مقاله علمی پژوهشی/نشریه پژوهش‌های علوم دامی/ جلد ۳۰ شماره ۲/ سال۱۳۹۹/ صفحات ۸۵ تا ۹۹

DOI: 10.22034/AS.2020.11494

مقایسه اثر بافر بی‌کربنات سدیم با باکتری مگاسفر السدنی به عنوان مصرف کننده اسید تولیدی در شکمبه بر عملکرد رشد، قابلیت هضم، فراسنجه‌های شکمبه‌ای و خونی بره‌های پرواری در جیره با کنسانتره بالا

امید خراسانی[۱]، مرتضی چاجی[۲]* و فرشاد باغبان[۳]

تاریخ دریافت: ۹۸/۱۱/۱ تاریخ پذیرش: ۹۸/۱۲/۲٤

[۱] دانشجوی دکتری تغذیه دام گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان

[۳] دانشیار گروه علوم دامی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان

[۳] استادیار گروه دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد یاسوج

*مسئول مکاتبه: Email: chaji@asnrukh.ac.ir

چکیده

زمینه مطالعاتی: استفاده از باکتری *مگاسفرا السدنی* و مخمر در مقایسه با بافر بی‌کربنات سدیم می‌تواند در کاهش التهاب ناشی از اسیدوز موثر باشد. **هدف**: این پژوهش به منظور مقایسه تاثیر بافر بی‌کربنات سدیم با باکتری *مگاسفرا السدنی* و استفاده هم‌زمان آن با مخمر *ساکرومایسیس سرویسیه* به عنوان یک مصرف کننده اسید تولید شده در شکمبه در تعدیل pH شکمبه در جیره‌ی پرکنسانتره بر صفات عملکردی و هضم مواد مغذی در بره‌های پرواری انجام شد. **روش کار**: در این آزمایش از ۲۴ بره نر عربی ۱ ± ۴ ماهه با وزن ۳/۱۵kg ± ۲۳/۹ در قالب طرح کاملا تصادفی با ۳ تیمار و ۸ تکرار استفاده شد. تیمارهای آزمایشی شامل ۱- جیره‌ی شاهد ۲- جیره شاهد + بافر بی‌کربنات سدیم ۳- جیره شاهد + باکتری *مگاسفرا السدنی* و مخمر *ساکرومایسیس سرویسیه* (باکتری-مخمر) بودند. مایع شکمبه در ساعات صفر، ۳ و ۶ ساعت پس از خوراک‌دهی صبح برای سنجش pH و غلظت نیتروژن آمونیاکی توسط لوله معدی گرفته شد. نمونه‌های خون ۳ ساعت پس از خوراک‌دهی صبح گرفته شد. در هفت روز آخر دوره، نمونه‌های مدفوع و ادرار جهت تعیین قابلیت هضم و ابقاء نیتروژن جمع آوری شدند. **نتایج**: اختلاف معنی‌داری در ماده خشک مصرفی، افزایش وزن روزانه، ضریب تبدیل غذایی، pH و نیتروژن آمونیاکی بین تیمارها مشاهده نشد (P >۰/۰۵). غلظت پروپیونات در جیره حاوی باکتری-مخمر به‌طور معنی‌داری بیشتر از سایر تیمارها بود (P<۰/۰۵). قابلیت هضم پروتئین در جیره شاهد و جیره حاوی باکتری-مخمر بیشتر و تفاوت معنی‌داری با جیره حاوی بافر داشت (P<۰/۰۵). میزان لیپوپروتئین با چگالی کم، در جیره دریافت کننده‌ی بافر و مکمل باکتری-مخمر نسبت به شاهد کمتر و اختلاف معنی‌داری را نشان داد (P <۰/۰۵). نیتروژن ابقا شده در جیره حاوی دریافت کننده‌ی باکتری-مخمر به‌طور معنی‌داری بیشتر از سایر جیره‌ها بود (P <۰/۰۵). **نتیجه گیری نهایی**: استفاده از باکتری *مگاسفرا السدنی* به عنوان مصرف کننده اسید موجود در شکمبه، می‌تواند راه موثری در تعدیل شرایط تخمیری شکمبه بره‌های پروار تغذیه شده با جیره‌های پر کنسانتره باشد و در آزمایش حاضر اثر بافر بی‌کربنات سدیم با باکتری *مگاسفرا السدنی* در هضم مواد مغذی و عملکرد رشد آن‌ها قابل رقابت بود.

واژگان کلیدی: اسیدوز شکمبه‌ای، بافر، بره‌ها، *ساکرومایسیس سرویسیه*، *مگاسفرا السدنی*

مقدمه

نتیجه‌ی خوراندن مقدار زیادی کربوهیدرات‌های با قابلیت تخمیر سریع در نشخوارکنندگان، تولید مقدار زیادی اسیدهای آلی در شکمبه و به دنبال آن کاهش pH شکمبه است. در حیواناتی که به سطح بالای تخمیر کربوهیدرات عادت نکرده‌اند، غلظت اسید لاکتیک در شکمبه به حد غیر قابل قبولی افزایش می‌یابد، زیرا جمعیت باکتری‌های مصرف کننده لاکتات مانند *سلونوموناس رومیناتیوم* (*Selenomonas ruminantium*) و *مگاسفرا السدنی* (*Megasphaera elsdenii*) پایین است و نمی‌توانند با تولید سریع آن هماهنگ باشند (چوچیرز–دوراند و همکاران ۲۰۰۸).

مشخصه‌ی اسیدوز تحت حاد، pH برابر با ۵/۵ و پایین‌تر، کاهش مصرف خوراک و عملکرد دام می‌باشد و منجر به زیان‌های اقتصادی قابل توجهی می‌شود به همین منظور اقدامات پیش‌گیرانه برای جلوگیری از بروز اسیدوز و بهبود هضم نشاسته از قبیل استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها، پروبیوتیک‌ها و بافرها مورد توجه قرار گرفته‌اند. شواهد جدید نشان می‌دهد که برخی از محصولات مخمر می‌توانند یک جایگزین موثر و اقتصادی برای بافرهای معدنی سنتی برای تعدیل pH شکمبه باشند (د بدروسین ۲۰۰۹).

گزارش‌ها نشان می‌دهد که مصرف سلول‌های زنده مخمر *ساکارومایسس سرویسیه* منجر به حذف و مصرف شدن اکسیژن موجود در محیط شکمبه و همچنین آزاد شدن برخی آنزیم‌های ضروری، ویتامین‌ها و سایر مواد مغذی و فاکتورهای رشد می‌شود که این عوامل می‌تواند به حیات و فعالیت مناسب میکروارگانیسم‌های شکمبه‌ای در محیط شکمبه کمک قابل توجهی کنند؛ پیشنهاد شده است که مخمر *ساکارومایسیس سرویسیه* می‌تواند جمعیت *مگاسفرا السدنی* را توسعه و استفاده از لاکتات را افزایش دهد (کالسامیگلیا و همکاران ۲۰۱۲). افزودن باکتری *انتروکوکوس فاسیوم* (باکتری تولید کننده اسید لاکتیک) به همراه مخمر *ساکارومایسیس سرویسیه* در جیره‌ی گاوهای پرواری باعث بهبود هضم ماده خشک دانه نسبت به زمانی که *انتروکوکوس فاسیوم* به تنهایی اضافه شده بود، شد (بوچمن و همکاران ۲۰۰۳). لذا استفاده همزمان از آن‌ها به همراه گونه‌های باکتریایی، از جمله *مگالسفرا السدنی*، عمل این باکتری‌ها را تقویت خواهد کرد. از طرفی استفاده از مخمر و ترکیبات فعال زیستی در مقایسه با مواد شیمیایی می‌تواند در کاهش التهاب ناشی از اسیدوز موثر باشد (آشینباچ و همکاران ۲۰۱۹).

