JVM Journal of Veterinary Microbiology

نشریه میکربیولوژی دامپزشکی/ دوره چهاردهم، شماره دوم، ۱۳۹۷، پیاپی ۳۷: ۱۴-۱

اثر سطوح مختلف مونسین و پروبیوتیک تجاری بر فراسنجه‌های تخمیری خوراک های دامی با استفاده از باکتری های جداشده از شکمبه درشرایط برون تنی (*Invitro*)

سعید سبحانی راد*[1]، مهدی الهی ترشیزی[1]

۱- استادیار گروه علوم دامی، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران

تاریخ دریافت: ۹۶/۲/۱۰ تاریخ پذیرش:۹۷/۳/۲۷

چکیده

هدف از انجام این پژوهش، بررسی اثر سطوح مختلف آنتی بیوتیک مونسین سدیم و پروبیوتیک تجاری بر فرآیند تخمیر و فراسنجه های تولید گاز منابع خوراکی (علف خشک یونجه، دانه جو و یونجه+ جو با نسبت ۵۰:۵۰) در شرایط برون تنی است. گروه‌های آزمایشی شامل گروه شاهد (خوراک‌های پایه بدون افزودنی)، خوراک های پایه + مونسین سدیم (۵۰۰ یا ۱۰۰۰ میلی گرم در کیلوگرم ماده خشک) و خوراک های پایه + پروبیوتیک تجاری (۵۰۰ یا ۱۰۰۰ میلی گرم در کیلوگرم ماده خشک) بودند. روش تولید گاز در شرایط آزمایشگاهی (افزودن باکتری‌های شکمبه و بزاق مصنوعی به نمونه‌های خوراک) برای تعیین فراسنجه‌های تولید گاز مورد استفاده قرار گرفت. نتایج نشان داد که هر دو سطح مونسین سدیم سبب کاهش معنی‌داری در فراسنجه تولید گاز از بخش قابل تخمیر(b) از علوفه یونجه شد. همچنین مکمل نمودن سطح بالای پروبیوتیک (گروه حاوی ۱۰۰۰ میلی گرم)، نرخ تولید گاز (c)در یونجه و دانه جو را به طور معنی داری کاهش داد. با افزایش سطح پروبیوتیک، نرخ تولید گاز در مخلوط علوفه و غلات (نسبت به تیمار حاوی ۵۰۰ میلی گرم در کیلوگرم پروبیوتیک تجاری) به-طور معنی داری افزایش یافت. همچنین هضم پذیری ماده آلی و انرژی قابل متابولیسم در هیچ یک از مراحل آزمایش اختلاف معنی داری نداشتند. از نتایج آزمایش حاضر می توان نتیجه گرفت مکمل سازی مونسین می تواند سبب کاهش فعالیتهای تخمیری مواد خوراکی در شکمبه شود. همچنین افزودن سطح بالای مونسین سدیم در جیره‌های تمام غلات ثابت نرخ تولید گاز را به طور معنی داری کاهش می‌دهد، در حالی‌که با مخلوط نمودن علوفه و غلات، پروبیوتیک‌ها قادرند با تحریک باکتری‌های شکمبه ثابت نرخ تولید گاز را افزایش دهند.

کلمات کلیدی:مونسین، پروبیوتیک، فراسنجه‌های تولید گاز، باکتری‌های شکمبه، شرایط برون تنی.

* نویسنده مسئول: سعید سبحانی راد

آدرس: گروه علوم دامی، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران. تلفن: ۰۵۱۳۸۳۲۵۶۲۴

پست الکترونیک: sobhanirad@gmail.com

مقدمه

در صنعت پرورش دام به منظور بازده بهتر خوراک و همچنین پیشگیری از ناهنجاری‌های متابولیکی، در اغلب موارد آنتی بیوتیک‌ها به مقدار کمتر از سطح درمانی استفاده می‌شوند. آنتی بیوتیک‌های یونوفری مانند مونسین سدیم موثرترین تغییر دهنده جمعیت میکروبی شکمبه و الگوی تخمیر در تغذیه عملی بوده‌اند (۲۴). آنتی بیوتیک‌های یونوفری به وسیله انتقال پتاسیم به داخل سلول که در ادامه باید با مصرف انرژی به خارج سلول پمپ شود در تعادل الکترولیتی سدیم و پتاسیم در سلول باکتری اختلال ایجاد می‌نمایند. در نهایت به دلیل ناکارآمدی عملکرد پمپ یونی، پتاسیم در داخل سلول تجمع می‌یابد، در نتیجه آب از طریق اسمز وارد سلول شده و سلول پاره می شود (۱۵،۲۰). یونوفرها به باکتری‌ها و تک یاخته‌ها و احتمالاً قارچ-های شکمبه می‌چسبند و سبب غیر فعال شدن آن‌ها می-شوند. آنتی بیوتیک‌ها علاوه بر اینکه بر میکروب‌های لوله گوارش و بافت دستگاه گوارش موثرند سبب تشدید فعالیت برخی آنزیم‌های هضمی، کاهش تولید توکسین در روده، افزایش ابقای ازت و بهره وری انرژی و صرفه جوئی در مصرف ویتامینها و مواد معدنی می شوند (۱۸، ۱۴)، اما استفاده طولانی و در مقادیر کم موجب بروز مقاومت‌های ژنتیکی در میکروب‌های بیماری‌زا می‌شود و ممکن است برای انسان ایجاد خطر نماید (۱۴). با توجه به اینکه آنتی بیوتیکها در محصولات دامپروری باقی می مانند زمان پاکسازی این ترکیبات از محصولات باید دقیقاً رعایت شود. به همین منظور در سال‌های اخیر افزودنی‌های دیگری در تغذیه دام معرفی شده و استفاده می‌شوند.

پروبیوتیک‌ها، میکروارگانیسم‌های مفیدی هستند که با روش تغذیه مستقیم وارد دستگاه گوارش حیوانات می-شوند تا از استقرار میکروارگانیسم‌های نامطلوب دستگاه گوارش جلوگیری شود. پروبیوتیک‌ها انواع مختلفی دارند که عبارتند از: پروبیوتیک‌های باکتریایی و پروبیوتیک‌های قارچی و مخمری. پروبیوتیک‌ها را می-توان یکی از مهمترین دستاوردهای پژوهشگران دانست که با الهام از شرایط طبیعی میکروارگانیسم‌ها در دستگاه گوارش و تعادل موجود در طبیعت تهیه شده‌اند. برخی از اثرات سودمند پروبیوتیک‌ها شامل رشد در شکمبه (حداقل برای یک مدت کوتاه)، تحریک باکتری‌های شکمبه از طریق تولید اسیدهای آلی نظیر فومارات و مالات و حذف اکسیژن اضافی از شکمبه، کاهش مقدار متان، متعادل نمودن pH شکمبه، افزایش تعداد باکتری‌های سلولیتیک و افزایش رشد و فعالیت قارچ‌های بی هوازی شکمبه می باشند. همچنین مهمترین ویژگی پروبیوتیک‌ها این است که ضمن کاهش بیماری و بهبود ضریب تبدیل غذایی در دام هیچ گونه باقیمانده بافتی نداشته و مقاومت میکروبی ایجاد نمی‌کنند. یکی از این پروبیوتیک‌ها، مخلوطی از هفت سویه باکتریایی با سویه غالب لاکتوباسیلوس و دو سویه قارچی و مخمری است (۳۵).

