نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد 8، شماره 2، تابستان 1395، ص. 270-258

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 8, No. 2, Summer 2016, p. 258-270

# اثر مونسین یا پروتکسین بر فراسنجه‌های تولید گاز یونجه و جو در محیط کشت خالص قارچ‌های شکمبه

سعید سبحانی راد[1*] - مهدی الهی ترشیزی[2]

تاریخ دریافت: 1394/05/22
تاریخ پذیرش: 1394/12/22

## چکیده

در این پژوهش، اثر سطوح مختلف مونسین سدیم (نوعی آنتی بیوتیک یونوفری) یا پروتکسین (نوعی پروبیوتیک) بر فرآیند تخمیر و تخمین فراسنجه‌های تولید گاز یونجه، جو و مخلوط یونجه+جو در شرایط برون تنی بررسی شد. تیمارهای آزمایشی شامل گروه شاهد (خوراک‌های پایه بدون افزودنی)، خوراک های پایه + مونسین سدیم (500 یا 1000 میلی گرم در کیلوگرم ماده خشک) و خوراک های پایه + پروتکسین (500 یا 1000 میلی گرم در کیلوگرم ماده خشک) بودند. مقادیر تولید گاز با استفاده از آزمون تولید گاز در محیط کشت خالص قارچ‌های شکمبه گوسفند اندازه گیری شد. نتایج این پژوهش نشان داد سطح 1000 میلی گرم در کیلوگرم مونسین سدیم سبب کاهش معنی دار تولید گاز از بخش قابل تخمیر، هضم‌پذیری ماده آلی، انرژی قابل متابولیسم و کل تولید گاز علوفه یونجه و دانه جو نسبت به دیگر تیمارها شد، اما سطح 1000 میلی گرم در کیلوگرم پروتکسین مکمل شده به دانه جو تولید گاز از بخش قابل تخمیر، کل تولید گاز، هضم پذیری ماده آلی و انرژی قابل متابولیسم را در حضور قارچ‌های شکمبه بطور معنی‌داری افزایش داد. با توجه به نتایج آزمایش حاضر، به نظر می رسد پروبیوتیک پروتکسین سبب افزایش تولید گاز مواد خوراکی در محیط کشت قارچ های شکمبه در مقایسه با انتی بیوتیک مونزین شد. بنابراین، انجام آزمایشات بیشتر به منظور بررسی جایگزینی پروبیوتیک ها با آنتی بیوتیک ها بر فراسنجه‌های تخمیری و جمعیت میکروبی شکمبه در شرایط برون تنی و درون تنی ضروری به نظر می رسد.

**واژه های کلیدی:** آنتی بیوتیک، برون تنی، پروبیوتیک، فراسنجه های تولید گاز، قارچ های شکمبه.

## مقدمه

آنتی‌بیوتیک‌های یونوفری مانند مونسین موثرترین تغییر دهنده جمعیت میکروبی و الگوی تخمیر در شکمبه شناخته می شوند (18). این ترکیبات جهت پیشگیری از بروز کوکسیدیوز به جیره طیور و دست کاری در اکوسیستم شکمبه به جیره نشخوارکنندگان افزوده می شوند. آنتی‌بیوتیک‌های یونوفری به خصوص مونسین سدیم عوامل ضد میکروبی هستند که به طور وسیع‌تری جهت دستکاری جمعیت میکروبی شکمبه بکار گرفته می‌شوند (26). آزمایشات مختلفی گزارش کرده اند که استفاده از مونسین سبب افزایش وزن و بهبود ضریب تبدیل خوراک شده است (5، 8 و 11). یکی از اشکالات اساسی استفاده از یونوفرها در تغذیه دام، این است که استفاده بلندمدت آنتی بیوتیک‌ها موجب بروز مقاومت‌های ژنتیکی در میکروب‌های بیماری‌زا می‌گردد و ممکن است مصرف فراورده های دامی در انسان را با خطر مواجه سازد. زمان استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها با توجه به میزان باقیماندهٔ آن در فرآورده های دامپروری نیز باید دقیقاً رعایت شود (6). به همین دلیل، استفاده از افزودنی های دیگری جایگزین آنتی بیوتیک‌ها در تغذیه دام مورد توجه قرار گرفت که یکی از مهمترین آن ها مکمل های پروبیوتیکی می باشد.

