸۹/۴
پروتئین خام (درصد)	۱۳
الیاف نامحلول در شوینده خنثی (درصد)	۴۱/۹
کلسیم (درصد)	۰/۸۷
انرژی قابل متابولیسم (مگاکالری در هر کیلوگرم)	۲/۱

همه گروه‌ها با جیره کنترل تغذیه شدند و گروه‌ها تنها در مصرف یا عدم مصرف پروبیوتیک و برنامه استفاده از پروبیوتیک از هم متفاوت بودند.

هر کیلوگرم مکمل معدنی و ویتامینی با نام تجاری Vitaphoscal حاوی ۵۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین A ، ۱۰۰۰۰۰ واحد بین المللی ویتامین D_3 ، ۱۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین E، ۱۹۵ گرم کلسیم، ۹۰ گرم فسفر، ۲۰ گرم منیزیم، ۵۵ گرم سدیم، ۳ گرم آهن، ۳ گرم روی، ۲ گرم منگنز، ۰/۲۸ گرم مس، ۰/۱ گرم کبالت و ۰/۰۰۱ گرم سلنیوم بود.

تنها تفاوت گروه‌های آزمایشی، در مصرف پروبیوتیک و یا برنامه زمانی مصرف پروبیوتیک بود. از این رو گروه‌های آزمایشی عبارت بودند از: گروه ۱ یا کنترل) گوساله‌های که در طول دوره آزمایش از جیره مرسوم بدون استفاده از پروبیوتیک تغذیه شدند. گروه ۲) گوساله‌هایی که از جیره کنترل و پروبیوتیک استفاده نمودند. در این گروه پروبیوتیک به‌صورت روزانه در اختیار گوساله‌ها قرار گرفت. گروه ۳) گوساله‌هایی که از جیره کنترل و به‌طور دوره‌ای با مصرف دو روز در میان پروبیوتیک طول دوره ۱۰۵ روزه آزمایش را طی نمودند. در این بررسی مطابق توصیه شرکت سازنده (StarLabs Inc., Clarksdale, MO, USA) سه گرم پروبیوتیک با نام تجاری پری‌مالاک (Primalac) همراه با خوراک کنسانتره خورانده شد. بر اساس آنالیز ارائه شده توسط شرکت تولیدکننده، هر گرم از پروبیوتیک شامل ۱×۱۰۸ C.F.U.[1] باکتری‌های مولد اسید لاکتیک و بدون پوشش باکتریایی می‌باشد. این باکتری‌ها شامل: Lactobacilluse acidophilouse, Lactobacilluse casei, Bifidobacterium thrmophilum, Enterococcuse faecium بود که طی چند سال اخیر نیز تأثیر آن‌ها به‌عنوان پروبیوتیک در کانال گوارشی حیوانات نشان داده شده است (۷). در این بررسی تیمارها در شرایط مشابه به صورت گروهی نگهداری شدند و به‌منظور جلوگیری از تماس گروه‌های آزمایشی و انتقال بستر، جایگاه گروه‌ها کاملا از هم جدا بوده و برای ورود به درون هر جایگاه از چکمه‌های اختصاصی و دستکش‌های جداگانه استفاده شد (۲۱). عملیات ضد عفونی محل نگهداری پیش از آغاز انجام آزمایش نیز به عمل آمد. مقدار خوراک‌های مصرفی کاملا یکسان و به صورت کاملا مخلوط طی ۳ وعده مساوی در ساعت‌های ۸، ۱۴، ۱۹ هر دوره ۲۴ ساعته در اختیار حیوانات قرار گرفته شد (۱۰). برای اندازه‌گیری مصرف

