



"مقاله پژوهشی"

**اثرات استفاده از باکتری‌های مصرف کننده اسید و بافرهای مختلف با جیره‌های پرکنسانتره، بر فعالیت هضمی و تخمیری باکتری‌ها و قارچ‌های بی‌هوازی شکمبه‌ی بره‌های پرواری در شرایط برون‌تنی**

**فرشته وفائی<sup>۱</sup> و مرتضی چاجی<sup>۲</sup>**

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد تغذیه دام، گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاتانی، اهواز، ایران  
۲- استاد، گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاتانی، اهواز، ایران،

(نویسنده مسوول: chaji@asnrk.ac.ir)

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۴/۲۸ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۶/۲

صفحه: ۱۰۰ تا ۱۰۹

**چکیده مبسوط**

**مقدمه و هدف:** استفاده از بافرهای شیمیایی از جمله بیکربنات سدیم و افزودنی باکتریایی نظیر مگاسفرا السدنی باعث بهبود هضم و تخمیر جیره‌ی با کنسانتره بالا می‌شود. لذا، این پژوهش با هدف مقایسه‌ی تاثیر استفاده از باکتری مصرف‌کننده اسید و بافرهای مختلف شیمیایی برای بهبود قابلیت هضم و تخمیر جیره‌های پرکنسانتره و یافتن بافر مناسب و مقرون به صرفه انجام شد.

**مواد و روش‌ها:** از چند بافر شیمیایی به تنهایی یا همراه با باکتری مگاسفرا السدنی به عنوان بافر بیولوژیکی استفاده شد. در این آزمایش از روش‌های هضم دو مرحله‌ای، کشت اختصاصی قارچ‌ها و باکتری‌های بی‌هوازی شکمبه استفاده شد. تعداد ۱۲ تیمار شامل ۱- جیره‌ی شاهد (فاقد افزودنی و حاوی ۷۰ درصد کنسانتره + ۳۰ درصد علوفه یا جیره‌ی پایه)، ۲- جیره‌ی پایه + ۳ میلی‌لیتر باکتری مگاسفرا السدنی ( $10^8 \times 1/5$ )، ۳ تا ۱۲- یک درصد از ۵ بافر بنتونیت سدیم، بیکربنات سدیم، اکسید منیزیم، زئولیت، سدیم سسکوئی کربنات به تنهایی یا همراه با باکتری مگاسفرا السدنی بودند.

**یافته‌ها:** در آزمایش هضم دو مرحله‌ای، قابلیت هضم ماده‌ی خشک در تیمارهای دریافت‌کننده بافر و باکتری بهبود یافت ( $p < 0.05$ ). قابلیت هضم ماده خشک، الیاف نامحلول در شوینده خنثی و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی توسط قارچ‌های جداسازی شده از شکمبه تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت و در تیمار حاوی بافر شیمیایی + باکتری بیشتر از شاهد بود ( $p < 0.05$ ). استفاده از بافر شیمیایی و بیولوژیکی تاثیری بر قابلیت هضم مواد مغذی توسط باکتری‌های شکمبه داشت و در تیمارهای حاوی بافر + باکتری بیشتر از شاهد بود ( $p < 0.05$ ). فراسنجه‌های تخمیری محیط کشت باکتری و قارچ‌های شکمبه شامل PH و غلظت نیتروژن، آمونیاک، به‌طور معنی‌داری تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفتند و به ترتیب در همه‌ی تیمارها بیشتر و کم‌تر از تیمار شاهد بودند ( $p < 0.05$ ). **نتیجه‌گیری:** استفاده از بافر شیمیایی باعث بهبود شرایط هضم و تخمیر جیره‌های پرکنسانتره بره‌های پرواری شد و در بسیاری از موارد اثر باکتری مصرف کننده‌ی اسید با بافرهای شیمیایی قابل رقابت بود. از طرفی، استفاده‌ی توأم باکتری و بافر نیز اثرات هم‌افزایی داشتند.

**واژه‌های کلیدی:** باکتری مگاسفرا السدنی، بنتونیت سدیم، بیکربنات سدیم، ساکارومایسس سرویسیه، قابلیت هضم، pH شکمبه

**مقدمه**

خوراندن جیره‌های غنی از کربوهیدرات‌های غیر ساختمانی به حیواناتی که به اندازه کافی با این جیره‌ها سازگار نشده‌اند، منجر به کاهش PH شکمبه می‌شود (۳۵)؛ این باعث اختلال اسیدوز می‌شود که عوارضی نظیر لنگش حاصل آن است. بیماری لنگش یکی از دلایل عمده زیان اقتصادی در صنعت پروراندن است و زیان‌های ناشی از لنگش شامل هزینه درمان، کاهش افزایش وزن، کشتار زودتر از موعد مقرر و کاهش عملکرد حیوانات می‌باشد (۳۵).

جمعیت میکروبی ساکن در شکمبه دام‌های نشخوارکننده به طور معمول برای هضم علوفه مناسب است. تغذیه این دام‌ها با مقادیر بالای ترکیبات کنسانتره‌ای، تخمیر سریع میکروبی را در پی داشته و باعث کاهش PH می‌شود (۲). جیره‌های با کنسانتره بالا اغلب PH شکمبه و هضم الیاف را کاهش می‌دهند.

نیاز به مواد بافری در جیره نشخوارکنندگان تابعی از ترشح بزاق، ظرفیت بافری مواد خوراکی و اسیدیته خوراک است (۱۱). بافرها موادی هستند که تمایل دارند در برابر تغییرات pH در هنگام اضافه شدن مقدار کم اسید یا باز مقاومت کنند. از جمله مکمل‌هایی که در جیره به‌عنوان بافر مورد استفاده قرار می‌گیرند می‌توان به بیکربنات سدیم، سنگ آهک (کربنات کلسیم)، بنتونیت سدیم، کربنات منیزیم و اکسید منیزیم اشاره

کرد (۴۲). بافرها می‌توانند از طریق خنثی‌سازی اسیدهای مازاد تولیدشده در شکمبه که در اثر ترشح ناکافی بزاق و یا مصرف جیره‌ی پرکنسانتره ایجاد شده‌اند، باعث افزایش تولید و عملکرد دام‌های نشخوارکننده شوند (۲۰). در رابطه با افزودنی‌هایی که منجر به افزایش pH در شکمبه می‌شوند، رایج‌ترین بافری که در صنعت پرورش گاو شیری استفاده می‌شود، بیکربنات سدیم است. از دیدگاه سوخت و ساز (متابولیسم)، بیکربنات سدیم تأثیر زیادی بر تولید اسیدهای چرب فرار ندارد (۴)، اما نسبت استات به پروپیونات را افزایش می‌دهد که این عمل برای تثبیت درصد چربی شیر مطلوب است (۱۹). به‌طور کلی، بافرها نه تنها سبب حفظ پایداری شکمبه می‌شوند، بلکه تولید حیوان را نیز افزایش می‌دهند (۳۷).

اسیدوز به‌علت عدم تعادل بین باکتری‌های تولید کننده و مصرف کنند اسیدهای چرب فرار نیز ایجاد می‌شود (۹). زمانی که pH شکمبه به ۵/۴ کاهش می‌یابد، هضم الیاف و جریان پروتئین میکروبی به روده باریک کاهش می‌یابد (۱۸). پروبیوتیک‌ها، مکمل‌های زنده میکروبی خوراکی هستند که به‌طور سودمندانه‌ای تعادل میکروبی روده را بهبود می‌دهند (۵)، استفاده از مگاسفرا السدنی<sup>۱</sup> به‌عنوان یک پروبیوتیک، تجمع لاکتات را کاهش می‌دهد و تلقیح گاو با مگاسفرا السدنی در تقویت جمعیت مصرف کننده لاکتات موثر است

1- Megasphaera elsdenii

دامپروری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان انجام گرفت. به منظور بررسی تاثیر افزودنی میکروبی و بافرهای شیمیایی مختلف بر قابلیت هضم، تخمیر شکمبه‌ای و فراسنجه‌های تخمیر به روش برون تنی و با روش هضم دو مرحله‌ای و کشت اختصاصی قارچ‌ها و باکتری‌های شکمبه، ۱۲ جیره به عنوان تیمار آزمایشی مورد استفاده قرار گرفتند که شامل: ۱- جیره‌ی شاهد (فاقد افزودنی و حاوی ۷۰ درصد کنسانتره + ۳۰ درصد علوفه یا جیره‌ی پایه- جدول ۱)، ۲- جیره‌ی پایه + ۳ میلی لیتر باکتری *مگاسفرا السدنی* (باکتری-  $10^8$  cfu/3ml  $\times$  ۴/۵)، ۳- جیره‌ی پایه + ۱ درصد بنتونیت سدیم، ۴- جیره‌ی پایه + ۱ درصد بنتونیت سدیم + ۳ میلی لیتر باکتری، ۵- جیره پایه + ۱ درصد بیکربنات سدیم، ۶- جیره پایه + ۱ درصد بیکربنات سدیم + ۳ میلی لیتر باکتری، ۷- جیره پایه + ۱ درصد اکسیدمنیزیم، ۸- جیره پایه + ۱ درصد اکسیدمنیزیم + ۳ میلی لیتر باکتری، ۹- جیره پایه + ۱ درصد زئولیت، ۱۰- جیره پایه + ۱ درصد زئولیت + ۳ میلی لیتر باکتری، ۱۱- جیره پایه + ۱ درصد سدیم سسکوئی کربنات، ۱۲- جیره پایه + ۱ درصد سدیم سسکوئی کربنات + ۳ میلی لیتر باکتری، بودند. باکتری‌های *مگاسفرا السدنی* ( $10^8$  cfu/ml  $\times$  ۱/۵) مورد استفاده از بز نجدی و در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان (ملاثنی-اهواز-ایران) جداسازی و تهیه شد و فعالیت آن‌ها در آزمایش‌هایی مورد بررسی قرار گرفت (۲۶).