مگاسفرا السدنی و *سلنوموناس رومینانتیوم* سویه‌های غالب مصرف کننده اسید لاکتیک در شکمبه هستند از بین این دو سویه *مگاسفرا السدنی* ۶۵ تا ۹۵ درصد لاکتات موجود در شکمبه را مصرف می‌کند. بنابراین *مگاسفرا السدنی* با مصرف اسید لاکتیک از کاهش شدید pH شکمبه در نتیجه تجمع اسید لاکتیک جلوگیری می‌کند (پربو و همکاران ۲۰۱۲). با توجه به توانایی متنوع گونه‌های مختلف *مگاسفرا السدنی* در تولید اسیدهای چرب فرار در شرایط اسیدوز، تحقیقات بیشتر می‌تواند به یافتن گونه‌های جدید با قابلیت بالا در استفاده از لاکتات کمک کند (صدیقی و علیپور ۲۰۱۹). بنابراین با توجه به سازگار بودن آن‌ها با محیط شکمبه و طبیعی بودن آن‌ها و امکان تقویت اثر آن‌ها با مخمر *ساکارومایسیس سرویسیه* در مقایسه با بافرهای شیمیایی (د بدروسین ۲۰۰۹)، استفاده از آن‌ها باید بیشتر مورد توجه قرار گیرد.

امروزه بی‌کربنات سدیم پر کاربردترین افزودنی بافر در صنایع لبنی است و مطالعات انجام شده در مورد اثرات آن به دهه ۱۹۶۰ باز می‌گردد (د بدروسین ۲۰۰۹). کاربرد بافرها در پرورش گاو و گوسفند برای آن است که حیوان به سادگی به تغییر ناگهانی از جیره علوفه‌ای به مواد متراکم سازگاری پیدا کند. بافرهای خوراکی می‌توانند با خنثی کردن اسیدیته حاصل از افزایش تولید اسیدهای چرب فرار، pH شکمبه را تثبیت کنند، اما بسته به نوع و دوز بافر مصرفی نتایج آن در حیوانات مختلف متفاوت خواهد بود (ترپاتی و همکاران ۲۰۰۴).

نظر به این‌که در مورد استفاده همزمان باکتری *مگاسفرا السدنی* با مخمر *ساکارومایسیس سرویسیه* اطلاعات محدود است و این نکته که باکتری *مگالسفرا السدنی* به صورت تجاری وجود ندارد و توسط نگارنده‌گان از شکمبه بز جداسازی شده است و طی بررسی منابع انجام شده برای اولین بار است که در کشور در دام در مقایسه

با بافر شیمیایی مورد مقایسه قرار می‌گیرد، از این رو پژوهش حاضر با هدف بررسی مقایسه‌ای تاثیر بافر (بی‌کربنات سدیم) و ترکیبی از مخمر *ساکارومایسیس سروویسیه* با باکتری مصرف‌کننده اسید لاکتیک (*مگاسفرا السدنی)* بر قابلیت هضم مواد مغذی و عملکرد رشد در جیره با کنسانتره بالا روی بره‌های نژاد عربی انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

در این آزمایش از ۲۴ بره نر عربی با میانگین سن ۱ ± ۴ ماه با وزن اولیه‌ی ۳/۱۵ ± ۲۳/۹ کیلوگرم استفاده شد. طول دوره آزمایش ۷۷ روز (۱۱ هفته) شامل ۱۴ روز دوره‌ی عادت‌پذیری و ۶۳ روز (۹ هفته) دوره رکورد برداری و آزمایش بود. قبل از آغاز پژوهش همه‌ی بره‌ها برای انگل‌های بیرونی (۱ میلی لیتر آزانتول ۱۰ درصد در ۷ لیتر آب به روش اسپری؛ شرکت بایر آلمان)، انگل‌های داخلی (تریکل ابندازول با لوامیزل، ۱۲ میلی لیتر برای هر گوسفند؛ شرکت دارو پخش ایران) و برای مقابله با انتروتوکسمی (۳ میلی‌لیتر برای هر بره، موسسه‌ی تحقیقاتی واکسن و سرم سازی رازی - ایران) واکسینه شدند. بره‌ها در قفس‌های متابولیکی (۱/۲m × ۱/۴) نگهداری شدند. دام‌ها به صورت تصادفی به یکی از سه تیمار شامل ۱- جیره شاهد (فاقد افزودنی) ۲- جیره شاهد + بافر بی‌کربنات سدیم (۱ درصد جیره روزانه به صورت سرک در دو وعده غذایی) ۳- جیره شاهد + باکتری *مگاسفرا السدنی* و مخمر *ساکرومایسیس سرویسیه* (باکتری-مخمر) بود. باکتری *مگاسفرا السدنی* به مقدار ۳ میلی لیتر به ازاء هر دام (حاوی cfu/ml ۱۰^۸ × ۴/۵) به همراه ۲ گرم مخمر *ساکرومایسیس سرویسیه* هر روز صبح بصورت استفاده مستقیم از میکروب (DFM) به دام‌ها خورانده شد (صدیقی و علیپور ۲۰۱۹). شرایط تغذیه و مدیریت پرورش بره‌های انتخاب شده قبل از آزمایش یکسان بود. مواد خوراکی تشکیل دهنده و ترکیب شیمیایی جیره‌های آزمایشی در جدول ۱ ارائه شده است. جیره‌ها با استفاده از جدول احتیاجات مواد مغذی نشخوارکنندگان کوچک (NRC, 2007) تنظیم شدند و به صورت کاملا مخلوط (TMR) به نسبت ۳۰ درصد علوفه و ۷۰ درصد کنسانتره در دو نوبت (ساعت ۸ و ۱۶) در حد اشتها به همراه دسترسی آزاد به آب در اختیار بره‌ها قرار گرفت.

بافر بی‌کربنات سدیم مورد استفاده در پژوهش حاضر از شرکت کیمیا سپاهان (اصفهان-ایران) و مخمر *ساکارومایسیس سروویسیه* (cfu/g ۱۰^۹×۷) از شرکت خمیر مایه خوزستان (دزفول-ایران) تهیه شدند. باکتری‌های *مگاسفرا السدنی* (cfu/ml ۱۰^۸×۱/۵) از بز نجدی در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان (ملاثانی-اهواز-ایران) جداسازی و تهیه شد. جهت کشت و جدا سازی باکتری *مگاسفرا السدنی*، مایع شکمبه به دست آمده از بزهای نجدی، با ۴ لایه پارچه صاف شد؛ مایع شکمبه با محلول ADS (anaerobic dilution solution) تا رقت ۱۰^-۹ رقیق شد و به محیط کشت دورن لوله‌های هانگیت اضافه شد، همه لوله‌ها تا زمان رشد باکتری‌ها، در انکوباتور با دمای ۳۹°C نگه‌داری شدند. پس از مشاهده‌ی رشد باکتری‌ها، به محیط کشت جامد حاوی آگار منتقل شدند و پس از مراحل غلتاندن روی یخ و یکنواخت سازی، لوله‌ها مجددا به انکوباتور ۳۹°C منتقل شدند. پس از رشد کلنی‌ها که معمولاً پس از ۳ تا ۷ روز اتفاق افتاد؛ کلنی‌های منفرد به محیط کشت مایع منتقل شدند. جدایه‌های خالص شده به منظور ادامه آزمایش به محلول گلیسرول بی‌هوازی و استریل شده منتقل شدند و در فریزر۲۰°C- نگه‌داری شدند (محمد آبادی و همکاران ۲۰۱۸). در طول دوره‌ی آزمایش خوراک مصرفی و باقیمانده خوراک روز قبل به‌طور روزانه جمع آوری و توزین شدند. دام‌ها در طول دوره، قبل از غذا و حداقل بعد از ۱۴ ساعت گرسنگی جهت اندازه‌گیری وزن بدن، محاسبه افزایش وزن روزانه، کل افزایش وزن و ضریب تبدیل (میانگین خوراک مصرفی به افزایش وزن)، هر ۲۱ روز یک‌بار وزن کشی شدند.

در ۷ روز آخر آزمایش (روزهای ۶۳ تا ۵۷) نمونه‌های مدفوع و باقیمانده خوراک بره‌ها جمع‌آوری و توزین شدند. مقدار ۱۰ درصد از آن نگه‌داری شد و در انتهای ۷ روز با هم مخلوط شدند و پس از اندازه‌گیری ترکیب شیمیایی، از اختلاف مقدار مصرفی و دفع شده قابلیت

هضم مواد مغذی محاسبه شد. در طی این دوره کل ادرار دفعی روزانه هر دام در ظروف محتوی ۱۰۰ میلی لیتر سولفوریک اسید ۱۰ درصد، جهت حفظ pH زیر ۳، جمع آوری شد (ملک خواهی و همکاران ۲۰۱۵). هر روز صبح حجم ادرار جمع آوری شده‌ی هر دام اندازه گیری و ۱۰ درصد آن‌ها جهت تخمین نیتروژن ادرار در دمای منفی ۲۰ درجه سلسیوس تا زمان آزمایش نگهداری شد پس از اندازه‌گیری غلظت نیتروژن خوراک، مدفوع و ادرار، نیتروژن ابقا شده از اختلاف نیتروژن مصرف شده روزانه با نیتروژن دفعی در ادرار و مدفوع محاسبه شد (رضایی و همکاران ۲۰۱۴).