پروبیوتیک‌ها یک یا مخلوطی از چند میکروارگانیسم هستند که سبب تحریک رشد باکتریهای مفید و کاهش بیماریزایی میکروبهای مضر می شوند و معمولاً ساز و کار عمل آن‌ها متکی به جایگزینی و حیات آن‌ها است (۳۳). همچنین بر طبق پژوهشی (۳۱)،پروبیوتیک‌ها می-توانند در شکمبه رشد کنند و اثرت مفیدی در تعدیل اکوسیستم شکمبه و یا خصوصیات تخمیری داشته باشند. از سوی دیگر پروبیوتیک‌ها به واسطه توانائی تولید آنزیم، موجب تجزیه موادغذائی می‌شوند. پروبیوتیک‌ها با اثر بر تخمیر شکمبه سبب تغییر الگوی آن در جهت استفاده از متابولیت‌های موجود در شکمبه

می‌شوند و با بهبود وضعیت الگوی تخمیر بر میزان تولید و رشد آن می‌افزایند. همچنین ساز و کار احتمالی پروبیوتیک‌ها برای حفاظت میزبان در برابر عوامل بیماری‌زا تولید ترکیبات مهارکننده همانند اسیدهای چرب زنجیره کوتاه (استات، لاکتات، پروپیونات، سوکسینات و بوتیرات)، پراکسید هیدروژن و ترکیبات باکتریوسین می‌باشد. باکتریوسین‌ها، پلی پپتیدهای ضد باکتریایی با ساز و کارهای عملکردی مانند آنتی-بیوتیک‌ها می‌باشند. باکتریوسین‌ها اغلب در برابر گونه-هایی مرتبط با میکروارگانیسم‌های تولیدکننده فعالیت دارند ولی باکتریوسین‌های باکتریهای گرم مثبت همانند باسیلوس‌ها، طیف اثر گسترده‌تری دارند (۱).

به نظر می‌رسد که روند رشد محصولات پروبیوتیکی با توجه به کارایی زیاد آن‌ها در ارتقای سطح سلامت جامعه بسیار چشمگیر است. از این رو استفاده از این تکنولوژی در صنایع دامپروری نیز می‌تواند راندمان تولید را افزایش دهد (۲). بنابراین، با توجه به اینکه پروبیوتیک‌ها در توسعه میزان هضم میکروبی و اثرات بهبود دهنده تخمیر در نشخوار کنندگان نقش موثری دارند، در این تحقیق جایگزینی آن‌ها با آنتی بیوتیک‌ها و مقایسه اثرات آن‌ها بر فراسنجه‌های تخمیری شکمبه و میکروفلور جدا شده از شکمبه مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها تعیین ترکیبات شیمیایی مواد خوراکی

نمونه‌های مواد خوراکی مورد آزمایش شامل علوفه یونجه و دانه جو تهیه شدند و پس از خشک نمودن آسیاب شدند. ترکیبات شیمیایی نمونه‌های خوراکی مورد آزمایش با استفاده از روش‌های استاندارد اندازه‌گیری شد و نتایج به دست آمده درجدول ۱ نشان داده شده است. ماده خشک نمونه‌های آزمایشی در آون در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت و خاکستر با استفاده از کوره در دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ ساعت اندازه‌گیری شد(۱). پروتئین خام با روش کلدال، چربی با روش سوکسله با استفاده از هگزان به عنوان حلال و الیاف نامحلول در شوینده خنثی و اسیدی با روش ونسوست (۳۷) تعیین شد.

تهیه موادآزمایشی

آنتی بیوتیک مورد آزمایش، مونسین سدیم و پروبیوتیک مصرفی در این آزمایش، محصول انگلستان (Probiotics International UK, Ltd) بوده است. این پروبیوتیک شامل ۷ گونه از باکتری‌های مفید دستگاه گوارش شامل لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس (*Lactobacillus acidophilus*)، لاکتوباسیلوس رامنوسوش (*Lactobacillus rhamnosusgh*)، لاکتوباسیلوس بولگاریکوس (*Lactobacillus bulgaricus*)، لاکتوباسیلوس پلانتاروم (*Lactobacillus plantarum*)، بیفیدوباکتریوم بیفیدوم (*Bifidobacterium bifidum*)، انتروکوکوس فاسیوم (*Enterococcus faecium*) و استرپتوکوکوس ترموفیلوس (*Streptococcus thermophilus*) و سویه های قارچی شامل آسپرژیلوس اریزا (*Aspergillus oryzae*) و کاندیدا پنتولوپسی (*Candida pintolopessi*) می باشد. یک گرم ازاین پروبیوتیک حاوی cfu ۱×۱۰^{۹} باکتری بود.

اعمال گروه‌های آزمایشی

نمونه‌های خوراک مورد استفاده در این آزمایش شامل یونجه خشک، دانه جو و مخلوط ۵۰:۵۰ یونجه و جو بودند که باکتری‌های شکمبه و بزاق (مصنوعی) به آن‌ها اضافه شدند. دو نمونه بلانک (تنها حاوی باکتری‌های شکمبه و بزاق مصنوعی بدون نمونه خوراک) نیز جهت

کنترل داده‌ها در حمام بن ماری در هر سری قرار گرفتند. از سطوح مختلف مونسین و پروبیوتیک تجاری در گروه‌های آزمایشی استفاده شد. بنابراین گروه‌های آزمایشی برای هر نمونه خوراک عبارت بود از: ۱ـ شاهد (نمونه خوراک حاوی باکتری‌های شکمبه و بزاق مصنوعی)، ۲ـ نمونه خوراک حاوی باکتری‌های شکمبه و بزاق مصنوعی + ۵۰۰ میلی گرم مونسین در کیلوگرم ماده خشک، ۳ـ نمونه خوراک حاوی باکتری‌های شکمبه و بزاق مصنوعی + ۱۰۰۰ میلی گرم مونسین در کیلوگرم ماده خشک، ۴- نمونه خوراک حاوی باکتری‌های شکمبه و بزاق مصنوعی + ۵۰۰ میلی گرم پروبیوتیک تجاری در کیلوگرم ماده خشک و ۵- نمونه خوراک حاوی باکتری‌های شکمبه و بزاق مصنوعی + ۱۰۰۰ میلی گرم پروبیوتیک تجاری در کیلوگرم ماده خشک. برای هر گروه آزمایشی ۳ تکرار نیز در نظر گرفته شد.

آماده‌سازی نمونه خوراک و سرنگ‌ها

جهت اندازه‌گیری تخمیر از سرنگ‌های شیشه‌ای مدرج مخصوص با حجم ۱۰۰ میلی لیتر استفاده شد. روز قبل از آزمایش ۳۰۰ میلی گرم از ماده‌ی خشک نمونه خوراک‌های پایه‌ی مورد آزمایش که قبلاً با آسیاب با قطر منافذ ۲ میلی‌متر آسیاب شده بودند، داخل هر سرنگ ریخته شد (۱۸). سپس بر اساس نوع و سطح آنتی بیوتیک و پروبیوتیک وزن کشی شده، به داخل سرنگ حاوی خوراک پایه مورد نظر اضافه شد.