1- Colony-forming unit

خوراک روزانه مقدار خوراک باقی مانده از روز قبل در نایلون مخصوص به خود، قبل از شروع خوراک‌دهی صبحگاهی کاملا جمع‌آوری و به وسیله ترازوی تمام دیجیتال (۵ ± ۳۵۰۰ gr) شرکت محک اندازه‌گیری گردید. به منظور بررسی افزایش وزن، در روز ابتدا، ۵۲ و ۱۰۵ آزمایش (انتهای دوره) پس از ۱۴ ساعت گرسنگی با استفاده از ترازوی تمام دیجیتال وزن انفرادی گوساله‌ها اندازه‌گیری شد قابل ذکر است گوساله‌ها طی مدت گرسنگی به آب دسترسی داشتند. ضریب تبدیل خوراک نیز از تقسیم میانگین خوراک مصرفی به میانگین افزایش وزن زنده هر تیمار در طول دوره آزمایش محاسبه شد. به‌منظور بررسی اثر مصرف پروبیوتیک بر فعالیت متابولیک سلول‌های سفید خون به‌عنوان بخشی از سیستم ایمنی ذاتی، در انتهای آزمایش پس از خون‌گیری، میزان اکسیژن فعال به‌عنوان شاخصی از فعالیت ضد میکروبی سلول‌های سفید خون با استفاده از معرف ۲، ۷ دی کلرو دی هیدروفلوروسین دی استات و تکنیک فلوسایتومتری BD FACSCaliburtm Flow) Cytometer- BD Biosciences Co) مطابق روش استرینگ فلو و همکاران (۲۰) و فارنل و همکاران (۶) اندازه‌گیری شد. نتایج میانگین بازتابش فلورسنت ۲، ۷ دی کلرو فلوروسین پس از ۴۵ دقیقه ادغام شدن معرف با نمونه‌های خون در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، نشان دهنده اکسیژن فعال درون سلولی می‌باشد (۱۵). این تحقیق در قالب طرح کاملا تصادفی (CRD) مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار داده شد. مدل آماری به صورت زیر است:

$$Yij = \mu + \sigma j + \varepsilon ij$$

Yij: مقدار هر مشاهده
μ: میانگین کل
σj: اثر پروبیوتیک
εij: اثر عوامل ناشناخته

در این پژوهش از نرم‌افزار SAS (9.1) (۱۹) برای آنالیز داده‌ها استفاده شد. برای مقایسه میانگین‌ها نیز از آزمون دانکن در سطح احتمال ۰/۰۵ استفاده شد.

