



دانشگاه گورگان
دانشکده دامپزشکی گورگان

نشریه پژوهش در نشخوارکنندگان

جلد پنجم، شماره اول، ۱۳۹۶

<http://ejrr.gau.ac.ir>

بررسی عملکرد رشد، فراسنجه‌های خونی و جمعیت میکروب‌های مدفوع در گوساله‌های شیرخوار هلستاین تغذیه شده با شیر تکمیل شده با پری بیوتیک اینولین

* عبدالمنصور طهماسبی^۱، محمدهادی اعظمی^۲، علی ولیخانی^۲ و عباسعلی ناصریان^۱

^۱استاد و دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

تاریخ دریافت: ۹۵/۹/۱۳؛ تاریخ پذیرش: ۹۵/۱۲/۸

چکیده

سابقه و هدف: داشتن یک گله‌ی شیری خوب به پرورش اصولی و صحیح گوساله‌ها بستگی دارد. بهبود شاخص‌های سلامتی و رفاه در گوساله‌ها منجر به تولید تلیسه‌های سالم و با ظرفیت بالای تولید شیر و گوساله آوری خواهد شد. از سوی دیگر حصول بیشه‌ی بازده پرورش گوساله‌ها بهتر است با روش‌های کم‌خطر و با کمترین خطرات جانبی، صورت پذیرد. با توجه به مشکل مقاومت به آنتی بیوتیک‌ها و باقیمانده هرمون‌های رشد در بدن حیوانات، پری بیوتیک‌ها جایگزین‌های جذابی برای بررسی خواهند بود.

مواد و روش‌ها: به منظور بررسی استفاده از پری بیوتیک اینولین بر عملکرد رشد، فراسنجه‌های خونی و جمعیت میکروبی کولون گوساله‌های شیرخوار، ۲۴ گوساله ماده هلستاین (با سن 18 ± 3 روز و وزن 36 ± 4 کیلوگرم) به طور تصادفی به یکی از گروه‌های شیر بدون افزودنی (شاهد)، گوساله‌های دریافت کننده شیر به همراه $3/5$ گرم اینولین در روز و گوساله‌های دریافت کننده شیر به همراه 7 گرم اینولین در روز اختصاص داده شدند. آزمایش شامل یک هفته عادت پذیری به خوراک، جایگاه و شرایط آزمایش و شش هفته نمونه‌گیری و ثبت نتایج بود. گوساله‌ها زمانی که برای سه روز متوالی 900 گرم از خوراک آغازین (بر اساس ماده خشک) مصرف کردند، از شیر گرفته شدند. اندازگیری مصرف ماده خشک و ثبت نمره مدفوع به صورت روزانه و وزن کشتی به طور هفتگی انجام شد. نمونه‌گیری مدفوع در هفته سوم و ششم و نمونه‌گیری خون در هفته دوم، چهارم و ششم آزمایش انجام گرفت.

* نویسنده مسئول: a.tahmasbi@lycos.com

یافته‌ها: هیچ اختلاف معنیداری بین تیمارها در مصرف ماده خشک، میانگین افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل وجود نداشت. افزودن پری‌بیوتیک اینولین به شیر تاثیر معنیداری بر غلظت فراسنجه‌های خونی نداشت هر چند که غلظت کلسترول و تری‌گلیسرید در گوساله‌های دریافت کننده اینولین میل به کاهش داشت. مقدار pH مدفوع و شمار باکتری‌های لاکتوباسیل و کلی فرم تحت تاثیر تیمارها قرار نگرفتند.

نتیجه‌گیری کلی: نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تکمیل کردن شیر با الیگوساکارید اینولین بر عملکرد رشد، مصرف ماده‌ی خشک، ضریب تبدیل، شمار لاکتوباسیل‌ها و کلی فرم‌های کولون، اسیدیته‌ی مدفوع و فراسنجه‌های خونی گوساله‌های ماده هلشتاین تاثیر معنیداری ندارد.

واژه‌های کلیدی: اینولین، گوساله شیرخوار، عملکرد رشد، لاکتوباسیل، کلی فرم

مقدمه

نرخ تلفات بالا در گوساله‌ها به واسطه‌ی ضعف سیستم ایمنی، عفونت‌های باکتریایی و عفونت‌های دستگاه تنفسی، پرورش‌دهندگان را مجبور به استفاده از آنتی بیوتیک‌ها کرده‌است. از طرفی در سال‌های اخیر بسیاری از سازمان‌های نظارتی از جمله اتحادیه اروپا استفاده از آنتی بیوتیک‌ها و محرک‌های رشد نظیر هرمون‌ها را در تغذیه گوساله‌ها ممنوع کرده‌اند (۱). از این رو یافتن جایگزین مناسب برای آنتی بیوتیک‌ها و محرک‌های رشد در تغذیه حیوانات مزرعه‌ای بویژه گوساله‌های شیرخوار ضروری به نظر می‌رسد. پروبیوتیک‌ها، پست بیوتیک‌ها، پری بیوتیک‌ها و سین بیوتیک‌ها می‌توانند گزینه‌های قابل بحثی برای جایگزینی با آنتی بیوتیک‌ها و هرمون‌های رشد باشند. استفاده از پری بیوتیک اینولین که بخش طبیعی بسیاری از سبزیجات و غلات است در حال تولید می‌باشد (۲). اینولین دارای فروکتو اولیگوساکاریدهای با پیوند بتا (۱→۲) و با نرخ پلیمراسیون ۲ تا ۶۰ واحد قندی است. این پلی‌مرهای قندی با اثر بر میکرواکولوژی دستگاه گوارش و کولون به ویژه با افزایش جمعیت بیفیدوباکترها و لاکتوباسیل‌ها و با کاهش کلی فرم‌ها در سلامت روده و ارتقا سیستم ایمنی نقش دارند (۳ و ۴). گیبسون و همکاران (۲۰۰۴) پنج ویژگی شامل ۱. مقاومت به اسیدیته دستگاه گوارش ۲. مقاومت در برابر آنزیم‌های دستگاه گوارش پستانداران ۳. هضم و جذب پایین در دستگاه گوارش ۴. تخمیر به وسیله‌ی باکتری‌های روده ۵. تحریک رشد و فعالیت باکتری‌های مرتبط با سلامت روده، را برای اینولین برشمردند که با تعاریف مخصوص پری بیوتیک‌ها هم خوانی دارند (۵). علاوه بر این پری بیوتیک‌ها با اثر بازدارندگی بر گونه *Escherichia coli* و *Salmonella* از گسترش آنها جلوگیری می‌کنند (۶). در سال‌های گذشته تحقیقات بسیاری به منظور استفاده از اینولین و فروکتان‌ها در حیوانات مختلف انجام شده است. این پژوهش‌ها روی حیوانات مختلف نظیر: سگ (۷، ۸)، گربه (۹)، جوجه‌های گوشتی (۱۰، ۱۱)، خوک (۲۱)، اسب (۳۱)، بزغاله (۴۱) و بره (۵۱) انجام شده‌اند. در گوساله‌ها (۶۱، ۷۱) نیز تحقیقاتی انجام شده است. یوننو و همکاران (۲۰۱۵) اثر پروبیوتیک و پری بیوتیک‌ها را بر سلامت و عملکرد تولیدی گوساله‌ها طی یک مطالعه‌ی تحلیلی مورد بررسی قرار دادند و استفاده از پری بیوتیک‌ها را قبل و بعد از شیرگیری توصیه کردند (۱۸). همچنین این محققین پیشنهاد کردند که تغذیه پری بیوتیک به گوساله‌ها در تنش‌هایی نظیر از شیرگیری، تغییر خوراک، حمل و نقل، افت رشد و اختلال در جمعیت میکروبی شکمبه و روده، موثرتر خواهد بود. با این حال نتایج آزمایشات مختلف گاه متناقض بوده‌اند، پس به تحقیقات بیشتر جهت تایید نتایج نیاز است. از این رو

