تأثیر استفاده از پروبیوتیک تولید شده در آزمایشگاه بر متابولیت‌های خونی گوساله‌های شیرخوار

جواد بیات کوهسار،[1*] عبدالمنصور طهماسبی[2]، عباسعلی ناصریان[2] و رضا رضایی مکرم[3]

۱- استادیار گروه علوم دامی دانشگاه گنبد کاووس، ۲- استاد گروه علوم دامی دانشگاه فردوسی مشهد، ۳- استادیار گروه صنایع غذایی دانشگاه تبریز

*javad_bayat@yahoo.com

چکیده

برای ارزیابی استفاده از پروبیوتیک‌های اسید لاکتیکی بر عملکرد رشد گوساله‌های شیرخوار، ٢٤ گوساله ماده هلشتاین به طور تصادفی به تیمارهای : ۱) شاهد (بدون افزودنی)، ۲) گوساله‌های دریافت کننده پروبیوتیک تولید شده در شرایط آزمایشگاهی (مقدار ۲ گرم در روز به ازاء هر گوساله) و ۳) گوساله‌های دریافت‌کننده پروبیوتیک تجاری (مقدار ۲ گرم در روز به ازاء هر گوساله) اختصاص داده شدند. نمونه‌گیری از خون در روزهای ۷، ۲۱، ٤۲ و ۹۰ پس از تولد انجام گرفت. غلظت بتاهیدروکسی بوتیرات در بین تیمارها اختلاف معنی‌داری نداشت، به استثناء روز ٦۰ بعد از تولد که تیمار دریافت‌کننده پروبیوتیک آزمایشگاهی در مقایسه با تیمارهای دیگر، به طور معنی‌داری بالاتر بود ($P<۰/۰۵$). از نظر غلظت گلوکز و اسیدهای چرب غیر استریفیه بین تیمارها اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ($P>۰/۰۵$).

کلمات کلیدی: پروبیوتیک- گوساله - گلوکز

مقدمه

امروزه، به دلیل روش‌های مدیریت و پرورش کاملا متراکم، گوساله‌ها به عدم تعادل در باکتری‌های دستگاه گوارش حساس بوده و معمولا از اسهال و بیماری‌های تنفسی رنج می‌برند که منجر به هضم و جذب غیرموثر مواد مغذی و در نهایت تاخیر رشد می‌شود. به منظور حل این مشکلات، جیره‌ها با آنتی‌بیوتیک‌های متنوعی مکمل شده که به صورت گسترده‌ای استفاده می‌شوند. محققان زیادی گزارش کردند که این افزودنی‌ها در افزایش وزن بدن (۵، ۸ و ۲) و بازدهی خوراک و کاهش اسهال (۸) بسیار موثر بوده‌اند. با این حال، استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها با توسعه سویه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک همراه بوده که ممکن است با آنتی‌بیوتیک‌های دامپزشکی ایجاد تداخل کرده (۷) و بازدهی آنتی‌بیوتیک‌ها را کاهش دهند. برای اجتناب از بروز چنین مشکلاتی، پروبیوتیک‌ها به عنوان یک عامل جایگزین برای آنتی‌بیوتیکها استفاده شده‌اند. میکروارگانیسم‌هایی که به طور معمول به عنوان پروبیوتیک استفاده شده‌اند شامل: باکتری‌های اسید لاکتیکی، بیفیدو باکتریا و انتروکوکوس می‌باشند. برخی محققان گزارش کرده‌اند که پروبیوتیک‌ها شیوع اسهال را کاهش (۱۰)، افزایش وزن بدن و تبدیل خوراک را بهبود (۱) و مرگ و میر را کاهش (٦) داده‌اند. هدف از انجام این مطالعه، تولید پروبیوتیک در شرایط آزمایشگاهی با چند سویه باکتریایی با منشاء انسانی و بررسی تاثیر استفاده از آن بر پارامترهای تخمیری شکمبه و متابولیت‌های خونی گوساله‌های شیرخوار بود.