(۲۳). استفاده از دوزهای مختلف از باکتری *مگاسفرا السدنی* از طریق فیستولای شکمبه در گوساله‌های نژاد آنگوس، لاکتات شکمبه‌ی گوساله‌های دریافت‌کننده‌ی باکتری را کاهش داد و pH شکمبه نیز در این دام‌ها نسبت به شاهد بالاتر بود (۲۴). در یک پژوهش دیگر (۳۹)، با دادن مقادیر صفر، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی لیتر از *مگاسفرا السدنی* به تلیسه‌های هلستاین، مشاهده شد که دوزهای ۷۵ و ۱۰۰ میلی لیتر، pH مایع شکمبه را افزایش دادند. لذا با استفاده از افزودنی‌های میکروبی خوراکی می‌توان با تحریک رشد باکتری‌های مصرف‌کننده اسید لاکتیک و افزایش مصرف اسید لاکتیک، از کاهش شدید pH شکمبه و تجمع اسیدهای چرب فرار جلوگیری کرد. مهم‌ترین فرضیه در مورد باکتری‌های مصرف‌کننده اسید لاکتیک این است که تولید اسید لاکتیک سبب سازگار شدن باکتری‌های مصرف‌کننده‌ی اسید لاکتیک به این و در نتیجه تحریک رشد این باکتری‌ها می‌شود (۳۶). بنابراین، پژوهش حاضر، با هدف مقایسه‌ی تاثیر استفاده از باکتری مصرف‌کننده اسید و بافرهای مختلف شیمیایی برای بهبود قابلیت هضم و تخمیر جیره‌های پرکنسانتره و یافتن بافر مناسب و مقرون به صرفه انجام شد.

## مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر در آزمایشگاه‌های میکروبیولوژی شکمبه، هضم و تخمیر، تغذیه پیشرفته و ایستگاه آموزشی-پژوهشی

### جدول ۱- اجزای خوراکی و ترکیبات شیمیایی جیره پایه

Table 1. Feed ingredients and chemical composition of the basic diet

درصد	مواد خوراکی
۲۰/۱	علف خشک یونجه
۹/۹	کاه گندم
۳۰	دانه جو
۲۱	دانه ذرت
۱۲/۳۵۰	کنجاله سویا
۵/۵	سبوس گندم
۰/۴	کربنات کلسیم
۰/۲۵۰	نمک
۰/۵	مکمل ویتامین- مواد معدنی*
	ترکیبات شیمیایی (درصد)
۸۹/۱	ماده خشک
۹۴/۸	ماده آلی
۵/۱۷	خاکستر
۱۶/۱	پروتئین خام
۲/۷	عصاره اتری
۲/۶۵	انرژی قابل متابولیسم (مگا کالری در کیلوگرم ماده خشک)
۲۹	الیاف نامحلول در شوینده خنثی
۱۶/۵	الیاف نامحلول در شوینده اسیدی
۴۷/۰۳	کربوهیدرات‌های غیر الیافی

\* هر کیلوگرم مکمل ویتامین - مواد معدنی حاوی ۵۰۰ هزار واحد بین‌المللی ویتامین A، ۱۰۰ هزار واحد بین‌المللی ویتامین D<sub>3</sub>، ۱۰۰ میلی‌گرم ویتامین E، ۱۸۰ گرم کلسیم، ۶۰ هزار میلی‌گرم فسفر، ۶۰ هزار میلی‌گرم سدیم، ۱۹ هزار میلی‌گرم منیزیم، ۳ هزار میلی‌گرم روی، ۳ هزار میلی‌گرم آهن، ۱۹ هزار میلی‌گرم منگنز، ۳۰۰ میلی‌گرم مس، ۱۰۰ میلی‌گرم کروم، ۱ میلی‌گرم سلنیوم، ۱۰۰ میلی‌گرم ید، ۴۰۰ میلی‌گرم آنتی‌اکسیدان.

سدیم سسکوئی کربنات از کارخانه دام و طیور مینو صباح گلستان (مینودشت-ایران) تهیه شد.  
**تعیین قابلیت هضم آزمایشگاهی**  
 قابلیت هضم نمونه‌های مورد آزمایش با استفاده از آزمایش هضم دو مرحله‌ای اندازه‌گیری شد (۴۰). برای این منظور مایع

مکمل‌های بافوری مورد استفاده در پژوهش حاضر شامل بافر بی‌کربنات سدیم از شرکت کیمیا سپاهان (اصفهان-ایران)، بنتونیت سدیم از شرکت پایا فرآیند هزاره نوین (مشهد-ایران)، زئولیت از شرکت افروند توسکا (تهران-ایران)، اکسیدمنیزیم از گروه دانش بنیان ویوان (مشهد-ایران) و

از خالص کردن محیط کشت‌ها در انکوباتور در ۳۹ درجه سانتی‌گراد کشت داده شدند. محتوی شیشه‌های کشت پس از اندازه‌گیری pH و نمونه‌گیری از مایع کشت صاف شده برای سنجش نیتروژن آمونیاکی، خشک و توزین شد و میزان ناپدید شدن ماده خشک و الیاف نامحلول در شوینده خنثی نمونه‌ها در اثر فعالیت باکتری‌ها اندازه‌گیری شد.

#### غلظت نیتروژن آمونیاکی و PH

در پایان انکوباسیون، بخشی از مایع محیط کشت با حجم مساوی با اسیدکلریدریک ۰/۲ نرمال مخلوط شد و تا زمان اندازه‌گیری نیتروژن آمونیاکی در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. غلظت نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه بر اساس روش هیپوکرایت (۷) و با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر (مدل Biochrom libra S22، انگلستان) اندازه‌گیری شد. به‌منظور بررسی تاثیر مصرف جیره‌های آزمایشی بر تغییرات pH مایع شکمبه، pH با استفاده از pH متر (Aqualtic، مدل AL۱۰، ساخت آلمان) اندازه‌گیری شد.

#### اندازه‌گیری ترکیب شیمیایی

درصد ماده خشک (آون ممرت، آلمان، ۴۸ ساعت در دمای ۶۰ درجه سلسیوس؛ Method: 930.15)، خاکستر (کوره الکتریکی، اکسایتون، ایران، Method: 92.05)، غلظت پروتئین خام (روش کجدلال، Method: 954.01، کجدلال اتوماتیک، مدل V50 صنایع آزمایشگاهی بخشی، ایران) و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی (method: 973.18) با روش‌های استاندارد اندازه‌گیری شد (۳). الیاف نامحلول در شوینده خنثی با روش توصیه شده (۴۳) سنجش شد. داده‌های حاصل از آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با استفاده از رویه GLM نرم افزار آماري SAS ویرایش ۹/۴ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. برای اثرات معنی‌دار، مقایسه میانگین‌ها با استفاده از روش دانکن در سطح احتمال خطای ۵ درصد انجام شد.

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

که در این رابطه،  $Y_{ij}$  مقدار مشاهده شده،  $M$  میانگین جامعه،  $T_i$  اثر تیمار  $i$ ام،  $\varepsilon_{ij}$  اثرات خطای آزمایش است.