هدف این مطالعه واریسی اثر اینولین بر عملکرد رشد، متابولیت‌های خون و جمعیت میکروبی کولون در گوساله‌های شیرخوار ماده‌ی هلشتاین بود.

مواد و روش‌ها

این مطالعه در مزرعه‌ی تحقیقاتی دانشگاه فردوسی و با رعایت اصول حقوق حیوانات این دانشگاه انجام شد. تعداد ۲۴ گوساله ماده هلشتاین با سن 3 ± 18 روز و وزن 4 ± 36 کیلوگرم در قالب یک طرح کاملاً تصادفی به گروه‌های شیر بدون افزودنی (گروه شاهد)، گوساله‌های دریافت‌کننده شیر به همراه $3/5$ گرم اینولین در روز و گوساله‌های دریافت‌کننده شیر به همراه ۷ گرم اینولین در روز، اختصاص داده شدند. پس از یک هفته عادت‌پذیری گوساله‌ها به جایگاه‌ها و شرایط آزمایش، شش هفته نمونه‌گیری و ثبت نتایج به طول انجامید. همه‌ی گروه‌های آزمایش در مجموع پنج لیتر شیر در دو وعده صبح و بعد از ظهر دریافت کردند و گروه‌های دریافت‌کننده اینولین، به همراه شیر وعده‌ی بعد از ظهر پری‌بیوتیک اینولین دریافت کردند. قبل از شروع آزمایش و هنگام تولد تا سه روزگی به گوساله‌ها تا ۱۰ درصد وزن بدن در دو نوبت صبح و بعد از ظهر آغوز داده شد و پس از آن تا شروع آزمایش تغذیه آزاد انجام شد. گوساله‌ها زمانی که برای سه روز متوالی ۹۰۰ گرم از خوراک آغازین (بر اساس ماده خشک) مصرف کردند، از شیر گرفته شدند (۱۹). اینولین استفاده شده، به صورت تجاری - تهیه شد (شرکت بنواورافتی بلژیک - بازرگانی حلمی تهران). آنالیز شیمیایی پری‌بیوتیک اینولین استفاده شده در آزمایش، در جدول ۱ نشان داده شده است.

برای ارزیابی قوام مدفوع از روش لارسون و همکاران (۱۹۷۷) استفاده شد (۲۰). قوام مدفوع گوساله‌ها در گروه‌های مختلف به صورت روزانه ثبت می‌شد. امتیاز شماره ۱ مدفوع با قوام (خیلی سفت)، شماره ۲ مدفوع سفت، شماره ۳ مدفوع شل و امتیاز شماره ۴ مدفوع آبکی (اسهالی) ارزیابی شد. کنسانتره آغازین (با ترکیب جدول ۲)، علف خشک یونجه و آب به طور آزاد در دو نوبت صبح (۸:۰۰) و بعدازظهر (۱۸:۰۰) در اختیار گوساله‌ها قرار گرفت (جدول ۲).

جدول ۱: ترکیب شیمیایی مکمل اینولین تجاری

Table 1. Chemical composition of commercial inulin

مقدار (%) Amount (%)	موارد Items
99.5	اینولین (%) Inulin (%)
99	درجه پلیمریزاسیون بیشتر از ۵ (%) Rate of polymerization more than 5 (%)
0.5	گلوکز+ فروکتوز+ ساکاروز (%) Glucose+ Fructose+ Sucrose (%)
97	ماده خشک (%) Dry matter (%)
99.5	مقدار کربوهیدرات (%) Amount of carbohydrates (%)
> 23	میانگین درجه پلیمریزاسیون اینولین Average rate of polymerization (%)
0.2	خاکستر (%) Ash (%)
5-7	اسیدیته pH

جدول ۲- اجزاء و ترکیب شیمیایی کنسانتره آغازین

Table 2. Ingredients and chemical composition of starter

درصد (ماده خشک) Percent (DM)	موارد Items
	اجزای جیره Ingredients
50	دانه ذرت Corn grain
7.5	جو Barley
30	کنجاله سویا Soy meal
6.5	سبوس گندم Wheat barn
3	پودر ماهی Fish meal

