



مقاله علمی - پژوهشی

اثرات سطوح مختلف پروبیوتیک و اسیدآلی بر عملکرد، رشد اسکلتی، فعالیت تغذیه، فراسنججه- های خونی و ایمنی در گوساله‌های شیرخوار هلشتاین

مهدی جمالی^۱ - فرزاد میرزایی آقچه قشلاق^{۲*} - جمال سیف دواتی^۳ - بهمن نویدشاد^۳ - رضا سید شریفی^۳ - رقیه ولی زاده

یونجالی^۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۱/۱۷

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۸/۲۵

چکیده

به منظور تعیین اثرات سطوح مختلف پروبیوتیک و اسیدآلی عملکرد، رشد اسکلتی، فعالیت تغذیه، فراسنججه‌های خونی و ایمنی گوساله‌های شیرخوار، آزمایشی با استفاده از ۳۶ راس گوساله شیرخوار با میانگین وزنی 36 ± 2 کیلوگرم در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۹ تیمار و ۴ تکرار، به مدت ۷۵ روز انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل: ۱- جیره پایه بدون افزودنی (شاهد)، ۲- جیره پایه به اضافه ۲ گرم پروبیوتیک در روز برای هر راس، ۳- جیره پایه به اضافه ۳ گرم پروبیوتیک در روز برای هر راس، ۴- جیره پایه به اضافه ۳ گرم اسیدآلی در روز برای هر راس، ۵- جیره پایه به اضافه ۴/۵ گرم اسیدآلی در روز برای هر راس، ۶- جیره پایه به اضافه ۲ گرم پروبیوتیک و ۳ گرم اسیدآلی در روز برای هر راس، ۷- جیره پایه به اضافه ۲ گرم پروبیوتیک و ۴/۵ گرم اسیدآلی در روز برای هر راس، ۸- جیره پایه به اضافه ۳ گرم پروبیوتیک و ۳ گرم اسیدآلی در روز برای هر راس و ۹- جیره پایه به اضافه ۳ گرم پروبیوتیک و ۴/۵ گرم اسیدآلی در روز برای هر راس بودند. نتایج نشان داد که جیره‌های آزمایشی اثر معنی‌داری بر میانگین افزایش وزن روزانه و وزن نهایی، و پارامترهای سلامتی داشته و باعث بهبود وضعیت سیستم ایمنی و وضعیت سلامتی گوساله‌ها شدند. همچنین این مطالعه نشان داد که اضافه کردن پروبیوتیک، اسیدآلی و ترکیب این مواد افزودنی به شیر تاثیر بر رشد اسکلتی و رفتار تغذیه گوساله‌های هلشتاین نداشت.

واژه‌های کلیدی: اسید آلی، پروبیوتیک، تغذیه، گوساله، هلشتاین.

مقدمه

استفاده قرار گرفته‌اند، اما با افزایش نگرانی عمومی از ایجاد مقاومت و حضور در محصولات، استفاده از این ترکیبات به عنوان محرک رشد به وسیله اتحادیه اروپا ممنوع شد (۶۳). در سال‌های اخیر محققین توجه خود را به یافتن مکمل‌هایی متمرکز نموده‌اند که علاوه بر حفظ ویژگی‌های مطلوب فاقد تبعات سوء بهداشتی و زیست محیطی باشند. از آن جمله می‌توان از پروبیوتیک‌ها و اسیدهای آلی با خصوصیات و تأثیرات ویژه‌ای نام برد، که با توجه به سوابق تاریخی و با الهام از شرایط طبیعی میکروارگانیسم‌ها در دستگاه گوارش و تعادل موجود در طبیعت تهیه شده‌اند (۲)، این مواد به عنوان جایگزین مناسب برای آنتی‌بیوتیک‌ها به طور گسترده‌ای در تغذیه دام و طیور مورد استفاده قرار گرفته‌اند (۳۸).

اسیدهای آلی ترکیباتی آلی هستند که دارای خاصیت اسیدی می‌باشد. مصرف اسیدهای آلی در جیره‌های غذایی نیز در کنترل باکتری‌ها (باکتری‌های بیماری‌زا و غیر بیماری‌زا) و در پیشگیری از تغییرات pH شکمبه مؤثر است (۶۷). اسیدهای آلی، مانند بوتیریک و اسید پروپیونیک، محرک اصلی رشد شکمبه در نظر گرفته می‌شوند (۲۰). اسیدهای آلی و نمک‌های آن‌ها به عنوان افزودنی‌هایی عموماً

با توجه به این که پرورش گوساله از مهم‌ترین و حساس‌ترین برنامه‌های مدیریتی در مزارع پرورش گاو بوده و گوساله‌ها در سال‌های آینده عامل اصلی سوددهی مزارع می‌باشند، لذا به کار بردن راهکارهای تغذیه‌ای صحیح برای رشد و سلامت بهتر آن‌ها از اهمیت بسزایی برخوردار است (۶۶). به همین دلیل آنتی‌بیوتیک‌ها از مدت‌ها قبل در بسیاری از کشورها به دلیل داشتن اثر مهارکنندگی بر باکتری‌های مضر دستگاه گوارش به عنوان افزایش دهنده رشد دام‌ها مورد

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، ایران.

۲- استاد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، ایران.

۳- دانشیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، ایران.

۴- فارغ التحصیل دکتری تغذیه دام، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، ایران.

*- ایمیل نویسنده مسئول: (Email: f_mirzaei@uma.ac.ir
DOI:10.22067/ijasr.v12i3.79924

بی‌خطر در تغذیه دام شناخته شده و اثرات محرک رشد آن‌ها به عنوان جایگزینی مناسب برای آنتی‌بیوتیک‌ها پذیرفته شده است (۴۹). پروبیوتیک‌ها میکروب‌های زنده‌ای هستند که باعث ایجاد تعادل در جمعیت میکروبی دستگاه گوارش می‌شوند (۲۵). پروبیوتیک‌ها از طریق ایجاد تعادل میکروبی باعث ایجاد تأثیرات مثبتی مانند کاهش عفونت‌های روده‌ای، بهبود عملکرد و افزایش میزان جذب مواد مغذی از جمله ایمونوگلوبولین‌ها می‌شوند (۲۸). همچنین پروبیوتیک‌ها از طریق افزایش غلظت گلوبولین‌ها، تعداد و فعالیت کشنده‌گی نوتروفیل‌ها از یک سو و از سوی دیگر با کاهش میکروفلور مضر دستگاه گوارش از قبیل کلی‌فرم‌ها باعث تقویت سیستم دفاعی بدن و جلوگیری از ابتلای گوساله‌ها به بیماری‌های مختلف متابولیکی و عفونی می‌گردد (۱۶). از این طریق می‌توانند جایگزین مناسب و مؤثری برای آنتی‌بیوتیک‌ها باشند (۶۰). علیرغم اثرات شناخته شده پروبیوتیک و اسیدآلی به عنوان جایگزین آنتی‌بیوتیک‌های محرک رشد در گوساله‌ها تا به امروز تحقیقات محدودی در ارتباط با بررسی اثرات متقابل ناشی از مصرف توام این ترکیبات افزودنی در گوساله‌های شیرخوار انجام گرفته است لذا، این تحقیق با هدف بررسی اثر تغذیه انفرادی یا توام پروبیوتیک و مخلوط اسیدهای آلی بر عملکرد، رشد اسکلتی، فعالیت تغذیه، متابولیت‌های خونی، پاسخ ایمنی، وضعیت سلامتی و قوام مدفوع به عنوان یک آنتی‌بیوتیک محرک رشد در گوساله‌های سنین پایین انجام شد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در شرکت کشت و صنعت و دامپروری مغان واقع در شهرستان پارس‌آباد، استان اردبیل انجام شد. انجام این آزمایش از اوایل اسفند ماه ۱۳۹۵ تا اواسط اردیبهشت ماه ۱۳۹۶ به طول انجامید. این آزمایش با استفاده از ۳۶ رأس گوساله شیرخوار ماده نژاد هلشتاین با میانگین وزنی 27 ± 2 kg در قالب ۹ تیمار در ۴ تکرار به مدت ۷۵ روز انجام شد. گوساله‌ها در طول زمان شیرخوارگی روزانه با دو وعده شیر به میزان ۲/۵ kg تغذیه شدند، این عمل در ساعات ۸ صبح و ۴ بعد از ظهر انجام شد. بلافاصله بعد از شیر دادن، آب آشامیدنی و کنسانتره به مقدار آزاد در اختیار گوساله‌ها قرار می‌گرفت. هر کدام از گوساله‌های آزمایشی موجود در گروه‌های ۹ گانه، در جایگاه‌های انفرادی نگهداری شده و هر جایگاه مجهز به سطل خوراک و آب‌خور مجزا بود. برای اطمینان از دریافت تمامی مقدار در نظر گرفته شده توسط گوساله‌ها، افزودنی پروبیوتیک و اسیدآلی به شیر (وعده صبح) گوساله‌ها اضافه شد. تیمارهای آزمایشی شامل: تیمار ۱- جیره شاهد بدون افزودنی (جیره پایه)، تیمار ۲- جیره پایه حاوی افزودنی پروبیوتیک (g) ۲ در روز به ازاء هر رأس گوساله، تیمار ۳- جیره پایه حاوی افزودنی پروبیوتیک (g) ۳ در روز به ازاء هر رأس گوساله، تیمار

۴- جیره پایه حاوی اسیدآلی (g) ۳ در روز به ازاء هر رأس گوساله، تیمار ۵- جیره پایه حاوی اسیدآلی (g) ۴/۵ در روز به ازاء هر رأس گوساله، تیمار ۶- جیره پایه حاوی (g) ۲ پروبیوتیک و (g) ۳ اسیدآلی در روز به ازاء هر رأس گوساله، تیمار ۷- جیره پایه حاوی (g) ۲ پروبیوتیک و (g) ۴/۵ اسید آلی در روز به ازاء هر رأس گوساله، تیمار ۸- جیره پایه حاوی (g) ۳ پروبیوتیک و (g) ۳ اسیدآلی در روز به ازاء هر رأس گوساله و تیمار ۹- جیره پایه حاوی (g) ۳ پروبیوتیک و (g) ۴/۵ اسید آلی در روز به ازاء هر رأس گوساله. در این پژوهش از پروبیوتیک با نام تجاری پروبیونزیم (Enzyme Probio) تولید کشور آلمان استفاده شد. همچنین مکمل اسید آلی مورد استفاده در این آزمایش با نام تجاری اسیدفایر تولید شده توسط شرکت Framelco و دارای ترکیبات منو، دی و تری‌گلیسریدهای اسید بوتیریک و اسید پروپیونیک، گلیسرین و افزودنی‌های مجاز E551b است. مواد خوراکی و اجزاء تشکیل دهنده جیره‌های آزمایشی و ترکیب شیمیایی آن‌ها در جدول ۱ گزارش شده است.