پروبیوتیک‌ها، میکروارگانیسم‌های مفیدی هستند که با روش تغذیه مستقیم وارد دستگاه گوارش حیوانات می‌شوند تا از استقرار میکروارگانیزمهای نامطلوب دستگاه گوارش جلوگیری شود (28). پروبیوتیکها انواع باکتریایی، قارچی و مخمری دارند که با الهام از شرایط طبیعی میکروارگانیسم‌ها در دستگاه گوارش تهیه شده اند. برخی از اثرات سودمند پروبیوتیک‌ها عبارتند از: تحریک رشد باکتری‌های شکمبه با تولید اسیدهای آلی نظیر فومارات و مالات و حذف اکسیژن اضافی از شکمبه، کاهش تولید متان، پایداری pH شکمبه، افزایش تعداد باکتری‌های سلولایتیک و رشد و فعالیت قارچ-های بی‌هوازی شکمبه (28). همچنین مزیت استفاده از پروبیوتیک‌ها

1- استادیار گروه علوم دامی، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران،
2- استادیار گروه علوم دامی، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران.
(*- نویسنده مسئول: Email: sobhanirad@gmail.com)

این است که در دام باقیمانده بافتی نداشته و سبب مقاومت انتی بیوتیکی در انسان نخواهد شد (28). ساز و کار پروبیوتیک ها در شکمبه، شامل تغییر الگوی تخمیر شکمبه (20 و 33)، تولید ترکیبات مهار کننده مانند اسیدهای‌چرب زنجیره کوتاه (استات، لاکتات، پروپیونات، سوکسینات و بوتیرات)، پراکسید هیدروژن و ترکیبات باکتریوسین (1و 28)، افزایش تامین ویتامین‌ها (6) و بهبود رشد قارچ‌های شکمبه (22) می‌باشد.

قارچ‌های شکمبه برای اولین بار در سال 1910 توجه قارچ‌شناسان را به خود جلب کردند. بعدها به دلیل محتوای کیتین در دیواره سلولی، این قارچ‌ها در گروه قارچ های حقیقی طبقه بندی شدند. تحقیقات نشان داده است که قارچ‌های شکمبه به دلیل وجود آنزیم های سلولایتیک قادر به تجزیه الیاف گیاهی می باشند (2). این قارچ‌ها بهتر از باکتریها و پروتوزوآ در الیاف گیاهی نفوذ می کنند. چنین نفوذی موجب تجزیه بهتر و سریع‌تر فیبر درون شکمبه می گردد. تجزیه دیواره های سلولی حاوی لیگنین نیز از ویژگی‌های مهم قارچ‌های شکمبه می باشد (21). همچنین برای تجزیه و استفاده از دیواره سلول گیاهی، قارچ‌های شکمبه طیف وسیعی از سلولازها، همی سلولازها، پروتئازها، آمیلازها و آمیلوگلیکوزیدازها و پکتینازها را ترشح می‌کنند (20 و 33).

با توجه به اینکه روند روبه‌رشد استفاده از فرآورده های پروبیوتیکی با توجه به کارایی بالای آن‌ها در ارتقای سطح سلامت جامعه بسیار چشمگیر است. از طرفی پروبیوتیک‌ها، در بهبود تخمیر و هضم میکروبی در شکمبه نشخوارکنندگان نقش موثری دارند (20، 28 و 32)، در این پژوهش جایگزینی آنها با آنتی‌بیوتیک‌ها و مقایسه اثرات آنها (روند تولید گاز و گوارش‌پذیری) در محیط کشت قارچ‌های جداشده از شکمبه مورد بررسی قرار گرفت.

## مواد و روش‌ها

تعیین ترکیب شیمیایی مواد خوراکی: مواد خوراکی مورد آزمایش شامل علوفه یونجه و دانه جو بودند که پس از خشک نمودن با استفاده از آسیاب (Foss Co., Germany) با الک 2 میلیمتری آسیاب شدند. ترکیب شیمیایی نمونه‌های خوراکی مورد آزمایش ( از هر نمونه 3 تکرار) با استفاده از روش‌های استاندارد (AOAC, 2005) اندازه‌گیری شد و نتایج به دست آمده درجدول (2-1) نشان داده شده است. ماده خشک نمونه‌های آزمایشی در آون (Mammert,Germany) در دمای 60 درجه سانتی‌گراد به مدت 72 ساعت و خاکستر با استفاده از کوره الکتریکی در دمای 550 درجه سانتی‌گراد به مدت 3 ساعت اندازه‌گیری شد (1). پروتئین خام با روش کجلدال توسط دستگاه کجلدال اتومات (Foss Co., Germany) و چربی با روش سوکسله توسط دستگاه سوکسله اتومات ( Foss Co., Germany) با استفاده از هگزان به عنوان حلال تعیین شد. الیاف نامحلول در شوینده خنثی و اسیدی با روش ون سوست و همکاران (32) تعیین گردید.