1	پودر صدف Oyster shell
1	مکمل معدنی-ویتامین ^۱ Minerals and vitamins
0.5	نمک Salt
0.5	دی کلسیم فسفات Dicalcium Phosphate
Chemical composition	
	ترکیب شیمیایی
91.2	ماده خشک Dry Matter
23.5	پروتئین خام Crude Protein
37	الیاف نامحلول در شوینده خنثی NDF
8.9	الیاف نامحلول در شوینده اسیدی ADF
7.8	خاکستر خام Ash
4.084	انرژی قابل متابولیسم (Mcal/kg) ME

۱- ترکیب مکمل معدنی- ویتامینی (در کیلوگرم): ویتامین A یک میلیون واحد بین‌المللی؛ ویتامین A₃ ، ۱۵۰ هزار واحد بین‌المللی؛ ویتامین E، ۲۰۰۰ واحد بین‌المللی؛ آنتی‌اکسیدان ۰/۴ گرم، بی‌کربنات سدیم ۷۱ گرم، سولفات منیزیم ۱۹ گرم، سولفات آهن ۳ گرم، اکسید منیزیم ۲ گرم، سولفات روی ۳ گرم، سولفات مس ۰/۳ گرم، سولفات کلسیم ۰/۱ گرم.

1. Mineral and vitamins premix (per kg), Vit A 1 million IU, A₃ 150 K IU, Vit E 2 K IU, antioxidant 0.4 g, sodium bicarbonate 71 gr, magnesium sulfate 19 g, ferrous sulfate 3 g, magnesium oxide 2 g, zinc sulfate 3 g, cu sulfate 0.3, calcium sulfate 0.1 g.

ماده خشک مصرفی با اندازه گیری تفاوت خوراک عرضه شده و باقیمانده برآورد می‌شد. اندازه گیری وزن گوساله‌ها به طور هفتگی و پیش از وعده‌ی صبحگاهی و پس از گذراندن ۱۲ ساعت گرسنگی انجام شد (۲۱). از روش الینجر و همکاران (۱۹۸۰) برای جمع‌آوری نمونه‌های مدفوع استفاده شد (۲۲). در این روش نمونه مدفوع با دستکش استریل به طور مستقیم از رکتوم تهیه می‌شود و نمونه‌های مدفوع با نسبت ۱ به ۵ با محلول نمک و گلیسرول ترکیب می‌شوند. جهت تعیین pH، مقدار ۱ گرم از نمونه‌های مدفوع به همراه ۹ میلی‌لیتر آب مقطر در داخل لوله‌های فالكونر مخلوط شد.

مخلوط تا حصول یک محصول کاملاً یکنواخت و رتکس شد و اسیدیته مخلوط با pH متر (مدل PST-100 ژاپن) اندازه گیری شد.

برای شمارش لاکتوباسیل‌ها و کلی‌فرم‌ها، مقدار ۵ گرم مدفوع از رکتوم در هفته سوم و ششم آزمایش گرفته شد. شمارش باکتریایی با استفاده از محیط‌های کشت و شرایط رشد انتخابی انجام گرفت. برای شمارش لاکتوباسیل‌ها از هر رقت، ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون برداشته و در سه تکرار روی پلت محیط کشت MRS agar (شرکت مرک آلمان) کشت داده شد. پس از اطمینان از انجماد محیط کشت‌ها، پتری‌دیش‌ها به طور وارونه، در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۴۸ ساعت قرار داده شدند. جهت کشت و شمارش کلی فرم‌ها از محیط کشت EMB¹ (G25). ساخت انگلستان) استفاده شد. پس از گذشت مدت زمان فوق، پرگنه‌های حاصل به وسیله پرگنه شمار مجهز به عدسی و شمارنده دیجیتالی، شمارش شده و تعداد میکروارگانیزم‌های زنده به صورت CFU/g محاسبه گردیدند. پروتئین خام، ماده خشک، خاکستر به شیوه رایج تجزیه تقریبی اندازه گیری شد و ADF و NDF به ترتیب بر اساس روش‌های گئرینگ - ون سوست و ون سوست (۱۹۹۱) تخمین زده شدند (۲۳ و ۲۴).

نمونه‌گیری از خون در هفته دوم، چهارم و ششم آزمایش ۴ ساعت بعد از تغذیه صبحگاهی و از سیاهرگ وداجی گردن انجام شد (۲۱) و آنالیز فراسنجه‌های خونی شامل گلوکز، تری‌گلیسرید و کلسترول با استفاده از دستگاه اتوآنالیزر بیوسیستم A15 (اسپانیا) صورت گرفت. تغییرات الگوی بدنی بوسیله‌ی نوارهای پارچه‌ای اندازه گیری شد. مصرف ماده‌ی خشک از تفاوت خوراک عرضه شده و باقیمانده بدست آمد.

داده‌های وزن اولیه و نهایی بدن و اندازه‌گیری‌های رشد اسکلتی، میانگین افزایش وزن بدن و مصرف ماده خشک روزانه با رویه‌ی GLM و داده‌هایی که به صورت تداومی جمع آوری شدند، مطابق با رویه MIXED نرم‌افزار SAS آنالیز شدند. برای نرمال کردن شمار باکتری‌های مدفوع از معادله تبدیلی $\log_{10}(x + 1)$ استفاده شد. برای مقایسه میانگین تیمارها از آزمون توکی از مدل آماری زیر در آزمایش استفاده شد.

$$Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij}$$

μ = اثر میانگین، T_i = اثر تیمار، e_{ij} = خطای آزمایشی.

1. Eosin methylene blue agar

نتایج و بحث

طبق جدول ۳ اختلاف معنیداری بین تیمارها از نظر میانگین افزایش وزن روزانه، ضریب تبدیل و سن از شیر گیری وجود نداشت ($P > 0.05$).