با توجه به تغذیه گوساله‌ها بصورت انفرادی در طول دوره آزمایشی، میزان خوراک مصرفی به صورت روزانه محاسبه شد. بدین منظور مقدار خوراک ریخته شده در سطل هر گوساله بطور روزانه ثبت شده و باقیمانده خوراک هر روز، صبح روز بعد جمع‌آوری و توزین می‌شد و سپس خوراک تازه در سطل غذا ریخته می‌شد. وزن بدن با استفاده از ترازوی دیجیتال با دقت ۲۰۰ گرم و رشد اسکلتی گوساله‌ها (طول بدن، ارتفاع بدن از جدوگاه و کپل، محیط شکم و دور قفسه سینه) با استفاده از متر استاندارد در گوساله‌های آزمایشی هر ۱۵ روز یکبار در بدو تولد و روزهای ۱۵، ۳۰، ۴۵، ۶۰ و ۷۵ اندازه‌گیری گردید. ضریب تبدیل غذایی با تقسیم خوراک مصرفی هر گوساله در هر دوره بر میزان افزایش وزن بدن بدست آمد (فرمول ۱). برای اندازه‌گیری میزان فعالیت تغذیه در گوساله‌ها در انتهای دوره‌ی آزمایش گوساله‌ها به مدت ۲۴ ساعت زیر نظر گرفته شد و کلیه‌ی فعالیت‌های نشخوارکردن به صورت خوابیده و نشسته و همچنین استراحت و مصرف خوراک هر ده دقیقه یکبار ثبت گردید.

فرمول (۱) افزایش وزن / خوراک مصرفی (kg) = ضریب تبدیل غذایی

نمونه‌گیری از خون و تعیین فراسنجه‌های خونی: در روزهای ۴۵ و ۷۵ آزمایش ۴ ساعت بعد از تغذیه وعده صبح، از تمام گوساله‌ها از رگ گردن خون‌گیری شد. در آزمایشگاه نمونه‌های خون سانتریفیوژ شد (۳۰۰۰ دور، به مدت ۱۵ دقیقه) و سرم حاصل از آن‌ها جدا گردید و جهت آنالیزهای بعدی در فریزر و دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. اندازه‌گیری غلظت‌های گلوکز، کلسترول، تری-گلیسرید، آلبومین و پروتئین کل با استفاده از کیت تجاری (پارس آزمون، ایران) و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل CS-400) انجام گرفت.

های با تکرار در فواصل زمانی آنالیز به صورت Repeated measurement رویه MIXED و داده‌های بدون تکرار با رویه GLM آنالیز گردید. برای آنالیز داده‌های سلامت گوساله‌ها، با توجه به اینکه داده‌های حاصل به صورت داده‌های دسته‌بندی شده بودند با استفاده از رویه Logistic در نرم‌افزار SAS آنالیز شدند. همچنین با توجه به معنی‌داری وزن اولیه گوساله‌ها برای صفت وزن نهایی کواریت شدند اما سن ورود به طرح گوساله‌ها معنی‌دار نبود لذا از مدل حذف شد.

مدل آماری به صورت $Y_{ijk} = \mu + T_i + P_j + T_i \times P_j + e_{ijk}$ بود، که در آن Y_{ijk} مقادیر مشاهده تیمار i در تکرار j ام، μ میانگین، T_i اثر تیمار i ام، P_j اثر دوره زمانی، $T_i \times P_j$ اثر متقابل تیمار و دوره و e_{ijk} اثر خطای آزمایش بود.

بررسی پاسخ ایمنی: نمونه‌ی خونی طی دو مرحله در روزهای ۴۵ و ۷۵ از رگ گردن و به وسیله‌ی سرنگ گرفته و درون لوله‌های حاوی ماده‌ی ضد انعقادی EDTA ریخته شد و نمونه‌ها بلافاصله جهت تعیین شمارش سلولی (لنفوسیت، نوتروفیل، مونوسیت) به آزمایشگاه هماتولوژی (آزمایشگاه آراین - استان اردبیل) انتقال داده شد.

بررسی سلامت گوساله‌ها: وضعیت قرار گرفتن گوش‌ها، ترشحات چشم، ترشحات بینی و قوام مدفوع روزانه و بر اساس روش ارائه شده چهار نمره‌ای دانشگاه ویسکانسین بررسی گردید. به طوری که به بهترین وضعیت سلامت امتیاز صفر و به بدترین وضعیت سلامت امتیاز ۳ داده شد.

تجربه و تحلیل آماری: نتایج آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با نرم‌افزار آماری SAS نسخه ۹/۱ آنالیز شدند. برای داده

جدول ۱- اجزاء و ترکیب شیمیایی کنسانتره مصرفی در گوساله‌های شیرخوار هلشتاین
Table 1- Ingredient and Chemical composition of concentrate of neonatal Holstein calves

اقلام خوراکی ingredients	%	ترکیب شیمیایی Chemical composition	%
ذرت Corn	42.5	ماده خشک Dry matter	89.7
جو Barely	12	پروتئین CP	18.7
سپوس گندم Wheat bran	5	الیاف نامحلول در شوینده اسیدی NDF	7.31
کنجاله سویا Soybean meal	37.6	الیاف نامحلول در شوینده خنثی ADF	16.25
نمک salt	0.4	عصاره اتری EE	2.26
پودر صدف Limestone	1	کلسیم Ca	0.62
مکمل مواد معدنی ^۱ Mineral sup. ^۱	0.5	فسفر P	0.5
مکمل ویتامینه ^۱ Vitamin sup. ^۱	0.5	-	-
جوش شیرین Sodium bicarbonate	0.5	-	-

ترکیب مکمل ویتامینی و معدنی: ۵۰۰۰۰۰ واحد بین المللی در kg ویتامین A، ۱۰۰۰۰۰ واحد بین المللی در kg ویتامین D3، ۱۰۰ واحد بین المللی در kg ویتامین E، ۴۰۰ میلی گرم در kg آنتی‌اکسیدانت، ۱۹۵۰۰۰ mg/kg کلسیم؛ ۹۰۰۰۰ mg/kg فسفر، ۵۵۰۰۰ mg/kg سدیم، ۹۰۰۰۰ mg/kg منیزیم، ۳۰۰ mg/kg آهن، ۳۰۰۰ mg/kg روی، ۲۰۰۰ mg/kg منگنز، ۲۸۰ mg/kg مس، ۱۰۰ mg/kg کبالت و ۱ mg/kg سلنیوم.

The combination of vitamin and mineral supplements: 500000 IU per kg of vitamin A, 100000 IU per kg of vitamin D3, 100 IU per kg of vitamin E, 400 mg per kg of antioxidants, 195000 mg per kg of Calcium, 90000 mg per kg of phosphorus, 55000 mg per kg of sodium, 90000 mg per kg of magnesium, 300 mg per kg iron, 3000 mg per kg zinc, 2000 mg per kg of manganese, 280 mg per kg copper, 100 mg per kg cobalt and 1 mg per kg selenium.

گرم پروبیوتیک + ۳ گرم اسیدآلی (تیمار ۶) باعث افزایش معنی‌دار میانگین مصرف جیره گردید. (جدول ۲). همچنین در کل دوره آزمایشی، گوساله‌های مصرف کننده ۲ گرم پروبیوتیک (تیمار ۲) و ۲ گرم پروبیوتیک + ۳ گرم اسیدآلی (تیمار ۶) بیشترین خوراک مصرفی را داشتند. موافق با نتایج این پژوهش، نجات و همکاران (۴۵) گزارش کردند افزودن پروبیوتیک به جیره گوساله تأثیری بر مصرف خوراک

نتایج و بحث

عملکرد گوساله: نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که اضافه کردن سطوح مختلف پروبیوتیک و اسیدآلی تأثیر معنی‌داری بر میانگین مصرف خوراک روزانه در ماه اول نداشت، تفاوت‌ها در ماه دوم معنی‌دار بود ولی آنالیز تیمارها و دوره‌ها این معنی‌داری را نشان نداد. تغذیه گوساله‌ها از جیره مکمل شده با ۲ گرم پروبیوتیک (تیمار ۲) و ۲

پیدا کرده است (۸). نتایج این پژوهش نشان داد که اضافه کردن سطوح مختلف پروبیوتیک و اسیدآلی تاثیر معنی‌داری بر وزن نهایی گوساله‌ها داشت ($p < 0.05$). تفاوت چشمگیری در وزن نهایی گوساله‌های گروه ۲ گرم پروبیوتیک (تیمار ۲) نسبت به گروه شاهد دیده شد. با این وجود، گزارش شده اثر مصرف پروبیوتیک‌ها در افزایش وزن دائمی نبوده و با سازش گوساله‌ها به عوامل تنش‌زا از جمله انتقال، شرایط جدید، تغییر جیره و آلودگی‌ها، اثر آن‌ها کاهش می‌یابد (۶۵).

نتایج مربوط به ضریب تبدیل غذایی در جدول ۲ گزارش شده است. نتایج نشان می‌دهد که افزودن سطوح مختلف پروبیوتیک و اسیدآلی ضریب تبدیل غذایی را تحت تاثیر قرار نداد. حسین آبادی و همکاران (۲۴) گزارش کردند که افزودن پروبیوتیک به جیره‌های آزمایشی گوساله‌های شیرخوار تاثیری بر ضریب تبدیل غذایی خوراک نداشت. شواهدی وجود دارد که نشان می‌دهد استفاده از پروبیوتیک باکتریایی در خوراک آغازین گوساله‌ها تاثیر معنی‌داری بر ضریب تبدیل خوراک نسبت به گروه شاهد نداشت (۵۲). اما محمدی و همکاران (۴۰) بهبود در ضریب تبدیل غذایی با اضافه کردن پروبیوتیک به جیره آزمایشی گوساله‌ها را گزارش کردند. اختلاف نتایج پژوهش‌های انجام شده ممکن است مربوط به ظرفیت بافری متفاوت جیره‌های آزمایشی و یا ترکیب و نوع و سطح پروبیوتیک و اسیدهای آلی به کار رفته در آزمایش‌ها نیز باشد. با توجه به اینکه بیشتر مواد افزودنی که به عنوان محرک رشد و جایگزین آنتی‌بیوتیک‌ها معرفی و مورد آزمایش قرار گرفته‌اند، تأثیر خود را بر عملکرد و ضریب تبدیل به واسطه فعالیت ضد میکروبی و تأثیر بر فلور میکروبی دستگاه گوارش اعمال می‌کنند، از این رو، شرایط پرورش و میزان آلودگی و درگیری حیوانات با باکتری‌های بیماری‌زا در محیط آزمایش، می‌تواند در نتیجه آزمایشات با این مواد افزودنی مؤثر باشد. به علت اینکه هر یک از این مواد افزودنی دارای ترکیبات و سطح مؤثر گوناگون می‌باشند، میزان دز مصرفی و ترکیبات مورد استفاده در آزمایش نیز می‌تواند در نتایج مختلف به دست آمده در استفاده از این مواد محرک رشد، مؤثر باشد (۳۴). تاثیر اسید آلی در مورد ضریب تبدیل خوراک با گزارش‌های محققین عشایری‌زاده و همکاران (۵) که گزارش کردند استفاده از سطوح مختلف فورمایسین (ترکیب حاوی اسید پروبیونیک) اثر معنی‌داری بر ضریب تبدیل خوراک مورد مقایسه با گروه شاهد ندارد، مطابقت می‌کند. برخلاف نتایج این پژوهش، رضاییان (۵۴) بهبود ضریب تبدیل خوراک را با مصرف مخمرهای پروبیوتیکی گزارش کرد. ولی در برخی از پژوهش‌ها هیچ‌گونه سود و مزیتی با افزودن پروبیوتیک گزارش نشد (۴۱ و ۵۵).