نتایج و بحث

افزایش وزن، میزان مصرف و ضریب تبدیل خوراک

نتایج مربوط به عملکرد رشد و ضریب تبدیل خوراک در جدول ۲ نشان داده شده است. تفاوت میانگین وزن بدن گروه‌های آزمایشی در زمان‌های رکوردگیری از نظر آماری معنی‌دار نیست. این در حالی است که اگر چه میانگین افزایش وزن بدن طی روزهای ۵۳ تا آخرین روز آزمایش (روز ۱۰۵) در گروه ۳ که دو روز درمیان پروبیوتیک مصرف نموده بودند نسبت به گروه کنترل تفاوت آماری معنی‌داری ندارد ولی میزان افزایش وزن این گروه و گروه آزمایشی ۲ که به‌طور روزانه پروبیوتیک مصرف نموده بود، طی طول ۱۰۵ روز آزمایش به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل بیشتر است (p=۰/۰۹۶). همچنین میانگین افزایش وزن گروه آزمایشی ۲ نیز در تمام روزهای رکوردگیری نسبت به کنترل بیشتر است (p<۰/۰۵) ولی با گروه ۳ تفاوت آماری معنی‌داری ندارد. در همه دوره‌های رکوردگیری میانگین مصرف خوراک در گروه ۲ به‌طور معنی‌داری بیشتر از گروه ۳ می‌باشد (p<۰/۰۵). در این بررسی تفاوت آماری معنی‌داری میان مصرف خوراک گروه شاهد و گروه ۳ مشاهده نشد ولی میانگین مصرف خوراک گروه آزمایشی ۲ طی ۵۲ روز اول آزمایش به‌طور معنی‌داری بیشتر از گروه شاهد بود (p=۰/۰۳۲۹). تفاوت معنی‌داری میان میانگین ضریب تبدیل خوراک گروه‌های مصرف‌کننده پروبیوتیک (گروه ۲ و۳) نسبت به هم مشاهده نگردید ولی میانگین ضریب تبدیل خوراک هر دو گروه ۲ و ۳ که به ترتیب روزانه و دو روز در میان پروبیوتیک مصرف نموده بودند نسبت به گروه کنترل که از پروبیوتیک مصرف نکرده بودند به‌طور معنی‌داری در زمان‌های متفاوت رکوردگیری کمتر بود (p<۰/۰۵). بر اساس گزارش‌های موجود و به‌عنوان یک استراتژی تغذیه‌ای استفاده از پروبیوتیک‌ها با بهبود اسیدیته یا تعادل جمعیت میکروبی دستگاه گوارش نقش مهمی روی بهبود قابلیت هضم خوراک (۱۱،۱۷) و سلامت حیوان (۸) به عهده دارند. بررسی‌های محققین نشان داد که مصرف پروبیوتیک بر پایه باکتری‌های مولد اسید لاکتیک مانند Bifidobacteirum یا Enterococcuse که از گروه باکتری‌های گرم مثبت نیز می‌باشند بواسطه ترشح اسید لاکتیک در تعدیل اسیدیته محیط دستگاه گوارش تأثیر داشته و در نتیجه آن اکوسیستم میکروبی خصوصاً در شکمبه نشخوارکنندگان نیز تغییر می‌نماید. که این خود کارآیی هضم تخمیری شکمبه را افزایش خواهد داد (۱۳). لذا بدون این که مصرف این گونه پروبیوتیک‌ها تأثیری روی میزان مصرف ماده خشک داشته باشند، قادر است میزان قابلیت هضم پروتئین خام، فیبر نامحلول در شوینده خنثی و اسیدی را در گاوهای هولشتاین افزایش دهد (۳). افزایش قابلیت هضم خوراک خود عامل مهمی برای بهبود عملکرد رشد و ضریب تبدیل خوراک متاثر از مصرف پروبیوتیک در نشخوارکنندگان می‌باشد (۸،۲۲). در این بررسی نیز مصرف پروبیوتیک به‌طور معنی‌داری سبب افزایش وزن بدن و بهبود ضریب تبدیل خوراک شد ولی این نتایج مغایر با نتایج برخی از دیگر محققین بود که طی آزمایشات خود مشاهده نمودند استفاده از پروبیوتیک تأثیر معنی‌داری روی عملکرد حیوان نشخوارکننده نداشته است (۷،۲۳). پژوهش‌گران نشان دادند که اگر پروبیوتیک‌های مورد استفاده در تغذیه دام حاوی مقدار مناسب از میکروارگانیسم‌های قادر به ماندگاری در شرایط اکولوژیکی دستگاه گوارش باشند بواسطه ترشح آنزیم و یا تغییر اکوسیستم میکروبی شکمبه و کانال گوارش قادرند قابلیت هضم و جذب مواد مغذی را افزایش دهند و بهبود رشد و ضریب تبدیل خوراک را سبب گردند (۳،۱۲،۲۵). نتایج این بررسی نشان داد که مصرف پروبیوتیک بر پایه باکتری‌های اسید لاکتیکی به‌صورت دو روز در میان از نظر میزان رشد و ضریب تبدیل خوراک تأثیر مشابه با مصرف روزانه همان پروبیوتیک داشت لذا می‌توان استنباط نمود که مصرف پروبیوتیک مورد آزمون ماندگاری و تأثیرگذاری لازم در دستگاه گوارش گوساله‌های نژاد کرد مورد بررسی را حداقل تا مدت ۴۸ ساعت در شرایط این آزمایش دارا بوده است زیرا،

نشان داده شده است که میکروارگانیسم‌هایی که به‌عنوان فرآوردهای تجاری پروبیوتیکی مورد استفاده قرار می‌گیرند لازم است ماندگاری و قابلیت تحمل در برابر شرایط محیطی کانال گوارش مانند ترشح اسیدهای صفراوی و حرکات شکمبه و روده را به خوبی داشته و بتوانند با گلیکوپروتئین‌ها و موکوس کانال گوارش ارتباط برقرار نموده و تکثیر شوند (۲۲،۲۵) تا بتوانند تأثیرات خود، که برخی از آن‌ها شامل تحریک در افزایش جمعیت باکتری‌های مفید کانال گوارشی، تقویت سیستم ایمنی و همچنین بهبود صفات عملکردی می‌باشد، را به دنبال داشته باشند (۱،۳) از این رو فاصله زمانی مصرف پروبیوتیک‌ها می‌تواند روی تأثیر میزان تأثیرگذاری آنها مهم باشد (۱،۴) ولی متاسفانه گزارش‌های اندکی وجود دارد که تأثیر تغییر دوره‌های مصرف پروبیوتیک را روی خصوصیات بیولوژیک نشخوارکنندگان مورد بررسی قرار داده باشد.