تهیه نمونه مایع شکمبه

مایع شکمبه از دو رأس گوسفند (۲/۵±۴۹/۵کیلوگرم وزن زنده) دارای فیستولای شکمبه‌ای قبل از وعده‌ی خوراک‌دهی صبح گرفته شد و فوراً به وسیله پارچه متقال چهار لایه صاف گردید و در فلاسک مخصوص به آزمایشگاه منتقل شد. سپس ظرف محتوی مایع شکمبه در آب گرم ۳۹ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. حیوانات روزانه با یک کیلوگرم یونجه و ۰/۳ کیلوگرم کنسانتره بر اساس ماده‌ی خشک تغذیه می‌شدند.

تهیه باکتری‌های خالص شکمبه‌ای

برای فراهم کردن باکتری‌های شکمبه، بعد از گرفتن مایع شکمبه و صاف کردن آن، در ۱۰۰۰ دور برای ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ و سوپرناتانت آن جدا شد و سپس با استفاده از قارچ کش‌ها (بنومیل، ۱۰ میلی گرم در لیتر و نیستاتین، ۲۰۰ واحد در هر میلی لیتر)، قارچ‌های بی-هوازی شسته شدند. محصول بدست آمده به عنوان محیط حاوی باکتری‌های خالص شکمبه استفاده شد (۱۵، ۳۶).

تهیه بزاق مصنوعی

جهت تهیه مخلوط بزاق مصنوعی مطابق روش منک و استینگاس (۱۹۸۸)، روز قبل از آزمایش به میزان ۵۰۰ میلی لیتر شامل آب مقطر (۲۳۷ میلی لیتر)، نمک‌های پر نیاز (۱۱۸/۵ میلی لیتر)، محلول بافر (۱۱۸/۵ میلی لیتر)، نمک‌های کم نیاز (۰/۰۶ میلی لیتر)، رزوزارین (۰/۶۱ میلی لیتر)، ۱ میلی لیترسود ۱ نرمال و ۱۴۲/۵ میلی گرم سولفید سدیم) به طور جداگانه تهیه و جهت مصارف بعدی در سردخانه در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شد. محلول احیاءکننده (۲۵ میلی لیتر شامل: ۲۳/۸ میلی لیتر آب مقطر، ۱ میلی لیتر سود ۱ نرمال و ۱۴۲/۵ میلی گرم سولفید سدیم) نیز در همان روز آزمایش تهیه شد.

تزریق مخلوط بزاق مصنوعی و مخلوط باکتری‌های شکمبه در سرنگ‌ها

در روز انجام آزمایش با توجه به تعداد سرنگ‌های موجود و در نظر گرفتن ۳۰ میلی لیتر از مخلوط حاوی باکتری‌های خالص جداشده از مایع شکمبه و بزاق مصنوعی جهت پر نمودن داخل سرنگ‌ها، ابتدا ضریب

مورد نظر جهت تهیه محلول‌های ترکیب بزاق مصنوعی به دست آمد. بر اساس این ضریب نسبت محلول‌ها در ترکیب بزاق مصنوعی محاسبه و بر آن اساس محلول‌ها در بالن مخصوص دو لیتری ریخته و با هم مخلوط شدند. سپس محلول احیاءکننده به صورت تازه تهیه و به مخلوط اضافه شد. جریان دی اکسید کربن تا زمان برقراری کامل شرایط بی‌هوازی و تبدیل رنگ معرف رزازورین از آبی به بی‌رنگ ادامه یافت. سپس مخلوط حاوی تک یاخته جدا شده و بزاق مصنوعی به نسبت-های ۱ به ۲ با هم مخلوط شدند. در این پژوهش مخلوط کردن مداوم محتویات سرنگ‌ها به خصوصً در زمان‌های اولیه، به صورت دستی انجام شد.

کشت سرنگ‌ها و ثبت روند تولید گاز

برای انجام آزمایش تولید گاز، ۳۰۰ میلی‌گرم از تیمارهای آزمایشی در زمان‌های ۳، ۶، ۱۶، ۲۴، ۴۸، ۷۲، ۹۶ و ۱۲۰ ساعت در حمام آب گرم آنکوباسیون شدند. حجم گاز تولیدی در زمان‌های مختلف به صورت تجمعی محاسبه شد. اندازه‌گیری تولید گاز در گروه-های آزمایشی بر اساس روش منک و همکاران (۱۹) انجام شد. هضم پذیری ماده آلی و انرژی قابل متابولیسم با استفاده از معادله منک و استینگس (۲۲)، محاسبه شد:

= (گرم درکیلوگرم ماده آلی) هضم پذیری ماده آلی
1)148.8 +8.89 GP + 4.5 CP + 0.651A

= (مگاژول درکیلوگرم ماده خشک) انرژی قابل متابولیسم (۲
2.2 + 0.136 GP + 0.057 CP + 0.0029 CP^2

در روابط بالا،CP، مقدار پروتئین خام (گرم در ۱۰۰ گرم ماده خشک)A;، خاکستر خام (گرم در ۱۰۰ گرم ماده خشک) و GP، نرخ خالص تولید گاز به ازای ۳۰۰ میلی گرم ماده خشک نمونه بعد از ۲۴ ساعت می‌باشد.

تجزیه و تحلیل آماری

به منظور آنالیز اثرات ۵ گروه آزمایشی با ۳ تکرار بر متغیرهای پاسخ از رویه GLM در قالب طرح کاملا تصادفی استفاده شد. همچنین آنالیز داده‌های ضرایب گاز تولیدی از رویه NLIN نرم افزار آماری SAS ۹/۱ بر اساس فرمول زیر محاسبه شد (۲) و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح ۵ درصد انجام شد.

$p= b (1-e^{-ct})$

p =حجم تولید گاز در زمان t

b = گاز تولید شده از بخش نامحلول

c = نرخ تولید گاز

t = مدت زمان قرار دادن نمونه در شکمبه

نتایج

اثر سطوح مختلف مونسین و پروبیوتیک تجاری بر روند و فراسنجه‌های تولید گاز علوفه یونجه با استفاده از باکتری‌های جدا شده از شکمبه در شرایط برون تنی

فراسنجه‌های تولید گاز از بخش قابل تخمیر (b) و ثابت نرخ تولید گاز (c) در نمونه‌های مکمل شده با سطوح مختلف مونسین سدیم و پروبیوتیک تجاری در جدول ۲ نشان داده شده است. نتایج این مرحله از آزمایش نشان داد که هر دو سطح آنتی بیوتیک مونسین سدیم سبب کاهش معنی‌داری در مقدار تولید گاز از بخش قابل تخمیر (b) نسبت به گروه شاهد و دیگر گروه‌ها شد. بیشترین مقدار تولید گاز از بخش قابل تخمیر (b) و بالاترین ثابت نرخ تولید گاز (c) توسط باکتری‌های شکمبه نیز مربوط به گروه شاهد (یونجه خشک بدون هر گونه افزودنی) بود (P<۰/۰۵). مکمل سازی سطح ۱۰۰۰ میلی گرم در کیلوگرم آنتی بیوتیک مونسین سدیم سبب کاهش نرخ تولید گاز (c) توسط باکتری-های شکمبه نسبت به گروه شاهد شد (P<۰/۰۵)، اما با سایر تیمارها اختلاف معنی داری نداشت. همچنین داده

های جدول ۲ نشان می دهدکه اختلاف معنی داری در میزان گاز تجمعی، هضم پذیری ماده آلی و انرژی قابل متابولیسم در گروه‌های آزمایشی دیده نمی‌شود (P>۰/۰۵).