برای اندازه‌گیری ترکیب شیمیایی خوراک، باقیمانده خوراک، ادرار و مدفوع، نمونه‌ها در دمای ۶۰ درجه‌ی سلسیوس به مدت ۴۸ ساعت خشک و با الک یک میلی‌متری آسیاب شدند. ماده خشک، خاکستر، چربی خام، غلظت نیتروژن ادرار و پروتئین خام (به روش کجلدال) و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی با حذف خاکستر (ADFom) بر طبق روش‌های متداول و استاندارد (AOAC, 1990) اندازه‌گیری شدند.

Table 1- Feed ingredients and chemical composition of the experimental basal diet fed to lambs

Ingredients	Amounts (g/kg DM)
Alfalfa hay	201
Wheat straw	99
Barley grain	300
Corn grain	210
Soybeans meal	123.5
Wheat bran	55
Calcium carbonate	4
Salt	2.5
Vitamin and mineral supplements[a]	5
Chemical composition	
Dry matter	891
Organic matter	948
Ash	51.7
Crude protein	161
Ether extract	27
NDFom[b]	290
ADFom[c]	165
ME[d] (Mcal/kg DM)	2.65
Non–fiber carbohydrates[e]	472

[a] Premix contained (per kg): Vitamin A, 500,000 IU/mg; vitamin D_3, 100000 IU/mg; vitamin E, 100 mg/kg; Ca, 180 g/kg; P, 60000 mg/kg; Na, 60000 mg/kg; Mg, 19000 mg/kg; Zn, 3000 mg/kg; Fe, 3000 mg/kg; Mn, 19000 mg/kg; Cu, 300 mg/kg; Co, 100 mg/kg; Se, 1 mg/kg; I, 100 mg/kg; antioxidant, 400 mg/kg; carrier, up to 1000 g.
[b]NDFom, ash-free neutral detergent fibre.
[c] ADFom, ash-free acid detergent fibre.
[d] Calculated from each feed ingredients.
[e] Calculated as: NFC=1000 – (NDFom g/kg + crude protein g/kg + ether extract g/kg + ash g/kg).

الیاف نامحلول در شوینده خنثی با حذف خاکستر و بدون استفاده از آنزیم آمیلاز (NDFom) اندازه گیری شد (ون سوست و همکاران ۱۹۹۱).

در روز ۴۲ آزمایش، مایع شکمبه در ساعات صفر (قبل از خوراک دادن)، ۳ و ۶ ساعت بعد از خوراک دهی صبح، جهت تعیین pH و غلظت نیتروژن آمونیاکی توسط لوله‌ی معدی از دام‌ها گرفته شد. بخش رویی آن برای اطمینان از حذف بزاق دور ریخته شد. با استفاده از pH متر دیجیتالی (WTW مدل ۳۱۱۰، آلمان) pH اندازه گیری شد و سپس نمونه‌ها بوسیله‌ی چهار لایه پارچه کتانی صاف شدند. بخشی از مایع شکمبه با حجم مساوی با اسید کلریدریک ۰/۲ نرمال مخلوط شد و در دمای ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری شدند. نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه با روش فنل–هیپوکلریت (برودریک و کانگ ۱۹۸۰) با استفاده از

اسپکتوفتومتر (Biochrom libra مدل S22، انگلستان) اندازه گیری شد. در روز آخر آزمایش، مایع شکمبه برای اندازه‌گیری غلظت اسیدهای چرب فرار گرفته شد. مقدار ۵ml مایع شکمبه با ۲ml از متافسفریک اسید (w/v) ۲۵ درصد اسیدی و در دمای ۲۰- درجه سلسیوس تا زمان آنالیز نگه‌داری شد. غلظت اسیدهای چرب فرار به روش گاز کروماتوگرافی (دستگاه GC، مدل YL6100، ساخت شرکت Young lin، کره جنوبی) با استفاده از ستون مویین سلیکون (CP-Wax Chrompack Capillary Column; Varian, Palo Alto, CA, USA)، گاز هلیوم بعنوان حامل و با استفاده از استاندارد داخلی کروتونیک اسید اندازه‌گیری شد (ملک خواهی و همکاران ۲۰۱۵).

خون‌گیری از گوسفندان در هفته ششم از طول آزمایش در ۳ ساعت پس از مصرف خوراک از ورید وداج انجام شد. پس از خون‌گیری نمونه‌های خون در داخل لوله آزمایش حاوی ماده ضد انعقاد EDTA ریخته شد و سانتریفیوژ شد (۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه) پلاسمای جدا شده در دمای ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری شد و سپس گلوکز، نیتروژن اوره‌ای خون، پروتئین کل، کلسترول، تری گلیسرید، LDL، HDL، کراتینین و آنزیم‌های کبدی شامل آسپارتات آمینو ترانس فراز (AST) و آلانین آمینوتراسفراز (ALT) با دستگاه اتوآنالایزر (هیتاچی، مدل ۹۰۲، ژاپن) اندازه‌گیری شدند.

آزمایش حاضر در قالب یک طرح کاملا تصادفی با ۳ تیمار و ۸ تکرار انجام شد. داده‌ها با نرم افزار آماری SAS (نسخه‌ی ۹/۴) با رویه خطی GLM مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. مقایسه میانگین‌ها برای اختلاف معنی‌دار، توسط آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح خطای ۰/۰۵ درصد انجام شد:

$Y_{ij} = \mu + T_i + \varepsilon_{ij}$، در این مدل، Y_{ij} مقدار مشاهده شده، μ میانگین جامعه، T_i اثر تیمار i ام، ε_{ij} اثر خطای آزمون است.

نتایج و بحث

بین گروه‌های آزمایشی برای ماده خشک مصرفی، وزن نهایی، افزایش وزن روزانه، ضریب تبدیل غذایی کل دوره (روزهای ۰ تا ۶۳) و افزایش وزن در دوره‌های مختلف، تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۲). اما افزایش وزن روزانه و کل افزایش وزن در فاصله روزهای ۰ تا ۲۱، به‌طور معنی‌داری در تیمار باکتری-مخمر نسبت به شاهد بیشتر بود ($P < ۰/۰۵$)، اما اختلاف با تیمار حاوی بافر عددی بود. اختلاف معنی‌داری در ماده خشک مصرفی، توسط گوساله‌های پرواری با مصرف *مگاسفرا السدنی* در جیره‌ی پرکنسانتره مشاهده نشد (دولیاد و همکاران ۲۰۱۲) که با نتایج آزمایش حاضر مطابقت دارد. برخی از محققین گزارش کرده‌اند که مصرف مخمر *ساکرومایسیس سرویسیه* موجب افزایش خوراک مصرفی می‌شود (آلزاهل و همکاران ۲۰۱۴) در حالی‌که کاهش خوراک روزانه گاوها با مصرف این مخمر نیز گزارش شده است (کانگ و همکاران ۱۹۹۷). اثرات تغذیه‌ای مصرف بی‌کربنات سدیم بر مصرف خوراک و تولیدات حیوان نیز تا حدودی متغیر است. برخی پژوهش‌ها نشان داده‌اند که افزودن بی‌کربنات سدیم ماده خشک مصرفی را افزایش می‌دهد (کاوزو همکاران ۲۰۰۷) و برخی دیگر عدم تاثیر بر مصرف ماده خشک را گزارش کرده‌اند (ترپاتی و همکاران ۲۰۰۴).

تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی برای افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل خوراک مشاهده نشد. مطابق با نتایج آزمایش حاضر، اختلاف معنی‌داری در ضریب تبدیل غذایی و افزایش وزن روزانه در گوساله‌های پرواری با مصرف *مگاسفرا السدنی* در جیره با کنسانتره بالا مشاهده نشد (دروئلیاد و همکاران ۲۰۱۲). در بره‌های بلوچی تغذیه شده با جیره‌های حاوی کنسانتره بالا، مخمر *ساکرومایسیس سرویسیه* تاثیر معنی‌داری بر ضریب تبدیل غذایی و افزایش وزن روزانه نداشت (ملک خواهی و همکاران ۲۰۱۵) که با نتایج آزمایش حاضر مطابقت دارد. در استفاده از سطوح مختلف بی‌کربنات سدیم (صفر، ۰/۷۵، ۱/۵، ۲/۵ درصد) در جیره‌ی پر کنسانتره‌ی بره‌ها، اختلاف معنی‌داری بین گروه‌های آزمایشی در ضریب تبدیل غذایی مشاهده نشد؛ افزایش وزن روزانه نیز در گروه‌های دریافت کننده‌ی ۰/۷۵ و ۲/۵ درصد اختلافی با شاهد نداشت ($P > ۰/۰۵$) (ترپاتی و همکاران ۲۰۰۴) که با نتایج آزمایش حاضر مطابقت دارد.