در ماه اول نداشته ولی در ۶۰ روزگی و کل دوره تاثیر معنی‌داری بر مصرف خوراک داشته است. بر اساس نتایج مطالعه حاضر نیز این گونه استنباط می‌شود که پروبیوتیک‌ها در دوره‌های ابتدایی پرورش اثر چندان زیادی بر مقدار مصرف خوراک ندارند، اما با افزایش سن، ممکن است ترکیبات پروبیوتیکی از طریق اثراتی که بر جمعیت‌های میکروبی و فرآیندهای هضمی می‌گذارند، مصرف خوراک را افزایش دهند. از سوی دیگر، ممکن است ترکیبات پروبیوتیک با بهبود هضم و جذب مواد مغذی موجب تأمین نیازهای غذایی شوند. به طور کلی پروبیوتیک‌ها از طریق اثراتی که بر روندهای هضم و جذب مواد مغذی دارند، موجب افزایش مصرف خوراک می‌شوند (۱۰). افزایش میزان خوراک مصرفی در اثر تیمار ۶ که حاوی پروبیوتیک و اسیدآلی است می‌تواند علاوه بر نقش پروبیوتیک به علت وجود اسید پروبیونیک در ترکیب اسید آلی مورد استفاده باشد، چرا که در مطالعات قبلی نشان داده شده است که اسید پروبیونیک بر میزان اشتها و خوشخوراکی جیره تاثیر مثبت دارد. پترسون و همکاران (۵۰) گزارش کردند که اسیدیفایرها روی مصرف خوراک تاثیر مثبت دارند. اسیدهای آلی با شیوه‌های متفاوتی چون تغییر جمعیت میکروبی دستگاه گوارش (۷)، تغییر بافت سلولی روده، کاهش pH روده (۱۷) و در نتیجه افزایش هضم و جذب مواد مغذی (۵۳)، می‌توانند بر عملکرد مؤثر باشند.

بر اساس نتایج مطالعه حاضر مشاهده شد که میانگین افزایش وزن روزانه در ماه اول، دوم و کل دوره تحت تاثیر جیره‌های آزمایشی قرار گرفت اما اثر کلی تیمارها در دوره‌های زمانی معنی‌دار نبود. بیشترین میانگین افزایش وزن روزانه در هر سه دوره مربوط به تیمار ۲ است. به طور کلی افزایش وزن روزانه تابعی از میزان مصرف خوراک و قابلیت هضم مواد مغذی می‌باشد (۱). به دلیل اینکه میزان مصرف خوراک در تیمار ۲ بیشترین مقدار را نسبت به گروه شاهد دارا بود در نتیجه سطح ۲ گرم پروبیوتیک باعث افزایش میانگین وزن روزانه بیشتری نسبت به تیمارهای دیگر شد. مطابق با نتایج این آزمایش گزارش کرده‌اند گوساله‌های دریافت کننده مکمل پروبیوتیک (ساکارومایسین) افزایش وزن روزانه بیشتری نسبت به گوساله‌های گروه شاهد نشان داد (۴۸ و ۶۴). پروبیوتیک‌ها در دستگاه گوارش با محدود کردن رشد باکتری‌های مضر، امکان هضم و جذب ترکیبات مغذی خوراک مصرفی را فراهم می‌کنند. همچنین با کاهش وقوع اسهال، زمینه خروج غذا به صورت هضم نشده را پایین می‌آورند (۳۲). لذا استفاده از پروبیوتیک در تغذیه گوساله‌ها می‌تواند منجر به افزایش وزن بیشتر آن‌ها شود. افزایش وزن روزانه بیشتر در استفاده همزمان از پروبیوتیک و اسیدآلی هم می‌تواند ناشی از اثر هم‌افزایی این دو ماده آزمایشی باشد که مکمل اسیدهای آلی با بهبود وضعیت دستگاه گوارش از نظر ترکیب جمعیت میکروبی و تغییر بافت روده، موجب افزایش هضم و جذب شده و در نتیجه کارایی مصرف خوراک افزایش

جدول ۲- اثر جیره‌های آزمایشی بر عملکرد گوساله‌های هلشتاین
Table 2- The effect of dietary treatments on performance of neonatal Holstein calves

	اثر جیره‌های آزمایشی dietary treatments									SEM	P value		
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9		T	P	T×P
	میانگین مصرف خوراک در روز گرم Average daily feed intake (gr)												
ماه اول First month	369.2	449.7	378.5	418.6	417.6	427.9	448.4	410.02	332.8				
ماه دوم Second month	1459.5	1739.7	1475.1	1445.2	1578.1	16770.2	1385.1	1517.4	1464.1	113.8	0.37	0.0001	0.2
کل دوره Whole period	939.4	1161.7	1026.6	931.8	1091.4	1106.5	993.4	1013.8	991.9				
	میانگین وزن Average weight (kg)												
وزن اولیه Primay weight	35.25 ^e	35 ^f	35.5 ^d	36 ^b	35.75 ^c	36 ^b	35.5 ^d	35.25 ^e	36.25 ^a	0	-		
وزن نهایی Final weight	89.62 ^c	95.75 ^a	89.50 ^c	93 ^b	91.5 ^{ab}	94.25 ^b	91 ^{abc}	92.25 ^{ab}	93.25 ^{ab}	1.29	0.0001		
	میانگین افزایش وزن روزانه Average daily weight gain (kg)												
ماه اول First month	0.59 ^c	0.77 ^a	0.68 ^b	0.72 ^{ab}	0.68 ^b	0.76 ^a	0.70 ^b	0.74 ^{ab}	0.75 ^a				
ماه دوم Second month	1.02 ^b	1.16 ^a	1.10 ^{ab}	1.12 ^{ab}	1.11 ^{ab}	1.15 ^a	1.12 ^{ab}	1.13 ^{ab}	1.12 ^{ab}	0.04	0.12	<.0001	0.83
کل دوره Whole period	0.51	0.66	0.59	0.64	0.62	0.67	0.61	0.64	0.65				
	ضریب تبدیل غذایی Feed conversion ratio (kg)												
ماه اول First month	0.99	0.82	0.92	0.96	0.91	0.87	0.93	0.89	0.93				
ماه دوم Second month	1.43	1.31	1.43	1.38	1.39	1.34	1.41	1.33	1.41	0.67	0.44	0.61	0.87
کل دوره Whole period	1.34	1.21	1.33	1.29	1.23	1.25	1.32	1.31	1.38				

abc حروف نامشابه نشان دهنده تاثیر معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی می‌باشد. T: اثر تیمار، P: اثر دوره، T×P: اثر متقابل تیمار در دوره.

T₁: جیره شاهد (جیره پایه)، تیمار، T₂: جیره پایه حاوی افزودنی پروبیوتیک (۲ گرم در روز به ازاء هر رأس گوساله)، تیمار، T₃: جیره پایه حاوی افزودنی پروبیوتیک (۳ گرم در روز به ازاء هر رأس گوساله)، تیمار، T₄: جیره پایه حاوی اسیدآلی (۳ گرم در روز به ازاء هر رأس گوساله)، تیمار، T₅: جیره پایه حاوی اسیدآلی (۴/۵ گرم در روز به ازاء هر رأس گوساله)، تیمار، T₆: جیره پایه حاوی (۲ گرم پروبیوتیک و ۳ گرم اسیدآلی در روز به ازاء هر رأس گوساله)، تیمار، T₇: جیره پایه حاوی (۲ گرم پروبیوتیک و ۴/۵ گرم اسید آلی در روز به ازاء هر رأس گوساله)، تیمار، T₈: جیره پایه حاوی (۳ گرم پروبیوتیک و ۳ گرم اسیدآلی در روز به ازاء هر رأس گوساله) و T₉: جیره پایه حاوی (۳ گرم پروبیوتیک و ۴/۵ گرم اسید آلی در روز به ازاء هر رأس گوساله).

abc Different superscripts show the significant effect among experimental treatments.

T₁. basal diet without additive (control), T₂. basal diet containing 2 g probiotic additive, T₃. basal diet containing 3 g probiotic, T₄. basal diet containing 3 g organic acid, T₅. basal diet containing 4.5 g organic acid, T₆. basal diet containing 2 g of probiotic and 3 g of organic acid, T₇. basal diet containing 2 g of probiotic and 4.5 g of organic acid, T₈. basal diet containing 3 g probiotics and 3 g of organic acid and T₉. basal diet containing 3 g probiotic and 4.5 g organic acid

همانطور که در (جدول ۳) مشاهده می‌شود، جیره‌های آزمایشی اثر معنی‌داری بر زمان استراحت، مصرف خوراک و نشخوار کردن

ظرفیت آن دارد. در آزمایش ناکانیشی و همکاران (۴۴) با افزودن باکتری‌های اسید لاکتیک به خوراک آغازین گوساله‌ها عملکرد شکمبه تحت تأثیر قرار گرفت به طوری که این گوساله‌ها در مقایسه با شاهد تمایل بیشتری برای نشخوار داشتند. این موضوع نشان می‌دهد که باکتری‌های اسید لاکتیک (لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس) ممکن است توسعه شکمبه را افزایش داده باشد، زمانی که شکمبه توسعه بیشتری یافته باشد این بدان مفهوم است که تعداد پاپیلاها و سطح جذب افزایش یافته که این باعث افزایش بازده غذایی می‌شود. تفاوت در نتایج می‌تواند به طریقه مصرف (مخلوط در کنسانتره یا شیر)، ترکیب جیره، درصد دز مصرفی افزودنی، شرایط محیطی، سطح مدیریت و شرایط آزمایش در مزرعه باشد (۵۸).