جدول ۲- عملکرد رشد، مصرف و ضریب تبدیل خوراک در گوساله‌های آزمایشی

Table 2. Growth performance, feed intake and feed convertion rate of experimental calves

زمان رکوردگیری	گروه‌های آزمایشی ۱	۲	۳	انحراف استاندارد میانگین	سطح احتمال
		میانگین وزن بدن (کیلوگرم)			
روز ۵۲ آزمایش	۲۳۱/۷۵	۲۳۳/۷۵	۲۳۲/۰۰	۱/۰۸۶	۰/۷۲۳۷
روز ۱۰۵ (انتهای آزمایش)	۲۶۶/۷۵	۲۷۳/۲۵	۲۷۰/۵۰۰	۱/۱۵۷	۰/۱۲۴۳
		میانگین افزایش وزن بدن (کیلوگرم)			
شروع آزمایش تا روز ۵۲	۳۵/۷۵^{b}	۳۸/۷۵^{a}	۳۸ /۵۰^{a}	۰/۳۱۲	۰/۰۰۶۱
از روز ۵۳ تا ۱۰۵	۳۵/۰۰^{b}	۳۹/۵۰۰^{a}	۳۸/۵۰۰^{ab}	۰/۶۵۳	۰/۰۴۷۲
شروع آزمایش تا روز ۱۰۵ (انتهای آزمایش)	۷۰/۷۵^{b}	۷۸/۲۵^{a}	۷۷/۰۰^{a}	۰/۸۱۴	۰/۰۰۹۶
		میانگین مصرف خوراک (کیلوگرم)			
شروع آزمایش تا روز ۵۲	۳۲۱/۵۲^{b}	۳۲۲/۷۵^{a}	۳۲۱/۰۸^{b}	۰/۲۲۱	۰/۰۳۲۹
از روز ۵۳ تا ۱۰۵	۳۶۷/۴۸^{ab}	۳۶۸/۲۵^{a}	۳۶۶/۴۵^{b}	۰/۲۳۸	۰/۰۳۸۵
شروع آزمایش تا روز ۱۰۵ (انتهای آزمایش)	۶۸۹/۰۸^{ab}	۶۹۱/۰۰^{a}	۶۸۷/۵۳^{b}	۰/۴۶۹	۰/۰۴۲۴
		ضریب تبدیل خوراک			
شروع آزمایش تا روز ۵۲	۹/۰۰^{a}	۸/۳۲^{b}	۸/۳۵^{b}	۰/۰۷۷	۰/۰۰۹۳
از روز ۵۳ تا ۱۰۵	۱۰/۵۳^{a}	۹/۳۳^{b}	۹/۵۴^{b}	۰/۱۷۴	۰/۰۴۵۷
شروع آزمایش تا روز ۱۰۵(انتهای آزمایش)	۹/۷۵^{a}	۸/۶۱^{b}	۸/۹۳^{b}	۰/۱۴۷	۰/۰۳۰۰

میانگین‌های هر ردیف که دارای حروف غیر مشابه می‌باشند تفاوت معنی‌داری با هم دارند (p<۰/۰۵)

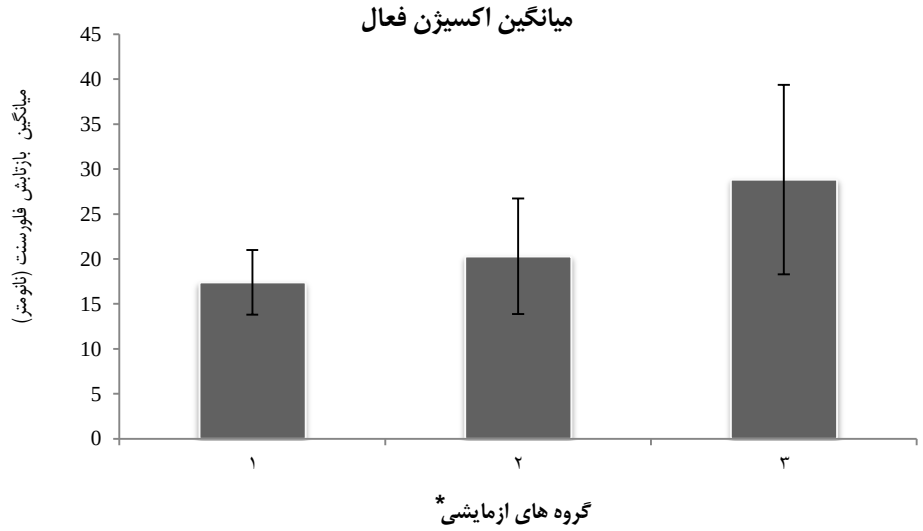
۱. گوساله‌های که در طول دوره آزمایش از جیره مرسوم تجاری بدون استفاده از پروبیوتیک تغذیه شدند (گروه کنترل) . ۲. گوساله‌هایی که از جیره کنترل و مصرف روزانه پروبیوتیک تغذیه شدند. ۳. گوساله‌هایی که از جیره کنترل و مصرف ۲ روز درمیان پروبیوتیک تغذیه شدند