اثر سطوح مختلف مونسین و پروبیوتیک تجاری بر روند و فراسنجه‌های تولید گاز دانه جو با استفاده از باکتری‌های جدا شده از شکمبه در شرایط برون تنی

فراسنجه‌های تولید گاز از بخش قابل تخمیر (b) و نرخ تولید گاز (c) در نمونه‌های دانه جو مکمل شده با سطوح مختلف مونسین سدیم و پروبیوتیک تجاری در جدول ۳ نشان داده شده است. نتایج این مرحله از آزمایش نشان داد که افزودنی‌های مونسین سدیم و پروبیوتیک تجاری اثر معنی داری بر مقدار تولید گاز از بخش قابل تخمیر (b) توسط باکتری‌های شکمبه نداشتند. همچنین نتایج این مرحله از آزمایش نشان داد با مکمل نمودن سطح بالای آنتی بیوتیک (گروه حاوی ۱۰۰۰ میلی گرم مونسین سدیم)، ثابت نرخ تولید گاز (c) دانه جو بطور معنی داری کاهش می‌یابد، هر چند هضم پذیری ماده آلی و انرژی قابل متابولیسم در بین گروه‌های آزمایشی اختلاف معنی داری نداشت. داده-های جدول ۳ نیز نشان داد سطوح مختلف آنتی بیوتیک مونسین سدیم و پروبیوتیک پروبیوتیک تجاری اثری بر حجم گاز تجمعی نداشت (P>۰/۰۵) و نشان دهنده عدم تاثیر افزودنی‌های آنتی بیوتیک و پروبیوتیک بر تولید گاز تجمعی توسط باکتری‌های شکمبه می‌باشد.

اثر سطوح مختلف مونسین و پروبیوتیک تجاری بر روند و فراسنجه‌های تولید گاز علوفه یونجه+دانه جو با استفاده از باکتری‌های جدا شده از شکمبه در شرایط برون تنی

فراسنجه‌های تولید گاز از بخش قابل تخمیر (b) و نرخ تولید گاز (c) توسط باکتری‌های شکمبه در نمونه‌های مربوط به علوفه یونجه + دانه جو تحت تاثیر سطوح مختلف مونسین و پروبیوتیک تجاری اختلاف معنی داری نداشتند (جدول ۴). همچنین نتایج این جدول نشان داد که با افزایش سطح پروبیوتیک تجاری، ثابت نرخ تولید گاز افزایش (P<۰/۰۵) داشت (۰/۰۶۰ در برابر ۰/۰۴۷)، اما سایر گروه‌های آزمایشی با گروه حاوی سطح ۱۰۰۰ میلی گرم پروبیوتیک تجاری اختلاف معنی داری نداشتند. هضم پذیری ماده آلی و انرژی قابل متابولیسم در مخلوط علوفه یونجه + دانه جو اختلاف معنی داری در بین گروه‌های آزمایشی نداشتند. تاثیرسطوح مختلف آنتی بیوتیک مونسین سدیم و پروبیوتیک تجاری تولید گاز تجمعی مخلوط یونجه + دانه جو توسط باکتری‌های شکمبه نشان داد کمترین مقدار گاز توسط گروه حاوی ۵۰۰ میلی گرم در کیلوگرم آنتی بیوتیک مونسین سدیم دیده می شود (P<۰/۰۵)، اما بین سایر گروه‌ها و گروه شاهد اختلاف معنی داری وجود نداشت (جدول ۴). نتایج آزمایش حاضر نشان داد که با افزایش سطح پروبیوتیک به مخلوط علوفه یونجه + دانه جو، ثابت نرخ تولید گاز (c) در مخلوط علوفه و غلات نسبت به گروه حاوی سطح پایین پروبیوتیک (۵۰۰ میلی گرم در کیلوگرم) افزایش یافت (P<۰/۰۵). تولید گاز از بخش قابل تخمیر (b) و تولید تجمعی گاز با مکمل نمودن ۱۰۰۰ میلی گرم پروبیوتیک افزایش یافت، هر چند اختلاف معنی داری با گروه شاهد نداشت. کمترین مقدار گاز تجمعی نیز توسط گروه حاوی ۵۰۰ میلی گرم در کیلوگرم آنتی بیوتیک مونسین سدیم تولید شد (P<۰/۰۵).

جدول ۱- ترکیبات شیمیایی نمونه‌های خوراکی مورد آزمایش

ماده خوراکی	الیاف نامحلول در شوینده اسیدی (ADF)	الیاف نامحلول در شوینده خنثی (NDF)	پروتئین خام (CP)	چربی (EE)	خاکستر (Ash)	ماده خشک (DM)
	%	%	%	%	%	
علف خشک یونجه	۳۷/۳	۴۶/۳	۱۷/۷	۲/۳	۸/۱	۹۰
دانه جو	۷/۱	۲۱/۸	۱۰/۵	۲/۲	۲/۹	۹۱

جدول ۲- اثر سطوح مختلف مونسین و پروبیوتیک تجاری بر فراسنجه‌های تولید گاز، هضم پذیری ماده آلی و انرژی قابل متابولیسم علوفه یونجه*

گروه‌های آزمایشی	فراسنجه‌های تولید گاز			هضم پذیری	انرژی قابل
	تولید گاز از بخش قابل تخمیر (b)	ثابت نرخ تولید گاز (c)	مقدار تجمعی گاز (میلی لیتر)	ماده آلی (گرم درکیلوگرم ماده آلی)	متابولیسم (مگا ژول در کیلوگرم ماده خشک)
شاهد	۵۳/۵۰^{a}	۰/۱۳^{a}	۶۰/۰۰	۶۶۹/۳۲	۹/۷۷
۵۰۰ میلی گرم در کیلوگرم مونسین سدیم	۴۶/۱۶^{c}	۰/۱۲^{ab}	۵۱/۰۰	۶۱۳/۰۳	۸/۹۱
۱۰۰۰ میلی گرم در کیلوگرم مونسین سدیم	۴۵/۱۷^{c}	۰/۱۰^{b}	۴۹/۶۶	۵۸۳/۴۰	۸/۴۵
۵۰۰ میلی گرم در کیلوگرم پروبیوتیک تجاری	۵۰/۴۷^{b}	۰/۱۱^{ab}	۵۶/۳۳	۶۲۱/۹۲	۹/۰۴
۱۰۰۰ میلی گرم در کیلوگرم پروبیوتیک تجاری	۵۱/۷۶^{b}	۰/۱۲^{ab}	۵۸/۰۰	۶۳۶/۷۴	۹/۲۷
SEM**	۰/۵۷	۰/۰۰۷	۳/۸۴	۱۳/۵۶	۰/۴۶

*میانگین های هر ستون با حروف غیرمشترک دارای اختلاف معنی دار می باشند ($P<۰/۰۵$)

**Standard Error of Mean (میانگین خطای استاندارد)

جدول ۳- اثر سطوح مختلف مونسین و پروبیوتیک تجاری بر فراسنجه‌های تولید گاز،هضم پذیری ماده آلی و انرژی قابل متابولیسم دانه جو *