گوساله‌های شیرخوار نداشت. ولی به طور غیر معنی‌دار گوساله‌های مصرف کننده جیره حاوی ۲ گرم پروبیوتیک (تیمار ۲) و ۲ گرم پروبیوتیک + ۳ گرم اسیدآلی (تیمار ۶) کمترین زمان استراحت را نسبت به بقیه تیمارها داشتند. همچنین بیشترین زمان مصرف خوراک و نشخوار کردن مربوط به تیمار ۲ است. طی مطالعه‌ای بر روی گوساله‌های شیری، حسین آبادی و همکاران (۲۴) گزارش کردند که مدت زمان نشخوار در تیمار پروبیوتیک باکتریایی در خوراک آغازین به طور غیر معنی‌دار بیشتر از تیمار پروبیوتیک باکتریایی در شیر و شاهد بود (۲۴). همچنین دکارت و همکاران (۱۲) گزارش نمودند که مدت زمان نشخوار کردن در بین تیمارهای آزمایشی تفاوت معنی‌داری نداشت که با نتایج این پژوهش همخوانی دارد. سازگاری سریع گوساله‌ها به خوراک جامد بستگی به توسعه اپیتلیوم شکمبه‌ای و

جدول ۳- اثر جیره‌های آزمایشی بر رفتار تغذیه‌ای گوساله‌های هلشتاین (ساعت در شبانه روز)

Table 3- The effect of dietary treatments on feeding behavior of neonatal Holstein calves (h/a day)

	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	P value	SEM
زمان استراحت Rest time	12.63	11.47	12	12.07	12.13	11.56	12.26	12.02	12.17	0.877	0.457
مصرف خوراک Feed intake	5	5.59	5.44	5.50	5.50	5.56	5.43	5.47	5.40	0.881	0.322
نشخوار کردن Rumination	6.37	6.58	6.56	6.43	6.37	6.43	6.31	6.51	6.43	0.999	0.447

T₁: جیره شاهد (جیره پایه)، تیمار، T₂: جیره پایه حاوی افزودنی پروبیوتیک (۲ گرم در روز به ازاء هر رأس گوساله)، تیمار، T₃: جیره پایه حاوی پروبیوتیک (۳ گرم در روز به ازاء هر رأس گوساله)، تیمار، T₄: جیره پایه حاوی اسیدآلی (۳ گرم در روز به ازاء هر رأس گوساله)، تیمار، T₅: جیره پایه حاوی اسیدآلی (۴/۵ گرم در روز به ازاء هر رأس گوساله)، تیمار، T₆: جیره پایه حاوی (۲ گرم پروبیوتیک و ۳ گرم اسیدآلی در روز به ازاء هر رأس گوساله)، تیمار، T₇: جیره پایه حاوی (۲ گرم پروبیوتیک و ۴/۵ گرم اسید آلی در روز به ازاء هر رأس گوساله)، تیمار، T₈: جیره پایه حاوی (۳ گرم پروبیوتیک و ۳ گرم اسیدآلی در روز به ازاء هر رأس گوساله) و T₉: جیره پایه حاوی (۳ گرم پروبیوتیک و ۴/۵ گرم اسید آلی در روز به ازاء هر رأس گوساله).

T₁. basal diet without additive (control), T₂. basal diet containing 2 g probiotic additive, T₃. basal diet containing 3 g probiotic, T₄. basal diet containing 3 g organic acid, T₅. basal diet containing 4.5 g organic acid, T₆. basal diet containing 2 g of probiotic and 3 g of organic acid, T₇. basal diet containing 2 g of probiotic and 4.5 g of organic acid, T₈. basal diet containing 3 g probiotics and 3 g of organic acid and T₉. basal diet containing 3 g probiotic and 4.5 g organic acid

جیره پایه حاوی ۲ گرم پروبیوتیک (تیمار ۲) بود. بررسی متوسط افزایش در تغییرات دور شکم و قفسه سینه، در تیمارها می‌تواند نشان دهنده افزایش ظرفیت بدن و در نتیجه تفاوت در میزان خوراک مصرفی و افزایش وزن روزانه در بین گوساله‌ها باشد به طوری که در (جدول ۲) نشان داده شده است که بیشترین میانگین مصرف خوراک و میانگین افزایش وزن روزانه مربوط به تیمار ۲ می‌باشد. افزایش زیست فراهمی عناصر معدنی از جمله کلسیم، منیزیم و فسفر در نتیجه مصرف پروبیوتیک بر افزایش میزان رشد اسکلتی گوساله‌ها در مطالعه خانتیا و چادهاری (۲۹) نشان داده شده است. میر و میر (۳۹) نیز گزارش کردند استفاده از کشت مخمر به عنوان پروبیوتیک در جیره گوساله‌ها منجر به افزایش عددی وزن لاشه و کاهش تولید گوشت شد و این موضوع نشان دهنده اثر مخمر بر رشد استخوانی گوساله‌ها است. مک لئود و همکاران (۳۶) تفاوتی را در اندازه قطر شکم، عرض و

اثر تیمارهای آزمایشی بر رشد اسکلتی گوساله‌ها در (جدول ۴) نشان داده شده است. نتایج این پژوهش نشان داد که جیره‌های آزمایشی اثر معنی‌داری بر پارامترهای رشد اسکلتی نداشت. همان طور که مشاهده می‌شود طول بدن بین تیمارها تفاوت معنی‌داری را نشان نداد. با این وجود از لحاظ عددی گوساله‌های مصرف کننده جیره پایه حاوی ۲ گرم پروبیوتیک (تیمار ۲) نسبت به شاهد و بقیه تیمارها طول بدن و قد بلندتری (قد از جدوگاه و کپل) را داشتند. موافق با نتایج این تحقیق، مهرداد و همکاران (۳۷) و لسمیستر و همکاران (۳۵) گزارش کردند مصرف پروبیوتیک تأثیر معنی‌داری بر تغییرات رشد اسکلتی (دور سینه، طول و ارتفاع بدن از جدوگاه) گوساله‌ها نداشت. به علاوه افزودن پروبیوتیک و اسید آلی تأثیر معنی‌داری بر محیط شکم و قفسه سینه در تمامی تیمارهای آزمایشی نداشته ولی از لحاظ عددی بیشترین اندازه در هر دو متغیر مربوط به گوساله‌های مصرف کننده

ارتفاع لگن گوساله‌هایی که در خوراک آغازین و یا جایگزین شیر آن‌ها پروبیوتیک اضافه شد، نسبت به گروه شاهد، مشاهده نکردند. همچنین صارمی و همکاران (۵۹) نشان دادند که تجویز پروبیوتیک (ساکارومایسیه) روی شاخص‌های رشد اسکلتی اثر معنی‌داری نداشت.

جدول ۴- اثر جیره‌های آزمایشی بر رشد اسکلتی گوساله‌های هلشتاین (سانتی‌متر)
Table 4- The effect of dietary treatments on skeletal growth of neonatal Holstein calves (cm)

	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	P value	SEM
طول بدن (سانتی‌متر) Body length (cm)	85	89.13	87.38	86.12	86.06	88.38	88.25	88.44	85.75	0.246	1.3
قد از جدوگاه (سانتی‌متر) height from front(cm)	89.94	94.69	91.25	91.81	91.25	91.44	93.50	94.19	91.25	0.246	1.36
قد از کیل (سانتی‌متر) height from behind(cm)	97.75	102.81	99.25	99.75	99.68	101.75	100.56	101.68	99.68	0.442	1.52
محیط شکم (سانتی‌متر) Abdomen size(cm)	104.06	110.19	106.44	108.13	109.25	104.44	105.88	109.38	106.69	0.733	3.59
محیط قفسه سینه (سانتی- متر) Chest size(cm)	96.56	104.18	98.81	101.88	101.56	100.13	98.13	102.13	98.88	0.571	3.22

T₁: جیره شاهد (جیره پایه)، تیمار، T₂: جیره پایه حاوی افزودنی پروبیوتیک (۲ گرم در روز به ازاء هر رأس گوساله)، تیمار، T₃: جیره پایه حاوی افزودنی پروبیوتیک (۳ گرم در روز به ازاء هر رأس گوساله)، تیمار، T₄: جیره پایه حاوی اسیدآلی (۳ گرم در روز به ازاء هر رأس گوساله)، تیمار، T₅: جیره پایه حاوی اسیدآلی (۴/۵ گرم در روز به ازاء هر رأس گوساله)، تیمار، T₆: جیره پایه حاوی (۲ گرم پروبیوتیک و ۳ گرم اسیدآلی در روز به ازاء هر رأس گوساله)، تیمار، T₇: جیره پایه حاوی (۲ گرم پروبیوتیک و ۴/۵ گرم اسید آلی در روز به ازاء هر رأس گوساله)، تیمار، T₈: جیره پایه حاوی (۳ گرم پروبیوتیک و ۳ گرم اسیدآلی در روز به ازاء هر رأس گوساله) و T₉: جیره پایه حاوی (۳ گرم پروبیوتیک و ۴/۵ گرم اسید آلی در روز به ازاء هر رأس گوساله).

T₁. basal diet without additive (control), T₂. basal diet containing 2 g probiotic additive, T₃. basal diet containing 3 g probiotic, T₄. basal diet containing 3 g organic acid, T₅. basal diet containing 4.5 g organic acid, T₆. basal diet containing 2 g of probiotic and 3 g of organic acid, T₇. basal diet containing 2 g of probiotic and 4.5 g of organic acid, T₈. basal diet containing 3 g probiotics and 3 g of organic acid and T₉. basal diet containing 3 g probiotic and 4.5 g organic acid

به سبب خوراندن اسیدهای آلی نسبت داده شود، این موضوع احتمالاً به هضم و جذب بیشتر مواد مغذی کمک کرده و در نتیجه میزان گلوکز خون را افزایش داده است (۲۱). در حقیقت غلظت گلوکز خون در روز ۴۵ بیشتر از روز ۷۵ بود و با افزایش سن، کاهش یافت. به نظر می‌رسد در نشخوارکنندگان با رشد شکمبه و دستگاه گوارش فارغ از جیره غذایی غلظت گلوکز کاهش می‌باید که این امر در گوساله‌های شیرخوار نیز مورد تأیید قرار گرفته است (۵۱). غلظت گلوکز خون بستگی به سن گوساله، نوع و مقدار خوراک مصرفی دارد و با توسعه شکمبه مقدار آن کاهش یافته و علت آن کاهش هایپرگلاسمی غذایی با قطع مصرف شیر و تغییر در قابلیت دسترسی حاصل از تخمیر کربوهیدرات‌ها در شکمبه گزارش شده است (۱۴).

نتایج مربوط به تأثیر جیره‌های آزمایشی بر فراسنجه‌های خونی گوساله‌های شیرخوار در جدول ۵ ارائه شده است. غلظت گلوکز خون تحت تأثیر جیره‌های آزمایشی قرار نگرفت. نتایج بررسی کلسترول خون نیز نشان داد جیره‌های حاوی ۴/۵ اسیدآلی (تیمار ۵) و ۲ g پروبیوتیک + ۴/۵ اسیدآلی (تیمار ۷) در مقایسه با گروه شاهد منجر به کاهش کلسترول خون شدند. ولی جیره‌های آزمایشی تأثیری بر کلسترول خون در زمان ۷۵ روزگی نداشتند. از نظر غلظت‌های تری-گلیسرید، آلبومین و پروتئین کل خون نیز بین جیره‌های آزمایشی اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید.