در ۲۱ روز اول آزمایش افزایش وزن بدن و افزایش وزن روزانه در تیمار دریافت کننده‌ی باکتری-مخمر به‌طور معنی‌داری بیشتر از شاهد شد (P <۰/۰۵) که شاید نشان دهنده نقش موثر اثر هم افزایی باکتری-مخمر در ابتدای دوره باشد، در این بازه میکروارگانیسم‌های شکمبه حیوان هنوز به تغییرات جیره عادت نکرده است و استفاده از تیمار باکتری-مخمر توانسته موثر عمل کند، اما در ادامه جمعیت میکروبی حیوان بتدریج به تغییرات خو گرفته و بنابراین تفاوت بین تیمارها به‌ویژه تیمار باکتری-مخمر مشاهده نمی‌شود؛ اگرچه هنوز از نظر عددی بیشتر یا بهتر است. ابقای بیشتر نیتروژن در تیمار حاوی باکتری-مخمر نیز موید این موضوع است (جدول ۳)؛ به طوری که اکثر مطالعات مربوط به استفاده مستقیم از میکروب در تولید نشخوارکنندگان مربوط به گوساله‌های شیری نوزاد است؛ زیرا در گوساله‌های جوان، هدف اصلی استفاده از مصرف مستقیم میکروب استقرار سریع برای سازگاری با خوراک جامد با تثبیت میکروب‌های شکمبه و روده و همچنین حذف باکتری‌های بیماری‌زا است (داما و همکاران ۲۰۰۸ و پونیا و همکاران ۲۰۱۵). از نظر تجربی، چندین باکتری وجود دارد که می‌توانند به‌طور مستقیم به عنوان افزودنی میکروبی استفاده شوند، اما تجاری نشده‌اند؛ یکی از این باکتری‌ها *مگاسفرا السدنی* است که در حیوانات شیرده استفاده می‌شود. هرچند وقتی گاوها بطور ناگهانی از جیره غذایی علوفه‌ای زیاد به جیره‌ی کنسانتره‌ای منتقل می‌شوند *مگاسفرا السدنی* به تنهایی قادر به جلوگیری از اسیدوز اسید لاکتیک نیست (پونیا و همکاران ۲۰۱۵).

Table 2- Comparison of performance characteristics in lambs fed with the experimental diets

Variables	Treatments			SEM	P-value
	Control	Buffer	Me+Sc		
Dry matter intake (g/d)					
0 to 21d	906.88	882.17	930.19	11.67	0.25
22 to 42 d	1034.07	1060.54	1075.85	17.57	0.64
43 to 63 d	1119.10	1165.01	1123.72	21.09	0.64
0 to 63 d	1019.47	1035.62	1042.07	15.65	0.84
Body weight, Kg					
Initial	24.33	23.60	23.53	0.65	0.87
21d	28.15	27.66	27.93	0.64	0.95
42d	32.66	32.50	32.71	0.65	0.99
63d	37.25	37.06	37.12	0.68	0.99
Body weight gain, kg					
0 to 21d	3.81[b]	4.06[ab]	4.40[a]	0.11	0.09
22 to 42 d	4.51	4.83	4.78	0.16	0.71
43 to 63 d	4.58	4.56	4.41	0.19	0.92
0 to 63 d	12.91	13.46	13.59	0.27	0.58
Average daily gain (g)					
0 to 21d	181.75[b]	193.65[ab]	209.52[a]	5.34	0.09
22 to 42 d	215.08	230.16	227.78	7.62	0.71
43 to 63 d	218.35	217.26	210.02	9.04	0.92
0 to 63 d	205.06	213.69	215.77	4.30	0.58
Feed conversion ratio					
0 to 21d	5.05	4.57	4.48	0.13	0.19
22 to 42 d	4.86	4.65	4.84	0.14	0.83
43 to 63 d	5.20	5.43	5.67	0.25	0.76
0 to 63 d	5.00	4.85	4.86	0.11	0.84

Control= without any supplementation, Buffer= sodium bicarbonate supplementation, Me+Sc= *Megasphaera elsdenii*+ *Saccharomyces cerevisiae*

[a,b] Means with different superscripts in the same row differ significantly (P < 0.05). SEM= standard error of means

قابلیت هضم پروتئین خام، ماده خشک، ماده آلی، الیاف نامحلول در شوینده خنثی و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت (جدول ۳). قابلیت هضم پروتئین خام در بره‌های تغذیه شده با

باکتری-مخمر بالاترین مقدار بود؛ اما اختلاف آن نسبت به شاهد عددی و نسبت به تیمار بافر معنی‌داری بود (P <۰/۰۵). مصرف نیتروژن در تیمار شاهد نسبت به سایر تیمارها کمتر بود و اختلاف معنی‌داری با تیمار دریافت کننده‌ی بافر داشت (P <۰/۰۵). نیتروژن دفعی از طریق مدفوع در تیمار دریافت کننده‌ی بافر معنی‌دار و بیشترین مقدار بود (P <۰/۰۵)؛ اما بین تیمار باکتری-مخمر با شاهد تفاوتی وجود نداشت. نیتروژن دفعی از طریق ادرار در تیمار دریافت کننده‌ی باکتری-مخمر به‌طور معنی‌داری نسبت به سایر تیمارها کمتر بود (P <۰/۰۵). نیتروژن ابقا شده در تیمار دریافت کننده‌ی باکتری-مخمر بیشترین مقدار بود و اختلاف معنی‌داری نسبت به سایر تیمارها نشان داده است (P <۰/۰۵).

Table 3- Nutrients digestibility, and N balance in fattening lambs fed with the experimental diets

Variables	Treatments			SEM	P-value
	Control	Buffer	Me+Sc		
Digestibility (%)					
DM	73.15	71.16	72.70	0.77	0.56
CP	78.50[a]	74.78[b]	79.52[a]	0.75	0.01
OM	75.64	74.12	75.98	0.73	0.57
NDF	53.65	47.96	51.72	1.45	0.27
ADF	51.43	50.38	51.90	1.77	0.94
ME (Mcal/kg DM)	2.68	2.64	2.71	0.02	0.60
Nitrogen balance (g/day)					
Intake	26.25[b]	29.01[a]	28.43[ab]	0.51	0.06
Excreted in feces	5.54[b]	7.42[a]	5.76[b]	0.21	<.0001
Excreted in urine	7.19[a]	7.37[a]	5.96[b]	0.23	0.01
Retained	13.50[b]	14.21[b]	16.69[a]	0.47	0.009

SEM= standard error of means; DM= dry matter; CP= Crude protein; OM= Organic matter; NDF= Neutral detergent fibre; ADF= Acid detergent fibre; ME= Metabolizable energy; control= without any supplementation, Buffer= sodium bicarbonate supplementation, Me+Sc= *Megasphaera elsdenii*+ *Saccharomyces cerevisiae*
[a,b] Means with different superscripts in the same row differ significantly (P < 0.05).

در به کار بردن دو سویه مختلف از مخمر *ساکرومایسیس سرویسیه* در گاوهای غیر شیرده، تاثیر عمده‌ای بر قابلیت هضم مواد مغذی (ماده خشک، ماده آلی، پروتئین خام، الیاف نامحلول در شوینده خنثی و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی) مشاهده نشد (چانگ و همکاران ۲۰۱۱)؛ در حالی که در آزمایش حاضر استفاده از باکتری-مخمر قابلیت هضم پروتئین خام در بره‌های پرواری را افزایش داد (P <۰/۰۵). شیوه‌ی عمل مخمر در درجه‌ی اول تغییر تخمیر شکمبه است و ممکن است قابلیت هضم کل اجزا تحت تاثیر قرار نگیرند (چانگ و همکاران ۲۰۱۱). از طرفی، هضم جبرانی در قسمت‌های بعد از شکمبه ممکن است اثرات هضمی مخمر در شکمبه را پنهان نماید. برای نمونه، گزارش شد که هضم شکمبه‌ای ماده آلی و پروتئین خام با به کار بردن مخمر بهبود یافته است، اما هضم ظاهری ماده آلی و پروتئین خام در کل دستگاه گوارش مشابه بود (یون و استرن ۱۹۹۶). قابلیت هضم ماده خشک تحت تاثیر افزودن بی‌کربنات سدیم و مخمر به خوراک بره‌ها قرار نگرفت (کاوز و همکاران ۲۰۰۷) که با یافته‌های آزمایش حاضر مطابقت دارد.