گروه‌های آزمایشی	فراسنجه‌های تولید گاز			هضم پذیری	انرژی قابل
	تولید گاز از بخش قابل تخمیر (b)	ثابت نرخ تولید گاز (c)	مقدار تجمعی گاز (میلی لیتر)	ماده آلی (گرم درکیلوگرم ماده آلی)	متابولیسم (مگا ژول در کیلوگرم ماده خشک)
شاهد	۶۲/۵۹	۰/۱۳^{a}	۷۰/۶۶	۷۱۳/۵۶	۱۰/۸۰
۵۰۰ میلی گرم در کیلوگرم مونسین سدیم	۶۱/۸۴	۰/۱۲^{ab}	۶۸/۰۰	۷۱۰/۵۹	۱۰/۹۶
۱۰۰۰ میلی گرم در کیلوگرم مونسین سدیم	۶۲/۶۲	۰/۱۰^{b}	۷۱/۰۰	۶۸۹/۸۵	۱۰/۶۴
۵۰۰ میلی گرم در کیلوگرم پروبیوتیک تجاری	۵۹/۷۷	۰/۱۱^{ab}	۷۱/۰۰	۷۰۷/۶۳	۱۰/۹۱
۱۰۰۰ میلی گرم در کیلوگرم پروبیوتیک تجاری	۶۳/۳۶	۰/۱۲^{ab}	۶۶/۶۶	۷۱۳/۵۶	۱۱/۰۰
SEM**	۴/۱۲	۰/۰۰۷	۲/۴۰	۳۱/۲۲	۰/۴۳

*میانگین های هر ستون با حروف غیرمشترک دارای اختلاف معنی دار می باشند ($P<۰/۰۵$)

**Standard Error of Mean (میانگین خطای استاندارد)

جدول ۴- اثر سطوح مختلف مونسین و پروبیوتیک تجاری بر فراسنجه‌های تولید گاز، هضم پذیری ماده آلی و انرژی قابل متابولیسم یونجه+دانه جو *

گروه‌های آزمایشی	فراسنجه‌های تولید گاز			هضم پذیری	انرژی قابل
	تولید گاز از بخش قابل تخمیر (b)	ثابت نرخ تولید گاز (c)	مقدار تجمعی گاز (میلی لیتر)	ماده آلی (گرم درکیلوگرم ماده آلی)	متابولیسم (مگا ژول در کیلوگرم ماده خشک)
شاهد	۵۶/۵۸	۰/۰۵۶^{a}	۶۲/۶۶^{a}	۶۱۲/۹۲	۹/۵۶
۵۰۰ میلی گرم در کیلوگرم مونسین سدیم	۴۸/۵۴	۰/۰۵۹^{a}	۵۳/۳۳^{b}	۴۶۱/۷۹	۹/۰۲
۱۰۰۰ میلی گرم در کیلوگرم مونسین سدیم	۵۲/۹۵	۰/۰۵۸^{a}	۵۸/۶۶^{a}	۵۸۹/۲۱	۹/۶۵
۵۰۰ میلی گرم در کیلوگرم پروبیوتیک تجاری	۵۴/۶۴	۰/۰۴۷^{b}	۶۱/۰۰^{a}	۵۷۱/۴۳	۷/۳۴
۱۰۰۰ میلی گرم در کیلوگرم پروبیوتیک تجاری	۵۷/۴۲	۰/۰۶۰^{a}	۶۲/۰۰^{a}	۶۱۲/۹۲	۹/۲۹
SEM**	۲/۴۲	۰/۰۰۱	۱/۵۳	۵۹/۴۶	۰/۹۰

*- میانگین های هر ستون با حروف غیرمشترک دارای اختلاف معنی دار می باشند ($P<۰/۰۵$)

**Standard Error of Mean (میانگین خطای استاندارد)

بحث و نتیجه گیری

مونانسین یونوفری است که از گونه باکتریایی استرپتومایسس ساینومونسین تولید می‌شود. یونوفرها طبقه‌ای از آنتی بیوتیک‌ها هستند که سبب انتقال یون‌ها از غشاء باکتری‌ها می‌شوند و سبب کاهش فعالیت یا مرگ باکتری‌ها می‌شوند (۲۱). باکتری‌های گرم منفی مانع از نفوذ یونوفرها به داخل خود می‌شوند. بنابراین مونانسین به طور انتخابی به دلیل تفاوت موجود در ساختار دیواره سلولی باکتری‌ها، سبب مهار فعالیت باکتری‌های گرم مثبت در مقابل باکتری های گرم منفی می‌شوند. باکتری‌های گرم مثبت موجود در شکمبه، استات، بوتیرات و آمونیاک تولید می‌کنند ولی باکتری‌های گرم منفی موجود در شکمبه پروپیونات تولید می‌کنند که پیش ساز اصلی گلوکز می باشد. در نتیجه استفاده از مونانسین سدیم، باکتریهای گرم مثبت از بین رفته و جمعیت میکروبی شکمبه به نفع باکتری‌های گرم منفی دگرگون می -شود و باعث بالا رفتن نسبت پروپیونات به استات در شکمبه می‌شود (۳۱).

در آزمایش حاضر، در زمان استفاده از علوفه یونجه به عنوان نمونه ماده خوراکی، استفاده از سطوح مختلف مونانسین سدیم در مقایسه با گروه شاهد و سطوح مختلف پروبیوتیک تجاری کاهش معنی‌داری در مقدار تولید گاز از بخش قابل تخمیر (b) اتفاق افتاد. همچنین مکمل سازی سطح ۱۰۰۰ میلی گرم در کیلوگرم آنتی بیوتیک مونانسین سدیم سبب کاهش معنی‌دار نرخ تولید گاز (c) توسط باکتری‌های شکمبه نسبت به گروه شاهد شد. ویشر و همکاران (۳۸) نیز با انجام دو آزمایش برون تنی نشان دادند که مونانسین سبب کاهش تولید گاز تجمعی در سیلاژ نسبت به مخلوط سیلاژ + کنسانتره می‌شود (۱۴٪ در برابر ۸٪). واگنونی و همکاران (۳۴) با استفاده از مونانسین، کاهش در مقدار ناپدید شدن ماده خشک و دیواره سلولی بدون اثر بر نرخ هضم را مشاهده کردند. در حالی‌که ایفراگوئر و همکاران (۱۵) با مکمل کردن ۳۱۳ میلی گرم مونانسین در هر کیلوگرم خوراک به علوفه و سبوس گندم افزایش در تولید گاز را مشاهده کردند، اگرچه سطوح بیشتر از ۳۱۳ میلی گرم مونانسین در هر کیلوگرم خوراک مقدار گاز تجمعی را کاهش داد. سایر مطالعات هیچ اثری را از مونانسین روی قابلیت هضم مواد مغذی در علوفه‌های مختلف نشان ندادند (۱۰). بنابراین با بررسی پژوهش‌های پیشین، یافته‌های متناقضی در رابطه با اثر مونانسین بر قابلیت هضم گزارش شده است.