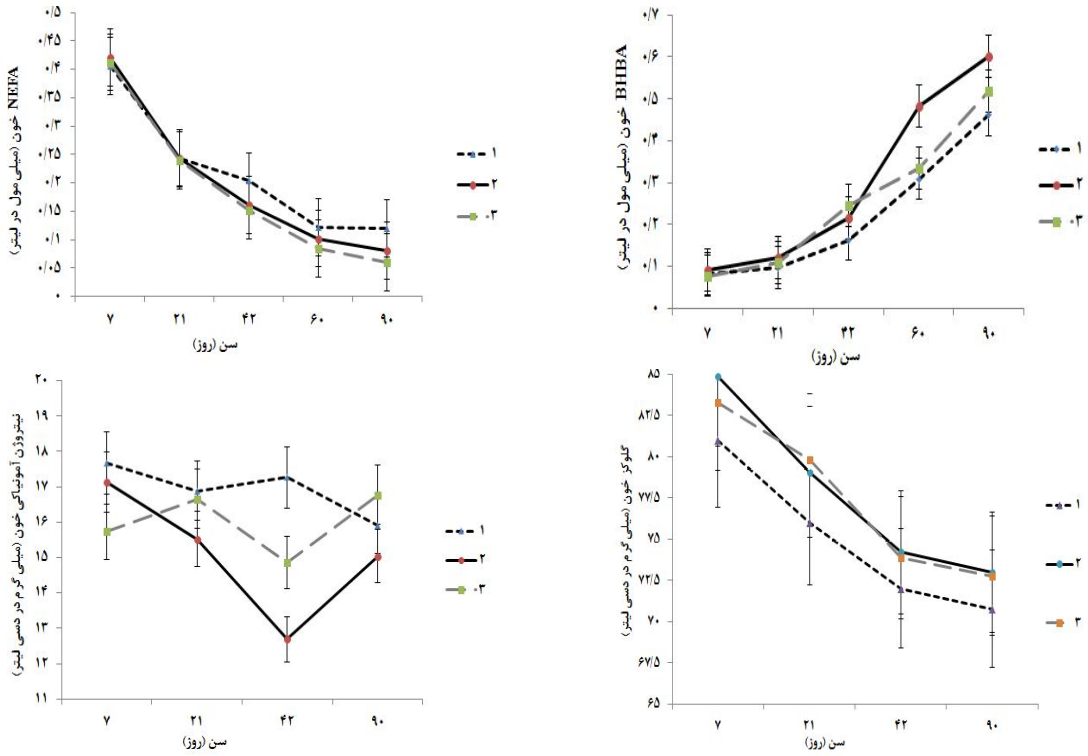
مواد و روش‌ها

در این مطالعه، از یک پروبیوتیک تولید شده در شرایط آزمایشگاهی و یک پروبیوتیک تجاری (پریمالاک) استفاده شد. سویه‌های باکتریایی مورد استفاده برای تهیه پروبیوتیک شامل: لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس (PTCC ١٦٤٣)، لاکتوباسیلوس رامنسوس (١٦٣٧ PTCC)، لاکتوباسیلوس کازئی (PTCC ١٦٠٨) و لاکتوباسیلوس دلبروکی (PTCC ١٣٣٣) بودند. سویه‌های باکتریایی پس از ٢٤ ساعت انکوباسیون، یک میلی لیتر از محیط کشت دارای سویه باکتری به داخل شیر پس‌چرخ استریل منتقل و به مدت ٤٨ ساعت مورد انکوباسیون قرار گرفتند. سپس این کشتها (سویه باکتریایی رشدکرده در شیر پس چرخ) به داخل دستگاه فریز درایر منتقل و به مدت ٧٢ ساعت نگهداری شد. پس از شمارش و اطمینان از زنده بودن و با حصول جمعیت مطلوب، کشت های خالص باکتریایی به یک حامل که در این آزمایش از پودر آب پنیر استفاده شد، اضافه شدند. ٢٤ گوساله ماده هلشتاین بلافاصله پس از تولد از مادر جدا و پس از اقدامات بهداشتی اولیه و وزن‌کشی به صورت تصادفی به یکی از سه تیمار اختصاص داده شدند. تیمارهای آزمایشی شامل: ۱) شاهد، ۲) گوساله‌های دریافت کننده پروبیوتیک تولید شده در شرایط آزمایشگاهی و ۳) گوساله‌های دریافت‌کننده پروبیوتیک تجاری بودند. پروبیوتیک تولید شده آزمایشگاهی و تجاری (دارای 10^8 واحد تشکیل کلونی باکتری زنده در هر گرم) به داخل شیر حل (۲ گرم در روز به ازاء هر گوساله) و به گوساله‌ها خورانده شد. نمونه‌گیری از خون در روزهای ۷، ۲۱، ٤٥، ٦٠ و ۹۰ بعد از تولد، ۳ ساعت بعد از تغذیه، از سیاهرگ وداجی گردن گرفته شد. نمونه‌ها در ۳۰۰۰ دور به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شد تا پلاسمای آن جدا شود. پلاسمای هر نمونه به وسیله سرنگ به ظروف پلاستیکی ویژه منتقل و در ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. داده‌ها مطابق با طرح تکرار در زمان از رویه MIXED نرم‌افزار SAS آنالیز شد. برای مقایسه میانگین تیمارها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵٪ خطا استفاده شد.