#### نتایج و بحث

##### قابلیت هضم آزمایشگاهی

نتایج مربوط به قابلیت هضم مواد مغذی جیره‌های آزمایشی در جدول ۲ نشان داده شده است. قابلیت هضم ماده خشک تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت ( $p < 0.05$ )، اما قابلیت هضم الیاف نامحلول در شوینده خنثی و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت ( $p > 0.05$ ). افزودن باکتری به تنهایی یا همراه با بافرهای شیمیایی در مقایسه با تیمار شاهد باعث افزایش قابلیت هضم ماده خشک در تیمارهای بافری (بتنویت سدیم، بیکربنات سدیم، اکسید منیزیم، سدیم سسکوئی کربنات) حاوی باکتری شد. قابلیت هضم ماده خشک در تیمار بیکربنات سدیم + باکتری مگاسفرا/السدنی نسبت به سایر تیمارها غیر از تیمار ۱۲ به‌طور معنی‌داری بیشتر بود؛ اما در تیمار شاهد (جیره پایه) کمترین مقدار بود. قابلیت هضم الیاف نامحلول در شوینده

شکمبه از چهار راس گوسفند تغذیه شده با جیره‌ی برپایه‌ی علوفه از طریق لوله‌ی مدی گرفته شد و پس از اختلاط به نسبت ۱ به ۴ با بزاق مصنوعی مخلوط شد. نیم‌گرم نمونه خشک در لوله‌های ۱۰۰ میلی‌لیتری وزن شد (۷ تکرار برای هر نمونه) و با محلول فوق به‌مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد گرم خانه‌گذاری شد. سپس به‌مدت ۴۸ ساعت دیگر در دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد در معرض اسید کلریدریک ۲۰ درصد و پپسین (۰/۵ گرم آنزیم پپسین ۳۳۰۰ در ۱۰۰ میلی‌لیتر اسید کلریدریک ۰/۱ نرمال) تحت هضم قرار گرفت. سپس نمونه‌ها با کاغذ صافی واتمن شماره ۴۲ بدون خاکستر، صاف، خشک و وزن شدند. قابلیت هضم ماده خشک، الیاف نامحلول در شوینده خنثی و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی از اختلاف مقدار نمونه‌ی اولیه و باقی‌مانده محاسبه شد (۴۱).

#### تهیه محیط کشت اختصاصی قارچ‌های شکمبه

محیط کشت قارچ‌های شکمبه شامل دو محلول نمکی ۱ (۳) گرم فسفات هیدروژن دی‌پتاسیم در ۱ لیتر آب مقطر حل شد) و محلول نمکی ۲ (۳) گرم فسفات هیدروژن پتاسیم، ۶ گرم سولفات آمونیوم، ۶ گرم کلرید سدیم، ۰/۶ گرم کلرید کلسیم در ۱ لیتر آب مقطر حل شد) با مقدار مساوی از مایع شکمبه سانتریفیوژ شد (۱۵۰۰ دور در دقیقه برای ۳۰ دقیقه)، ۲/۵ گرم عصاره مخمر، ۱۰ گرم پیتون تریپتیکاز، ۰/۵ گرم گلوکز، ۱ گرم سلویوز، ۶ گرم بی‌کربنات سدیم، ۱ گرم سیستئین اسیدکلریدریک و ۱ میلی‌لیتر رزاورین ۰/۱ درصد برای هر لیتر محیط کشت بود (۲۹، ۲۶). محیط کشت تحت شرایط بی‌هوازی به داخل شیشه‌های سرمی منتقل شد و بعد برای ۱۵ دقیقه در ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد اتوکلاو شد. به این ترتیب محیط کشت اختصاصی قارچ آماده شد. ایزوله‌های قارچ به عنوان اینوکولانت به نسبت ۱ به ۹ در شیشه‌های سرمی که محتوی محیط کشت اختصاصی قارچ به‌همراه ۱ گرم از نمونه‌های آزمایشی و ۱ میلی‌لیتر آنتی‌بیوتیک (۰/۰۱ گرم پنی‌سیلین و استرپتومایسین با ۲ میلی‌لیتر کلرامفنیکل به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد) بودند، کشت داده شدند و برای به دست آوردن محیط کشت خالص، سه مرحله ساب کالچر انجام شد. بعد برای مطمئن شدن از خالص بودن محیط کشت قارچ، نمونه‌ها در انکوباتور در ۳۹ درجه سانتی‌گراد برای مدت شش روز کشت داده شدند.

#### تهیه محیط کشت اختصاصی باکتری‌های شکمبه

محیط کشت باکتری‌های شکمبه شامل محلول نمکی ۱، محلول نمکی ۲ هر کدام ۱۵۰ میلی‌لیتر، ۰/۵ گرم عصاره مخمر، ۲ گرم پیتون تریپتیکاز، ۱۰ میلی‌لیتر اسید چرب فرار ۷۰ میلی‌لیتر کربنات سدیم ۸ درصد و ۱ میلی‌لیتر رزوزورین می‌باشد (۲۹). محیط کشت تهیه شده تحت شرایط بی‌هوازی به‌داخل شیشه‌های سرمی که حاوی مقدار ۱ گرم نمونه آزمایشی (حاوی جیره پایه ۷۰ درصد کنسانتره و ۳۰ درصد علوفه) بود، منتقل شد و بعد برای ۱۵ دقیقه در ۱۲۰ درجه اتوکلاو شد. سپس جدایه‌های باکتری‌های خالص شکمبه و محلول قندی ۱/۵ درصد اضافه شدند. برای به‌دست آوردن محیط کشت خالص، سه مرحله ساب کالچر انجام شد، و بعد

واسطه خاصیت بافیری که دارد سبب افزایش pH شکمبه شده و از بروز اسیدوز در شکمبه جلوگیری می‌کند که موافق با نتایج آزمایش حاضر است. تیمارهای حاوی اکسیدمنیزیم + باکتری (تیمار ۸) افزایش معنی‌داری را نسبت به تیمار شاهد نشان دادند. در مطالعاتی با گوسفندان نر نژاد مهربان تغذیه شده با ۳۰ و ۶۰ گرم زئولیت در هر کیلوگرم جیره (۱۴)، قابلیت‌هضم ماده‌ی خشک و پروتئین‌خام به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. از طرفی، در مطالعه‌ای استفاده از ۴ درصد زئولیت در جیره حاوی نسبت ۵۰:۵۰ علوفه و کنسانتره، باعث افزایش قابلیت‌هضم ماده‌ی خشک، پروتئین‌خام، چربی و الیاف نامحلول در شوینده خنثی شد (۱) که موافق نتایج آزمایش حاضر بود. تغذیه مستقیم میکروبا (DFM) منجر به افزایش قابلیت‌هضم ماده‌ی خشک شد (۲۸). تزریق مگاسفرا/السدنی از طریق شکمبه (۳۳)، منجر به کاهش تجمع اسیدلاکتیک در شکمبه و متعاقب آن، افزایش pH شکمبه و افزایش ۲۴ درصدی در قابلیت‌هضم ماده خشک نسبت به تیمار شاهد شد که موافق نتایج به دست آمده در آزمایش حاضر بود. در آزمایش حاضر جیره‌های دریافت‌کننده‌ی باکتری مگاسفرا/السدنی به تنهایی یا همراه با بافرها (بتنونیت سدیم، بیکربنات‌سدیم، اکسید منیزیم، سدیم سسکوئی کربنات) نسبت به تیمار شاهد، افزایش معنی‌دار قابلیت‌هضم ماده‌ی خشک را نشان دادند ( $p < 0.05$ ).

خنثی در تیمارهای حاوی بافر-باکتری نسبت به شاهد به صورت عددی و غیرمعنی‌داری بهبود یافت.

در پژوهشی (۱۶) با بره‌ها، در جیره‌ی حاوی ۱ درصد بیکربنات سدیم + ۱/۳ درصد سنگ آهک، قابلیت‌هضم ظاهری الیاف نامحلول در شوینده خنثی و پروتئین خام افزایش یافت. با افزودن بافرهای قلیایی به جیره‌ی پرکنسانتره (۳۵ درصد علوفه و ۶۵ درصد کنسانتره)، قابلیت‌هضم ظاهری مواد مغذی جیره‌ی حاوی بافر بیکربنات‌سدیم (جیره‌ی پایه + ۱۰ گرم بیکربنات‌سدیم) و جیره‌ی پایه + ۱۰ گرم بیکربنات سدیم + کربنات‌پتاسیم در مقایسه با شاهد تفاوت معنی‌داری نداشتند (۳۴). اما در آزمایش حاضر با افزودن ۱ درصد بیکربنات سدیم + ۳ میلی لیتر باکتری مگاسفرا/السدنی به جیره‌های آزمایشی قابلیت‌هضم ماده‌خشک به‌طور معنی‌داری نسبت به شاهد بهبود یافت. طی پژوهشی با استفاده از بیکربنات‌سدیم در تیمارهای آزمایشی گزارش کردند که قابلیت‌هضم دانه‌ی جو در جیره‌های حاوی بیکربنات‌سدیم نسبت به شاهد بیشتر بود (۶). مشخص شده که قابلیت‌هضم بیشتر ماده‌خشک به وسیله اکسیدمنیزیم مربوط به بهتر شدن هضم الیاف نامحلول در شوینده خنثی و نشاسته است (۳۰). طی انجام پژوهشی با گاوهای فیستوله گذاری شده‌ی تغذیه شده با جیره‌ی حاوی ۶۰ درصد کنسانتره و ۴۰ درصد علوفه (۱۳)، افزودن ۵ درصد اکسیدمنیزیم به جیره پایه سبب افزایش قابلیت‌هضم ماده‌ی خشک شد. اکسیدمنیزیم به