در آزمایش حاضر، فراسنجه‌های تولید گاز از دانه جو نشان داد به جز ثابت نرخ تولید گاز (c)، سایر فراسنجه-ها تحت تاثیر سطوح مختلف مونانسین سدیم و پروبیوتیک قرار نگرفت. همچنین نتایج این مرحله از آزمایش نشان داد با مکمل نمودن سطح بالای آنتی بیوتیک (گروه حاوی ۱۰۰۰ میلی گرم مونانسین سدیم)، ثابت نرخ تولید گاز (c) دانه جو بطور معنی داری کاهش می یابد. اختلاف در اثر مونانسین بر خوراک‌ها به دلیل این واقعیت می‌تواند باشد که باکتری‌های تخمیر کننده نشاسته حساسیت کمتری از باکتری‌های سلولایتیک دارند (۱۰). در مطالعه‌ای دیگر (۲۸) استفاده از مونانسین در جیره‌های حاوی کنسانتره زیاد تنها سبب کاهش هضم شکمبه ای نیتروژن بدون تغییر در سایر مواد مغذی شد. کوین و همکاران (۲۶) نیز در گروه‌های ذرت ورقه شده با بخار حاوی مونانسین، ۵/۹٪ تولید گاز کمتر نسبت به گروه شاهد مشاهده کردند.

در آزمایش حاضر، فراسنجه‌های تولید گاز از مخلوط علوفه یونجه + دانه جو نشان داد کمترین مقدار گاز تجمعی توسط گروه حاوی ۵۰۰ میلی گرم در کیلوگرم

آنتی بیوتیک مونسین سدیم تولید شد و با افزایش سطح آنتی بیوتیک به مخلوط علوفه یونجه+دانه جو، مقدار گاز تجمعی بصورت معنی داری افزایش یافت. این قسمت از نتایج آزمایش حاضر با نتایج ویشر و همکاران (۳۸) مطابقت داشت زیرا که این محققان با مکمل نمودن مونسین مشاهده کردند تولید تجمعی گاز در گروه حاوی سیلاژگرس+کنسانتره بالاتر از تیمار سیلاژ گرس (به عنوان یک منبع علوفه ای) بود. این محققان و سایر تحقیقات (۳۶) نیز پیشنهاد کرده‌اند که تخمیر برون تنی (*In vitro*) علوفه ها، حساسیت بیشتری به مونسین نسبت به مخلوط علوفه و کنسانتره دارد.

با مقایسه نتایج حاصل از مراحل مختلف تحقیق حاضر مشاهده شد در زمانی که سوبسترای آزمایش مخلوطی از علوفه (یونجه) و غلات (دانه جو) استفاده شده بود، پروبیوتیک تجاری اثر معنی داری بر فراسنجه های تخمیری داشت. دلایل آن را می توان به تنوع مواد مغذی موجود در یونجه و دانه جو و همچنین اثر متقابل مواد مغذی مختلف و میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک مزبور نسبت داد، زیرا پروبیوتیک های غیر باکتریایی در پروبیوتیک مصرفی در آزمایش حاضر شامل آسپرژیلوس اریزا و کاندیدا پنتولوپسیمی بودند. از آنجایی که این دو سویه قارچی بر متابولیسم شکمبه- به واسطه اثر بر تعدادی از باکتری های شکمبه- موثر هستند، بررسی باکتری‌هایی که نقش اصلی را در عمل این فراورده ها دارند، لازم می باشد. به عنوان مثال گزارش شده است سویه‌های مخمری با حذف اکسیژن از شکمبه (۲۸) شرایط زیستی را برای رشد باکتری‌های سلولایتیک بی‌هوازی در شکمبه و تحریک اتصال آن-ها به ذرات علوفه ای فراهم می کنند (۲۷). علاوه بر این برخی از سویه‌های مخمری با دیگر باکتری‌های مصرف کننده نشاسته در شکمبه رقابت می کنند (۱۸) و سبب جلوگیری از تجمع لاکتات در شکمبه می‌شوند (۴). همچنین باکتری‌های مورد استفاده در پروبیوتیک تجاری بیشتر باکتری‌های تولید کننده اسید لاکتیک می باشند (۳۲)، به عنوان مثال سویه‌هایی که به عنوان پروبیوتیک در این محصول استفاده شده‌اند اغلب به جنس‌های لاکتوباسیلوس، انتروکوکوس وبیفیدوباکتریوم تعلق دارند. این باکتری‌های اسید لاکتیک به طور مشخص کموارگانوتروفیک بوده و کربوهیدرات‌ها را تخمیر و محصول نهایی اصلی آنها اسید لاکتیک می باشد. لاکتوباسیلوس و انتروکوکوس از مهمترین باکتری‌های تولیدکننده اسیدلاکتیک هستند (۳۲). بیفیدوباکترها نیز قادر به تولید اسید لاکتیک هستند، ولی بیشتر اثر آنها به واسطه تولید اسید استیک است (۱۱). همچنین دیگر تحقیقات (۳۲) گزارش داده اند پروبیوتیک‌ها می‌توانند در شکمبه رشد کنند و اثرت مفیدی در تعدیل اکوسیستم شکمبه و یا خصوصیات تخمیری داشته باشند.

از سوی دیگر پروبیوتیک‌ها به واسطه توانائی تولید آنزیم، موجب تجزیه مواد غذائی می‌شوند . پروبیوتیک‌ها بر تخمیر شکمبه اثر گذاشته و سبب تغییر الگوی آن در جهت استفاده از متابولیت‌های موجود در شکمبه می‌شوند و با بهبود وضعیت الگوی تخمیر، بر میزان تولید و رشد افزوده می شود (۲۵)، همچنین ساز و کارهای احتمالی پروبیوتیک‌ها برای حفاظت میزبان در برابر عوامل بیماری‌زا تولید ترکیبات مهارکننده همانند اسیدهای‌چرب زنجیره کوتاه (استات، لاکتات، پروپیونات، سوکسینات و بوتیرات)، پراکسید هیدروژن و ترکیبات باکتریوسین می‌باشد (۳۲). باکتریوسین‌ها، پلی‌پپتیدهای ضد باکتریایی با مکانیسم عملکردی مانند آنتی‌بیوتیکها می‌باشند. باکتریوسین‌ها اغلب در برابر گونه‌هایی مرتبط با ارگانیسم‌های تولیدکننده فعالیت

دارند ولی باکتریوسین‌های باکتری‌های گرم مثبت همانند باسیلوس‌ها، طیف اثر گسترده‌تری دارند (25). به عنوان مثال گزارش شده است سویه‌های مخمری با فراهم کردن ویتامین‌ها، سبب رشد باکتری‌های شکمبه می‌شوند (۱۱). هدف اصلی از تغذیه‌ی پروبیوتیک‌ها به نشخوارکنندگان نیز تسریع ثبات میکروبی شکمبه ای – روده‌ای و جلوگیری از استقرار پاتوژن‌های بیماریزا می‌باشد (۲۶).