**جدول 1**- ترکیب شیمیایی نمونه‌های خوراکی مورد آزمایش

**Table 1**- Chemical composition of experimental feed samples

| ماده خوراکی Feed stuff | ماده خشک DM % | پروتئین خام CP % | چربی خام EE % | الیاف نامحلول در شوینده خنثی NDF % | الیاف نامحلول در شوینده اسیدی ADF % | خاکستر Ash % | کربوهیدرات‌های غیر فیبری NFC[1] |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| علف خشک یونجه Alfalfa hay | 90 | 17.7 | 2.3 | 46.3 | 37.3 | 8.1 | 25.6 |
| دانه جو Barley grain | 91 | 10.5 | 2.2 | 21.8 | 7.1 | 2.9 | 62.6 |

[1]NFC= 100- (%NDF+%CP+%EE+%Ash)

تهیه مواد آزمایشی: آنتی‌بیوتیک مورد آزمایش، مونسین سدیم حاوی 10 درصد ماده موثر با نام تجاری رومنزین 100 (کمپانی Elanco، ایالات متحده آمریکا) و پروبیوتیک مصرفی در این آزمایش، پروتکسین محصول انگلستان ( Probiotics International Ltd, UK) بوده است. این پروبیوتیک شامل 7 گونه از باکتری‌های مفید دستگاه گوارش شامل لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس[1]، لاکتوباسیلوس رامنوسوش[2]، لاکتوباسیلوس بولگاریکوس[3]، لاکتوباسیلوس پلانتاروم[4]، بیفیدوباکتریوم بیفیدوم[5]، انتروکوکوس فاسیوم[6] و استرپتوکوکوس ترموفیلوس[7] و سویه‌های قارچی شامل آسپرژیلوس اریزا[1] و کاندیدا

1- *Lactobacillus acidophilus*,

2- *Lactobacillus rhamnosusgh*
3-*Lactobacillus bulgaricus*
4- *Lactobacillus plantarum*
5- *Bifidobacterium bifidum*
6- *Enterococcus faecium*
7 *Streptococcus thermophilus*

پنتولوپسی[2] می‌باشد. یک گرم از این پروبیوتیک حاوی $1\times10^9$ پرگنه بود.

**اعمال تیمارهای آزمایشی**

تیمارهای آزمایشی شامل افزودن سطوح مختلف مونسین سدیم (0، 500 و 1000 میلی گرم بر کیلوگرم ماده خشک نمونه خوراک) یا سطوح مختلف پروبیوتیک پروتکسین (0، 500 و 1000 میلی گرم بر کیلوگرم ماده خشک نمونه خوراک)، به نمونه‌های خوراک (شامل یونجه خشک، دانه جو و مخلوط 50:50 یونجه و جو) در محیط کشت حاوی قارچ‌های شکمبه و بزاق مصنوعی بود که در قالب طرح کاملا تصادفی ساده اعمال شدند. دو نمونه شاهد منفی (تنها حاوی قارچ‌های شکمبه و بزاق مصنوعی بدون نمونه خوراک) نیز جهت کنترل داده‌ها در حمام بن ماری قرار گرفتند. بنابراین تیمارهای آزمایشی برای هر نمونه خوراک ( از هر تیمار آزمایشی 4 تکرار) عبارت بود از: 1ـ تیمار شاهد (حاوی قارچ‌های شکمبه و بزاق مصنوعی)، 2ـ قارچ‌های شکمبه و بزاق مصنوعی + 500 میلی گرم در کیلوگرم مونسین، 3ـ قارچ‌های شکمبه و بزاق مصنوعی + 500 میلی گرم در کیلوگرم مونسین، 4- قارچ‌های شکمبه و بزاق مصنوعی + 500 میلی گرم در کیلوگرم پروتکسین و 5- قارچ‌های شکمبه و بزاق مصنوعی + 1000 میلی گرم در کیلوگرم پروتکسین. آزمایشات نیز در 3 نوبت انجام شد.

**آماده‌سازی نمونه خوراک و سرنگ‌ها**

جهت اندازه‌گیری تخمیر از سرنگ‌های شیشه‌ای مدرج مخصوص با حجم 100 میلی لیتر (Fortuna, Häberle Labrortechnik, Lonsee-Ettlenschie, Germany) استفاده گردید. روز قبل از آزمایش 300 میلی گرم از ماده‌ی خشک نمونه خوراک‌های پایه‌ی مورد آزمایش داخل هر شیشه ریخته شد(15). سپس هر کدام از تیمارهای آزمایشی وزن‌کشی و به داخل سرنگ حاوی خوراک مورد نظر اضافه شد.