جدول ۳: تاثیر تغذیه اینولین بر تغییرات وزن بدن و مصرف خوراک

Table 3. Effect of feeding inulin on body weight parameters and dry matter intake

		اینولین ^۱ (گرم)			
		Inulin (g)			
خطای استاندارد	سطح احتمال	7	3.5	0	مورد
معنی دار شدن					Items
P-value	SEM				
					وزن بدن (kg)
					Body weight (kg)
					آغازین
0.68	1.98	37.13	38.21	36.73	Initial
					از شیر گیری
0.43	2.54	62.07	62.01	61.68	Weaning
					میانگین افزایش وزن روزانه
0.39	0.09	0.392	0.398	0.385	قبل از شیر گیری (kg)
					Pre weaning ADG (kg)
					میانگین مصرف ماده خشک
0.36	0.176	0.526	0.540	0.516	روزانه قبل از شیر گیری
					Pre weaning DMI (kg)
					ضریب تبدیل
0.17	0.05	1.34	1.35	1.34	Feed conversion rate
					سن از شیر گیری (روز)
0.47	2.03	55.5	56.1	55.3	Weaning age (days)

۱- تیمارهای آزمایشی: صفر: گروه شاهد، ۳/۵: گروهی که شیر به همراه ۳/۵ گرم در روز اینولین دریافت کردند، ۷: گروهی که شیر به همراه ۷ گرم در روز اینولین دریافت کردند. ۲- مصرف شیر بین تیمارها یکسان بود و تفاوت احتمالی در اعداد مربوط به تفاوت در مصرف خوراک آغازین و یا اثر پری بیوتیک اینولین است.

1. Experimental treatment: 0 control, 3.5 the group receiving 3.5 g per day inulin, 7 the group receiving 7 g per day inulin

کرول (۲۰۱۱) گزارش کرد، استفاده از دو سطح ۳ و ۶ گرم اینولین در روز، در جایگزین شیر گوساله‌ها موجب اختلاف معنی داری بین تیمارها از نظر افزایش وزن روزانه نمی‌شود (۵۲). علاوه بر

این کیوزادا مندوزا و همکاران (۲۰۱۱) گزارش کردند گوساله‌هایی که علاوه بر شیر با پری بیوتیک تجاری (فرآورده‌های تخمیر باکتری لاکتوباسیلوس گاسری) تغذیه شدند، مصرف خوراک و عملکرد رشد یکسانی با گروه شاهد داشتند (۲۶). بر خلاف مطالعه حاضر، گوش و مهلا (۲۰۱۲) و کایوف‌هولد و همکاران (۲۰۰۰) گزارش کردند که غنی کردن شیر با پری بیوتیک مانان الیگوساکارید و یا فروکتوالیگوساکارید موجب افزایش وزن معنیدار در قیاس با گروه شاهد می‌گردد (۷۲ و ۸۲). توسعه انواع میکروارگانیسم‌های شکمبه (نظیر باکتری‌های هوازی، غیر هوازی) در زمان‌های مختلف پس از تولد روی می‌دهد (۹۲) اما از حدود هفته دوم پس از تولد، کلنی جمعیت میکروبی با توسعه قابل قبولی مشاهده می‌شود. احتمالاً از دلایل عدم اثر گذاری پری بیوتیک اینولین بر عملکرد رشد در این مطالعه تخمیر جزئی پری بیوتیک اینولین در شکمبه و سطوح ناکافی اینولین تغذیه شده، باشد. تفاوت در مصرف ماده خشک روزانه (جدول ۳) بین گروه‌های آزمایشی نیز معنی دار نبود ($P > 0.05$). در برخی از آزمایشی‌های گذشته منطبق بر آزمایش حاضر استفاده از پری بیوتیک‌ها در شیر، هیچ اثر معنی داری روی ماده خشک مصرفی روزانه نداشتند (۵۲، ۶۲ و ۸۲). ضریب تبدیل بین تیمارها اختلاف معنی داری نداشت (جدول ۳). بر خلاف نتایج این آزمایش، وردنگ و ون‌لیوون (۲۰۰۵) گزارش کردند افزودن ۲۰ گرم اینولین و اولیگوفروکتوز به جایگزین شیر در سه هفته اول پس از تولد، افزایش وزن روزانه و همچنین ضریب تبدیل غذا را در گوساله‌های پرواری جوان، بهبود می‌بخشد (۳۰).

همان‌طور که در جدول ۴ آمده است، اختلاف معنی‌داری بین تیمارها برای شاخص‌های رشد بدنی شامل طول بدن، ارتفاع از جدوگاه، ارتفاع از استخوان خاصره (هیپ)، دور سینه و فاصله دو استخوان خاصره تا سوزنی وجود ندارد.

جدول ۴- تاثیر تغذیه اینولین بر تغییرات الگوی بدنی.

Table 4. Effect of feeding inulin on body pattern changes

سطح احتمال معنی دار شدن P-value	خطای استاندارد میانگین ها SEM	اینولین ^۱ (گرم) Inulin (g)			موارد Items
		7	3.5	0	
0.73	1.64	39.06	38.43	37.16	آغازین Initial طول بدن Body length (cm)
0.80	1.39	50	51.30	49.03	نهایی Final
0.77	2.10	71.02	70.55	71.72	آغازین Initial ارتفاع از جدوگاه Wither height (cm)
0.79	1.90	83.28	82.03	81.85	نهایی Final
0.81	2.55	70.87	71	69.87	آغازین Initial ارتفاع از خاصره Hip height (cm)
0.77	2.87	85.03	84.67	83.9	نهایی Final
0.84	3.10	73.85	74.08	74.96	آغازین Initial دور سینه Heart girth (cm)
0.87	3.81	101.15	102.97	104.6	نهایی Final
0.35	0.45	15.06	15.6	16.02	آغازین Initial خاصره تا سوزنی Hip to Pin (cm)
0.67	0.89	25.12	24.57	25.48	نهایی Final

۱- تیمارهای آزمایشی، ۰: گروه شاهد، ۳/۵: گروهی که شیر به همراه ۳/۵ گرم در روز اینولین دریافت کردند، ۷: گروهی که شیر به همراه ۷ گرم در روز اینولین دریافت کردند.