معنی‌دار شدن ابقا نیتروژن در تیمار دریافت کننده‌ی باکتری-مخمر را می‌توان به کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی شکمبه (جدول ۴) که به نظر می‌رسد در اثر افزایش الحاق نیتروژن در پروتئین میکروبی که نتیجه منطقی افزایش فعالیت میکروبی شکمبه است؛ نسبت داد (پاریا و رشیدی ۲۰۰۹). اختلاف معنی‌داری بین pH و نیتروژن آمونیاکی در ساعات صفر، ۳ و ۶ ساعت پس از مصرف غذا مشاهده نشد (جدول ۴). در حین استفاده از باکتری *مگاسفرا السدنی* در گاوهای هلشتاین تغذیه شده با جیره‌ی پرکنسانتره، اختلاف معنی‌داری در pH شکمبه در ۳ ساعت پس از غذادهی صبح مشاهده نشد. با این

حال، در گاوهای دریافت کننده‌ی *مگاسفرا السدنی* pH بالاتر (۶/۳۸) نسبت به شاهد (۶/۲۱) گزارش شد (صدیقی و علیپور ۲۰۱۹) که موید نتایج آزمایش حاضر در حین استفاده از باکتری-مخمر (۶/۱۰) نسبت به تیمار شاهد (۶/۰۷) است.

Table 4- The rumen ammonia nitrogen concentration and pH in fattening lambs fed with the experimental diets

Variables	Treatments			SEM	P-value
	Control	Buffer	Me+Sc		
pH					
Time, h					
0	7.04	7.00	7.07	0.049	0.86
3	6.07	6.12	6.10	0.042	0.91
6	6.44	6.45	6.32	0.044	0.41
NH3-N (mg/dl)					
Time, h					
0	19.94	25.61	23.62	1.15	0.124
3	12.92	15.09	13.98	0.67	0.432
6	15.67	17.60	19.74	0.81	0.122

SEM= standard error of means; Control= without any supplementation, Buffer = sodium bicarbonate supplementation, Me+Sc= *Megasphaera elsdenii*+ *Saccharomyces cerevisiae*
[a,b] Means with different superscripts in the same row differ significantly (P < 0.05).

در جیره‌ی حاوی مخمر *ساکرومایسیس سرویسیه* در شرایط اسیدوز، بهبود در pH شکمبه (۵/۷۵ در برابر ۵/۴۰) در گاوهای شیری گزارش شد (P <۰/۰۵) (ملک خواهی و همکاران ۲۰۱۶). دلیل بهبود pH شکمبه با افزودن مخمر *ساکرومایسیس سرویسیه* تقویت و تحریک جمعیت و فعالیت باکتری‌های مصرف کننده‌ی اسید لاکتیک مانند *مگاسفرا السدنی* بیان شد (د بدروسین ۲۰۰۹، رستم زاده و همکاران ۲۰۱۵). بنابراین احتمالا مصرف هم زمان باکتری-مخمر می‌تواند باعث بهبود pH و نسبت اسیدهای تولید شده در شکمبه گردد (جدول ۵). در بره‌های پرواری با به‌کار بردن بی‌کربنات سدیم در جیره‌ی کنسانتره‌ای به همراه کاه جو اختلاف معنی‌داری در pH مایع شکمبه مشاهده نشد (بوداس و همکاران ۲۰۰۹) که در مشاهدات خراسانی و کنلی (۲۰۰۱)، کاوز و همکاران (۲۰۰۷) و کرووگن و همکاران (۲۰۱۵) نیز این نتایج حاصل شده است. غلظت نیتروژن آمونیاکی تیمارها در زمان‌های صفر، ۳ و ۶ ساعت پس از مصرف خوراک، اختلاف معنی‌داری نداشت (جدول ۴). مشاهده‌ی غلظت کمتر نیتروژن آمونیاکی در ساعت ۳ نسبت به ۶ ساعت پس از مصرف خوراک، نتیجه‌ی استفاده بهتر از نیتروژن آمونیاکی در شکمبه به دلیل عرضه بیشتر کربوهیدرات‌های قابل دسترس در شکمبه است که در اثر حضور هم‌زمان این منبع (نیتروژن و کربوهیدرات) بازده سنتز پروتئین میکروبی در شکمبه افزایش می‌یابد که نتیجه‌ی آن مشاهده‌ی غلظت کمتر نیتروژن آمونیاکی شکمبه می‌باشد.

بافر بی‌کربنات سدیم تاثیری بر غلظت نیتروژن آمونیاکی شکمبه در گاوهای شیری نداشت (خراسانی و کنلی ۲۰۰۱). در آزمایش با گاوهای شیرده در دو دوره‌ی عادت‌دهی و دوره‌ی اسیدوز، کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی در دوره‌ی اسیدوز، به‌خصوص در تیمار حاوی مخمر *ساکرومایسیس سرویسیه* (P <۰/۰۵) مشاهده شد (ملک خواهی و همکاران ۲۰۱۶) که با نتایج آزمایش حاضر مطابقت دارد.

اثر جیره‌های آزمایشی بر غلظت اسیدهای چرب فرار شکمبه در جدول ۵ نشان داده شده است. غلظت پروپیونات و استات در تیمار دریافت کننده‌ی باکتری-مخمر نسبت به سایر تیمار بیشتر بود (P <۰/۰۵). غلظت بوتیرات، ایزوبوتیرات، ایزووالرات و والرات در تیمار شاهد بالاتر بود (P <۰/۰۵).

افزایش نسبت پروپیونات در جیره‌های با سطح بالای نشاسته (HS) نتیجه‌ی بالاتر بودن فعالیت مشخص آمیلاز

و غلظت بالای جمعیت باکتری‌های *مگاسفرا السدنی*، گونه‌های *پری وتلا* (*prevotella*) و *استرپتوکوکوس بویس* (*Streptococcus bovis*) است (فلیپو و همکاران ۲۰۱۷) که تایید کننده‌ی نسبت بالاتر پروپیونات در تیمار محتوی باکتری-مخمر در آزمایش حاضر می‌باشد. *مگاسفرا السدنی* تنها میکروارگانیسم شناخته شده شکمبه است که می‌تواند از مسیر آکریلات، لاکتات را به پروپیونات تبدیل کند؛ هنگام افزایش غلظت لاکتات، *مگاسفرا السدنی*، پروپیونات و استات و گاهی بوتیرات را تولید می‌کند (پربو و همکاران ۲۰۱۲)؛ شاید همین مکانیسم نیز عامل افزایش استات و پروپیونات در تیمار باکتری-مخمر نسبت به شاهد باشد. در جیره‌ای با ۶۵ درصد کنسانتره، با بکار بردن یک بافر تجاری غلظت پروپیونات شکمبه کمتر از تیمار شاهد (بدون بافر) شد (کرووگن و همکاران ۲۰۱۵) که با نتایج آزمایش حاضر مطابق دارد. مکمل کردن جیره با مخمر *ساکرومایسیس سرویسیه* می‌تواند تخمیر شکمبه را تغییر و رشد باکترهای شکمبه را تحریک کند، چنین تغییری اغلب با افزایش قابلیت هضم فیبر همراه است که می‌تواند باعث افزایش غلظت استات شکمبه شود (ملک خواهی و همکاران ۲۰۱۶ و رستم زاده و همکاران ۲۰۱۵) که با نتایج آزمایش حاضر مطابقت دارد. در جیره‌ی پرکنسانتره (۷۵ درصد) حاوی بافر بی‌کربنات سدیم، افزایش غلظت استات گزارش شد (خراسانی و کنلی ۲۰۰۱) که با نتایج آزمایش حاضر مطابقت دارد.