**تهیه نمونه مایع شکمبه**

مایع شکمبه از دو رأس گوسفند (2/5±49/5 کیلوگرم وزن زنده) که دارای فیستولای شکمبه‌ای بودند قبل از وعده‌ی خوراک‌دهی صبح گرفته شد. حیوانات روزانه با یک کیلوگرم یونجه و 0/3 کیلوگرم کنسانتره (شامل 65% دانه جو، 17% کنجاله سویا، 6% سبوس، 0/5% آهک، 0/1% نمک و 0/5% مکمل معدنی و ویتامینه) بر اساس ماده‌ی خشک تغذیه می‌شدند. مایع شکمبه جمع آوری شده از گوسفندان به نسبت مساوی با یکدیگر مخلوط و فوراً به وسیله پارچه متقال چهار لایه صاف شد و در فلاسک مخصوص به آزمایشگاه منتقل شد. سپس ظرف محتوی مایع شکمبه در آب گرم 39 درجه سانتی‌گراد قرار داده شد (15).

**تهیه قارچ‌های خالص شکمبه ای**

به‌منظور جداسازی قارچ های شکمبه ، بعد از گرفتن مایع شکمبه و صاف کردن آن ، ابتدا پروتوزواها با سانتریفیوژ نمونه‌های مایع شکمبه با 1000 دور در دقیقه به مدت 10 دقیقه جداسازی شد. سپس به مایع رویی حاصله، محلول آنتی‌بیوتیک (پنی‌سیلین، استرپتومایسین و کلرامفنیکل هر کدام به مقدار 0/1 میلی‌گرم در میلی لیتر) به محیط کشت اضافه شد. محلول نهایی به دست آمده حاوی قارچ‌های بی‌هوازی شکمبه بود (14 و 35).

**تهیه بزاق مصنوعی**

جهت تهیه مخلوط بزاق مصنوعی مطابق روش منک و استینگاس (15) روز قبل از آزمایش به میزان500 میلی لیتر شامل آب مقطر (237 میلی لیتر)، مواد معدنی پرنیاز (118/5 میلی لیتر)، محلول بافر (118/5 میلی لیتر)، مواد معدنی کم نیاز (0/06 میلی لیتر)، رزوزارین (0/61 میلی لیتر)، به طور جداگانه تهیه گردید و از قبل آماده و در دمای 4 درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. لازم به ذکر است محلول احیاکننده (25 میلی لیتر شامل: 23/8 میلی لیتر آب مقطر، 1 میلی‌لیتر سود 1 نرمال و 142/5 میلی‌گرم سولفید سدیم) در روز آزمایش تهیه و به مخلوط بزاق مصنوعی و قارچ‌های شکمبه به شیشه ها افزوده شد.

تزریق مخلوط بزاق مصنوعی و مخلوط قارچ‌های شکمبه در سرنگ‌ها: در روز انجام آزمایش با توجه به تعداد شیشه‌های موجود و در نظر گرفتن 30 میلی لیتر از مخلوط حاوی قارچ‌های خالص جداشده از مایع شکمبه و بزاق مصنوعی جهت پر نمودن داخل شیشه‌ها، ابتدا محلول‌ها با نسبت های از پیش تعیین شده در یک بالن دو لیتری با هم مخلوط شده و سپس محلول احیا کننده که به صورت تازه تهیه شده بود به مخلوط اضافه شد. جریان گاز کربنیک تا زمانی که شرایط بی‌هوازی به طور کامل برقرار گردد و رنگ معرف رزازورین از آبی به بی‌رنگ تبدیل شود، ادامه یافت. سپس مخلوط حاوی قارچ‌های جداشده و بزاق مصنوعی به نسبتهای 1 به 2 با هم مخلوط شدند و مقدار 30 میلی لیتر از مخلوط مورد نظر به هر کدام از شیشه‌ها منتقل شدند (16). در این پژوهش مخلوط کردن مداوم محتویات شیشه‌ها خصوصاً در زمان‌های اولیه، به صورت دستی انجام شد.