جدول ۲- درصد قابلیت‌هضم آزمایشگاهی جیره پایه و جیره‌های حاوی افزودنی بافیری شیمیایی و یا باکتری مگاسفرا/السدنی

Table 2. The *in vitro* digestibility (%) of the basic diet and diets containing chemical buffer or *Megasphaera elsdenii* bacteria

شماره تیمار	تیمارهای آزمایشی <sup>۱</sup> (جیره پایه + افزودنی)	ماده خشک	الیاف نامحلول در شوینده خنثی	الیاف نامحلول در شوینده اسیدی
۱	جیره پایه (شاهد)	۶۲/۱۴ <sup>c</sup>	۵۸/۴۰	۳۷/۳۷
۲	باکتری	۶۹/۸۰ <sup>cd</sup>	۵۸/۵۷	۳۸/۵۴
۳	بتنونیت سدیم	۶۷/۸۰ <sup>cde</sup>	۵۷/۹۹	۳۸/۸۴
۴	بتنونیت سدیم + باکتری	۷۰/۵۱ <sup>bcd</sup>	۶۰/۵۵	۳۸/۴۱
۵	بیکربنات سدیم	۶۵/۶۸ <sup>de</sup>	۶۰/۶۷	۴۰/۲۷
۶	بیکربنات سدیم + باکتری	۷۷/۹۱ <sup>a</sup>	۶۴/۵۱	۴۴/۵۸
۷	اکسید منیزیم	۶۷/۶۴ <sup>cde</sup>	۵۹/۳۹	۳۷/۹۴
۸	اکسید منیزیم + باکتری	۷۶/۲۶ <sup>abc</sup>	۶۴/۲۹	۴۰/۲۷
۹	زئولیت	۶۴/۹۵ <sup>de</sup>	۶۴/۳۸	۳۶/۰۷
۱۰	زئولیت + باکتری	۶۸/۷۰ <sup>cde</sup>	۶۵/۵۷	۳۶/۴۱
۱۱	سدیم سسکوئی کربنات	۶۴/۶۷ <sup>de</sup>	۵۵/۱۸	۳۹/۶۴
۱۲	سدیم سسکوئی کربنات + باکتری	۷۳/۸۰ <sup>abc</sup>	۶۵/۰۰	۴۰/۹۷
SEM		۳/۳۱	۲/۴۱	۳/۸۹
p value		۰/۱۰۸	۰/۲۵۲۶	۰/۷۲۲۵

۱- جیره پایه شامل نسبت ۷۰ درصد کنسانتره و ۳۰ درصد علوفه بود، مقدار هر کدام از بافرهای شیمیایی یک درصد جیره بود، مقدار باکتری (مگاسفرا/السدنی) ۳ میلی لیتر به ازای هر دام در روز بود و جمعیت باکتری‌ها در هر میلی لیتر محلول معادل با  $10^8 \times 1/5$  cfu/ml بود. p value: SEM، خطای استاندارد میانگین‌ها، در هر ستون اعداد دارای حروف غیر مشابه از نظر آماری اختلاف معنی‌داری دارند ( $p < 0.05$ ).

### قابلیت هضم و تخمیر در محیط کشت اختصاصی قارچ‌های بی‌هوازی شکمبه

نتایج هضم‌پذیری ماده‌خشک، الیاف نامحلول در شوینده خنثی و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی توسط قارچ‌های بی‌هوازی شکمبه در جدول ۳ نشان داده شده است. اثر تیمارهای آزمایشی بر قابلیت‌هضم ماده‌خشک، الیاف نامحلول در شوینده خنثی و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی معنی‌دار شد ( $p < 0.05$ ). افزودن باکتری مگاسفرا/السدنی، بتنونیت سدیم، اکسید منیزیم، سدیم سسکوئی کربنات به تنهایی،

نسبت به شاهد باعث افزایش عددی قابلیت‌هضم ماده‌ی خشک شدند؛ اما افزودن باکتری به همه‌ی این ترکیبات قلیایی‌کننده یا بافیری بجز سدیم سسکوئی کربنات، باعث افزایش معنی‌دار قابلیت‌هضم ماده خشک شد. قابلیت‌هضم الیاف نامحلول در شوینده خنثی در همه‌ی تیمارهای آزمایشی به‌طور معنی‌داری بیشتر از شاهد شد و بیشترین قابلیت‌هضم مربوط به تیمار حاوی بتنونیت سدیم + باکتری بود، اگرچه تفاوتی با سایر تیمارهای حاوی افزودنی بافیری نداشت. در مقایسه با تیمار شاهد قابلیت‌هضم الیاف نامحلول در شوینده

شده است. از طرفی، شاید دلیل بهبود فعالیت قارچ‌ها با افزودن بنتونیت سدیم (تیمارهای ۳ و ۴)، اثر آن‌ها در حذف پروتوزوآها از شکمبه باشد، زیرا، بیان شده که افزایش سطوح بنتونیت سدیم می‌تواند به‌عنوان یک افزودنی ضد پروتوزوایی در کاهش جمعیت پروتوزوآها در گوسفند مفید باشد (۱۷)؛ بنتونیت به‌دلیل لایه‌های چندوجهی و بار الکتریکی در سطح آن با تداخل در حرکت پروتوزوای مؤکدار، فعالیت آن را کاهش داده و این عمل سبب کاهش بلعیده شدن سایر میکروارگانیسم‌ها توسط پروتوزوآها شده و امکان باقی ماندن جمعیت باکتریایی و قارچی بیشتری را در مایع شکمبه فراهم می‌کند (۱۷).

اسیدی نیز در شش تیمار از ۱۱ تیمار (بنتونیت سدیم، بنتونیت سدیم + باکتری، بیکربنات سدیم، بیکربنات سدیم + باکتری، زئولیت، زئولیت + باکتری) به‌طور معنی‌داری بیشتر بود ( $p < 0.05$ ). جمعیت پروتوزوآها، قارچ‌ها و باکتری‌های شکمبه با افزودن بافرهای قلیا کننده افزایش یافت که علت احتمالی آن حفظ pH در دامنه‌ی مناسب ذکر شده است که در آزمایش حاضر نیز این بهبود pH مشاهده شد (جدول ۵ و ۶)؛ به‌طوریکه در آزمایش حاضر افزودن این ترکیبات بافری یا قلیا کننده به جیره‌های پرکنسانتره‌ی با حفظ pH در دامنه‌ی مناسب باعث افزایش فعالیت قارچ‌ها شده است، از طرفی افزودن هم‌زمان بافر شیمیایی + باکتری (مگاسفرا/السدنی) نیز باعث تقویت بیشتر اثر محافظتی در برابر اسیدوز شکمبه

جدول ۳- اثر تیمارهای آزمایشی بر قابلیت هضم (درصد) جیره‌های آزمایشی توسط قارچ‌های بی‌هوازی جداسازی شده از شکمبه بره‌های پرواری

Table 3. The effect of experimental treatments on the digestibility (%) of experimental diets by anaerobic fungi isolated from the rumen of fattening lambs

شماره تیمار	تیمارهای آزمایشی (جیره پایه + افزودنی)	ماده خشک	الیاف نامحلول در شوینده خنثی	الیاف نامحلول در شوینده اسیدی
۱	جیره پایه (شاهد)	۵۳/۷۳ <sup>c</sup>	۵۰/۳۴ <sup>c</sup>	۲۸/۹۷ <sup>b</sup>
۲	باکتری	۵۶/۲۳ <sup>abc</sup>	۵۳/۶۱ <sup>ab</sup>	۲۹/۱۵ <sup>b</sup>
۳	بنتونیت سدیم	۵۳/۴۸ <sup>abc</sup>	۵۳/۶۶ <sup>ab</sup>	۳۴/۶ <sup>a</sup>
۴	بنتونیت سدیم + باکتری	۵۹/۲۵ <sup>a</sup>	۵۶/۹۱ <sup>a</sup>	۳۷/۲۳ <sup>a</sup>
۵	بیکربنات سدیم	۵۹/۲۶ <sup>a</sup>	۵۶/۵۷ <sup>ab</sup>	۳۷/۸۱ <sup>a</sup>
۶	بیکربنات سدیم + باکتری	۵۹/۵۶ <sup>a</sup>	۵۶/۲۹ <sup>a</sup>	۳۷/۰۰ <sup>a</sup>
۷	اکسید منیزیم	۵۵/۴۴ <sup>abc</sup>	۵۱/۶۶ <sup>ab</sup>	۲۸/۷۴ <sup>ab</sup>
۸	اکسید منیزیم + باکتری	۵۵/۵۶ <sup>ab</sup>	۵۱/۸۰ <sup>ab</sup>	۲۹/۵۶ <sup>b</sup>
۹	زئولیت	۵۷/۷۳ <sup>ab</sup>	۵۴/۱۴ <sup>ab</sup>	۳۵/۱۵ <sup>a</sup>
۱۰	زئولیت + باکتری	۵۷/۹۵ <sup>ab</sup>	۵۴/۳۴ <sup>ab</sup>	۳۵/۷۵ <sup>a</sup>
۱۱	سدیم سسکوئی کربنات	۵۵/۷۷ <sup>bc</sup>	۵۱/۶۵ <sup>ab</sup>	۳۰/۳۸ <sup>b</sup>
۱۲	سدیم سسکوئی کربنات + باکتری	۵۶/۹۷ <sup>abc</sup>	۵۱/۵۸ <sup>ab</sup>	۳۱/۰۶ <sup>b</sup>
	SEM	۱/۶۹	۲/۲۸	۱/۷۵
	p value	۰/۰۳۰۳	۰/۰۳۸۳	۰/۰۰۲۴