میزان اکسیژن فعال

اگرچه سلول‌های ایمنی فاگوسیتوز کننده دارای میتوکندری هستند ولی متابولیسم بی‌هوازی، عمده انرژی مورد نیاز این سلول‌ها را در شرایط عادی تامین می‌نماید. این در حالی است که گلیکولیز هوازی[1] که در حضور اکسیژن انجام می‌شود نقش مهمی در ایفای نقش این سلول‌ها برای از بین بردن عوامل پاتوژن در حیوان میزبان به عهده دارد. انفجار تنفسی یا گلیکولیز هوازی و مصرف اکسیژن به منظور تولید اکسیژن فعال در سلول‌های ایمنی، تحت تأثیر برخی عوامل به شدت افزایش می‌یابد (۴،۱۳). اکسیژن‌های فعال حاصل به‌عنوان بخشی از ایمنی ذاتی (۱۳) موجب از بین رفتن باکتری‌ها و انگل‌ها می‌شوند. به‌عنوان مثال بررسی‌های انجین و همکاران (۵) نشان دادند که در شرایط استرس حمل و نقل شاخص انفجار تنفسی یا توانایی ایمونولوژیک حیوان کاهش می‌یابد. ایندارت و همکاران (۱۰) نیز طی بررسی‌های خود مشاهده نمودند که شاخص انفجار تنفسی با مصرف پروبیوتیک در تغذیه گوساله‌ها افزایش یافت و مصرف پروبیوتیک می‌تواند فعالیت فاگوسیتوزی نوتروفیل‌ها را افزایش دهد. طی پژوهش‌های به عمل آمده محققین نتیجه گرفتند که مصرف پروبیوتیک سبب افزایش میزان انفجار تنفسی هتروفیل‌ها می‌گردد (۴،۲۰) ولی همانطور که نتایج این بررسی در نمودار ۱ نشان داده شده است تفاوت میانگین اکسیژن فعال میان گروه‌های آزمایشی تحت تأثیر مصرف پروبیوتیک از نظر آماری معنی‌دار نیست. این در حالی است که استفاده از پروبیوتیک میزان رشد و ضریب تبدیل خوراک را در این بررسی متاثر نمود (جدول ۲). گزارش‌های موجود نشان می‌دهد که کارآیی مصرف پروبیوتیک‌ها و تأثیرگذاری آن‌ها در رابطه با صفات بیولوژیک متفاوت، همیشه یکسان نیست (۱). عوامل مختلفی مانند نژاد، میزان و سویه‌های باکتریایی عرضه شده توسط پروبیوتیک‌ها و روش مصرف از جمله

1- Aerobic glycolysis

مهمترین عوامل مؤثر بر تأثیرگذاری پروبیوتیک‌ها شناخته شده‌اند (۱،۱۴). به‌طورکلی نتایج این بررسی نشان داد که اگر چه مصرف پروبیوتیک به شیوه‌ای که در این آزمون مورد مصرف قرار گرفت عامل مؤثری برای بهبود صفات عملکردی می‌باشد و می‌توان به جای مصرف روزانه، دو روز در میان از پروبیوتیک استفاده نمود ولی تأثیری روی فعالیت ضد میکروبی سلول‌های سفید خون گوساله‌های نژاد کرد ندارد.



نمودار ۱- میانگین (±SD) اکسیژن فعال در سلول‌های سفید گروه‌های مختلف آزمایشی (p=۰/۱۳۲۰)

Figure 1. Reactive oxygen (mean ±SD) in white blood cell in different experimental group (p=0.1320)

۱- گوساله‌های که در طول دوره آزمایش از جیره مرسوم تجاری بدون استفاده از پروبیوتیک تغذیه شدند (گروه کنترل). ۲- گوساله‌هایی که از جیره کنترل و مصرف روزانه پروبیوتیک تغذیه شدند. ۳ - گوساله‌هایی که از جیره کنترل و مصرف ۲ روز درمیان پروبیوتیک تغذیه شدند.