1 *Aspergillus oryzae*
2 *Candida pintolopessi*

گرم خانه گذاری شیشه‌ها و ثبت روند تولید گاز: برای انجام آزمایش تولید گاز 300 میلی‌گرم از تیمارهای آزمایشی در زمان‌های 3، 6، 16، 24، 48 ، 72 ، 96 و 120 ساعت تا 120 ساعت در حمام آب گرم، گرم‌خانه‌گذاری شدند. حجم گاز تولیدی در زمان‌های مختلف به صورت تولید کل محاسبه شد. اندازه‌گیری تولید گاز در تیمارهای آزمایشی بر اساس روش منک و استینگاس (15) با استفاده از معادله 1 انجام شد.

$$Y = A * (1 \quad \exp( \quad (c * TIME)]) \qquad (1)$$

که در معادله فوق p حجم تولید گاز در زمان t (ساعت)، A کل گاز تولیدی (بر حسب میلی‌لیتر)، c نرخ تولید گاز (درصد) و t مدت زمان قرار دادن نمونه می‌باشد.

همچنین، گوارش‌پذیری ماده آلی (معادله 2) و انرژی قابل سوخت و ساز (معادله 3) مواد خوراکی با استفاده از معادله منک و استینگس (15)، محاسبه شد:

(2)

هضم (g\kgOM) =148.8 +8.89 GP + 4.5 CP + 0.651A پذیری ماده آلی

(3)

(Mj\kgDM) =2.2 + 0.136 GP + 0.057 CP + 0.0029 $CP^2$ انرژی قابل متابولیسم

که در روابط بالا،CP مقدار پروتئین خام (گرم در 100 گرم ماده خشک)، A خاکستر خام (گرم در 100 گرم ماده خشک) و GP نرخ خالص تولید گاز (میلی لیتر به ازای 300 میلی گرم ماده خشک نمونه) بعد از 24 ساعت می باشد.

## تجزیه و تحلیل آماری

ضرایب تولید گاز با نرم افزار آماری SAS 9/1 بر اساس فرمول شماره 1 محاسبه شد (27) و مقایسه داده‌های ضرایب و حجم تولید کل گاز تولیدی در قالب طرح کاملا تصادفی (با مدل آماری شماره 4) با استفاده از آزمون دانکن در سطح 5 درصد انجام شد. مقایسات اورتاگنال نیز بین گروه شاهد با سایر تیمارها، تیمارهای حاوی مونانسین در مقایسه با تیمارهای حاوی پروتکسین، مقایسه دو سطح مونانسین با هم و مقایسه دو سطح پروتکسین با هم انجام شد.

$$Y=\mu+T_i+e_{ij} \qquad (4)$$

در مدل فوق، μ میانگین، Ti اثر تیمار و eij اثر خطای آزمایشی می باشد.

## نتایج و بحث

### اثر مونانسین و پروتکسین بر تولید گاز یونجه در محیط کشت خالص قارچ‌های شکمبه

فراسنجه‌های تولید گاز مربوط به نمونه های یونجه مکمل شده با سطوح مختلف مونانسین سدیم و پروتکسین در جدول 2 نشان داده شده است. نتایج این مرحله از آزمایش نشان داد که سطح بالای آنتی‌بیوتیک مونانسین سدیم ( 1000 میلی گرم در کیلوگرم) سبب کاهش معنی‌دار تولید گاز از بخش قابل تخمیر (b)، نرخ تولید گاز (c) و مقدار تولید کل گاز نسبت به گروه شاهد و دیگر تیمارها شد، اما مقدار هضم‌پذیری ماده آلی و انرژی قابل متابولیسم کاهش معنی‌دار نسبت به گروه شاهد مشاهده شد. بیشترین مقدار تولید گاز از بخش قابل تخمیر (b)، نرخ تولید گاز (c)، میزان تولید کل گاز، گوارش-پذیری ماده آلی و انرژی قابل سوخت و ساز نیز مربوط به گروه شاهد ( یونجه بدون هر گونه افزودنی ) بود (P<0/05). همچنین مقایسات گروهی تیمارها نشان داد اختلاف معنی داری در تولید گاز از بخش قابل تخمیر (b) و نرخ تولید گاز (c) بین تیمارهای حاوی مونانسین سدیم و پروتکسین مشاهده شد (P<0/05)، به طوری که تولید گاز از بخش قابل تخمیر (b) در تیمارهای حاوی پروتکسین بیشتر ولی نرخ تولید گاز (c) در تیمارهای حاوی مونانسین سدیم بیشتر بود. با مقایسه دو سطح مونانسین سدیم نیز اختلاف معنی داری در فراسنجه‌های تولید گاز از بخش قابل تخمیر (b)، نرخ تولید گاز (c) و میزان تولید کل گاز پس از 120 ساعت بین تیمارهای حاوی سطوح مونانسین سدیم مشاهده شد (P<0/05). واگنونی وهمکاران (28) با افزودن مونانسین، کاهش در مقدار ناپدید شدن ماده خشک و دیواره سلولی را مشاهده کردند ولی اثری بر نرخ هضم در گوساله های پرواری نداشت. ویشر و همکاران (34) نیز با انجام دو آزمایش برون تنی نشان دادند که مونانسین سبب کاهش تولید گاز کل در محیط کشت حاوی سیلاژ ذرت در مقایسه با مخلوط 14 به 8 سیلاژ ذرت با کنسانتره شد. در یک آزمایش برون تنی با مکمل کردن 313 میلی‌گرم در هر کیلوگرم خوراک از مونانسین به علوفه و سبوس گندم افزایش در تولید گاز را مشاهده کردند، گرچه سطوح بالاتر از 313 میلی گرم مونانسین در هر کیلوگرم خوراک مقدار گاز تولید کل را کاهش داد (13). در مقابل، ایفاگوئر و کلارک (10) هیچ اثری را از مونانسین بر گوارش پذیری مواد مغذی درعلوفه‌های مختلف در گوساله های هلشتاین مشاهده نکردند. بنابراین در آزمایش حاضر، روند تولید گاز (شکل1) در تیمارهای مربوطه نشان می دهد در ساعت های اولیه (3 ساعت پس از انکوباسیون) کمترین تولید گاز در تیمار حاوی سطح بالای پروتکسین رخ داده است. بیشترین تولید گاز کل نیز در گروه شاهد (یونجه بدون هر گونه افزودنی) توسط قارچ‌های شکمبه تولید شد (P<0/05)، هرچند اختلاف معنی داری با تولید گاز کل توسط تیمار حاوی پروتکسین 500 میلی گرم در کیلوگرم نداشت.