۱- جیره پایه شامل نسبت ۷۰ درصد کنسانتره و ۳۰ درصد علوفه بود، مقدار هر کدام از بافرهای شیمیایی یک درصد جیره بود، مقدار باکتری (مگاسفرا/السدنی) ۳ میلی‌لیتر به ازای هر دام در روز بود و جمعیت باکتری‌ها در هر میلی‌لیتر محلول معادل با  $10^4 \times 1/5$  بود.  
 SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها، در هر ستون اعداد دارای حروف غیر مشابه از نظر آماری اختلاف معنی‌داری دارند ( $p < 0.05$ ).  
 ارزش p: ارزش SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها، در هر ستون اعداد دارای حروف غیر مشابه از نظر آماری اختلاف معنی‌داری دارند ( $p < 0.05$ ).

### قابلیت هضم و تخمیر در محیط کشت باکتری‌های بی‌هوازی شکمبه

نتایج هضم‌پذیری ماده خشک، الیاف نامحلول در شوینده خنثی و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی توسط باکتری‌های شکمبه به‌طور معنی‌داری تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفتند و در جدول ۴ نشان داده شده است. افزودن باکتری به‌تنهایی (جیره پایه + باکتری) یا همراه با برخی از بافرهای شیمیایی شامل بنتونیت سدیم، بیکربنات سدیم و زئولیت، باعث افزایش معنی‌دار قابلیت هضم ماده‌ی خشک و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی نسبت به تیمار شاهد شد. تیمار بیکربنات سدیم نیز باعث افزایش معنی‌دار قابلیت هضم ماده خشک شد. افزایش قابلیت هضم ماده‌ی خشک و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی در سایر تیمارها غیرمعنی‌داری بود. تیمار ۴ (بنتونیت سدیم + باکتری مگاسفرا/السدنی) بالاترین قابلیت هضم ماده خشک را نشان داد. قابلیت هضم الیاف نامحلول در شوینده خنثی در تیمار حاوی باکتری به‌تنهایی

(جیره پایه + باکتری)، بنتونیت سدیم + باکتری و زئولیت + باکتری به‌طور معنی‌داری بیشتر از تیمار شاهد بود. بالاترین قابلیت هضم ماده خشک، الیاف نامحلول در شوینده خنثی و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی مربوط به تیمار بنتونیت سدیم + باکتری مگاسفرا/السدنی بود.  
 با آزمایش روی گاوهای شیری مشاهده شد که افزودن بافرهای کلینوپتیلویت یا زئولیت (مشابه آزمایش حاضر) و بیکربنات سدیم (مغایر با نتایج آزمایش حاضر) تاثیر معنی‌داری بر بهبود قابلیت هضم ماده خشک نداشت (۱۲). مطابق نتایج آزمایش حاضر، استفاده از بنتونیت سدیم در جیره موجب افزایش قابلیت هضم ماده خشک توسط باکتری‌های شکمبه شد (۱۵). طی پژوهشی (۲۱) با استفاده از سطوح ۲ و ۴ درصد بنتونیت سدیم در جیره‌ی پر کنسانتره، استفاده از ۴ درصد بنتونیت سدیم سبب رشد جمعیت میکروبی شکمبه و افزایش ناپدید شدن ماده خشک و الیاف نامحلول در شوینده خنثی در محیط کشت نسبت به شاهد شد.

جدول ۴- اثر تیمارهای آزمایشی بر درصد قابلیت هضم جیره‌های آزمایشی توسط باکتری‌های شکمبه بره‌های پرواری  
Table 4. The effect of experimental treatments on the digestibility (%) of experimental diets by rumen bacteria of fattening lambs

شماره تیمار	تیمارهای آزمایشی (جیره پایه + افزودنی)	ماده خشک	الیاف نامحلول در شوینده خنثی	الیاف نامحلول در شوینده اسیدی
۱	جیره پایه (شاهد)	۵۵/۰۳ <sup>c</sup>	۵۰/۰۶ <sup>b</sup>	۳۹/۸۳ <sup>c</sup>
۲	باکتری	۶۱/۸۱ <sup>ab</sup>	۵۸/۶۱ <sup>a</sup>	۳۳/۱۳ <sup>ab</sup>
۳	بنتونیت سدیم	۵۵/۳۵ <sup>c</sup>	۵۱/۷۵ <sup>d</sup>	۳۰/۳۴ <sup>bc</sup>
۴	بنتونیت سدیم + باکتری	۶۴/۲۴ <sup>a</sup>	۵۹/۵۶ <sup>a</sup>	۳۴/۸۹ <sup>a</sup>
۵	بیکربنات سدیم	۵۹/۱۰ <sup>d</sup>	۵۳/۲۵ <sup>d</sup>	۳۲/۳۰ <sup>abc</sup>
۶	بیکربنات سدیم + باکتری	۶۲/۵۱ <sup>ab</sup>	۵۱/۸۱ <sup>d</sup>	۳۳/۹۳ <sup>a</sup>
۷	اکسید منیزیم	۵۶/۵۱ <sup>bc</sup>	۵۰/۱۹ <sup>d</sup>	۳۰/۶۸ <sup>bc</sup>
۸	اکسید منیزیم + باکتری	۵۶/۳۵ <sup>bc</sup>	۵۲/۷۴ <sup>d</sup>	۳۰/۵۷ <sup>bc</sup>
۹	زئولیت	۵۵/۶۴ <sup>c</sup>	۵۰/۱۹ <sup>d</sup>	۳۰/۱۱ <sup>bc</sup>
۱۰	زئولیت + باکتری	۶۱/۷۹ <sup>ab</sup>	۵۹/۰۸ <sup>a</sup>	۳۳/۴ <sup>ab</sup>
۱۱	سدیم سسکوئی کربنات	۵۶/۱۰ <sup>bc</sup>	۵۰/۹۹ <sup>d</sup>	۳۰/۶۹ <sup>bc</sup>
۱۲	سدیم سسکوئی کربنات + باکتری	۵۶/۹۷ <sup>bc</sup>	۵۲/۸۵ <sup>d</sup>	۳۰/۸۰ <sup>bc</sup>
	SEM	۱/۲۲	۱/۲۷	۱/۴۸
	p value	۰/۰۲۵۷	۰/۰۰۰۶	۰/۰۳۳۲

۱- جیره پایه شامل نسبت ۷۰ درصد کنسانتره و ۳۰ درصد علوفه بود، مقدار هرکدام از بافرهای شیمیایی یک درصد جیره بود، مقدار باکتری (مگاسفرا/السدنی) ۳ میلی‌لیتر به ازای هر دام در روز بود و جمعیت باکتری‌ها در هر میلی‌لیتر محلول معادل با  $10^8 \times 1/5$  cfu/ml بود.  
SEM، خطای استاندارد میانگین‌ها، در هر ستون اعداد دارای حروف غیر مشابه از نظر آماری اختلاف معنی‌داری دارند ( $p < 0.05$ ).