1. Experimental treatment: 0 control, 3.5 the group receiving 3.5 g per day inulin, 7 the group receiving 7 g per day inulin

کیوزادا مندوزا و همکاران (۲۰۱۱) گزارش کردند استفاده از پری بیوتیک تجاری (فرآورده‌های تخمیر باکتری لاکتوباسیلوس گاسری) در جایگزین شیر گوساله هیچ تاثیری بر ارتفاع هیپ، ارتفاع جدوگاه و محیط سینه نداشت (۶۲). انتظار می‌رفت مصرف پری بیوتیک اینولین با کاهش تنش‌های ناشی از شیرگیری و استقرار جمعیت میکروبی مناسب در روده به کاهش بیماری‌ها (به ویژه اسهال) و بهبود وضعیت سلامت بر عملکرد رشد گوساله‌ها موثر باشد اما با توجه به بی تاثیر بودن مکمل کردن

شیر با اینولین بر افزایش وزن و مصرف خوراک، مشابه بودن رشد اسکلتی در گروه‌های مختلف آزمایشی قابل پیش بینی بود.

شمار لاکتوباسیل‌ها و کلی‌فرم‌های مدفوع تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفتند (جدول ۵). با این وجود، در هفته سوم و ششم آزمایش، غلظت جمعیت لاکتوباسیل‌های مدفوع گوساله‌های دریافت کننده اینولین بالاتر از گروه شاهد بود، همچنین در هفته سوم و ششم آزمایش غلظت جمعیت کلی‌فرم‌های گوساله‌های دریافت کننده اینولین کمتر از گروه شاهد بود.

جدول ۵- تاثیر تغذیه اینولین بر اسیدیته و شمار باکتری‌های مدفوع

Table 5. Effect of feeding inulin on feces pH and bacterial count

سطح احتمال معنی دار شدن P-value	خطای استاندارد میانگین‌ها SEM	اینولین ^۱ (گرم) Inulin (g)			موارد Items
		7	3.5	0	
0.43	0.243	7.27	7.44	7.71	هفته ۳ Week 3
0.39	0.123	7.17	7.4	7.67	هفته ۶ Week 6
0.57	0.311	8.31	8.18	8.08	هفته ۳ Week 3
0.62	0.263	8.67	8.54	8.47	هفته ۶ Week 6
0.40	2.55	8.42	8.58	8.64	هفته ۳ Week 3
0.56	0.34	8.30	8.20	8.51	هفته ۶ Week 6

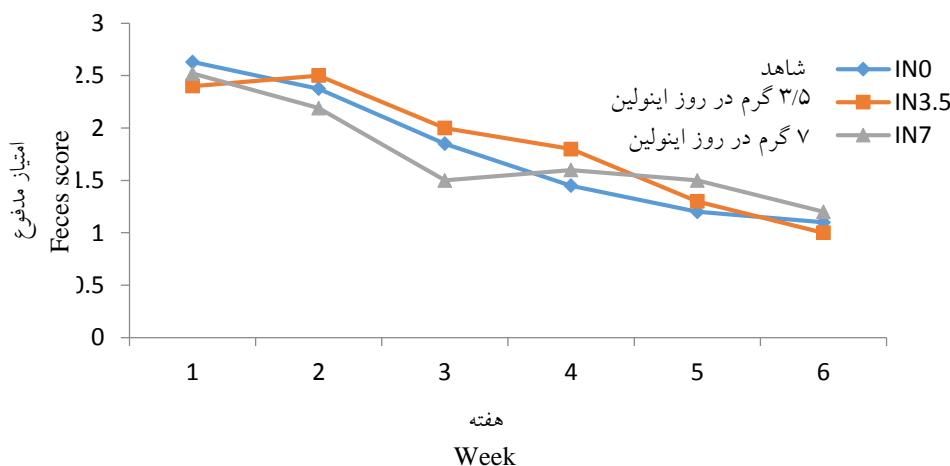
۱- تیمارهای آزمایشی: ۰: گروه شاهد، ۳/۵: گروهی که شیر به همراه ۳/۵ گرم در روز اینولین دریافت کردند، ۷: گروهی که شیر به همراه ۷ گرم در روز اینولین دریافت کردند.

1. Experimental treatment: 0 control, 3.5 the group receiving 3.5 g per day inulin, 7 the group receiving 7 g per day inulin

مشابه با مطالعه حاضر کارا و همکاران (۲۰۱۲) گزارش کردند که استفاده از اینولین در جیره ۵۰ بزغاله‌ی سانن تازه متولد شده از سه روزگی تا ۲۸ روز، روی جمعیت لاکتوباسیل‌ها و کلی‌فرم‌ها تاثیر معنی‌داری نداشت (۴۱). هنریچ و همکاران (۲۰۰۹) گزارش کردند، استفاده از پری‌بیوتیک تجاری

(فرآورده‌های تخمیر باکتری لاکتوباسیلوس گاسری) در جایگزین شیر گوساله‌ها از بدو تولد تا ۸ هفتگی، هیچ تاثیری بر جمعیت لاکتوباسیلوس‌ها، بیفیدوباکتیریا، انتروباکتیریا و کلستریدیای مدفوع نسبت به گروه شاهد نداشت اما جمعیت لاکتوباسیلوس‌ها در هفته دوم نسبت به گروه آنتی‌بیوتیک افزایش ($P < 0.01$) یافت (۳۲). در آزمایشی دیگر، استفاده از همین پری‌بیوتیک تجاری جمعیت لاکتوباسیل‌ها را از روز ۲ تا ۶ افزایش داد و روی جمعیت انتروباکتیریا و کلستریدیا تاثیری نداشت (۶۲). مقدار مصرف روزانه اینولین عامل بسیار اثرگذاری بر شمار باکتری‌های مد نظر در دستگاه گوارش است (۳۳). از این رو شاید مقدار مصرف اینولین دلیل تفاوت بین مطالعات است.

در این مطالعه، pH مدفوع تحت تاثیر تیمارها قرار نگرفت، اما در تیمارهای دریافت کننده اینولین اسیدیته مدفوع کمی پایین بود (جدول ۵). کارا و همکاران (۲۰۱۲) علت پایین بودن pH مدفوع در بزغاله‌های سانن تغذیه شده با اینولین را، تخمیر فروکتانها و تولید اسیدهای چرب کوتاه زنجیر می‌دانند (۴۱). در آزمایش حاضر، نمونه گیری از مدفوع در انتهای کولون انجام شد و از آنجا که اینولین یک ترکیب سریع التخمیر است (۴۳) در نتیجه احتمالاً در روده باریک و ابتدای کولون تخمیر شده و اسیدهای چرب کوتاه زنجیر تولیدی جذب شوند (۵۳). به هر روی بایستی دلیل یکسان بودن اسیدیته انتهای کولون گروه‌هایی مختلف را در نوع تغذیه اینولین به گوساله‌ها (به صورت محلول در شیر)، سطح اینولین و زمان شروع آزمایش نیز جستجو کرد.