منابع

1. Aliakbarpour, H.R., M. Chamani, G. Rahimi, A.A. Sadeghi and D. Qujeq. 2013. The Bacillus subtilis and Lactic Acid Bacteria Probiotics Influences Intestinal Mucin Gene Expression, Histomorphology and Growth Performance in Broilers. Asian-Australian Journal of Animal Science, 25: 1285-1293.
2. Azimzadeh, V., A. Assadi-Alamouti, A. Khadem, M. Bagheri Varzaneh and J. Mohammad Moradi. 2015. Effects of Supplementation of a Symbiotic Product on Growth Performance and Health of Holstein Calves. Research on Animal Production, 6: 105-114 (In Persion).
3. Boyd, J., J. West and J. Bernard. 2011. Effects of the addition of direct-fed microbials and glycerol to the diet of lactating dairy cows on milk yield and apparent efficiency of yield. Journal of Dairy Science, 94: 4616-4622.
4. Corcionivoschi, N., D. Drinceanu, I.M. Pop, D. Stack, L. Lavinia Ştef, C. Julean and B. Bourke. 2010. The Effect of Probiotics on Animal Health. Animal Science and Biotechnology, 43: 35-41.
5. Engen, N.K.V., M.L. Stock, T. Engelken, R.C. Vann, L.W. Wulf, L.A. Karriker, W.D. Busby, J. Lakritz, A.J. Carpenter, B.J. Bradford, W.H. Hsu, C. Wang and J.F. Coetzee. 2014. Impact of oral meloxicam on circulating physiological biomarkers of stress and inflammation in beef steers after long-distance transportation. Journal of Animal Science, 92: 498-510.
6. Farnell, M.B., A.M. Donoghue, F.S. Santos, P.J. Blore, B.M. Hargis, G. Tellez and D.J. Donoghue. 2006. Upregulation of Oxidative Burst and Degranulation in Chicken Heterophils Stimulated with Probiotic Bacteria. Poultry Science, 85: 1900-1906.
7. Francia, A.D., F. Masucci, M.L. Varricchio, A. Bilancione and V. Proto. 2007. Effect of Enterococcus faecium SF68 on growth performance and in vivo digestibility in buffalo calves. Italian Journal of Animal Science, 6: 299-301.
8. Frizzoa, 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.
9. Hosseinabadi, M., M. Dehghan-Banadaky and A. Zali. 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, 4: 57- 69 (In Persion).
10. Indart, M., S. Cerone, E.N. Esteban, G.D. Yaniz, A.G. Inza, H. Landi, S. Mogni and L. Igarza. 2012. Multispecies Multistrain Probiotic Effects on Calves Development and Health. Open Journal of Veterinary Medicine, 2: 225-229.