### فراسنجه‌های تخمیری محیط کشت قارچ‌های بی‌هوازی شکمبه

اثر تیمارهای آزمایشی شامل بافرهای قلیایی و باکتری مگاسفرا/السدنی بر غلظت نیترژن آمونیاکی و pH محیط کشت قارچ‌های بی‌هوازی شکمبه معنی‌دار ( $p < 0.05$ ) بود (جدول ۵). افزودن باکتری به تنهایی یا همراه با بافرهای شیمیایی در مقایسه با تیمار شاهد، در همه‌ی تیمارهای آزمایشی باعث افزایش pH و کاهش غلظت نیترژن آمونیاکی شد ( $p < 0.05$ ). استفاده‌ی هم‌زمان از باکتری و بافر شیمیایی در مقایسه با بافر شیمیایی به تنهایی، باعث افزایش بیشتر pH و کاهش بیشتر غلظت نیترژن آمونیاکی در محیط کشت اختصاصی قارچ‌های شکمبه شد که نشان از هم‌افزایی اثر باکتری مصرف‌کننده‌ی اسید با بافرها است. اختلاف pH

محیط کشت قارچ‌های بی‌هوازی شکمبه در همه‌ی تیمارها غیر از تیمار ۳ (بنتونیت‌سدیم) نسبت به شاهد معنی‌دار شد ( $p < 0.05$ ). بیشترین غلظت نیترژن آمونیاکی در تیمار شاهد و کم‌ترین آن مربوط به تیمار ۶ (بیکربنات‌سدیم + باکتری مگاسفرا/السدنی) بود که تیمار ۶ غیر از تیمار ۱۰ (زئولیت + باکتری مگاسفرا/السدنی)، از سایر تیمارها کم‌تر بود ( $p < 0.05$ ). بیشترین pH مربوط به تیمار حاوی بیکربنات سدیم + باکتری مگاسفرا/السدنی بود که فقط با تیمار بنتونیت‌سدیم + باکتری مگاسفرا/السدنی و زئولیت + باکتری مگاسفرا/السدنی اختلاف معنی‌داری نداشت، اما نسبت به سایر تیمارها به‌طور معنی‌داری بیشتر بود. کم‌ترین pH متعلق به تیمار شاهد بود.

جدول ۵- اثر تیمارهای آزمایشی بر فراسنجه‌های تخمیری محیط کشت قارچ‌های بی‌هوازی شکمبه  
Table 5. The effect of experimental treatments on the fermentation parameters of rumen anaerobic fungi culture medium

شماره تیمار	تیمارهای آزمایشی (جیره پایه + افزودنی)	pH	غلظت نیترژن آمونیاکی (میلی‌گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر)
۱	جیره پایه (شاهد)	۶/۰۸ <sup>d</sup>	۲۰/۹۱ <sup>d</sup>
۲	باکتری	۶/۶۲ <sup>a</sup>	۱۶/۳۱ <sup>bcd</sup>
۳	بنتونیت سدیم	۶/۴۱ <sup>c</sup>	۱۴/۴۰ <sup>de</sup>
۴	بنتونیت سدیم + باکتری	۶/۷۰ <sup>a</sup>	۱۳/۷۷ <sup>e</sup>
۵	بیکربنات سدیم	۶/۴۴ <sup>cd</sup>	۱۱/۹۸ <sup>et</sup>
۶	بیکربنات سدیم + باکتری	۶/۷۳ <sup>a</sup>	۹/۲۹ <sup>g</sup>
۷	اکسید منیزیم	۶/۵۰ <sup>b</sup>	۱۷/۵۰ <sup>cd</sup>
۸	اکسید منیزیم + باکتری	۶/۵۴ <sup>d</sup>	۱۵/۵۶ <sup>cde</sup>
۹	زئولیت	۶/۴۱ <sup>cd</sup>	۱۶/۷۴ <sup>bcd</sup>
۱۰	زئولیت + باکتری	۶/۵۷ <sup>ab</sup>	۱۰/۶۷ <sup>fg</sup>
۱۱	سدیم سسکوئی کربنات	۶/۲۹ <sup>c</sup>	۱۸/۰۵ <sup>d</sup>
۱۲	سدیم سسکوئی کربنات + باکتری	۶/۵۰ <sup>b</sup>	۱۳/۲۵ <sup>e</sup>
	SEM	۰/۰۸۰	۱/۲۳۶
	p value	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۱۳

۱- جیره پایه شامل نسبت ۷۰ درصد کنسانتره و ۳۰ درصد علوفه بود، مقدار هرکدام از بافرهای شیمیایی یک درصد جیره بود، مقدار باکتری (مگاسفرا/السدنی) ۳ میلی‌لیتر به ازای هر دام در روز بود و جمعیت باکتری‌ها در هر میلی‌لیتر محلول معادل با  $10^8 \times 1/5$  cfu/ml بود.  
SEM، خطای استاندارد میانگین‌ها، در هر ستون اعداد دارای حروف غیر مشابه از نظر آماری اختلاف معنی‌داری دارند ( $p < 0.05$ ).

### فراسنجه‌های تخمیری محیط کشت باکتری‌های بی‌هوازی شکمبه

نتایج جدول ۶ نشان داد که pH و غلظت نیتروژن آمونیاکی محیط کشت اختصاصی باکتری‌های شکمبه به‌طور معنی‌داری تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت. افزودن باکتری به تنهایی یا همراه با بافر در همه‌ی تیمارها باعث افزایش

معنی‌دار pH شد ( $p < 0.05$ ). بیشترین pH مربوط به تیمار ۲ (جیره‌ی پایه + باکتری) بود. غلظت نیتروژن آمونیاکی در همه‌ی تیمارها بجز تیمارهای ۷، ۸ و ۱۱ به‌طور معنی‌داری کمتر از شاهد بودند؛ در این سه تیمار غلظت نیتروژن آمونیاکی به‌طور عددی کمتر از شاهد بودند.

جدول ۶- اثر تیمارهای آزمایشی بر فراسنجه‌های تخمیر محیط کشت باکتری‌های شکمبه

شماره تیمار	تیمارهای آزمایشی (جیره پایه + افزودنی)	pH	غلظت نیتروژن آمونیاکی (میلی‌گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر)
۱	جیره‌پایه (شاهد)	۶/۰۶ <sup>c</sup>	۲۶/۶۳ <sup>cd</sup>
۲	باکتری	۶/۷۰ <sup>a</sup>	۱۶/۸۳ <sup>d</sup>
۳	بنتونیت سدیم	۶/۴۲ <sup>b</sup>	۱۶/۵۷ <sup>d</sup>
۴	بنتونیت سدیم + باکتری	۶/۶۵ <sup>a</sup>	۱۶/۳۱ <sup>d</sup>
۵	بیکربنات سدیم	۶/۳۰ <sup>b</sup>	۱۸/۰۹ <sup>cd</sup>
۶	بیکربنات سدیم + باکتری	۶/۶۰ <sup>a</sup>	۱۶/۶۱ <sup>d</sup>
۷	اکسید منیزیم	۶/۲۷ <sup>bc</sup>	۲۵/۴۳ <sup>cd</sup>
۸	اکسید منیزیم + باکتری	۶/۴۵ <sup>b</sup>	۲۳/۸۵ <sup>ab</sup>
۹	زئولیت	۶/۴۵ <sup>ab</sup>	۱۹/۵۶ <sup>bcd</sup>
۱۰	زئولیت + باکتری	۶/۵۰ <sup>ab</sup>	۱۸/۶۵ <sup>cd</sup>
۱۱	سدیم سسکوئی کربنات	۶/۳۵ <sup>b</sup>	۲۳/۶۱ <sup>ab</sup>
۱۲	سدیم سسکوئی کربنات + باکتری	۶/۶۰ <sup>ab</sup>	۱۶/۵۳ <sup>d</sup>
	SEM	۰/۱۲۷	۲/۱۸
	p value	۰/۰۴۱	۰/۰۳۰

۱- جیره پایه شامل نسبت ۷۰ درصد کنسانتره و ۳۰ درصد علوفه بود، مقدار هر کدام از بافرهای شیمیایی یک درصد جیره بود، مقدار باکتری (مگاسفرا السدنی) ۳ میلی‌لیتر به ازای هر دام در روز بود و جمعیت باکتری‌ها در هر میلی‌لیتر محلول معادل  $10^4 \times 1/5$  cfu/ml بود. p value از روش SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها، در هر ستون اعداد دارای حروف غیر مشابه از نظر آماری اختلاف معنی‌داری دارند ( $p < 0.05$ ).

افزایش pH محیط کشت اختصاصی قارچ‌ها و باکتری‌ها، در تیمارهای حاوی افزودنی باکتریایی به تنهایی یا همراه با بافرهای شیمیایی، اثر مفید استفاده از آنها در حفظ pH در حین مصرف جیره‌های کنسانتره‌ای را نشان می‌دهد. طی گزارشی (۱۰) مشخص شد که بافرها از طریق کنترل نرخ رقت شکمبه‌ای و pH، باعث تعادل و افزایش فعالیت گونه‌های میکروبی شده و در آخر باعث در دسترس قرار گرفتن سوبسترا برای هضم تخمیری توسط میکروارگانیسم‌ها خواهند شد. امروزه استفاده از بافرهای خوراکی با هدف تعدیل تاثیر زیان‌بار کاهش pH در جیره‌های با مواد متراکم بالا، رواج پیدا کرده است (۳۱، ۳۲). pH یک متغیر مهم برای نشان دادن وضعیت شکمبه است که باعث تنظیم رابطه بین میکروارگانیسم‌ها با سوبسترای شکمبه می‌شود. مطالعات نشان داده‌اند که جیره حاوی بیکربنات سدیم در شرایط برون تنی، شاخص اسیدزایی پایینی داشته و می‌تواند در مقایسه با سایر بافرها، pH شکمبه‌ای را حفظ کند (۱۱) که منطبق با نتایج آزمایش حاضر است. pH شکمبه در گاوهای شیرده‌ای که بیکربنات سدیم و کلیپتونیت (زئولیت) مصرف کرده بودند بیشتر از شاهد بود (۲۷). در سایر مطالعات نیز افزایش pH شکمبه با افزودن اکسید منیزیم به اثبات رسیده است (۳۸، ۳۹).