شکل ۱- تغییرات امتیاز مدفوع گوساله‌ها در طول آزمایش

Figure 1-changing the feces score of calves during the experiment

هیچ اختلاف معنی داری بین تیمارها از نظر قوام مدفوع وجود نداشت (شکل ۱)، که با نتایج محققان قبلی مطابقت داشت (۱۳، ۲۱، ۲۲ و ۲۸). با این حال، امتیاز مدفوع در تیمار اینولین ۷، در هفته سوم آزمایش کمتر از دو تیمار دیگر بود.

بر خلاف مطالعه حاضر گوئیگی و همکاران (۲۰۰۲) گزارش کردند که استفاده از فروکتوساکاریدها در جایگزین شیر طی یک دوره آزمایشی ۵۶ روزه در قیاس با گروه کنترل و گروهی که پلاسماي خون را به صورت مکمل خوراکی دریافت کردند، باعث بهبود امتیاز مدفوع شد (۶۳). نیومن (۱۹۹۴) علت کاهش امتیاز مدفوع در گوساله‌های دریافت کننده پری بیوتیک مانان الیگوساکارید را کاهش ای کلای بیان کرد (۷۳). در مطالعه‌ای دیگر، استفاده از اولیگوساکاریدها رشد باکتری‌های ای کلای، سالمونلا و کلستریدیا را محدود کرد و رشد بیفیدوباکتريا و لاکتوباسیل‌ها را تحریک کرد (۸۳). احتمالاً به این دلیل که در مطالعه حاضر اینولین روی کلی فرم‌ها و لاکتوباسیل‌ها اثری نداشت امتیاز مدفوع نیز بین گروه‌های آزمایشی مشابه بود. هیچ اختلاف معنی داری بین تیمارها از نظر سطح گلوکز، تری گلیسرید و کلسترول پلاسما وجود نداشت (جدول ۶).

جدول ۶: تاثیر تغذیه اینولین بر فراسنجه‌های خون.

Table 6. Effect of feeding inulin on blood parameters

سطح احتمال معنی دار شدن P-value	خطای استاندارد میانگین‌ها SEM	اینولین ^۱ (گرم) Inulin (g)			Item مورد
		7	3.5	0	
گلوکز (mg/dl) Glucose					
0.91	0.30	100.88	101.51	100.13	هفته ۲ Week 2
0.82	0.25	91.12	91.37	90.75	هفته ۴ Week 4
0.71	0.27	73.95	74.03	73.12	هفته ۶ Week 6
کلسترول (mg/dl) Cholesterol					
0.97	0.60	107.87	108.12	108.75	هفته ۲ Week 2
0.53	0.39	130.50	130.87	131.37	هفته ۴ Week 4
0.45	0.36	126.50	126.77	127.37	هفته ۶ Week 6

		تری‌گلیسرید (mg/dl) Triglyceride			
0.66	0.28	42.37	43.12	42.75	هفته ۲ Week 2
0.86	0.3	43.62	44.87	45.12	هفته ۴ Week 4
0.54	0.24	40.12	39.38	39.75	هفته ۶ Week 6

۱- تیمارهای آزمایشی: ۰: گروه شاهد، ۳/۵: گروهی که شیر به همراه ۳/۵ گرم در روز اینولین دریافت کردند، ۷: گروهی که شیر به همراه ۷ گرم در روز اینولین دریافت کردند.

1. Experimental treatment: 0 control, 3.5 the group receiving 3.5 g per day inulin, 7 the group receiving 7 g per day inulin

کرول (۲۰۱۱) گزارش کرد گوساله‌هایی که سه روز بعد از تولد به مدت ۸ هفته اینولین دریافت کردند به علت افزایش در مصرف ماده‌ی خشک غلظت گلوکز بالاتری دارند (۵۲). در مطالعه حاضر، شاید علت مشابه بودن سطح گلوکز پلاسما در بین تیمارها یکسان بودن ماده خشک مصرفی روزانه (جدول ۳) و طول دوره مصرف اینولین پایین‌تر (۸ هفته در مقابل ۶ هفته) باشد.

غلظت گلوکز پلاسما در گوساله بیشتر از گاو است و غلظت آن در گوساله‌های شیر خوار به دلیل اینکه شکمبه فعال ندارند مشابه تک معده ایها می باشد. افزایش غلظت گلوکز پلاسما در روزهای اولیه پس از تولد ثابت می کند که گوساله انرژی مورد نیاز خود را از شیر تامین می کند (۹۳). همچنین، بلام و همکاران (۱۹۸۳) گزارش کردند که سطح گلوکز پلاسما در گوساله‌های تازه متولد شده بالا است و با افزایش سن غلظت گلوکز به سطح طبیعی کاهش می یابد (۴۰). در آزمایش حاضر نیز با افزایش سن گوساله‌ها مقدار گلوکز خون روند نزولی داشته است، که می تواند نشانه‌ی تکامل شکمبه و فلور آن باشد.

از آنجا که بازده استفاده از پری بیوتیک‌ها تحت تاثیر عوامل مختلفی از قبیل شرایط محیطی، مدیریت، طول دوره‌ی تغذیه، مقدار پری بیوتیک مصرفی، جیره پایه و سطح رفاه حیوان قرار می گیرد (۳۱) شاید علت تفاوت نتایج مطالعه حاضر با تحقیقات گذشته در طول دوره و جیره آغازین متفاوت باشد.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج مطالعه حاضر نشان داد تکمیل کردن شیر با ۳/۵ و ۷ گرم اینولین تا سن ۶ هفتگی تاثیر معنی‌داری بر عملکرد رشد، مصرف ماده‌ی خشک، ضریب تبدیل، شمار لاکتوباسیل‌های و کلی‌فرم‌های کولون، اسیدیته مدفوع و فراسنجه‌های خونی ندارد.