Table 5- The rumen volatile fatty acides concentration in fattening lambs fed with the experimental diets

Variables	Treatments			SEM	P-value
	Control	Buffer	Me+Sc		
Total VFA, mmol	106.60[b]	107.46[b]	141.89[a]	6.16	0.001
Individual VFA, mmol					
Acetate(A)	50.55[b]	59.29[b]	70.07[a]	3.19	0.01
Propionate(P)	28.55[b]	26.65[b]	58.18[a]	5.27	0.0002
Isobutyrate	1.48[a]	0.52[b]	0.46[b]	0.18	0.01
Butyrate(B)	19.38[a]	16.27[ab]	9.92[b]	1.9	0.1
Isovalerate	1.73[a]	0.57[b]	0.67[b]	0.22	0.032
Valerate	3.0[a]	1.82[b]	1.38[b]	0.25	0.0006
A:P ratio	1.89[ab]	2.33[a]	1.20[b]	0.21	0.08

SEM= standard error of means; VFA= Volatile fatty acid; Control= without any supplementation, Buffer = sodium bicarbonate supplementation, Me+Sc= *Megasphaera elsdenii*+ *Saccharomyces cerevisiae*
[a,b] Means with different superscripts in the same row differ significantly ($P < 0.05$).

در آزمایش حاضر غلظت بوتیرات، ایزوبوتیرات، ایزووالرات و والرات مایع شکمبه در تیمار دریافت کننده‌ی باکتری-مخمر و بافر بی‌کربنات از تیمار شاهد کمتر بود (P <۰/۰۵). منطبق با آزمایش حاضر، گزارش شد که الگوی تخمیر شکمبه با شروع اسیدوز به طور چشمگیری تغییر می‌کند و تجمع غلظت اسیدهای چرب فرار با افزایش بوتیرات ایجاد می‌شود (لیو و همکاران ۲۰۱۳). نسبت والرات، ایزووالرات و ایزوبوتیرات در جیره‌ی حاوی بافر بی‌کربنات سدیم نسبت به شاهد در بره‌های پرواری کمتر شد (بوداس و همکاران ۲۰۰۹). مشخص شده که تولید اسیدهای چرب شاخه‌دار (نظیر ایزوبوتیرات، ایزووالرات و والرات) نتیجه فعالیت باکتری‌های آمیلولتیک است (ژانگ و همکاران ۲۰۱۷). بنابراین در جیره‌های فاقد بافر یا باکتری-مخمر به عنوان یک عامل تعدیل کننده pH، افزایش این اسیدهای چرب قابل انتظار است. از طرفی تعدیل کننده‌های pH مانع فعالیت بیش از اندازه آمیلولتیک‌ها شده‌اند(انصاری و همکاران ۲۰۱۱).

به جز LDL بین فراسنجه‌های خونی و سلامت کبد اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۶). غلظت LDL در تیمار شاهد بیشترین مقدار بود و اختلاف معنی‌داری را نسبت به سایر تیمارها نشان داد (P <۰/۰۵). غلظت بیشتر گلوکز خون در طول اسیدوز تحت حاد را می‌توان با افزایش تولید و جذب پروپیونات موجود در شکمبه و همچنین تبدیل آن به گلوکز در روند گلوکونئوژنز کبدی توضیح داد (راینولدس۲۰۰۶). در استفاده از گونه‌ای از

باکتری *مگاسفرا السدنی* در جیره‌ی گاوهای هلشتاین در شرایط اسیدوز، اختلاف معنی‌داری بین گلوکز خون دام‌های مصرف کننده مشاهده نشد (صدیقی و علیپور ۲۰۱۹). با مصرف مخمر *ساکرومایسیس سرویسیه* و مالات در جیره‌های آزمایشی، در مورد غلظت گلوکز خون اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (ملک خواهی و همکاران ۲۰۱۶).

Table 6- The some blood and liver parameters in fattening lambs fed with the experimental diets

Variables	Treatments			SEM	P-value
	Control	Buffer	Me+Sc		
Glucose (mg/dl)	85.08	81.08	87.33	1.32	0.14
BUN (mg/dl)	18.68	19.10	21.10	0.49	0.09
Creatinin (mg/dl)	0.75	0.80	0.79	0.02	0.60
Trigliserid (mg/dl)	19.5	20.11	20.07	0.13	0.09
Cholesterol (mg/dl)	59.91	54.08	58.33	1.26	0.15
HDL (mg/dl)	24.15	25.87	27.83	0.75	0.13
LDL (mg/dl)	21.16[a]	17.25[b]	17.5[b]	0.59	0.007
SGOT (AST) (IU/l)	78.13	80.80	69.66	2.45	0.15
SGPT (ALT) (IU/l)	17.26	16.33	16.26	0.74	0.83
Albumin (g/dl)	3.42	3.35	3.41	0.03	0.58
Protein (g/dl)	7.16	6.16	6.83	0.20	0.12

SEM= standard error of means; BUN= Blood urea nitrogen; Control= without any supplementation, Buffer = sodium bicarbonate supplementation, Me+Sc= *Megasphaera elsdenii*+ *Saccharomyces cerevisiae*
[a,b] Means with different superscripts in the same row differ significantly ($P < 0.05$).

غلظت نیتروژن اوره‌ای خون می‌تواند به‌عنوان شاخص بازده استفاده از پروتئین خوراک در حیوانات باشد (کوهن و همکاران ۲۰۰۵). اختلاف معنی‌داری در غلظت نیتروژن اوره‌ای خون در تیمار محتوی مخمر *ساکرومایسس سرویسیه* نسبت به تیمار شاهد مشاهده نشد (ملک خواهی و همکاران ۲۰۱۶) که با نتایج آزمایش حاضر مطابقت دارد. تفاوت در غلظت نیتروژن اوره‌ای خون ممکن است نتیجه‌ی تفاوت در مصرف نیتروژن در رژیم غذایی (جدول ۳) و نیاز بدن باشد (هی و همکاران ۲۰۱۵) که در آزمایش حاضر نیز این موضوع می‌تواند عامل تفاوت غلظت نیتروژن اوره‌ای خون در بین تیمارها باشد. در بکار بردن بی‌کربنات سدیم و بافرهایی با ظرفیت بالایی از سدیم و پتاسیم در گاوهای شیری، اختلاف معنی‌داری بین فراسنجه‌های خونی مشاهده نشد (زلی و همکاران ۲۰۱۹). تصور می‌شود که اسیدوز شکمبه یکی از دلایل تحریک کننده‌ی ایجاد آبسه‌های کبدی در نشخوارکنندگان است و آنزیم‌های کبدی به عنوان شاخصی از سلامت کبد در نشخوارکنندگان مورد بررسی قرار می‌گیرند؛ این آنزیم‌ها دارای فعالیت بالایی در سیتوزل سلول‌های کبدی می‌باشند و با نکروز شدن و یا آسیب‌های حاد و مزمن سلول‌های کبدی، سطح سرمی این آنزیم‌ها در سرم به دلیل تراوش به خون افزایش می‌یابد (راسل و روسل ۲۰۰۷) در آزمایش حاضر فاکتورهای کبدی تغییری نکرده‌اند و در تیمارهای حاوی بافر و یا باکتری-مخمر به‌طور عددی کم‌تر بودند.

نتیجه گیری کلی

نتایج آزمایش حاضر نشان داد که از نظر کل افزایش وزن و میانگین افزایش وزن روزانه کل دوره، بین تیمارهای آزمایشی تفاوت معنی‌داری وجود نداشت، اما در سه هفته اول در جیره‌های حاوی افزودنی بافری یا میکروبی به ویژه تیمار حاوی باکتری-مخمر، به طور معنی داری بیشتر بود و در طول دوره نیز از نظر عددی بیشتر از سایر تیمارها بود. از طرفی، نتایج مربوط به اسیدهای چرب فرار نشان داد که تیمارهای حاوی باکتری-مخمر با سوق دادن مسیر تخمیر به سمت تبدیل لاکتات به پروپیونات می‌توانند برای سلامت دام و طول عمر اقتصادی آن مفید باشد، هر چند که ظاهرا بر عملکرد تاثیر نداشته باشند. بنابراین استفاده از باکتری مصرف کننده اسیدلاکتیک نظیر *مگالسفرا السدنی*، می‌تواند راه موثری

در تعدیل شرایط تخمیری شکمبه بره‌های پروار تغذیه شده با جیره‌های پر کنسانتره باشد و در آزمایش حاضر اثر آن با بافر بی‌کربنات سدیم در هضم مواد مغذی و عملکرد رشد آن‌ها قابل رقابت بود. شاید استفاده طولانی‌تر از جیره‌های پر کنسانتره بتواند اثرات افزودنی میکروبی را بیشتر نمایان کند.