**اثر مونسین و پروتکسین بر تولید گاز جو در محیط کشت خالص قارچ‌های شکمبه**

نتایج این مرحله از آزمایش (جدول 3) نشان داد بیشترین تولید گاز از بخش قابل تخمیر (b ) توسط قارچ‌های شکمبه در تیمار حاوی 1000 میلی گرم پروتکسین و کمترین تولید گاز از بخش قابل تخمیر (b) با افزودن سطح 1000 میلی گرم در کیلوگرم آنتی‌بیوتیک مونسین سدیم به دانه جو تولید شد (P<0/05). ثابت نرخ تولید گاز (c ) در تیمارهای حاوی افزودنی های آنتی‌بیوتیک و پروبیوتیک به دانه جو در تیمار دارای سطح بالای پروبیوتیک (تیمار حاوی 1000 میلی‌گرم پروتکسین) کمترین مقدار و در تیمار حاوی 500 میلی‌گرم در کیلوگرم مونسین سدیم، بیشترین مقدار بود (P<0/05). همچنین داده‌های جدول 3 نشان داد کمترین حجم تولید گاز توسط قارچ‌های شکمبه در تیمار حاوی 1000 میلی‌گرم در کیلوگرم مونسین سدیم تولید شد (P<0/05)، اما بین سایر تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. مقایسات گروهی تیمارها نیز نشان داد هر دو سطح مونسین سدیم قادر به تغییر معنی دار گوارش پذیری ماده آلی و انرژی قابل متابولیسم دانه جو و نیز تولید گاز کل پس از 120 ساعت شدند (P<0/05). اختلاف معنی داری نیز در تولید کل گاز و تولید گاز از بخش قابل تخمیر بین تیمارهای حاوی مونسین سدیم و پروتکسین مشاهده شد (P<0/05).

روند تولید گاز (شکل 2 ) در تیمارهای مربوطه نشان می‌دهد در ساعت‌های اولیه (24 ساعت پس از شروع انکوباسیون) سطح 500 میلی‌گرم در کیلوگرم مونسین سدیم سبب بیشترین تولید گاز در دانه جو توسط قارچ‌های شکمبه ای شده است، اما در ساعت‌های انتهایی انکوباسیون تولید گاز در تیمار مذکور همانند سایر تیمارها بوده است.