منابع

1. Anadón, A., Martínez-Larrañaga M.R., and Castellano, V. 2012. Regulatory aspects for the drugs and chemicals used in food-producing animals in the European Union. *Veterinary Toxicology: Basic and Clinical Principles*. 135.
2. Van Loo, J., Coussement, P., De Leenheer, L., Hoebregs, H., and Smits, G. 1995. On the presence of inulin and oligofructose as natural ingredients in the western diet. *Crit. J. Rev. Food Sci. Nutr.* 35: 525-552.
3. Kolida, S., Tuohy, K., and Gibson, G. 2002. Prebiotic effects of inulin and oligofructose. *Br. J. Nutr.* 87: S193-S197.
4. Roberfroid, M.B. 2000. Chicory fructooligosaccharides and the gastrointestinal tract. *J. Nutr.* 16: 677-679.
5. Gibson, G.R., Probert, H.M., Van Loo, J., Rastall, R.A., and Roberfroid, M.B. 2004. Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics. *J. Nutr. Res. Rev.* 17: 259-275.
6. Patel, S., and Goyal, A. 2012. The current trends and future perspectives of prebiotics research: a review. *Biotech.* 2: 115-125.
7. Verlinden, A., Hesta, M., Hermans, J., and Janssens, G. 2006. The effects of inulin supplementation of diets with or without hydrolysed protein sources on digestibility, faecal characteristics, haematology and immunoglobulins in dogs. *Br. J. Nutr.* 96: 936-944.
8. Apanavicius, C.J., Powell, K.L., Vester, B.M., Karr-Lilienthal, L.K., Pope, L.L., Fastinger, N.D., Wallig, M.A., Tappenden, K.A., and Swanson, K.S. 2007. Fructan supplementation and infection affect food intake, fever, and epithelial sloughing from Salmonella challenge in weanling puppies. *J. Nutr.* 137: 1923-1930.
9. Hesta, M., Janssens, G., Debraekeleer, J., and De Wilde, R. 2001. The effect of oligofructose and inulin on faecal characteristics and nutrient digestibility in healthy cats. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 85: 135-141.
10. Kareem, K.Y., Loh, T.C., Foo, H.L., Akit, H., and Samsudin, A.A. 2016. Effects of dietary postbiotic and inulin on growth performance, IGF1 and GHR mRNA expression, faecal microbiota and volatile fatty acids in broilers. *BMC Vet. Res.* 12: 163.

11. Xu, Z., Hu, C., Xia, M., Zhan, X., and Wang, M. 2003. Effects of dietary fructooligosaccharide on digestive enzyme activities, intestinal microflora and morphology of male broilers. *J. Poult. Sci.* 82: 1030-1036.
12. Yasuda, K., Maiorano, R., Welch, R.M., Miller, D.D., and Lei, X.G. 2007. Cecum is the major degradation site of ingested inulin in young pigs. *J. Nutr.* 137: 2399-2404.
13. Bailey, S.R., Menzies-Gow, N.J., Harris, P.A., Habershon-Butcher, J.L., Crawford, C., Berhane, Y., Boston, R.C., and Elliott, J. 2007. Effect of dietary fructans and dexamethasone administration on the insulin response of ponies predisposed to laminitis. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 231: 1365-1373.
14. Kara, C., Orman, A., Gencoglu, H., Kovanlıkaya, A., Meral, Y., Cetin, I., Yibar, A., Kasap, S., Turkmen, I., and Deniz, G. 2012. Effects of inulin supplementation on selected faecal characteristics and health of neonatal Saanen kids sucking milk from their dams. *J. Anim.* 6: 1947-1954.
15. Milewski, S., Sobiech, P., Bednarek, D., Wojcik, R., Małaczewska, J., Zaleska, B., and Siwicki, A.K. 2010. Effect of oligosaccharides supplementation on the meat performance traits and selected indicators of humoral immunity in lambs. *Bull. J. Vet. Inst. Pulawy.* 54: 175-179.
16. Hill, T., Bateman, H., Aldrich, J., and Schlotterbeck, R. 2008. Oligosaccharides for dairy calves. *J. Anim. Sci.* 24: 460-464.
17. Masanetz, S., Preißinger, W., Meyer, H., and Pfaffl, M. 2011. Effects of the prebiotics inulin and lactulose on intestinal immunology and hematology of preruminant calves. *J. Anim.* 5: 1099-1106.
18. Uyeno, Y., Shigemori, S., Shimosato, T. 2015. Effect of probiotics/prebiotics on cattle health and productivity. *J. Microb. Environ.* 30(2): 126-32.
18. Larson, L., Owen, F., Albright, J., Appleman, R., Lamb, R., and Muller, L. 1977. Guidelines toward more uniformity in measuring and reporting calf experimental data. *J. Dairy Sci.* 60: 989-991.
19. National Research Council. 2001. Nutrient requirements of dairy cattle. National Academies Press. Washington.DC., USA.
20. Larson, L., Owen, F., Albright, J., Appleman, R., Lamb, R., Muller, L. 1977. Guidelines toward more uniformity in measuring and reporting calf experimental data. *J. Dairy Sci.* 60(6): 989-91.
21. Afqahi zadeh, A., Aazami, M.H., Naserian, A.A., and Fathi, Nasri M.H. 2016. Evaluation substituting pasta waste with barley grains in fattening diet of Balouchi lambs and gas production test. *J. Rumin. Res.* 4(1): 20.
22. Ellinger, D., Muller, L., and Glantz, P. 1980. Influence of feeding fermented colostrum and *Lactobacillus acidophilus* on fecal flora of dairy calves. *J. Dairy Sci.* 63: 478-482.