پژوهش‌های درون تنی در گوساله‌های پرواری تغذیه شده با علوفه مکمل شده با باکتری‌های تولید کننده اسید لاکتیک (لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس)، کاهش در pH شکمبه‌ای و افزایش در تعداد باکتری‌های سلولایتیک شکمبه ای را نشان داد (۶). این یافته‌ها با نتایج بوهم و سرور (۵) حاصل از آزمایش ۵ گرم در هر کیلوگرم کنسانتره از پروبیوتیک پرونیفر در جیره گوساله‌ها مطابقت داشت که بهبود قابلیت هضم بیشتر مواد مغذی خوراک را گزارش نموده اند. داوسون (۷) نیز گزارش کرد مخمر به عنوان یک پروبیوتیک با تحریک باکتری‌های شکمبه و افزایش مصرف لاکتات و آمونیاک در شکمبه سبب تعدیل pH شکمبه و افزایش جمعیت باکتری‌های شکمبه و در نهایت افزایش هضم الیاف و سنتز پروتئین در شکمبه می‌شود. اثر اصلی تغذیه کشت مخمر در نشخوارکنندگان بهبود سلامت و اکولوژی روده همراه با تثبیت میکروبی و تعادل pH شکمبه‌ای از طریق اثر بر باکتری‌های مصرف کننده لاکتات در شکمبه می‌باشد (۳۹). همچنین، هدف اصلی از تغذیه‌ی پروبیوتیک‌ها به نشخوارکنندگان تسریع ثبات میکروبی شکمبه‌ای – روده‌ای و جلوگیری از استقرار میکروب‌های بیماری‌زا می‌باشد (۲۵).

از یافته‌های آزمایش حاضر می توان نتیجه گرفت در زمانی که جیره تمام علوفه استفاده می شود، مکمل سازی آنتی بیوتیک‌ها سبب کاهش فراسنجه‌های تخمیری مواد خوراکی در شکمبه می شود. در جیره-های تمام غلات، سطح بالای آنتی بیوتیک مونسین سدیم، ثابت نرخ تولید گاز را به طور معنی داری کاهش می‌دهد، در حالی‌که با مخلوط نمودن علوفه و غلات، سطح پایین پروبیوتیک مورد استفاده توانست با تحریک باکتری‌های شکمبه ثابت نرخ تولید گاز را کاهش دهد. بنابراین کاهش نرخ تولید گاز در شرایط فوق الذکر می‌تواند نشان دهنده مهار فعالیتهای باکتریایی و تخمیری در شرایط برون تنی باشد و از این رو در شرایط برون تنی نیز انتظار کاهش عملکرد شکمبه را می توان داشت (۲۱). همچنین، با وجود دیگر مشکلات آنتی‌بیوتیک‌های تغذیه‌ای از قبیل مقاومت باکتریایی، بر هم زدن تعادل میکروبی دستگاه گوارش، ناهنجاری‌های مادرزادی، بیماری‌های مزمن، آلایندگی محیط‌زیست و تهدید سلامت مصرف-کنندگان، جایگزینی پروبیوتیک‌ها با آنتی‌بیوتیک‌ها در جیره های حاوی مخلوط علوفه و غلات پیشنهاد می-شود.

تشکر و قدردانی

مؤلفین از حوزه معاونت پژوهش و فناوری دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد به دلیل تأمین هزینه‌های مالی و همچنین از شرکت نیکوتک به دلیل در دسترس قرار دادن فرآورده پروبیوتیک تجاری، تشکر و سپاسگزاری می‌نمایند.

منابع

۱- جعفری، پ.، محمد زمانی، ق.، الماسیان، ف. و تاج آبادی ابراهیمی، م. (۱۳۸۹). جداسازی و تولید نیمه صنعتی سویه-های باسیلوس بالقوه پروبیوتیک برای طیور. *اولین همایش ملی پروبیوتیک ومحصولات فرآویژه*. تهران. ایران.

۲- مدرسی، م.ح. (۱۳۹۱). نقش اقتصادی پروبیوتیک وغذاهای فراسودمند. *دومین همایش ملی پروبیوتیک و غذاهای فراسودمند*. تهران. ایران.

3. AOAC (2005). Official Methods of Analysis of AOAC International, 18th ed. *AssociationOfficial Analytical Chemists*, Arligton, VA.
4. Blümmel, M., Ørskov, E. R. (1993). Comparison of in vitro gas production and nylon bag degradability of roughages in predicting feed intake in cattle. *Animal Feed Science and Technology* **40**: 109-119.
5. Bohm, J., Srour, A. (1995) *An Austrian probiotic feed additive for Egyptian buffalo and cattle production*. 3rd Scientific Conference, Faculty of Veterinary Medicine, Assiut University (Egypt Society for Cattle Diseases), Dec 3-5, Assiut, Egyp.
6. Chaucheyras, F., Fonty, G., Bertin, G., Salmon, J. M., Gouet, P. (1995). Effects of a strain of Saccharomyces cerevisiae)Levucell SC), a microbial additive for ruminants, on lactatemetabolism in vitro. *Canadian Journal Microbiology* **42**:927-933.
7. Dawson, K. A. (1992). Current and future role of yeast cultures in animal production: A review of research over the last six years. In: Lyons TP (ed.) Biotechnology in the Feed Industry. Proc Alltech's 8th Annual Symposium (Supplement). Alltech Technical Publications, Nicholasville, KY, USA, 1-23.
8. Dawson, K. A., Newman, K. E., Boling, J. A. (1990). Effects of microbial supplements containing yeast and lactobacilli on roughage-fed ruminal microbial activities. *Journal Animal Science* **68**: 3392-3398.
9. Dinius, D. A., Simpson, M. E., Marsh, P. B. (1976). Effect of monensin fed with forage on digestion and the ruminal ecosystem of steers. *Journal Animal Science* **42**: 229-234.
10. Fuller, R. (1989). Probiotics in man and animals. *Journal Applied Bacterology* **66**: 365-378.
11. Fumiaki, A., Ishibashi, N., Shimamura, S. (1995). Effect of administration of bifidobacteria and lactic acid bacteria to newborn calves and piglets. *Journal Dairy Science* **78**:2838-2846.
12. Galloway, D. L., Goetsch, A. L., Patil, A., Froster, L. A., Johnson, Z. B. (1993). Feed intake and digestion by Holstein steer calves consuming low-quality grass supplemented with lasalocid or monensin. *Canadian Journal Animal Science* **73**: 869-879.
13. Harmon, D. L., K. K. Kreikemeier., K. L. Gross. (1993). Influence of addition of monensin to an alfalfa hay diet on net portal and hepatic nutrient flux in steers. *Journal of Animal Science* 71: 218 – 225.
14. Hong, H. A., Duc, L. H., Cutting, S. M. (2005). The use ofbacterial spore formers as probiotics. *FEMS Microbiology Reviews* **29**:813-835.
15. Ipharraguerre, I. R., Clark, J. H. (2003). Usefulness of ionophores for lactating dairy cows: a review. *Animal Feed Scicience Technology* **106**: 39-57.
16. Jacob, M. E., J. T. Fox., S. K. Narayanan., J. S. Drouillar., D. G. Renter., and T. G. Nagaraga. (2008). Effects of feeding wet corn distillers grains with solubles with or without monensin and tylosin on the prevalence and antimicrobial susceptibilities of fecal foodborne pathogenic and commensal bacteria in feedlot cattle. *Journal of Animal Science*. **86**: 1182 – 1190.
17. Jalč, D., Baran, M., Vendrák, T. and Siroka, P.(1992). Effect of monensin on fermentation of hay andwheat bran investigated by the Rumen Simulation Technique (Rusitec). 2. End-products offermentation and protein synthesis. *Arch Tierernahr***42**:153-158.
18. Lee, S. S., Ha, J. K., Cheng, K. J. (2000). Relative contributions of bacteria, protozoa, and fungi to *in vitro* degradation of orchard grass cell walls and their interactions. *Applied and Environmental Microbiology*. **66**: 3807 – 3813.
19. Lynch, H. A., Martin, S. A.(2002). Effects of Saccharomycescerevisiae culture and Saccharomyces cerevisiae live cells onin vitro mixed ruminal microorganism fermentation. *Journal Dairy Science*. **85**:2603-2608.
20. McDonald, P., Edwards, R. A., Greenhalgh, J. F. D., Morgan, C. A. (1995). Animal Nutrition, th5 Edition. Longman Scientific and Technical, Harlow, Essex, England, pages 546–554.