تولید آمونیاک در شکمبه در نتیجه‌ی فعالیت باکتری‌های پروتئولیتیک و باکتری‌های تولیدکننده‌ی آمونیاک، بالا می‌باشد (۲۵). به‌طوری که باکتری‌های تولیدکننده‌ی آمونیاک در شکمبه، با وجود پایین بودن جمعیت آنها، فعالیت دامیناسیون بالایی دارند (۴۱). طی انجام پژوهشی (۳۲) مشاهده شده که غلظت نیتروژن آمونیاکی در اثر افزودن ۰/۸

درصد اکسید منیزیم به جیره‌ی گوساله‌های پرواری هلشتاین کاهش و میزان pH آنها نسبت به تیمار شاهد افزایش یافت. در آزمایش حاضر نیز افزودن اکسید منیزیم به جیره‌های آزمایشی نسبت به تیمار شاهد باعث کاهش آمونیاک و افزایش pH شد. باکتری‌های مصرف کننده اسید لاکتیک (مگاسفرا السدنی و سلنوموناس رومیناتیبیوم) به تنهایی یا در ترکیب با هم، اثرات جانبی ناشی از استفاده از کربوهیدرات‌هایی با قابلیت تخمیر بالا را از طریق ممانعت از انباشته شدن و تجمع اسید لاکتیک، کاهش می‌دهند (۲۸). در آزمایش حاضر نیز در تیمارهای آزمایشی حاوی باکتری مگاسفرا السدنی به تنهایی یا همراه با بافرهای شیمیایی، این افزایش pH نسبت به تیمار شاهد مشاهده شد.

### نتیجه‌گیری کلی

طبق نتایج آزمایش حاضر، استفاده از بافر شیمیایی باعث بهبود شرایط هضم و تخمیر جیره‌های پر کنسانتره بره‌های پرواری شد و در بسیاری از موارد اثر باکتری مصرف کننده اسید با بافرهای شیمیایی قابل رقابت بود. از طرفی، استفاده‌ی توأم باکتری و بافر نیز اثرات هم‌افزایی داشتند و نتایج بهتری را نشان دادند. نتایج حاصل نشان داد که بافرهای ارزان قیمتی نظیر بنتونیت سدیم، زئولیت با بافرهای گران قیمتی نظیر بیکربنات سدیم و سدیم سسکوئی کربنات قابل رقابت بود. در کل، توصیه می‌شود پس از تایید نتایج با آزمایش‌های دامی، از ترکیبات بافری شیمیایی و بیولوژیکی آزمایش حاضر، در جیره‌ی دام‌های پرواری و یا سایر دام‌های تولیدی استفاده شود.

## منابع

1. Aghashahi, A.R., A. Nikkhah, S.A. Mirhadi and M. Moradi Shahre Babak. 2005. Effects of natural bentonite (Montmorillonite), processed bentonite and clinopetillolite-rich tuff on the fermentation parameters, rumen microbial population and feedlot performance in male calves. Iranian Journal of Agricultural Sciences, 36(3): 613-623 (In Persian).
2. Aikman, P.C., P.H. Henning, D.J. Humphries and C.H. Horn. 2011. Rumen pH and fermentation characteristics in dairy cows supplemented with *Megasphaera elsdenii* NCIMB 41125 in early lactation. Journal of Dairy Science, 94: 2840-2849.
3. AOAC International. 2012. Official Methods of Analysis. 19<sup>th</sup> ed. AOAC International, Gaithersburg, MD.
4. Askar, A.R., J.A. Guada, J.M. Gonzalez, A. de Vega and C. Castrillo. 2011. Effects of sodium bicarbonate on diet selection and rumen digestion by growing lambs individually fed whole barley grain and a protein supplement at their choice. Animal Feed Science and Technology, 164(1): 45-52.
5. Bach, A., S. Calsamiglia and M.D. Stern. 2004. Nitrogen metabolism in the rumen. Journal of Dairy Science, 88: E9-E21.
6. Bodas, R., A.B. Rodríguez, S. López and B. Fernández. 2007. Mantecon AR, Giráldez FJ. Effects of the inclusion of sodium bicarbonate and sugar beet pulp in the concentrate for fattening lambs on acid-base status and meat characteristics. Meat Science, 77(4): 696-702.
7. Broderick, G.A. and J.H. Kang. 1980. Automated simultaneous determination of ammonia and total amino acids in ruminal fluid and *in vitro* media. Journal of Dairy Science, 63: 64-75.
8. Calsamiglia, S., M. Blanch, A. Ferret and D. Moya. 2012. Is subacute ruminal acidosis a pH related problem? Causes and tools for its control. Animal Feed Science and Technology, 172: 42-50.
9. Castillo, C., J. Hernandez, V. Pereira and J.L. Bedito. 2012. Update about nutritional strategies in feedlot for preventing ruminal acidosis". Advances in Zoology Research, 4: 1-84.
10. Chalupa, W.B., D.S. Hausman, R.D. Kronfeld, M.C. Carthy and D.W. Roke. 1984. Responses of lactating cows to exogenous growth hormone and dietary sodium bicarbonate. I. production. Journal of Dairy Science, 67(1): 107.
11. Danesh Mesgaran, M., J. Amini and M. Paktinat. 2013. *In vitro* usage of various non-organic compounds to subdue acidogenic value and enhance the fermentation of alfalfa hay-based diets by mixed rumen microbiota. Journal of Livestock Production, 4(10): 165-170.
12. Dschaak, C.M., J.S. Eun, A.J. Young, R.D. Stott and S. Peterson. 2010. Effects of supplementation of natural zeolite on intake, digestion, ruminal fermentation, and lactational performance of dairy cows. The Professional Animal Scientist, 26: 647-654.
13. Feizdar barabady, Y., S.E. Ghiasi and M.B. Montazer Torbati. 2020. Effect of dairy cow dietary cation source and DCAD on *in vitro* rumen fermentation parameters, Iranian Journal of Animal Science Research, 12(2): 181-195 (In Persian).
14. Forouzani, R., E. Rowghani and M.J. Zamiri. 2004. The effect of zeolite on digestibility and feedlot performance of Mehraban male lambs given a diet containing urea-treated maize silage. Animal Science, 78: 179-184.
15. Galindo, J., A. Elias, J.B. Michelena and N. Morffi. 1990. The effect of zeolite on various physiological groups of ruminal bacteria of cows consuming silage under controlled grazing conditions. Cuban Journal of Agricultural Science, 24: 177-182.
16. Gastaldello, J.r., A.L. Pires, A.V. Susin, I. Mendes, C.Q. Queiroz, M.A.A. Amaral, R.C. Gentil, R.S. Ferreira, E.M. Mourao and M.L. Eastridge. 2013. Limestone with different particle size and sodium bicarbonate to feedlot lambs fed high grain diets with or without monensin. Small Ruminant Research, 114: 80-85.
17. Heijnen, C.E., C.H. Hok-A-Hin and J.A. VanVeen. 1991. Protection of rhizobium by bentonite clay against predation by flagellates in liquid cultures. FEMS Microbiology Ecology, 85: 65-72.
18. Hills, J.L., W.J. Wales, F.R. Dunshea, S.C. Garcia and J.R. Roche. 2015. Invited review: An evaluation of the likely effects of individualized feeding of concentrate supple. Journal of Dairy Science, 98(3): 1363-1401.
19. Kaplan, O., S. Deniz, M.A. Karsli, H. Nursoy and M. Avci. 2010. Effects of sodium bicarbonate, magnesium oxide and dried sugar beet pulp in diets of dairy cows on milk yield, milk composition and rumen fluid and some blood parameters. Journal of Animal and Veterinary Advances, 9(11): 1570-1574.
20. Kazemi, M. and M. Vatandoost. 2019. The effect of different levels of magnesium oxide with high purity on digestion-fermentation characteristics and methane emissions of a high-concentrate diet in the *in vitro* batch culture. Journal of Animal Environment, 11(3): 51-62 (In Persian).
21. Khalifeh, M.J., T. Mohammadabadi, M. Chaji, S. Salari and K. Mirzadeh. 2013. Effect of different levels of G-bind (activated sodium bentonite) on rumen bacteria activity and protozoa population in Arabi sheep. Journal of Ruminant Research, 1(2): 41-55 (In Persian).