نتایج و بحث

غلظت بتاهیدروکسی بوتیرات در بین تیمارها اختلاف معنی‌داری نداشت (شکل ۱)، به استثناء روز ٦٠ بعد از تولد که تیمار دریافت‌کننده پروبیوتیک آزمایشگاهی در مقایسه با تیمارهای دیگر، به طور معنی‌داری بالاتر بود ($P<0/05$) که با نتایج مطالعات کوردالـه و همکاران (۳) و کوایگلی و همکاران (۸) مطابقت داشت. غلظت‌های بتاهیدروکسی بوتیرات در پلاسما می‌تواند منعکس‌کننده مصرف ماده خشک بوده و به عنوان شاخص توسعه شکمبه در نظرگرفته شود (۹). در این آزمایش، با افزایش سن گوساله‌ها، سطوح بتاهیدروکسی بوتیرات برای همه تیمارها افزایش یافت که با افزایش در مصرف خوراک که دارای سوبسترای قابل تخمیر می‌باشد، قابل انتظار بود. مقادیر بتاهیدروکسی بوتیرات در گوساله‌های مکمل شده با پروبیوتیک در مقایسه با گوساله‌های تیمار شاهد تمایل به افزایش داشت. تعویض محل فرآیند کتوژنزیس از کبد به شکمبه ممکن است توضیح دهنده این افزایش در طول دوره آزمایش بوده و اینکه گوساله‌های تغذیه شده با پروبیوتیک توسعه شکمبه‌ای بالاتر داشته و بیشتر قادر به تولید سریع‌تر اجسام کتونی در مقایسه با گوساله‌های شاهد هستند (۱۱). افزایش در سطوح بتاهیدروکسی بوتیرات در گوساله‌های مکمل شده با پروبیوتیک در مقایسه با گوساله‌های گروه کنترل می‌تواند نشان دهنده سطح بالاتری از تخمیر شکمبه‌ای باشد. غلظت اسیدهای چرب غیر استریفیه (NEFA) با پیشرفت زمان آزمایش کاهش نشان داد. به هر حال، نرخ کاهش غلظت‌های NEFA تا ۲۱ ام برای همه تیمارها مشابه بود، اما پس از آن غلظت‌های NEFA در گوساله‌های تیمار شاهد در مقایسه با تیمارهای دریافت‌کننده پروبیوتیک بالاتر بود که با نتایج کوایگلی و همکاران (۸) مشابه بود. غلظت‌های گلوکز پلاسما

به طور معنی‌داری تحت تاثیر تیمارها قرار نگرفتند. با این حال، گوساله‌های تیمار شاهد پایین‌ترین غلظت گلوکز را در مقایسه با دو تیمار دیگر داشتند. با پیشرفت زمان آزمایش، غلظت‌های گلوکز در همه تیمارها روند کاهشی داشت.



شکل ۱. تاثیر استفاده از پروبیوتیک بر متابولیت‌های خونی گوساله‌های شیرخوار

تیمارهای آزمایشی عبارتند: ۱) تیمار شاهد، ۲) تیمار مکمل شده با پروبیوتیک تولید شده در آزمایشگاه (۲ گرم در روز برای هر گوساله) و ۳) تیمار مکمل شده با پروبیوتیک تجاری (۲ گرم در روز برای هر گوساله).