غلظت گلوکز خون در گوساله‌های دریافت کننده تیمار ۵ افزایش یافته بود، که این امر می‌تواند به ایجاد محیط مناسب در مجرای روده

جدول ۵- اثر تیمارهای آزمایشی بر پارامترهای خونی گوساله‌های شیرخوار هلشتاین
Table 5- Effect of experimental treatments on blood parameters of neonatal Holstein calves

	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	SEM	P values		
											T	P	T×P
گلوکز Glucose													
روز ۴۵ Day 45	59.74	66.9	60.25	79.48	83.36	76.12	81.47	71.64	75.60				
روز ۷۵ Day 75	53.79	66.89	51.21	65.60	75.48	73.67	69.66	56.38	64.57	7.75	0.17	0.05	0.95
کلسترول Cholesterol													
روز ۴۵ Day 45	33.18	39.55	29.24	31.61	24.62	35.34	29.62	29.62	36.80				
روز ۷۵ Day 75	32.29	30.59	42.61	41.57	41.4	36.72	48.19	42.21	50.27	4.12	0.2	0.003	0.002
تری‌گلیسرید Triglyceride													
روز ۴۵ Day 45	21.25	14.29	12.32	15.89	15.53	10.89	15.71	13.05	15.71				
روز ۷۵ Day 75	17.53	13.30	15.36	12.56	12.93	14.22	21.8	13.04	19.16	3.72	0.9	0.51	0.2
آلبومین Albumin													
روز ۴۵ Day 45	2.89	2.91	2.93	2.96	2.63	3.11	3.02	3.06	2.92				
روز ۷۵ Day 75	3.18	3.25	3.22	3.13	3.05	3.12	3.14	3.02	3.16	0.12	0.51	0.001	0.54
پروتئین کل Total protein													
روز ۴۵ Day 45	6.04	5.87	6.25	5.93	5.97	6.03	5.97	6.09	5.89				
روز ۷۵ Day 75	6.84	6.68	6.95	6.84	7.22	6.91	7.14	6.76	7.56	0.26	0.54	0.0001	0.8
ازت اورهای Urea nitrogen													
روز ۴۵ Day 45	6.04	5.87	6.25	5.92	5.97	6.03	6.73	6.09	5.89				
روز ۷۵ Day 75	4.32	2.40	2.73	1.94	2.64	2.42	3.34	3.82	2.91	1.09	0.06	0.0001	0.4

abc میانگین‌های با حروف غیر مشابه اختلاف معنی‌داری به لحاظ آماری دارند ($P < 0.05$).

T: اثر تیمار، P: اثر دوره، T×P: اثر متقابل تیمار در دوره.

T₁: جیره شاهد (جیره پایه)، تیمار، T₂: جیره پایه حاوی افزودنی پروبیوتیک (۲ گرم در روز به ازاء هر رأس گوساله)، تیمار، T₃: جیره پایه حاوی افزودنی پروبیوتیک (۳ گرم در روز به ازاء هر رأس گوساله)، تیمار، T₄: جیره پایه حاوی اسیدآلی (۳ گرم در روز به ازاء هر رأس گوساله)، تیمار، T₅: جیره پایه حاوی اسیدآلی (۴/۵ گرم در روز به ازاء هر رأس گوساله)، تیمار، T₆: جیره پایه حاوی (۲ گرم پروبیوتیک و ۳ گرم اسیدآلی در روز به ازاء هر رأس گوساله)، تیمار، T₇: جیره پایه حاوی (۲ گرم پروبیوتیک و ۴/۵ گرم اسید آلی در روز به ازاء هر رأس گوساله)، تیمار، T₈: جیره پایه حاوی (۳ گرم پروبیوتیک و ۳ گرم اسیدآلی در روز به ازاء هر رأس گوساله) و T₉: جیره پایه حاوی (۳ گرم پروبیوتیک و ۴/۵ گرم اسید آلی در روز به ازاء هر رأس گوساله).

abc Means within the same line with different superscripts differ significantly ($P < 0.05$)

T₁. basal diet without additive (control), T₂. basal diet containing 2 g probiotic additive, T₃. basal diet containing 3 g probiotic, T₄. basal diet containing 3 g organic acid, T₅. basal diet containing 4.5 g organic acid, T₆. basal diet containing 2 g of probiotic and 3 g of organic acid, T₇. basal diet containing 2 g of probiotic and 4.5 g of organic acid, T₈. basal diet containing 3 g probiotics and 3 g of organic acid and T₉. basal diet containing 3 g probiotic and 4.5 g organic acid

(۲۶) گزارش کردند که به طور کلی بهبود سیستم ایمنی توسط پروبیوتیک‌ها از سه طریق افزایش آنتی‌بادی‌های عمومی، افزایش فعالیت‌های ماکروفاژی و افزایش تولید آنتی‌بادی‌های موضعی در سطح مخاطی بافت‌هایی مثل دیواره روده انجام می‌شود. تأثیر اسیدهای آلی بر سیستم ایمنی هنوز به میزان زیادی ناشناخته باقی مانده است، اما به طور کلی می‌توان گفت که اسیدهای آلی با بهبود هضم و جذب مواد غذایی و همچنین با کاهش باکتری‌های مضر که موجب کاهش عفونت‌های تحت بالینی در حیوانات می‌شوند، می‌توانند در راستای کمک به سیستم ایمنی عمل کنند (۶۱). همچنین محصولات تخمیری پروبیوتیک‌ها به وسیله میکرو فلور روده از طریق تعدیل فعالیت ایمنی، بهبود راندمان انرژی و قابلیت هضم، باعث کاهش pH روده می‌شود که همین امر سبب سرکوب باکتری‌های بیماری‌زا می‌گردد (۵۶). در میان گلبول‌های سفید، نوتروفیل‌ها به آسیب‌های بافتی ناشی از باکتری‌ها زودتر پاسخ می‌دهند (۶۴). پروبیوتیک‌ها عملکرد سیستم ایمنی را در روده و سطح عمومی بدن افزایش می‌دهند. باکتری‌های تولید کننده اسید لاکتیک به عنوان یک پروبیوتیک می‌توانند از طریق افزایش نفوسیت‌های B باعث افزایش پاسخ ایمنی بدن گردند (۱۳). از طرفی، گزارش شده است که پروبیوتیک‌ها از طریق افزایش فعالیت فاگوسیتوزی گلبول‌های سفید، افزایش تعداد نوتروفیل‌ها و نفوسیت‌ها در سلول‌های دیواره روده، افزایش ترشح گاما انترفرون و در نتیجه افزایش تولید پادتن‌ها می‌توانند سیستم ایمنی را تحریک نمایند (۲۰). درصد نفوسیت‌ها شاخص مهمی در ارزیابی سطح ایمنی بدن می‌باشد و هر چقدر این درصد بیشتر باشد، به همین مقدار نیز سطح ایمنی بدن بالا بوده و احتمال مقاومت در مقابل عوامل بیماری‌زا بهبود می‌یابد (۶۴). همان گونه که در این آزمایش مشخص شد پروبیوتیک‌ها و اسیدآلی باعث افزایش تعداد کل گلبول‌های سفید می‌شوند که این خود بیانگر تحریک سیستم ایمنی بدن می‌زبان می‌باشد. کریمی و رحیمی (۲۷) گزارش کردند که افزودن سطوح مختلف پروبیوتیک باعث افزایش در تعداد کل گلبول‌های سفید خون نسبت به گروه شاهد شد. کونن و همکاران (۳۱) گزارش کردند که پاسخ ایمنی با استفاده از پروبیوتیک‌ها در جیره افزایش می‌یابد که با نتایج به دست آمده در این مطالعه مطابقت دارد. آلدانا و همکاران (۴) نشان دادند که افزودن پروبیوتیک به شیر جایگزین و خوراک آغازین گوساله‌های شیرخوار سبب بهبود وضعیت سلامت و تقویت سیستم ایمنی می‌شود. به طور کلی، کور کیونوسچی و همکاران (۱۰) بیان کردند که پروبیوتیک‌ها با حفظ حضور میکروارگانیسم‌های مفید در روده سبب حذف باکتری‌های بیماری‌زا شده و بدین ترتیب سبب تأثیر بر سیستم ایمنی دام نیز می‌شوند (۱۰). همچنین، کاهش pH روده از طریق تخمیر اسیدی، افزایش مصرف مواد مغذی، تولید باکتروسیکین و تحریک سیستم ایمنی را نیز به دنبال دارند (۵۷). اثر دوره بر تمامی پارامترها به جز منوسیت‌ها معنی‌دار بود.

به نظر می‌رسد کاهش قابل توجه کلسترول سرم خون در گوساله‌های مصرف کننده مخلوطی از پروبیوتیک و اسیدآلی در تیمار ۷ (در روز ۴۵)، به دلیل اثر متقابل ایجاد شده بین آن‌ها باشد (۱۱). مکانیسم کاهش کلسترول به درستی شناخته نشده است. موهان و همکاران (۴۲) گزارش کردند که کاهش کلسترول بوسیله مکمل اسیدآلی می‌تواند ناشی از کاهش جذب و سنتز کلسترول در دستگاه گوارش باشد که کلسترول خون را بوسیله دکونژوگه کردن نمک‌های صفراوی در روده کاهش می‌دهد، بنابراین از فعالیت آن به عنوان یک پیش ماده در سنتز کلسترول جلوگیری می‌کند. همچنین نعمت‌پور و همکاران (۴۶) گزارش کردند که تغذیه گوساله‌های پروراری با دانه جو فرآوری شده با اسیدهای لاکتیک و سیتریک تأثیر معنی‌داری بر غلظت تری‌گلیسرید، پروتئین و آلبومین نداشت. نتایج بدست آمده از پژوهش حسین و همکاران (۲۳) و چانداری و همکاران (۹) با یافته‌های این تحقیق مطابقت داشت که عدم تأثیرگذاری پروبیوتیک بر آلبومین خون را گزارش کردند. سطح پروتئین پلاسما نشان دهنده وضعیت آنابولیسم و کاتابولیسم پروتئین در بدن است و تابع تعادل هورمونی، وضعیت تغذیه‌ای، تعادل آب و سایر عوامل مؤثر بر وضعیت سلامت حیوان است (۵۴). مسلمی‌پور و همکاران (۴۳) گزارش کردند که غلظت پروتئین کل گوساله‌ها تحت تأثیر افزودن پروبیوتیک به آغوز و شیر قرار نگرفت. مطابق نتایج این آزمایش ریدل و همکاران (۵۲) گزارش کردند که افزودن پروبیوتیک بر غلظت پروتئین تأثیر معنی‌داری نداشت.