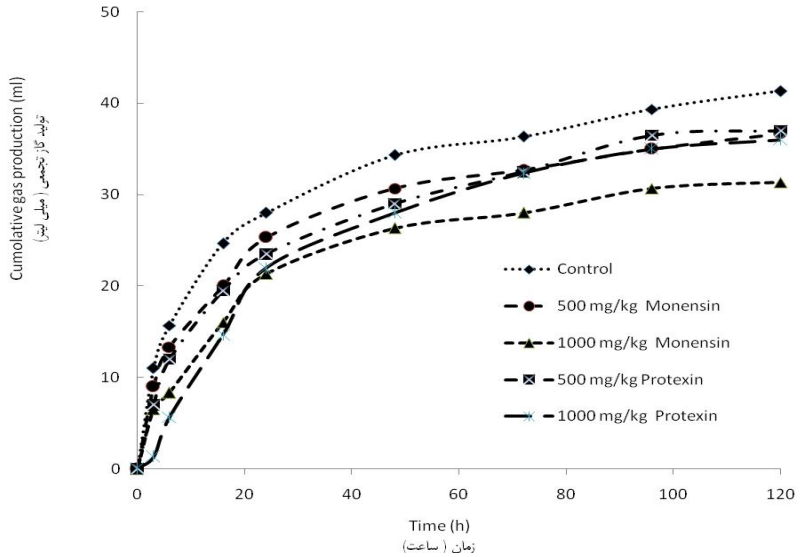
**جدول 2-** اثر سطوح مختلف مونسین و پروتکسین بر مقادیر تولید گاز، هضم‌پذیری ماده آلی و انرژی قابل متابولیسم علوفه یونجه[1]

**Table 2-** Effect of different levels of monensin and protexin on gas production parameters, organic digestibility and metabolisable energy of alfalfa hay[1]

| تیمارهای آزمایشی Experimental Treatments | فراسنجه‌های تولید گاز Gas production parameters | | تولید تجمعی گاز پس از 120 ساعت (میلی لیتر به ازای 0/3 گرم) Cumolative gas production (ml/0.3 g) | برآورد انرژی قابل سوخت و ساز (مگاژول در کیلوگرم ماده خشک) Metabolisable energy (Mj/kg DM) | برآورد گوارش‌پذیری ماده آلی (گرم در کیلوگرم ماده آلی) Organic digestibility (g/kg OM) |
|---|---|---|---|---|---|
| | تولید گاز از بخش قابل تخمیر (میلی لیتر به ازای 0/3 گرم) b | نرخ تولید گاز (میلی لیتر در ساعت) c | | | |
| شاهد Control | 38.28[a] | 0.065[a] | 41.33[a] | 7.92[a] | 482.64[a] |
| 500 میلی گرم در کیلوگرم مونسین سدیم 500 mg/kg sodium monensin | 34.83[c] | 0.058[b] | 36.66[ab] | 7.56[ab] | 458.93[ab] |
| 1000 میلی گرم در مونسین سدیم کیلوگرم 1000 mg/kg sodium monensin | 31.14[d] | 0.044[c] | 31.33[c] | 7.01[b] | 423.37[b] |
| 500 میلی گرم در کیلوگرم پروتکسین 500 mg/kg protexin | 35.57[bc] | 0.047[c] | 37.00[ab] | 7.31[ab] | 442.63[ab] |
| 1000 میلی گرم در کیلوگرم پروتکسین 1000 mg/kg protexin | 36.99[ab] | 0.032[d] | 36.00[bc] | 7.10[ab] | 429.30[ab] |
| SEM** | 0.692 | 0.002 | 1.52 | 0.23 | 15.66 |
| P value | 0.028 | 0.012 | 0.028 | 0.021 | 0.011 |
| مقایسه و اثر Comparison and Effect | | | | | |
| شاهد در مقایسه با سایر تیمارها Control vs. Other treatments | * | * | * | * | * |
| مونسین در مقایسه با پروبیوتیک Monensin vs. Probiotic | * | * | ns | ns | ns |
| مقایسه دو سطح مونسین 500 VS. 1000 mg/kg of Monensin | * | * | * | ns | ns |
| مقایسه دو سطح پروبیوتیک 500 VS. 1000 mg/kg of Probiotic | ns | * | ns | ns | ns |

[1]میانگین‌های هر ستون با حروف غیر مشابه دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند (P <0/05).

[1]Means within same column with different superscripts differ (P<0.05).
Standard Error of Mean
*: P<0.05, ns: non-significant.




**شکل 1-** اثر سطوح مختلف مونسین سدیم و پروتکسین بر روند تولید کل گاز (میلی لیتر در 0/3 گرم ماده خشک) یونجه توسط قارچ‌های شکمبه پس از 120 ساعت
**Figure 1**- Effect of different levels of monensin and protexin on cumulative gas production process (ml/ 0.3 g DM) of alfalfa by ruminal fungi after 120 hours

کمترین مقدار برآوردشده ماد ه آلی و انرژی قابل سوخت و ساز نیز مربوط به تیمار حاوی حاوی 1000 میلی‌گرم در کیلوگرم مونسین سدیم به دانه جو در حضور قارچ‌های شکمبه تولید شد (P<0/05)، اما افزودن 1000 میلی‌گرم در کیلوگرم پروتکسین سبب افزایش گوارش پذیری ماده آلی و انرژی قابل متابولیسم دانه جو در حضور قارچ‌های شکمبه شد (P>0/05). کوین و همکاران (23) نیز در تیمارهای ذرت ورقه شده با بخار حاوی مونسین، 5/9% تولید گاز کمتر نسبت به گروه کنترل مشاهده کردند. در یک آزمایش بر روی گوساله ها افزودن مونسین سدیم به جیره های متراکم، سبب کاهش هضم پروتئین در شکمبه شد (22).