سپاسگزاری

مقاله حاضر حاصل رساله دانشجویی می‌باشد و از مسئولین محترم دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان بابت همه پشتیبانی‌ها سپاسگزاری می‌شود.

منابع مورد استفاده

AlZahal O, McGill H, Kleinberg A, Holliday JI, Hindrichsen IK, Duffield TF and McBride BW, 2014. Use of a direct-fed microbial product as asupplement during the transition period in dairy cattle. Journal of Dairy Science 97: 7102–7114.

Ansari A, Taghizadeh A and Janmohammadi H, 2011. Effects of different levels of yeast Saccharomyces cerevisiae on ruminal ecosystem and ciliate protozoa population in Ghizel sheep. Iranian Journal of Animal Science Researches 22(1): 53-62.

AOAC. Association of Official Analytical Chemists. Official method of analysis. 15th ed. 1990. Washington DC, USA.

Aschenbach JR, Zebeli Q, Patra AK, Greco G, Amasheh S and Penner GB, 2019. Symposium review: The importance of the ruminal epithelial barrier for a healthy and productive cow. Journal of Dairy Sscience 102(2), 1866-1882.

Beauchemin KA, Yang WZ, Morgavi DP, Ghorbani GR, Kautz W and Leedle JAZ, 2003. Effects of bacterial direct fed microbials and yeast on site and extent of digestion, blood chemistry, and subclinical ruminal acidosis in feedlot cattle. Journal of Animal Science 81: 1628-1640.

Bodas R, Frutos P, Giraldez FJ, Hervas G and Lopez S, 2009. Effect of sodium bicarbonate supplementation on feed intake, digestibility, digest, kinetics, nitrogen balance and ruminal fermentation in young fattening lambs. Spanish journal of Agricultural Research 7(2): 330-341.

Broderick GA and Kang JH, 1980. Automated simultaneous determination of ammonia and total amino acids in ruminal fluid and in vitro media. Journal of Dairy Sscience 63; 64–75.

Calsamiglia S, Blanch M, Ferret A and Moya D, 2012. Is subacute ruminal acidosis a pH related problem? causes and tools for its control. Animal Feed Science and Technology 172, 42–50.

Chaucheyras-Durand F, Walker ND and Bach A, 2008. Effect of active dry yeast on the rumen microbial ecosystem: past, Presetn and Future. Animal Feed Science and Technology 145: 5–26.

Chung YH, Walker ND, McGinn SM and Beauchemin KA, 2011. Differing effects of 2 active dried yeast (Saccharomyces cerevisiae) strains on ruminal acidosis and methane production in nonlactating dairy cows. Journal of Dairy Science 94(5):2431-2439.

Cruywagen CW, Taylor S, Beya MM and Calitz T, 2015. The effect of buffering dairy cow diets with limestone, calcareous marine algae, or sodium bicarbonate on ruminal pH profiles, production responses, and rumen fermentation. Journal of Dairy Sscience 98(8):5506-5514.

Der Bedrosian M, 2009. The effect of sodium bicarbonate or live yeast culture Saccharomyces cerevisiae on the metabolism and production of lactating dairy cows Doctoral dissertation, department Animal science, University of Delaware.

Dhama K, Mahendran M, Tomar S and Chauhan RS, 2008. Beneficial effects of probiotics and prebiotics in livestock and poultry: The current perspectives. Intas Polivet 9: 1-12.

Drouillard JS, Henning PH, Meissner HH and Leeuw KJ, 2012. Megasphaera elsdenii on the performance of steers adapting to a high-concentrate diet, using three or five transition diets. South African Journal of Animal Science 42(2): 195-199.

He ML, Long J, Wang Y, Penner G and McAllister TA, 2015. Effect of replacing barley with wheat grain in finishing feedlot diets on nutrient digestibility, rumen fermentation, bacterial communities and plasma metabolites in beef steers. Livestock Science 176: 104-110.

Kawas JR, Garcia-Castillo R, Fimbres-Durazo H, Garza-Cazares F, Hernandez-Vidal JFG, Olivares-Saenz E and Lu CD, 2007. Effects of sodium bicarbonate and yeast on nutrient intake, digestibility, and ruminal fermentation of light-weight lambs fed finishing diets. Small Ruminant Research 67: 149–156.

Khorasani GR and Kennelly JJ, 2001. Influence of carbohydrate source and buffer on rumen fermentation characteristics, milk yield, and milk composition in late-lactation Holstein cows. Journal of Dairy Sscience 84, 1707–1716.

Kohn RA, Dinneen MM and Russek-Cohen E, 2005. Using blood urea nitrogen to predict nitrogen excretion and efficiency of nitrogen utilization in cattle, sheep, goats, horses, pigs, and rats. Journal of Dairy Sscience 83: 879–889.

Kung L, Kreck EM, Tung RS, Hession AO, Sheperd AC, Cohen MA, Swain HE and Leedle JAZ, 1997. Effects of a live yeast culture and enzymes on in-vitro ruminal fermentation and milk production of dairy cows. Journal of Dairy Sscience 80: 2045-2057.

Liu DC, Zhou XL, Zhao PT, Gao M, Han HQ and Hu HL, 2013. Effects of increasing non-fiber carbohydrate to neutral detergent fiber ratio on rumen fermentation and microbiota in goats. Journal of Integrative Agriculture 12: 319–326.

Malekkhahi M, Tahmasbi AM, Naserian AA, Danesh Mesgaran M, Kleen JL and Parand AA, 2015. Effects of essential oils, yeast culture and malate on rumen fermentation, blood metabolites, growth performance and nutrient digestibility of Baluchi lambs fed high-concentrate diets. Journal of animal physiology and animal nutrition 99(2): 221-229.

Malekkhahi M, Tahmasbi AM, Naserian AA, Danesh-Mesgaran M, Kleen JL, Al-Zahal O and Ghaffari MH, 2016. Effects of supplementation of active dried yeast and malate during sub-acute ruminal acidosis on rumen fermentation, microbial population, selected blood metabolites, and milk production in dairy cows. Animal Feed Science and Technology 213: 29-43.

Mohammadabadi T, Bakhtiari MA and Alimirzaei P, 2018. Isolation and identification of Lactate-Producing and utilizing bacteria from the rumen of najdi goats. Indian Journal of Small Ruminants 24(2): 276-280.

NRC, 2007. Nutrient Requirements of Small Ruminants: Sheep, Goats, Cervids and New World Camelids. National Academy Press, Washington DC.

Paryad A and Rashidi M, 2009. Effect of yeast (Saccharomyces cerevisiae) on apparent digestibility and nitrogen retention of tomato pomace in sheep. Pakistan Journal of Nutrition 8(3): 273-278.

Philippeau C, Lettat A, Martin C, Silberberg M, Morgavi DP, Ferlay A, Berger C and Noziere P, 2017. Effects of bacterial direct-fed microbials on ruminal characteristics, methane emission, and milk fatty acid composition in cows fed high-or low-starch diets. Journal of dairy science 100(4): 2637-2650.

Prabhu R, Altman E, Eiteman MA, 2012. Lactate and acrylate metabolism by Megasphaera elsdenii under batch and steady-state conditions. Appl. Environ. Microbiol 78: 8564–8570.

Puniya AK, Salem AZM, Kumar S, Dagar SS, Griffith GW, Puniya M, Ravella SR, Kumar N, Dhewa T and Kumar R, 2015. Role of live microbial feed supplements with reference to anaerobic fungi in ruminant productivity: A review. Journal of Integrative Agriculture 14: 550-560.

Reynolds CK, 2006. Production and metabolic effects of site of starch digestion in dairy cattle. Animal Feed Science and Technology 130(1-2): 78-94.

Rezaei J, Rouzbehan Y, Fazaeli H and Zahedifar M, 2014. Effects of substituting amaranth silage for corn silage on intake growth performance, dietdigestibility, microbial protein, nitrogen retention and ruminal fermentation in fattening lambs. Animal feed science and technology 192: 29–38.

Rostamzadeh P, 2015. Effects of saccharomyces cerevisiae yeast on digestibility of finishing diets, ruminal and blood metabolites in sheep. Iranian Journal of Animal Science Researches 25(2): 175-188.

Russell KE and Roussel AJ, 2007. Evaluation of the ruminant serum chemistry profile. Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice 23(3): 403-426.