مطابق نتایج گزارش شده در جدول ۶، جیره‌های آزمایشی اثر معنی‌داری بر درصد گلبول‌های سفید در هر دو زمان نمونه‌گیری (۴۵ و ۷۵ روزگی) داشتند ($p < 0.05$). افزودن سطوح ۳ g اسید آلی (تیمار ۴)، ۲ g پروبیوتیک + ۳ g اسیدآلی (تیمار ۶)، ۲ g پروبیوتیک + ۴/۵ اسیدآلی (تیمار ۷) و ۳ g پروبیوتیک + ۳ g اسیدآلی (تیمار ۸) باعث افزایش تعداد کل گلبول‌های سفید خون نسبت به گروه شاهد در روز ۴۵ آزمایش شد ($p < 0.05$)، و بیشترین و کمترین درصد گلبول سفید خون نیز به ترتیب متعلق به تیمار ۶ و ۱ بود. افزایش در تعداد گلبول‌های سفید را می‌توان نوعی ایمنی‌زایی ناشی از مصرف پروبیوتیک دانست (۶۲). پناهی‌دهقان و همکاران (۴۷) اثر پروبیوتیک حاوی باکتری‌های اسید لاکتیک زنده را بررسی کردند و مشاهده نمودند که تعداد کل گلبول‌های سفید و نفوسیت‌ها افزایش یافت، با توجه به این که در حیوانات، نفوسیت‌ها بالاترین میزان گلبول‌های سفید خون را تشکیل می‌دهند و برای ایجاد پاسخ ایمنی، تأثیر متقابل نفوسیت‌های نوع T و B و نیز ماکروفاژها لازم و ضروری است، بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که افزایش تعداد نفوسیت‌ها در خون به دنبال افزایش تعداد گلبول‌های سفید خون، می‌تواند در تحریک سیستم ایمنی بدن حیوانات نقش مهمی را ایفا نماید. کبیر و همکاران

جدول ۶- اثر جیره‌های آزمایشی بر گلبول‌های سفید و پاسخ ایمنی گوساله‌های هلشتاین

Table 6- Effect of experimental diets on white blood cells and immune response of Holstein calves

	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	SEM	P values		
											T	P	T×P
گلبول سفید (%)													
White blood cell (%)													
روز ۴۵ Day 45	5.60	6.73	6.63	7.30	6.90	8.40	8.15	7.50	6.83	0.47	0.005	0.0001	0.09
روز ۷۵ Day 75	7.20	9.85	9.05	8.76	9.35	9.28	9.55	9.35	8.85				
نوتروفیل (%)													
Neutrophil (%)													
روز ۴۵ Day 45	28.75	29.50	28.25	35	37.25	43.25	33	27.25	31.50	2.99	0.2	0.0003	0.01
روز ۷۵ Day 75	37.50	44.25	41.50	41.25	35.50	42	39.50	40.50	36.25				
لنفوسیت (%)													
Lymphocyte (%)													
روز ۴۵ Day 45	66.75	70.50	65.50	61.25	57.50	52.50	63.25	70.25	64.50	2.81	0.07	0.0001	0.02
روز ۷۵ Day 75	58	52.25	55	54.25	59	52	56	56	59.75				
مونوسیت (%)													
Monocyte (%)													
روز ۴۵ Day 45	4.75	5.50	6.25	3.50	5.25	4.25	3.75	2.50	4	0.69	0.1	0.32	0.45
روز ۷۵ Day 75	4.50	3.50	3.50	4.50	5.50	6	4.50	3.50	4.15				

abc میانگین‌های با حروف غیر مشابه اختلاف معنی‌داری به لحاظ آماری دارند ($P < 0.05$).

T: اثر تیمار، P: اثر دوره، T×P: اثر متقابل تیمار در دوره.

T₁: جیره شاهد (جیره پایه)، تیمار، T₂: جیره پایه حاوی افزودنی پروبیوتیک (۲ گرم در روز به ازاء هر رأس گوساله)، تیمار، T₃: جیره پایه حاوی افزودنی پروبیوتیک (۳ گرم در روز به ازاء هر رأس گوساله)، تیمار، T₄: جیره پایه حاوی اسیدآلی (۳ گرم در روز به ازاء هر رأس گوساله)، تیمار، T₅: جیره پایه حاوی اسیدآلی (۴/۵ گرم در روز به ازاء هر رأس گوساله)، تیمار، T₆: جیره پایه حاوی (۲ گرم پروبیوتیک و ۳ گرم اسیدآلی در روز به ازاء هر رأس گوساله)، تیمار، T₇: جیره پایه حاوی (۲ گرم پروبیوتیک و ۴/۵ گرم اسید آلی در روز به ازاء هر رأس گوساله)، تیمار، T₈: جیره پایه حاوی (۳ گرم پروبیوتیک و ۳ گرم اسیدآلی در روز به ازاء هر رأس گوساله) و T₉: جیره پایه حاوی (۳ گرم پروبیوتیک و ۴/۵ گرم اسید آلی در روز به ازاء هر رأس گوساله).

abc Means within the same line with different superscripts differ significantly ($P < 0.05$)

T₁. basal diet without additive (control), T₂. basal diet containing 2 g probiotic additive, T₃. basal diet containing 3 g probiotic, T₄. basal diet containing 3 g organic acid, T₅. basal diet containing 4.5 g organic acid, T₆. basal diet containing 2 g of probiotic and 3 g of organic acid, T₇. basal diet containing 2 g of probiotic and 4.5 g of organic acid, T₈. basal diet containing 3 g probiotics and 3 g of organic acid and T₉. basal diet containing 3 g probiotic and 4.5 g organic acid

دریافت کننده پروبیوتیک گزارش نمودند. به طور کلی، پروبیوتیک‌ها برای بهبود وضعیت سلامت و کاهش امتیاز قوام مدفوع چندین مکانیسم دارند که شامل: ۱- کاهش pH روده و به سبب آن ممانعت از رشد برخی از میکروب‌های بیماری‌زا (۱۵)، ۲- تولید پراکسید هیدروژن توسط لاکتوباسیل‌ها که دارای فعالیت باکتریوسیدی است (۱۹)، ۳- تقویت سیستم ایمنی و ۴- چسبیدن به اپیتلیوم روده و تکثیر در دستگاه گوارش و رقابت برای حذف میکروب‌های بیماری‌زا می‌باشد (۲۲). کاستیلو و مارتین (۶) بیان کردند که قدرت بافری ایجاد شده ناشی از تغذیه اسیدهای آلی در خوراک و دستگاه گوارش، سبب افزایش بازده انرژی و قابلیت هضم پروتئین خام، کلسیم و فسفر می-

امتیاز قوام مدفوع و وضعیت سلامتی بین تیمارها در جدول ۷ نشان داده شده است. جیره‌های آزمایشی اثر معنی‌داری بر قوام مدفوع، اسکور گوش، چشم و بینی داشت ($P < 0.05$). تیمارهای حاوی جیره‌های آزمایشی دارای امتیاز قوام مدفوع و وضعیت سلامت بهتری نسبت به گروه شاهد بودند. مطابق نتایج این آزمایش آلدانا و همکاران (۴) نشان دادند که پروبیوتیک‌ها سبب کاهش امتیاز قوام مدفوع و بهبود وضعیت سلامت گوساله‌ها شد. بروز اسهال به عنوان یکی از مشکلات اساسی در گوساله‌های شیرخوار در نظر گرفته می‌شود و جلوگیری از اسهال جهت بهبود رشد گوساله بسیار مهم است (۳۰). آقازی و همکاران (۳) کمترین میزان بروز اسهال را در گوساله‌های

شود، که این امر در نتیجه کاهش باکتری‌های مضر چسبیده به دیواره روده حاصل می‌گردد و منجر به بهبود وضعیت مدفوع و سلامت گوساله‌ها می‌شود. مکانیسم‌های عنوان شده بالا دلیلی بر تاثیر مثبت

تیمارهای آزمایشی بر پارمترهای مورد مطالعه و بهبود وضعیت سلامتی گوساله‌هاست.

جدول ۷- اثر جیره‌های آزمایشی بر امتیاز قوام مدفوع و وضعیت سلامت گوساله‌های شیرخوار هلشتاین

Table 7- Effect of experimental diets on the fecal consistency score and neonatal Holstein calves condition

	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	P value	SEM
قوام مدفوع											
Feces consistency	0.29 ^a	0.11 ^{bc}	0.18 ^{abc}	0.14 ^{bc}	0.3 ^a	0.1 ^c	0.33 ^a	0.26 ^b	0.3 ^a	0.007	0.037
اسکور گوش											
Ear score	0.33 ^a	0.11 ^b	0.19 ^{ab}	0.16 ^{ab}	0.18 ^{ab}	0.15 ^b	0.21 ^a	0.11 ^b	0.23 ^a	0.019	0.409
اسکور چشم											
Eye score	0.33 ^a	0.11 ^{bc}	0.19 ^{ab}	0.16 ^{ab}	0.18 ^{ab}	0.05 ^c	0.21 ^{ab}	0.11 ^{bc}	0.23 ^b	0.018	0.456
اسکور بینی											
Nose score	0.15 ^b	0.04 ^c	0.11 ^{bc}	0.09 ^{bc}	0.15 ^{ab}	0.05 ^c	0.16 ^{ab}	0.08 ^{bc}	0.19 ^a	0.044	0.528

abc میانگین‌های با حروف غیر مشابه اختلاف معنی‌داری به لحاظ آماری دارند ($P < 0.05$).

T₁: جیره شاهد (جیره پایه)، تیمار، T₂: جیره پایه حاوی افزودنی پروبیوتیک (۲ گرم در روز به ازاء هر رأس گوساله)، تیمار، T₃: جیره پایه حاوی افزودنی پروبیوتیک (۳ گرم در روز به ازاء هر رأس گوساله)، تیمار، T₄: جیره پایه حاوی اسیدآلی (۳ گرم در روز به ازاء هر رأس گوساله)، تیمار، T₅: جیره پایه حاوی اسیدآلی (۴/۵ گرم در روز به ازاء هر رأس گوساله)، تیمار، T₆: جیره پایه حاوی (۲ گرم پروبیوتیک و ۳ گرم اسیدآلی در روز به ازاء هر رأس گوساله)، تیمار، T₇: جیره پایه حاوی (۲ گرم پروبیوتیک و ۴/۵ گرم اسید آلی در روز به ازاء هر رأس گوساله)، تیمار، T₈: جیره پایه حاوی (۳ گرم پروبیوتیک و ۳ گرم اسیدآلی در روز به ازاء هر رأس گوساله) و T₉: جیره پایه حاوی (۳ گرم پروبیوتیک و ۴/۵ گرم اسید آلی در روز به ازاء هر رأس گوساله).

abc Means within the same line with different superscripts differ significantly ($P < 0.05$)

T₁. basal diet without additive (control), T₂. basal diet containing 2 g probiotic additive, T₃. basal diet containing 3 g probiotic, T₄. basal diet containing 3 g organic acid, T₅. basal diet containing 4.5 g organic acid, T₆. basal diet containing 2 g of probiotic and 3 g of organic acid, T₇. basal diet containing 2 g of probiotic and 4.5 g of organic acid, T₈. basal diet containing 3 g probiotics and 3 g of organic acid and T₉. basal diet containing 3 g probiotic and 4.5 g organic acid

گوساله‌های شیرخوار توصیه می‌شود.