مقادیر به دست آمده برای غلظت‌های گلوکز در این مطالعه با نتایج کوایگلی و همکاران (۸) مشابه بود. بالاتر بودن غلظت گلوکز را می‌توان به بالاتر بودن مصرف ماده خشک در تیمارهای مکمل شده با پروبیوتیک در مقایسه با گروه شاهد نسبت داد. شاید بتوان فعالیت لاکتاز باکتریایی را هم در بالاتر بودن غلظت گلوکز در تیمارهای مکمل شده با پروبیوتیک را دخیل دانست. در این آزمایش، در پایان ۹۰ روزگی سطوح گلوکز هنوز بالاست. ثبات سطوح نسبتا بالای گلوکز ممکن است به این دلیل باشد که سطوح قابل ملاحظه‌ای از خوراک مصرفی این حیوانات از نشاسته تشکیل شده که مقادیر زیادی از آن به صورت تجزیه نشده به روده کوچک رسیده و به شکل گلوکز جذب می‌شود (٤). در این مطالعه، تیمارهای مکمل شده با پروبیوتیک در ٤٥ روزگی کاهشی را در غلظت نیتروژن اوره‌ای خون نشان دادند، اما پس از آن غلظت آن افزایش یافت. این امر می‌تواند تخمیر پروتئین جیره‌ای و جذب آمونیاک را به داخل جریان خون نشان دهد.

References:

1- Abe, F., Ishibashi, N., Shimamura, S. 1995. Effect of administration of bifidobacteria and lactic acid bacteria to newborn calves and piglets. J. Dairy Sci. 78,2838–2846.

2- Berge, A. C. B., Lindeque, P., Moore, D. A., Sischo, W. M. 2005. A clinical trial evaluating prophylactic and therapeutic antibiotic use on health and performanceof preweaned calves. J. Dairy Sci. 88, 2166–2177.
3- Coverdale, J. A., Tyler, H. D., Quigley, J. D., Brum, J. A. 2004. Effect of various levels of forage and form of diet on rumen development and growth in calves. J.Dairy Sci. 87, 2554–2562.
4- Fahey, Jr, G. C., Berger, L. L. 1988. Carbohydrate Nutrition ofRuminants. In: D.C. Church (Ed.) The Ruminant Animal: Digestive Physiology and Nutrition. pp 269-295. Prentice-Hall, Inc., Englewood Cliffs, New Jersey.
5- Felsman, R. J., Wise, M. B., Harvey, R. W., Bar-rick, E. R. 1973. Effect of added dietary levels of copper sulphate and an antibiotic on performance and certainblood constituents of calves. J. Anim. Sci. 36, 157–160.
6- Gorgulu, M., Siuta, A., Ongel, E., Yurtseven, S., Kutlu, H. B. 2003. Effect of probiotic on growing performance and health of calves. Pak. J. Biol. Sci. 6, 651–654.
7- Hedges, A. J., Linton, A. H. 1988. Olaquindox resistance in the coliform flora of pigs and their environment: an ecological study. J. Appl. Bacteriol. 64, 329.
8- Quigley, J. D., Caldwell, L. A., Sinks, O. D., Heitmann, R. N. 1991. Changes in blood glucose nonesterified fatty acids and ketones in response to weaning andfeed intake in young calves. J. Dairy Sci. 74, 250–257.
9- Quigley, J. D., Drewry, J. J., Murray, L. M., Ivey, S. J. 1997. Body weight gain feed efficiency and fecal scores of dairy calves in response to galactosyl-lactose orantibiotics in milk replacers. J. Dairy Sci. 80, 1751–1754.
10- Timmerman, H. M., Mulder, L., Everts, H., van Espen, D. C., van der Wal, E., Klaassen, G., Rouwers, S. M. G., Hartemink, R., Rombouts, F. M., Beynen, A. C. 2005.Health and growth of veal calves fed milk replacers with or without probiotics. J. Dairy Sci. 88, 2154–2165.
11- Tizard, I. R. 1996. Veterinary Immunology: An Introduction. 5th Ed. W.B. Saunders Co., Philidelphia, PA.

Abstract:

To evaluate the effects of supplementation of lactic acid bacteria (LAB) on growth of calves, twenty four female Holstein calves, immediately after birth, were used. Claves were randomly assigned into 3 treatments as follow: control (milk without any probiotic), laboratory produced probiotic (milk containing 2 g/d/calf) and commercial produced probiotic (milk containing 2 g/d/calf). Blood samples were obtained on days 7, 21, 42 and 90 after birth. Results showed that there were no differences between treatments except on d 60 after birth that BHBA concentration in treatment receiving laboratory produced probiotic was higher than others ($P<0.05$). No differences between treatments were observed for glucose and non-esterified fatty acids concentrations in plasma. The results of this study showed that incorporation of probiotics in the diet can affect the calves' growth performance, although observed benefits from treatments in several area were likely minimized.

Keywords: probiotics -young dairy calves - blood metabolites.