Sedighi R and Alipour D, 2019. Assessment of probiotic effects of isolated Megasphaera elsdenii strains in Mehraban sheep and Holstein lactating cows. Animal Feed Science and Tchnology 248: 126-131.

Tripathi MK, Santra A, Chaturvedi OH and Karim SA, 2004. Effect of sodium bicarbonate supplementation on ruminal fluid pH, feed intake, nutrient utilization and growth of lambs fed high concentrate diets. Animal Feed Science and Technology 111: 27–39.

Van Soest PJ, Robertson JB and Lewis BA, 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and non-starch polysaccharide in relation to animal nutrition. Journal of dairy science 74: 3583–3597.

Yoon IK and Stern MD, 1996. Effects of Saccharomyces cerevisiae and Aspergillus oryzae cultures on ruminal fermentation in dairy cows. Journal of Dairy Sscience 79(3): 411-417.

Zali A, Nasrollahi SM and Khodabandelo S, 2019. Effects of two new formulas of dietary buffers with a high buffering capacity containing Na or K on performance and metabolism of mid-lactation dairy cows. Preventive Veterinary Medicine 163: 87-92.

Zhang Y, Liu K, Hao X and Xin H, 2017. The relationships between odd-and branched-chain fatty acids to ruminal fermentation parameters and bacterial populations with different dietary ratios of forage and concentrate. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition 101(6): 1103-1114.

Comparison of the effect of sodium bicarbonate buffer with *Megasphaera elsdenii* as a rumen-consuming acid on growth performance, digestibility, rumen, and blood parameters of lambs in high concentrate

Omid Khorasani[1], Morteza Chaji[2*] and Farshad Baghban[3]

Received: January 21, 2020 Accepted: March 14, 2020

[1]PhD Student, Department of Animal Science, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Ahvaz, Iran
[2]Associate Professor, Department of Animal Science, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Ahvaz, Iran
[3]Assistant Professor, Department of Veterinary Medicine, Azad University of Yasoj, Yasij, Iran
Corresponding author: E mail: chaji@asnrukh.ac.ir

پژوهش‌های علوم دامی Animal Science Researches

Journal of Animal Science/vol.30 No.2/ 2020/pp 85-99
https://animalscience.tabrizu.ac.ir

OPEN ACCESS

© 2009 Copyright by Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran
This is an open access article under the CC BY NC license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/2.0/)
DOI: 10.22034/AS.2020.11494

Introduction: Subacute acidosis is characterized by pH of 5.5 and below, reduced feed intake and livestock performance, and leads to significant economic losses. Therefore, preventive measures to prevent the occurrence of acidosis and improved digestion of starch such as probiotics and buffers have been considered. The feeding of high fermentable carbohydrates in ruminants resulted in producing high amounts of organic acids in the rumen, followed by a decrease in rumen pH. In the animals not adapted to high levels of carbohydrate fermentation, rumen lactate concentrations increase unacceptably, because populations of lactate-utilizing bacteria such as *Selenomonas ruminantium* and *Megasphaera elsdenii* are low and cannot rapidly match and their proliferation need more time (Chaucheyras-Durand et al. 2008). Reports show that the consumption of live yeast cells of *Saccharomyces cerevisiae* leads to the removal and consumption of oxygen in the rumen environment as well as the release of some essential enzymes, vitamins and other nutrients. These factors can significantly contribute to the proper life and activity of microorganisms in the ruminal environment. It has been suggested that the yeast of *Saccharomyces cerevisiae* may develop the population of *Megasphaera elsdenii* and increase lactate use (Calsamiglia et al. 2012). *Megasphaera elsdenii* prevents the sharp decrease in ruminal pH by consuming lactic acid as a result of lactic acid accumulation (Perbo et al. 2012). Due to the diverse ability of different species of *Megasphaera elsdenii* to produce volatile fatty acids under acidosis, further research can help find new species with high ability to use lactate (Sedighi and Alipour 2019). The use of yeast and bioactive compounds compared with the chemicals can be effective in reducing inflammation caused by acidosis (Aschenbach et al 2019).

Material and methods: Twenty-four Arabic male lambs with four months old and initial body weight of 23.9±3.15 kg were used in a completely randomized design with three treatments and eight replicates. The trial period consisted of 77 days (11 weeks) including 14 days of habituation period and 63 days (9 weeks) of recording period. The lambs were randomly assigned to one of the three treatments: 1-control (no additive) 2-control + Sodium bicarbonate (1% daily diet in two meals) 3-control + *Megasphaera elsdenii* and *Saccharomyces cerevisiae* (bacterial-yeast). The amount of *Megasphaera elsdenii* was 3 ml per animal (4.5×10^8 cfu / ml) plus 2 g of *Saccharomyces cerevisiae* (7×10^9 cfu/g) (DFM) fed to the animals daily in the morning (Sedighi and Alipour 2019). The diets were adjusted using the Small Ruminants Nutrition Requirements (NRC 2007). The lambs were fed

a fully mixed (TMR) ratio of 30% forage and 70% concentrate at two meals (8 and 16 hours) with free access to water. Ruminal fluid was taken by stomach tube at 0, 3 and 6 hours after morning feeding to measure pH and ammonia nitrogen (NH3-N) concentration. The ruminal fluid was analyzed for ammonia-N using a phenol-hypochlorite method (Broderick and Kang 1980). On the last day of the experiment, rumen fluid was taken to measure the concentration of volatile fatty acids (5 ml of rumen fluid with 2 ml of 25% acid metaphosphoric acid (W/V) was mixed and stored at -20 ° C until analysis). Blood sampling was taken from each lamb within 3 h after the morning feeding from the jugular vein by using EDTA as an anticoagulant. Blood samples were analysed for glucose, blood urea nitrogen (BUN), total protein, cholesterol, triglycerides, LDL, HDL, creatinine and liver enzymes including aspartate amino transaminase (AST) and alanine aminotransferase (ALT). During the last seven days of the period, total faeces and urine samples were collected to determine digestibility and nitrogen retention.

Results and discussion: No differences were observed between treatments in dry matter intake (DMI), daily weight gain (ADG), feed conversion ratio, pH and ammonia nitrogen (NH3 – N) (P>0.05). In the first 21 days of the experiment, body weight gain and average daily gain in the bacterial-yeast recipient treatment were significantly higher than the control (P <0.05). Observing a lower concentration of ammonia nitrogen at 3 o'clock than 6 o'clock after feed intake is the result of better use of ammonia nitrogen in the rumen due to the greater supply of carbohydrates available in the rumen. Propionate concentration was higher in the bacteria-yeast treatment than other treatments (P <0.05). *Megasphaera elsdenii* is the only known rumen microorganism that can convert lactate to propionate by the acrylate pathway; when the lactate concentration increases, which produces propionate and acetate and sometimes butyrate from it (Prabhu et al. 2012). The concentrations of butyrate, isobutyrate, isovalerate and rumen valerate in the bacterial-yeast recipient treatment and bicarbonate buffer was lower than the control treatment (P <0.05). The production of branched-chain fatty acids (such as isobutyrate, isovalerate, and valerate) has been shown to be the result of the activity of amylolytic bacteria (Zhang et al. 2017). Protein digestibility was higher in control and bacteria-yeast treatments than in buffer treatment (P <0.05). Low-density lipoprotein (LDL) was lower in buffer and bacteria-yeast treatments than in control treatment (P <0.05). Nitrogen retention was higher in the bacteria-yeast treatment than in the other treatments (P <0.05). Significance of nitrogen retention in the bacterial-yeast recipient treatment can be attributed to the decrease in ruminal ammonia nitrogen concentration, which appears to be due to increased nitrogen incorporation in the microbial protein, which is a logical consequence of increased rumen microbial activity (Paryad and Rashidi 2009). Liver factors that are considered as an indicator of liver health were numerically lower in treatments containing buffer or bacterial-yeast.

Conclusion: The use of acid-consuming bacteria can be an effective way to modify rumen fermentation conditions of lambs fed with high concentrate diets. In the present experiment, the effect of acid-consuming bacteria was competitive with the sodium bicarbonate chemical buffer on nutrient digestion and growth performance. Results from volatile fatty acids showed that bacteria-yeast treatments by leading the fermentation pathway to convert lactate to propionate could be beneficial for livestock health and its economic longevity.

Keywords: Buffer, Lambs, *Megasphaera elsdenii*, Ruminal acidosis, *Saccharomyces cerevisiae*