نتیجه گیری کلی

به طور کلی می‌توان نتیجه گرفت که استفاده از سطوح مختلف پروبیوتیک و اسیدآلی باعث افزایش خوراک مصرفی و وزن روزانه و نهایی گروه‌های تیماری در مقایسه با گروه شاهد شد. مقایسه گروه-های تیماری نشان داد گوساله‌هایی که ۲ گرم در روز پروبیوتیک مصرف می‌کردند (تیمار ۲) از افزایش وزن بیشتر و رشد اسکلتی بالاتری داشتند بر این اساس، به نظر می‌رسد استفاده از پروبیوتیک در مقایسه با اسید آلی اثرات سودمندتری بر رشد گوساله‌های شیرخوار داشته و در مقایسه با اسید آلی به عنوان مکمل مناسب در تغذیه

سپاسگزاری

نگارندگان از کمک‌های دانشگاه محقق اردبیلی بدلیل تأمین بخشی از هزینه‌های این طرح قدردانی می‌کنند. همچنین از مدیر عامل و کارکنان زحمتکش شرکت کشت و صنعت دامپروری مغان جهت حمایت از اجرای این پژوهش تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

1. Ababakrli, R., R. Riassi, M. H. Fathi, H. Naeemipoor, And S. Khorsandi. 2012. The effect of *spearmint sativum* essence added to starter diet on ruminal fermentation, weaning age and performance of Holstein calves. Journal of Animal Science Research, 22(4): 141-154. (In Persian).
2. Afshar Mazandaran, N. and A. Rajab. 2001. Probiotics and their application in livestock nutrition. Tehran, Iran, Nourbakhsh Publication.
3. Agazzi, A., E. Tirloni, S. Stella, S. Marocco, B. Ripamonti, C. Bersani, J. M. Caputo, V. Dell'Orto, N. Rota, and G. Savoini. 2014. Effects of species-specific probiotic addition to milk replacer on calf health and performance during the first month of life. Animal Science, 14:101-115.

4. Aldana, C., F. Cabra, A. Carlos, F. Cavajal, and F. Rodriguez. 2009. Effect of probiotic compound in rumen development, diarrhea incidence and weight gain in young Holstein calves. *Journal of Animal Science*, 3:489-492.
5. Ashayerizade, A., B. Dastar, M. Shams, and M. Khamiri. 2008. Investigation of gut microflora and performance response of young broiler chicks to diets supplemented with Roxarson, avilamycin and Formaycine Gold. *Journal of Science and Technologies of Agriculture and Natural Science*, 43: 545-554.
6. Castillo, M. and S. M. Martin-Orue. 2006. The response of gastrointestinal microbiota to avilamycin, butyrate, and plant extracts in early-weaned pigs. *Journal of Animal Science*, 84:2725-2734.
7. Cengiz, O., B.H. Koksall, O. Tatli, O. Sevim, H. Avci, T. Epikmen, D. Beyaz, S. uyukyuruk, M. Boyacioglu, A. Uner, and A.G. Onol. 2012. Influence of dietary organic acid blend supplementation and interaction with delayed feed access after hatch on broiler growth performance and intestinal health. *Veterinari Medicina*. 57(10): 515-528.
8. Chaudhary, L. C. A., N. Sahoo, D. N. Agrawal, M. Kamra, and N. N. Pathak. 2008. Effect of direct fed microbial on nutrient utilization, rumen fermentation, immune and growth response in crossbred cattle calves, *Indian Journal of Animal Science*, 78:515-521.
9. Corcionivoschi, N., D. Drinceanu, I. Pop, M. Stack, D. Stef, and L. Julean. 2010. The effect of probiotics on animal health. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 43: 35-41.
10. Dastar, B., A. Khaksefidi, and Y. Mostafalo. 2008. The effect of *Tepax* probiotic and protein level on broilers performance. *Journal of Science and Technology of Agricultural and Natural Resources*, 12: 449-459. (In Persian).
11. Denli, M., F. Okan, and K. M. Celik. 2003. Effect of dietary probiotic, organic acid and antibiotic supplementation to diets on broiler performance and carcass yield. *Pakistan Journal of Nutrition*, 2: 89-91.
12. Deckardt, K., A. Khol-Parisiniand, and Q. Zebli. 2013. Peculiarities of Enhancing Resistant Starch in Ruminants Using Chemical Methods: Opportunities and Challenges. *Nutrients*, 5: 1970-1988.
13. De Simone, C., R. Vesely, B. Bianchi Salvadori, and E. Jirillo, 1993. The role of probiotics in modulation of the immune system in man and in animals. *International Journal of Immunology*, 9: 8-23.
14. Fahey, J. R. G. C, and L. L. Berger. 1988. Carbohydrate Nutrition of Ruminants. In: D. C. Church (Ed.) *The ruminant Animal: Digestive Physiology and Nutrition*, Prentice-Hall, Inc., Englewood Cliffs, New Jersey, USA.
15. Fuller, R. 1977. The importance of lactobacilli in maintaining normal microbialbalance in the crop. *British Poultry Science*, 18:85-94.
16. Galvao, K. N., J. E. P. Santos, A. Coscioni, M. Villaseñor, W. M. Sicho, 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 *Escherichia coli*. *Reproduction Nutrition Development*, 45: 427- 440.
17. Ghahri, H., M. Shivazad., P. Farhumand, J. Egbal, and M. Najafzadeh. 2007. An investigation on the use of dietary organic acids on broiler performance. *Pajouhesh & Sazandegi*, 77: 26-33. (In Persian).
18. Gilliland, S. E., C. R. Nelson, and Maxwell, C. 1985. Assimilation of cholesterol by lactic acid. *Applied Environmental Microbiology*, 49: 337-381.
19. Gilliland, S. and M. Speck. 1977. Antagonistic action of lactobacillus acidophilus toward intestinal and food borne pathogens in associative cultures. *Journal of Food Protection*, 40: 820-823
20. Gorka, P., Z.M. Kowalski, P. Pietrzak, A. Kotunia, R. Kiljanczyk, J. Flaga, J. J. Holst, P. Guilloteau, and R. Zabielski. 2009. Effect of sodium butyrate supplementation in milk replacer and starter diet on rumen development in calves. *Journal of Physical Pharmacology*, 60:47-53.
21. Harmon, D. L. and K. R. McLeod. 2001. Glucose uptake and regulation by intestinal tissues: Implications and whole-body energetics. *Journal of Animal Science*, 79: 59-72.
22. Holzapfel, W. H., P. Haberer, J. Snel, U. Schillinger, and J. H. J. Huisin. 1998. Overview of gut flora and probiotics. *International Journal of Food Microbiology*, 41: 85-101.
23. Hossain, S. A., S. N. Parnerkar, R. S.Haque, and D. Gupta. 2012. Influence of dietary supplementation of live yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) on nutrient utilization ruminal and biochemical profiles of ankrejcalves, *Journal of Applied Animal Research*, 1(1): 30-38.
24. 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(8): 57-69. (In Persian).
25. Isolauri, E., S. Salminen, and A. C. Ouwehand. 2004. Probiotics. *Best Practice and Research Clinical Gastroenterology. Animal Journal of clinical nutrition*, 18: 299- 313.
26. Kabir, S. L., M. M. Rahman, M. B. Rahman, M. M. Rahman, and S. U. Ahmed. 2004. The dynamics of probiotics on growth performance and immune response in broilers. *International Journal of Poultry Science*, 3(5): 361-364.
27. Karimi, K. and S. H. Rahimi. 2004. The effects different levels of probiotic on fats and red cells of broilers. *Animal Science Journal (Pajouhesh & Sazandegi)*, 62: 40-45. (In Persian).
28. Kaur, I. P., K. Chopra, and A. Saini. 2002. Probiotics: potential pharmaceutical applications. *European Journal of*