11. Kritas, S.K., T. Marubashi, G. Filioussis, E. Petridou, G. Christodoulopoulos, A.R. Burriel, A. Tzivara, A. Theodoridis and M. Pískoriková. 2015. Reproductive performance of sows was improved by administration of a sporing bacillary probiotic (Bacillus subtilis C-3102). Journal of Animal Science, 93: 405-413.
12. Le, O., P. Dart, K. Harper, D. Zhang, B. Schofield, M. Callaghan, A. Lisle, A. Klieve and D. McNeill. 2016. Effect of probiotic Bacillus amyloliquefaciens strain H57 on productivity and the incidence of diarrhoea in dairy calves. Animal Production Science, 57: 912-919.
13. Lettat, A., P. Nozière, M. Silberberg, D.P. Morgavi, C. Berger and C. Martin. 2012. Rumen microbial and fermentation characteristics are affected differently by bacterial probiotic supplementation during induced lactic and subacute acidosis in sheep. BMC Microbiology, 12: 142-148.
14. Mountzouris, K.C., P. Tsitrsikos, I. Palamidi, A. Arvaniti, M. Mohnl. G. Schatzmayr and K. Fegeros. 2010. Effect of probiotic inclusion levels in broiler nutrition on growth performance, nutrient digestibility, plasma immunoglobulins, and cecal microflora composition. Poultry Science, 89: 58-67.
15. Nouri, S., M. Movahedin and Z. Mazaheri. 2014. Effects of mouse paternal age on sperm parameters, reactive oxygen species levels, intraspermic antioxidants and in vitro fertilization results. Modares Journal of Medical Sciences, 17: 93-103 (In Persion).
16. NRC. 2000. Nutrient requirements of beef cattle, 7th revised. National Academy Press, Washington, DC.
17. Rezaee, M.T., M.T. Rezaeian, M.T. Moradi Shahrebabak and S.A.N. Mirhadi. 2006. The Effects of strain and doses of saccharomyces cerevisiae supplementation on performance, total rumen bacterial population and blood serum metabolites in male holstein calves. Journal of Veterinary Research, 61: 63-69 (In Persion).
18. Rezaie-Khormenany, B., S. Karimi Dehkordi and A. Mohebi. 2016. Effect of different sources of probiotics on performance and some blood parameters of indigenous kid's. Iranian Journal of Animal Science, 47: 313-321 (In Persion).
19. SAS Institute. 2003. SAS User's Guide.Version 9.1 ed. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.
20. Stringfellow, K., D. Caldwell, J. Lee, M. Mohnl, R. Beltran, G. Schatzmayr, S. Fitz-Coy, C. Broussard and M. Farnell. 2011. Evaluation of probiotic administration on the immune response of coccidiosis-vaccinated broilers. Poultry Science, 90: 1652-1658.
21. Sun, P. and J.Q. Wang. 2010. Effecs of Bacillus subtilis natto on performance and immune function of preweaning calves. American Dairy Science Assoclation, 93: 5851-5855.
22. Uyeno, Y., S. Shigemori and T. Shimosato. 2015. Effect of probiotics/prebiotics on cattle health and productivity. Microbes and Environments, 30: 126-132.
23. Whitley, N.C., D. Cazac, B.J. Rude, D.J. Brien and S. Parveen. 2009. Use of a commercial probiotic supplement in meat goats. Journal of Animal Science, 87: 723-728.
24. Wisener, L., J. Sargeant, A. O'Connor, M. Faires and S. Glass-Kaastra. 2014. The use of direct-fed microbials to reduce shedding of Escherichia coli O157 in beef cattle: a systematic review and meta-analysis. Zoonoses and Public Health, 62: 7589.
25. Yirga, H. 2015. The use of probiotics in animal nutrition. Journal of Probiotic and Health. ISSN: 2329-8901 JPH, an open access journal, 3: 1-10.

The Effect of Lactic Acid Bacteria Based Probiotic use Schedule on Growth Performance and Blood Cell Antimicrobial Activity in Kurd Calves

Mohammad Hamedanipoor[1], Hamid-Reza Aliakbarpour[2] and Yadollah Chashnidel[3]

1- Gradute, Department of Veterinary Medicin, Babol Branch, Islamic Azad University, Babol, Iran
2- Department of Veterinary Medicin, Babol Branch, Islamic Azad University
Babol, Iran (Corresponding auther: aliakbarpour@hotmail.com)
3- Associate Professor, Department of Animal Science, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University
Received: March 6, 2018 Accepted: June 24, 2018

Abstract

The aim of this study was to examine the effect of Lactic acid bacteria based probiotic and its use schedule on Kurd male calves' growth performance and white blood cell antimicrobial activity. The experimental period was 105 days after calves adapted to new environmental conditions. This study was carried out by 12 calves with an average body weight of 195 ± 10 kg and age of 240±10 days in a completely randomized design with three treatments and three replicate. Experimental groups included: 1) the control group was fed on a commercial basal diet (without probiotic). 2) was fed on basal diet and daily usage probiotic 3) was fed on basal diet and probiotic usage a day then skip 2 days and repeated. Growth performance and feed conversion rate were determined by measuring calves weight and feed intake on day 0, 52 and 105 of experiment after 14 h feed deprivation. For measurement of reactive oxygen species as anitimicrobial activity index in white Blood Cells, blood samples were taken from all of the calves at the end of experiment. Although body weight gain and feed conversion rate was not significantly different among any of the treatments 2 and 3 but increased and decreased respectively compared to control group in end of experiment ($p<0.05$). Feed intake significantly increased in treatment 3 compared 2 ($p=0.0424$). No differences in reactive oxygen mean were observed in calves fed probiotic-supplemented diets and control group. According to this results dietary supplementation with probiotic did not affect white blood cell antimicrobial activity although improved Kurd calves growth performance and feed conversion rate, also daily usage of probiotic can be replaced by usage a day then skip 2 days and repeated schedule.

Keywords: Calf, Growth, Probiotic, Reactive oxygen