- ۱۰۸ ..... اثرات استفاده از باکتری‌های مصرف کننده اسید و بافرهای مختلف با جیره‌های پرکنسانتره
22. Marden, J.P., C. Julien, V. Monteils, E. Auclair, R. Moncoulon and C. Bayourthe. 2008. How does live yeast differ from sodium bicarbonate to stabilize ruminal pH in high-yielding dairy cows? *Journal of Dairy Science*, 91: 3528-3535.
  23. McDaniel, M.R. 2009. The effects of dosing feedlot cattle with *Megasphaera elsdenii* strain NCIMB 41125 prior to the introduction of a grain-rich diet. Ph.D. Thesis, Kansas State University, USA. 141 pp.
  24. McDaniel, M.R., J.M. Heidenreich, J.J. Higgins and J.S. Drouillard. 2009. Effects of *Megasphaera elsdenii* on ruminal pH, ruminal concentrations of organic acids and bacterial genomes following a grain challenge. *Kansas Agricultural Experiment Station Research Reports*, 0(1): 62-65. <https://doi.org/10.4148/2378-5977.1492>.
  25. McIntosh, F.M., P. Williams, R. Losa, R.J. Wallace, D.A. Beever and C.J. Newbold. 2003. Effects of essential oils on ruminal microorganisms and their protein metabolism. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(8): 5011-5014.
  26. Mohammadabadi, T., M.A. Bakhtiari and P. Alimirzaei. 2018. Isolation and identification of Lactate-Producing and utilizing bacteria from the rumen of najdi goats. *Indian Journal of Small Ruminant*, 24(2): 276-280.
  27. Nikkha, A., M. Dehghan Bonadaki and A. Zali. 2004. Effects of feeding yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) on productive performance of lactating Holstein dairy cow. *Iranian Journal Agricultural Sciences*, 35(1) (In Persian).
  28. Nocek, J.E., W.P. Kautz, J.A.Z. Leedle and J.G. Allman. 2002. Ruminal supplementation of direct-fed microbials on diurnal pH variation and in situ digestion in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 85(2): 429-433.
  29. Orpin, C.G. 1977. On the induction of zoosporogenesis in the rumen phycomycetes *Neocallimastix frontalis*, *Piromonas communis* and *Sphaeromonas cimmunis*. *Journal of General Microbiology*, 101(2):181-9.
  30. Peirce, S.B., L.D. Muller and H.W. Harpster. 1983. Influence of sodium bicarbonate and magnesium oxide on digestion and metabolism in yearling beef steers abruptly changed from high forage to high energy diets. *Journal of Animal Science*, 57: 1561-1567.
  31. Plaizer, J., E. Khafipours, S. Li, G. Gozho and D. Krause. 2012. Subacute ruminal acidosis (SARA) endotoxin and health consequences. *Animal Feed Science and Technology*, 171: 9-21.
  32. Rauch, R.E., P.H. Robinson and L.J. Erasmus. 2012. Effect of sodium bicarbonate and calcium magnesium carbonate supplementation on milk production of high producing Holstein cow. *Animal Feed Science and Technology*, 177(3-4): 180-193.
  33. Robinson, J.A., W.J. Smolenski, R.C. Greening, M.L. Ogilvie, R.L. Bell, K. Barsuhn and J.P. Peters. 1992. Prevention of acute acidosis and enhancement of feed intake in the bovine by *Megasphaera elsdenii* 407A. *Journal of Animal Science*, 70 (Suppl. 1): 310 (Abstr).
  34. Samiee Paghaleh, M. 2016. Effects of feeding yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) on productive performance of lactating Holstein dairy cow. M.Sc. Thesis, University of Tehran, Karaj, Iran, 141 pp (In Persian).
  35. Sarel, R.S. and A.J. Shearer. 2008. Manual for treatment and control of lameness in cattle. Black Well publication, Iowa, USA, 216 pp.
  36. Seo, J.K., S.W. Kim, M.H. Kim, S.D. Upadhaya, D.K. Kam and J.K. Ha. 2010. Direct-fed microbials for ruminant animals. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 12: 1657-1667.
  37. Sharma, H., R.P. Pal, S.H. Mir, V. Mani and L. Ojha. 2018. Effect of feeding buffer on feed intake, milk production and rumen fermentation pattern in lactating animals: A review. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 6(4): 916-922.
  38. Tebbe, A.W., D.J. Wyatt and W.P. Weiss. 2018. Effects of magnesium source and monensin on nutrient digestibility and mineral balance in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 101(2): 1152-1163.
  39. Thieszen, J., C.L. Van Bibber, J.E. Axman and J.S. Drouillard. 2015. Lactipro (*Megasphaera elsdenii*) increases ruminal pH and alters volatile fatty acids and lactate during transition to an 80% concentrate diet. *Kansas Agricultural Experiment Station Research Reports*, 1(1): 1-5.
  40. Tilley, J.M.A. and R.A. Terry. 1963. A two stage technique for the in digestion of forage crops. *Journal of the British Grassland Society*, 18: 104-111.
  41. Ungerfeld, E.M. 2020. Metabolic hydrogen flows in rumen fermentation: principles and possibilities of interventions. *Frontiers in Microbiology*, 11: 589
  42. Vaghar Seyedi, S.M., M. Mojtahedi, S.A. Ghiasi and M.H. Fathi Nasri. 2018. Buffering capacity of some native alkalizer and buffer compounds and their effect on *in vitro* gas production and digestibility. *Iranian Journal of Animal Science*, 11: 4 (In Persian).
  43. Van Soest, P.J., J.B. Rabertson and B.A. Lewis. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Nutritional ecology of the ruminant. Journal of Dairy Science*, 74(10): 3583-3597.

## The Effects of using Acid-Consuming Bacteria and Different Buffers with High Concentration Diets on *In Vitro* Digestion and Fermentation Activity of Anaerobic Bacteria and Fungi of Fattening Lambs Rumen

Fereshteh Vafaei<sup>1</sup> and Morteza Chaji<sup>2</sup>

1- Graduated M.Sc. Student in animal nutrition, Department of Animal Science, Faculty of Animal Science and Food Industry, Khuzestan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Mulathani, Ahvaz, Iran

2- Professor, Department of Animal Science, Faculty of Animal Science and Food Industry, Khuzestan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Mulathani, Ahvaz, Iran,

(Corresponding author: chaji@asnrukh.ac.ir)

Received: 19 July, 2022 Accepted: 24 August, 2022

### Extended Abstract

**Introduction and Objective:** The use of chemical buffers such as sodium bicarbonate, and bacterial additives like *Megasphaera elsdenii* result in improving the digestibility and fermentation in high concentration diets. Therefore, this research was conducted to compare the effect of acid-consuming bacteria and different chemical buffers for improvements in digestion and fermentation of high concentration diets.

**Material and Methods:** Several chemical buffers were used alone or together with *Megasphaera alsdeni* bacteria as biological buffers. Two-step digestion methods and specific cultures of anaerobic rumen fungi and bacteria were used in this experiment. The number of 12 treatments includes 1- the control diet (without additives and containing 70% concentrate + 30% fodder or basic diet), 2- the basic diet + 3 ml of *Megasphaera alsdeni* bacteria ( $1.5 \times 10^8$  CFU/ml), 3 to 12- One percent of the 5 buffers were bentonite-sodium, sodium bicarbonate, magnesium oxide, zeolite, sodium sesquicarbonate alone or together with *Megasphaera alsdeni* bacteria.

**Results:** In the two-step digestion test, the digestibility of dry matter was improved in the treatments receiving buffer and bacteria ( $p < 0.05$ ). The digestibility of dry matter, neutral detergent fiber, and acid neutral detergent fiber by rumen fungi was affected by the experimental treatments and was higher in the treatment containing chemical buffer + bacteria than in the control ( $p < 0.05$ ). The use of chemical and biological buffer had a significant effect on the digestibility of nutrients by rumen bacteria and it was more in the treatments containing buffer + bacteria than in the control ( $p < 0.05$ ). The fermentation parameters of the culture medium of bacteria and fungi, including pH and ammonia nitrogen concentration, were significantly affected by the experimental treatments; pH and ammonia nitrogen concentration were higher and lower than the control treatment in all treatments, respectively ( $p < 0.05$ ).

**Conclusion:** Therefore, according to the results of the present experiment, the use of chemical buffer improved the conditions of digestion and fermentation of high-concentrate diets for fattening lambs, and in many cases, the effect of acid-consuming bacteria was competitive with chemical buffers. On the other hand, the combined use of bacteria and buffer also had synergistic effects.

**Keywords:** Digestion, *Megasphaera elsdenii* bacteria, Rumen pH, *Saccharomyces cerevisiae*, Sodium bentonite, Sodium bicarbonate