- Pharmacology Science, 15:1-9.
29. Khuntia, A. and I. C. Chaudhary. 2002. Performance of male crossbred calves as influenced by substitution of grain by wheat bran and the addition of lactic acid bacteria to diet. *Asian Australian Journal of Animal Science*, 15: 188-194.
 30. Kobashi, Y., A. Hasebe, and M. Nishio. 2005. Antibiotic-resistant bacteria from feces of livestock, farmyard manure, and farmland in Japan: case report. *Microbes Environment*, 20: 53-60.
 31. Koenen, M. E., J. Kramer, R. Van Der Hulst, L. Heres, S. H. M. Jeurissen, W. J. A. Boersma, 2004. Immunomodulation by probiotic lactobacilli in layer-and meat-type chickens. *British Journal of Poultry Science*, 45(3): 355-366.
 32. Kong, X. F., G. Y. Wu, and Y. L. Yin. 2011. Roles of phytochemicals in amino acid nutrition. *Fronteries in Bioscience*, 3: 372-384.
 33. Laki, A., M. Dehghanbonadaky., A. Zali., M. Ganjkanlou, and K. Rezayazdi. 2016. Evaluation of barely grain processing with lactic acid and sitric acid on performance and feed intake behavior of Holstein Cows. *Animal production*, 18(2): 249-260. (In Persian).
 34. Lee, K. W., H. Everts, and A. C. Beynen. 2004. Essential oils in broiler nutrition. *International Journal Poultry Science*, 3: 738-752.
 35. Lesmeister, K. E., A. J. Heinrichs, and M. T. Gabler. 2004. Effects of supplemental yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) culture on rumen development, growth characteristics, and blood parameters in neonatal dairy calves. *Journal of Dairy Science*. 87: 1832–1839
 36. McLeod, K. R., D. L. Harmon, and J. B. Riddell. 2010. Addition of a bacillus-based probiotic to the diet of pre ruminant calves: Influence on growth, health, and blood parameters. *International Journal of Applied Research Veterinarni Medicina*, 8: 78-85.
 37. Mehrdad, N., Y. Chashnidel, A. Teimori Yansari, and M. Khorvash. 2017. Effects of two kinds of probiotics on performance, blood and ruminal parameters in Holstein male calves. *Journal of Ruminant Research*, 5(1):23-44. (In Persian).
 38. Mellor, S. 2000. Nutraceuticals-alternatives to antibiotics. *World's Poultry Science Journal*, 16: 30-33.
 39. Mir, Z. and P. S. Mir. 1994. Effect of the addition of live yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) on growth and carcass quality of steers fed high-forage or high-grain diets and on feed digestibility and in situ degradability. *Journal Animal Science*, 72:537-545.
 40. Mohamadi, Gh., M. Mehri. and A. Ahmadi. 2008. The effect of *Saccharomyces cerevisiae* CNCME-1079 probiotic on blood parameters, growth and health of Holstein newborn calves. *Iranian animal Science journal*, 2(1):19-32. (In Persian)
 41. Mohamadi Roodposhti, P, and N. Dabiri. 2012. Effects of probiotic and prebiotic on average daily gain, ecal shedding of *Escherichia Coli* and immune system status in newborn female calves. *Asian-Australasia. Journal Animal Sciences*. 9: 1255-1261.
 42. Mohan, B., R. Kadirvel, M. Bhaskaran, and A. Natarajan.1995. Effect of Organic Acid supplementation on serum/yolk cholesterol and on egg shell thickness in layers. *British journal of Poultry Science*, 36: 799-803.
 43. Moslemipur, F., F. Moslemipur, and Y. Mostafaloo. 2013. Effects of using probiotic and synbiotic in colostrum and milk on passive immunoglobulin transfer rate, growth and health parameters of calf. *Journal of Ruminant Research*, 1(4):19-30. (In Persian).
 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.
 45. Nejat, A., S. N. Tabatabaei, and A. D. Forouzandeh Shahraki. 2016. The effect of using three kinds of probiotics on performance, skeletal growth, and nutrient digestibility of dairy Holstein calves. *Journal of Zoology*, 5(2): 25-32.
 46. Nematpoor, M., K. Rezayazdi, and M. Dehghan-Banadaki. 2014. Effects of dietary barley grain processed by organic acid on performance and digestibility in feedlot cattle. *Journal of Ruminant Research*, 2(3): 21-33. (In Persian).
 47. Panahi dehghan, M. R., Nejad Fereidouni, R. S., Zende rouh Kermani, R., Modir Sanei, M., S. M. Mirslimi and F. Niknefsa. 1995. *Birds physiology*. (First edition), Kowsar Economic Organization Publications, Tehran. Iran.
 48. Panda, A. K., R. Singh, and N. N. Pathak.1995. Effect of dietary inclusion of *Saccharomyces cerevisiae* on growth performance of crossbred calves. *Journal of Applied Animal Research*, 7: 195-200.
 49. Patten, J. D. and P. W. Waldroup. 1988. Use of organic acids in broiler diets. *Poultry Science*, 67: 1178-1182.
 50. Patterson, J. A. and K. M. Burkholder. 2003. Application of prebiotic and probiotics poultry production. *Poultry Science*, 82: 627-631.
 51. Quigley, J. D. 1996. Influence of weaning method on growth, intake, and selected blood metabolites in Jersey

- calves. *Journal of Dairy Science*, 79: 2255-2260.
52. Riddell, J. B., A. J. Gallegos, D. L., Harmon, and K. R. Mcleod. 2010. Addition of a *Bacillus* based probiotic to the diet of preruminant calves: influence on growth, health, and blood parameters. *International Journal of Applied Research Veterinarni Medicina*, 8: 78-85.
 53. Rezaei, M., A. Karimi Torshizi, and Y. Rouzbehan. 2011. Effect of dietary fiber on intestinal morphology and performance of broiler chickens. *Animal Sciences Journal (Pajouhesh & Sazandegi)*, 90: 52-60. (In Persian).
 54. Rezaeian, M. 2004. Effect of yeast culture supplementation on the performance of finishing Shal lambs. *Proceedings of the British Society of Animal Science*, 128: 111-121.
 55. Riddell, J. B., A. J. Gallegos, D. L. Harmon, and K. R. Mcleod. 2010. Addition of a *Bacillus* based probiotic to the diet of preruminant calves: influence on growth, health, and blood parameters. *International Journal of Applied Reseach in Veterinary Medicine*, 8: 78-85.
 56. Roodposhti, P. M. 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-Australas Journal of Animal Science*, 25: 1255-1261.
 57. Salim, H. M., H. K. Kang, N. Akter, D. W. Kim, J. H. Kim, M. J. Kim, J. C. Na, H. B. Jong, H. C. Choi, O. S. Suh, and W. K. Kim. 2013. Supplementation of direct-fed microbials as an alternative to antibiotic on growth performance, immune response, cecal microbial population, and ileal morphology of broiler chickens. *Poultry Science*, 92: 2084-2090.
 58. Santin, E., A. Maiorka, M. Macari, M. Grecco, J. C. Sanchezi, T. M. Okada, and A. M. Myasaka. 2001. Performance and intestinal mucosa development of broiler chickens fed diets containing *Saccharomyces cerevisiae* cell wall. *Journal of Applied Poultry Research*, 10: 236-244.
 59. Saremi, B., A. A. Naserian, M. Bannayan, and F. Shahriary. 2004. Effect of yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) on rumen bacterial population and performance of Holstein female calves. *Agricultural Sciences and Technology*, 18: 91-103.
 60. Schiffrin, E. J., and S. Blum. 2002. Interactions between the microbial and the intestinal mucosa. *European Journal of Clinical Nutrition*, 56 (S3): S60-S64
 61. Skrivanova, E. and M. Marounek. 2007. Influence of pH on antimicrobial activity of Organic acids against rabbit enteropathogenic strain of *Escherichia coli*. *Folia Microbiol (Praha)*, 52: 70-72.
 62. Shoeib, H. K., A. N. Sayed, S. A. Sotohy, and S. K. Abdel Gaffar. 1997. Respones of broiler chicks to probiotic (*Pronifer*) supplementation. *Assian Veterinary Medicine Journal*, 36: 103-116.
 63. Steiner, T. 2009. Effects of Phytogenic in animal natural concepts to optimize gut health and Tran. *Journal of clinical nutrition*. 17: 290- 310.
 64. Ströhlein, H. 2003. The return to nature. Live yeast for the feeding of dairy cattle. I. DMZ, *Lebensmittelindustrie und Milchwirtschaft*, 124: 36-38.
 65. Timmerman, H. M., L. Mudler, H. Evrets, and D. C. Vanespan., 2005. Health and growth of veal calves fed milk replacer with or without Probiotics. *Journal of Dairy Science*, 75: 894-899.
 66. Warner, R. 1991. Nutritional factors affecting the development of a functional ruminant. a historical perspective. *Journal of Animal and Feed Science*, 68: 501-503.
 67. Wolfenden, A. D., J. L. Icente, J. P. Higgins, F. R. L. Andreatti, S. E. Higgins, B. M. Hargis, and G. Tellez. 2007. Effect of organic acids and probiotics on *Salmonella enteritidis* infection in broiler chickens. *International Journal of Poultry Science*, 6: 403-405.



Effect of Different Levels of Probiotics and Organic Acid Supplements on Performance, Skeletal Growth, Nutrition Activity, Blood and Immune Metabolites in Holstein Calves

M. Jamali¹- F. Mirzaei Aghjeh gheslgh^{2*}- J. Seifdavati³- B. Navidshad³- R. Seyedsharifi³- R. Valizadeh Yonjali⁴

Submitted: 06-04-2019

Accepted: 16-11-2019

Introduction: Calf breeding has been one of the most important and sensitive management programs in cattle farms. Therefore, using the right nutrition strategies for their improved growth and health is very important. For this reason, antibiotics have long been used in many countries to increase the growth of livestock due to their inhibitory effect on harmful bacteria in the gastrointestinal tract. In the last decades antibiotics were used for stimulating growth and increasing viability in calves, because of improving antibiotic resistance finding new techniques for improving growth and viability and reducing weaning weight is necessary. Adding supplemental levels of probiotic and organic acids can increase the immune system and improve health of calf. **OBJECTIVES:** In this study, the effects of different levels of probiotic and organic acids additive were investigated on blood metabolites, immune response and health of Holstein calves.

Material and Methods: In order to determine the effects of different levels of probiotic and organic acids on the performance, skeletal growth and feeding activity of infant calves, the experiment was conducted using 36 Holstein calves with a mean weight of 36 kg \pm 2 in a completely randomized design with nine treatments and four replicates. The experiment lasted for 75 days in Moghan Agro-Industrial Company located in Parsabad city, Ardebil province. Treatments included: 1. basal diet without additive (control), 2. basal diet containing 2 g probiotic additive, 3. basal diet containing 3 g probiotic, 4. basal diet containing 3 g organic acid, 5. basal diet containing 4.5 g organic acid, 6. basal diet containing 2 g of probiotic and 3 g of organic acid, 7. basal diet containing 2 g of probiotic and 4.5 g of organic acid, 8. basal diet containing 3 g probiotics and 3 g of organic acid and 9. basal diet containing 3 g probiotic and 4.5 g organic acid. The study evaluated feed intake, body weight gain, feed conversion ratio, skeletal growth, nutrition behavior, blood parameters, immune response and the calves health state. The test results were analyzed in a completely randomized design with SAS statistical software version 9.1.

Results and discussion: The results showed that experimental diets had a significant effect on feed intake and daily gain, blood glucose and cholesterol and improved the immune system and health status of calves ($p < 0.05$). In contrast, the experimental diets do not have a significant effect on the final weight and feed conversion ratio. This study also showed that the addition of probiotic, organic acid and the combination of these additives did not affect skeletal growth and feed intake activity of Holstein calves. Experimental treatments at 60 days and the whole period had a significant effect on feed intake. In general, probiotics increase food intake through their effects on the processes of digestion and absorption of nutrients. The average daily weight gain in the first, second and whole months of the period was affected

1- MSc Graduated, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil- Iran

2- Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil - Iran (Corresponding Author*)

3- Associate Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil - Iran

4- PhD Graduated, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil- Iran

(*- Corresponding Author Email: f_mirzaei@uma.ac.ir)

DOI: 10.22067/ijasr.v12i3.79924

by experimental diets but the overall effect of treatments in time periods was not significant. Blood glucose concentrations were increased in calves receiving treatment 5, which could be attributed to the created suitable environment in the intestinal tract due to the consumption of organic acids, which may have contributed to the digestion and absorption of more nutrients and As a result, it increases the blood glucose levels. Experimental diets had a significant effect on the white blood cell percentage in both sampling times (45 and 75 days). In general, the improvement of the immune system by probiotics is done through three ways of increasing general antibodies, increasing macrophage activity and increasing the production of local antibodies on the mucosal surface of tissues such as the intestinal wall. The effect of organic acids on the immune system is still largely unknown, but in general it can be said that organic acids improve digestion and absorption of nutrients as well as reducing harmful bacteria and help the immune system improvement.

Conclusion: based on the obtained results dietary treatments do not have any adverse effect on calves' performance. Moreover, it can be concluded that feeding probiotic and organic acid to the calves could have positive effects on animal performance and health state, so supplementing the diets by these substances is a good mean to improve the calves' growth.

Key Words: Calf, Holstein, Nutrition, Organic acid, Probiotic.