21. McGuffey, R.K., Richardson, L.F., and Wilkinson, J.I.D. (2001). Ionophores for dairy cattle: current status and future outlook. *Journal of Dairy Science*. **84** (E. Suppl.): E194-E203.
22. Menke, K. H., Steingass, H. (1988). Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. *Animal research and development*. **28**: 6-55.
23. Menke, K.H., Raab, L., Salewski, A., Steingass, H., Fritz, D., Schneider, W.(1979). The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feedstuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor in vitro. *Journal of Agricultural Science*. **92**: 217 -222.
24. Nagaraja, T. G., Newbold, C. J., Van Nevel, C. J., Demeyer, D. I. (1997). Manipulation of ruminal fermentation. Pages 523-632 in The *Rumen Microbial Ecosystem*. P. N. Hobson and C. S. Stewart, Chapman and Hall, London, UK.
25. Paul, S. S., D. N. Kamra, V. R. B. Sastry, N. P. Sahu, A. Kumar. (2003). Effect of phenolic monomers on growth and hydrolytic enzyme activities of an anaerobic fungus isolated from wild nilgai (Boselaphus tragocamelus). *Letters in Applied Microbiology* **36:** 377-381.
26. Quigley, J. D., Steen, T. M., Boehms, S. I. (1992). Postprandial changes of selected blood andruminal metabolites in ruminating calves fed diets with or without hay. *Journal of Animal Science*. **75**:228-235.
27. Quinn, M. J., May, M. L., Hales, K. E., DiLorenzo, N., Leibovich, J., Smith, D. R., Galyean, M. L.(2009). Effects of ionophores and antibiotics on in vitro hydrogen sulfide production, dry matter disappearance, and total gas production in cultures with a steam-flaked corn-based substrate with or without added sulfur. *Journal of Animal Science*. **87**:1705-1713.
28. Roger, V., Fonty, G., Komisarczuk-Bony, S., Gouet, P.(1990). Effects of physicochemical factors on the adhesion to celluloseAvicel of the ruminal bacteria Ruminococcus flavefaciens andFibrobacter succinogenes subsp. succinogenes. *Applied and Environmental Microbiology*. **56**:3081-3087.
29. Rose, A. H. (1987). Responses to the chemical environment. In: *TheYeasts* (Ed. A. H. Rose and J. S. Harrisson) Vol. 2, AcademicPress, London, pp. 5-40.
30. Russell, J. B., H. J., Strobel. (1989). Effect of ionophores on ruminal fermentation. *Applied and Environmental Microbiology*. **55**:1-6.
31. SAS Institute Inc. (2004). *SAS/STAT User's Guide*, Version 9.1. SAS Institute Inc., Cary, North Carolina.
32. Seo, J. K., Kim, S.W., Kim, M. H., Upadhaya, S. D., Kam, D. K., D. K. and Ha, J. K. (2010). Direct-fed Microbials for Ruminant Animals. *Asian - Australasian Journal of Animal Science*.Vol. 23, No. **12**: 1657 – 1667.
33. Surber, L. M., Bowman, J. G. P. (1998). Monensin effects ondigestion of corn or barley high-concentrate diets.*Journal of Animal Science*. **76**:1945-1954.
34. Tomasik, P.J., Tomasik, P.(2003). Probiotics and prebiotics. *Cereal Chemi*stry, **80**: p. 113-117.
35. Vagnoni, D. B., Craig, W. M., Gates, R. N., Wyatt, W. E., and Southern, L. L. (1995). Monensin and ammonication or urea supplementation of Bermuda grass hay diets for steers. *Journal of Animal Science*. **73**: 1793-1802.
36. Vali, N. (2009). Probiotic in quail nutrition: A Review. Inter. *Journal of Poultry Science*. **8**: 1218-1222.
37. Van Nevel, C. J. (1996). Control of rumen methanogenesis. *Environmental Monitoring and Assessment*. **42**:73-97.
38. Van Soest, P.J., Robertson, J. B., and Lewis, B. A.(1991). Methods for dietary fiber, neutral-detergent fiber and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, **74**: 3583-3597.
39. Wischer, G., Boguhn, J., Steingaß, H., Schollenberger, M., Hartung, K., Rodehutscor, M. (2012). *Effects of monensin and tannin extract supplementation on methane production and other criteria of rumen fermentation in vitro and in long -term studies with sheep*. Thesis.

40. Yang, W. Z., Beauchemin, K. A., Vedres, D. D., Ghorbani, G. R., Colombatto, D., Morgavi, D. P.(2004). Effects of direct-fed microbial supplementation on ruminal acidosis, digestibility, and bacterial protein synthesis in continuousculture. *Animal Feed Science and Technolology* **114**: 179-193.
41. Zhang, Y., Gao, W., Meng, Q. (2007). Fermentation of plant cell walls by ruminal bacteria, protozoa and fungi and their interaction with fibre particle size. *Archives of Animal Nutrition* **61**: 114–125.

Journal of Veterinary Microbiology, Volume 14, Issue 2, 2018

Effect Effect of different levels of monensin and a commercial probiotic on fermentative parameters of feedstuffs by bacteria isolated from rumen in vitro condition

Sobhanirad, S.[1]*, ElahiTorshizi M.[1]

1. Assistant Professor, Department of Animal Science, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, Iran

Received: 30 April 2017 Accepted: 17June2018

Abstract

The aim of this study was investigating the effect of antibiotic (sodium monensin) and trade probiotic on fermentation process and estimation of gas production parameters of feedstuffs (alfalfa hay, barley grain and alfalfa+ barley 50:50) in vitro condition. Experimental treatments were included control treatment (basal feeds without additive), basal feeds supplemented with sodium monensin antibiotic and the trade probiotic at levels of 500 and 1000 mg per kg of DM. Gas production in vitro was used for determining gas production parameters. Results showed both levels of sodium monensin and 1000 mg/kg of monensin decreased fermentable fraction (b) and rate (c) of gas production of alfalfa, respectively. Also, rate (c) of gas production of barley was significantly decreased by supplying a higher level of monensin (1000 mg/ kg). In comparison with level of 500 mg/kg probiotic, the higher level of probiotic increased rate of gas production of alfalfa+ barley mixture. There was no significant ($p>0.05$) effect of treatments on organic digestibility and metabolisable energy. Supplementation of antibiotics in diet containing 100% hay decreased fermentative parameters of feedstuffs in rumen. Adding the higher level of monensin to diet containing 100% grain decreased significantly gas production rate. Using probiotics in diet containing mixed hay and grain can increase rate of gas production by stimulating ruminal bacteria.

Keywords: Fermentative parameters, In vitro, Monensin, Probiotic, Ruminal bacteria.

**Corresponding author: Sobhanirad, S.*
Address: Department of Animal Science, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, Iran. Tel: +989151182339
E-mail address: sobhanirad@gmail.com