23. Van Soest, P.v., Robertson, J., and Lewis, B. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to Animal nutrition. *J. Dairy Sci.* 74: 3583-3597.
24. Goering, H.K., and Van Soest, P.J. 1970. Forage Fiber Analyses (apparatus, reagents, procedures, and some applications). *USDA Agr Handb.*
25. Król, B. 2011. Effect of mannanoligosaccharides, inulin and yeast nucleotides added to calf milk replacers on rumen microflora, level of serum immunoglobulin and health condition of calves. *Electronic. J. Polish Agric. Univ.* 14.
26. Quezada-Mendoza, V., Heinrichs, A., and Jones, C. 2011. The effects of a prebiotic supplement (Prebio Support) on fecal and salivary IgA in neonatal dairy calves. *J. Livest. Sci.* 142: 222-228.
27. Ghosh, S., and Mehla, R.K. 2012. Influence of dietary supplementation of prebiotics (mannanoligosaccharide) on the performance of crossbred calves. *J. Trop. Anim. Health. Prod.* 44: 617-622.
28. Kaufhold, J., Hammon, H., and Blum, J. 2000. Fructo-oligosaccharide supplementation: effects on metabolic, endocrine and hematological traits in veal calves. *J. Vet. Med. Series A.* 47: 17-29.
29. Rey, M., Enjalbert, F., Combes, S., Cauquil, L., Bouchez, O., and Monteils, V. 2014. Establishment of ruminal bacterial community in dairy calves from birth to weaning is sequential. *J. Appl. Microbiol.* 116: 245-257.
30. Verdonk, J., Shim, S., Van Leeuwen, P., and Verstegen, M. 2005. Application of inulin-type fructans in animal feed and pet food. *Br. J. Nutr.* 93: S125-S138.
31. Gaggia, F., Mattarelli, P., and Biavati, B. 2010. Probiotics and prebiotics in animal feeding for safe food production. *Int. J. Food. Microbiol.* 141: S15-S28.
32. Heinrichs, A., Jones, C., Elizondo-Salazar, J., and Terrill, S. 2009. Effects of a prebiotic supplement on health of neonatal dairy calves. *J. Livest. Sci.* 125: 149-154.
33. Buddington, R.K., Williams, C.H., Chen, S.C., and Witherly, S.A. 1996. Dietary supplement of neosugar alters the fecal flora and decreases activities of some reductive enzymes in human subjects. *Am. J. Clin. Nutr.* 63: 709-716.
34. Propst, E.L., Flickinger, E., Bauer, L., Merchen, N., and Fahey, G. 2003. A dose-response experiment evaluating the effects of oligofructose and inulin on nutrient digestibility, stool quality, and fecal protein catabolites in healthy adult dogs. *J. Anim. Sci.* 81: 3057-3066.
35. Flickinger, E.A., Loo, J.V., and Fahey, G.C. 2003. Nutritional responses to the presence of inulin and oligofructose in the diets of domesticated animals: a review.
36. Quigley, J., Kost, C., and Wolfe, T. 2002. Effects of spray-dried animal plasma in milk replacers or additives containing serum and oligosaccharides on growth and health of calves. *J. Dairy Sci.* 85: 413-421.

37. Newman, K. 1994. Mannan-oligosaccharides: Natural polymers with significant impact on the gastrointestinal microflora and the immune system. *J. Biotechn. feed indust.* 10: 167-174.
38. Baurhoo, B., Letellier, A., Zhao, X., and Ruiz-Feria, C. 2007. Cecal populations of lactobacilli and bifidobacteria and *Escherichia coli* populations after in vivo *Escherichia coli* challenge in birds fed diets with purified lignin or mannanoligosaccharides. *J. Poult. Sci.* 86: 2509-2516.
39. Garry, F., Adams, R., McCann, J., and Odde, K. 1996. Postnatal characteristics of calves produced by nuclear transfer cloning. *J. Theriogen.* 45: 141-152.
40. Blum, J., Kunz, P., Leuenberger, H., Gautschi, K., and Keller, M. 1983. Thyroid hormones, blood plasma metabolites and haematological parameters in relationship to milk yield in dairy cows. *J. Anim. Sci.* 36: 93-104.



Gorgan University of Agricultural
Sciences and Natural Resources

J. of Ruminant Research, Vol. 5(1), 2017
<http://ejrr.gau.ac.ir>

Evaluation of performance, blood parameters and microbial population of feces in suckling Holstein calves fed with supplemented milk by inulin prebiotic

***A.M. Tahmasbi¹, M.H. Aazami², A. Valikhani² and A.A. Naserian¹**

¹Professor., and ²M.Sc. Graduated, Dept. of Animal Sciences, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad

Received: 12/03/2016; Accepted: 02/26/2017

Abstract

Background and objectives: Future of dairy herds greatly depends on a standard and suitable calf rearing. Improving health and welfare parameters of calves will be resulted in rearing potent heifers in milk production and calving. Moreover, it is better to approach a maximum efficiency of calf rearing with hazardless methods and minimum side effects. Considering antibiotics resistance and growth hormones remnants in animal bodies, prebiotics are fascinating alternatives to be evaluated.

Materials and methods: Twenty-four female Holstein calves, aging 18 ± 3 days and body weight of 36 ± 4 kg, were randomly assigned to groups including milk without additive, milk plus 3.5 g/day inulin and milk plus 7 g/day inulin so as to evaluation effect of using inulin as a prebiotic on growth performance, blood parameters and colonic microbial population of suckling calves. Experiment was carried out in a one-week adaptation followed by a six weeks measuring and recording period. Calves were weaned when they consumed 900 grams of starter (dry matter). Dry matter intake and feces score monitoring were recorded daily, and calves were weighed weekly. Feces sampling and blood sampling were done in (third and sixth) and (second, fourth and sixth) weeks of experiment, respectively.

Results: There were no significant differences among groups in dry matter intake, average daily gain and feed conversion rate. Adding inulin prebiotic had no significant effect on blood parameters, although cholesterol and triglyceride concentration showed a trend toward reduction in groups receiving inulin. Feces pH and lactobacillus and coliform bacteria count did not differ among treatments.

*Corresponding author; a.tahmasbi@lycos.com

Conclusion: Results of present study showed that supplemented milk with inulin oligosaccharide for six weeks had no significant effect on growth performance, dry matter intake, feed conversion rate, lactobacillus and coliform bacteria count, feces pH and blood parameters of Holstein suckling calves.

Keywords: Inulin, Suckling calves, Growth performance, Lactobacillus, Coliform