## اثر مونسین و پروتکسین بر تولید گاز یونجه+ جو در محیط کشت خالص قارچ‌های شکمبه

نتایج این مرحله از آزمایش (جدول 4) نشان داد بیشترین تولید گاز از بخش قابل تخمیر (b)، توسط قارچ‌های شکمبه در تیمار حاوی 1000 میلی‌گرم پروتکسین تولید شد، همچنین با افزایش سطح مونسین و پروتکسین تمامی فراسنجه‌های تولید گاز، گوارش‌پذیری ماده آلی و انرژی قابل متابولیسم افزایش یافت (P<0/05). لازم به ذکر است نتایج جدول 4 نشان می دهد افزایش سطح مونسین و پروتکسین باعث افزایش معنی‌دار تولید گاز از بخش قابل تخمیر شد. همچنین نتایج این جدول نشان داد که با مکمل‌سازی پروبیوتیک، ثابت نرخ تولید گاز یا به عبارت دیگر نرخ تخمیر نسبت به گروه شاهد کاهش داشت (P<0/05)، اما در تیمارهای حاوی مونسین سدیم، کاهش معنی‌دار نرخ تخمیر تنها در تیمار حاوی 1000 میلی گرم در کیلوگرم، مشاهده شد. تاثیر مکمل‌سازی سطوح مختلف مونسین سدیم و پروتکسین بر میزان تولید گاز تولید کل علوفه یونجه+دانه جو نشان داد که اختلاف معنی‌داری در میزان گاز کل در تیمارهای مربوط به علوفه یونجه+دانه جو دیده می‌شود، به‌طوری‌که کمترین مقدار گاز در تیمار حاوی 500 میلی گرم در کیلوگرم آنتی‌بیوتیک مونسین سدیم و بیشترین مقدار تولید گاز کل توسط قارچ‌های شکمبه در تیمار حاوی 1000 میلی گرم پروتکسین و گروه شاهد (قارچ‌های شکمبه و بزاق مصنوعی) تولید شد (P<0/05) (شکل 3 و جدول 4). مقایسات گروهی تیمارها نیز نشان داد گروه شاهد سبب افزایش تولید گاز از بخش قابل تخمیر، نرخ تولید گاز، گوارش‌پذیری ماده آلی و انرژی قابل متابولیسم علوفه یونجه+دانه جو ، اختلاف معنی داری با سایر تیمارهای آزمایش شده است (P<0/05).

با مقایسه نتایج حاصل از این آزمایش، اثر پروتکسین بر محیط کشت حاوی دانه جو معنی دار بود، به طوری که این احتمال وجود دارد که مقدار بالای کربوهیدرات غیر الیافی بالا در دانه جو در مقایسه

با یونجه (به ترتیب 62/6 و 25/6 درصد) (20)، دامنه وسیع آنزیمی قارچ های شکمبه (31) و نیز تنوع باکتریایی پروبیوتیک مورد استفاده در این آزمایش (20 و 31) سبب شده تا فعالیت میکروبی پروتکسین سبب افزایش گوارش پذیری دانه جو شده باشد. همچنین باکتری‌های مورد استفاده در پروتکسین بیشتر باکتری‌های تولید کننده اسید لاکتیک می باشند (28)، به عنوان مثال سویه‌هایی که به عنوان پروبیوتیک در این محصول استفاده شده اند معمولاً به جنس‌های لاکتوباسیلوس، انتروکوکوس وبیفیدوباکتریوم تعلق دارند. این باکتری‌های اسید لاکتیک به طور مشخص کموارگانوتروفیک بوده وکربوهیدرات‌ها را تخمیر کرده و محصول نهایی اصلی آنها اسید لاکتیک می باشد. لاکتوباسیلوس و انتروکوکوس از مهمترین باکتری‌های تولیدکننده اسیدلاکتیک هستند (28). بیفیدوباکترها نیز قادر به تولید اسید لاکتیک هستند، ولی بیشتر اثر آنها به واسطه تولید اسید استیک است (6).

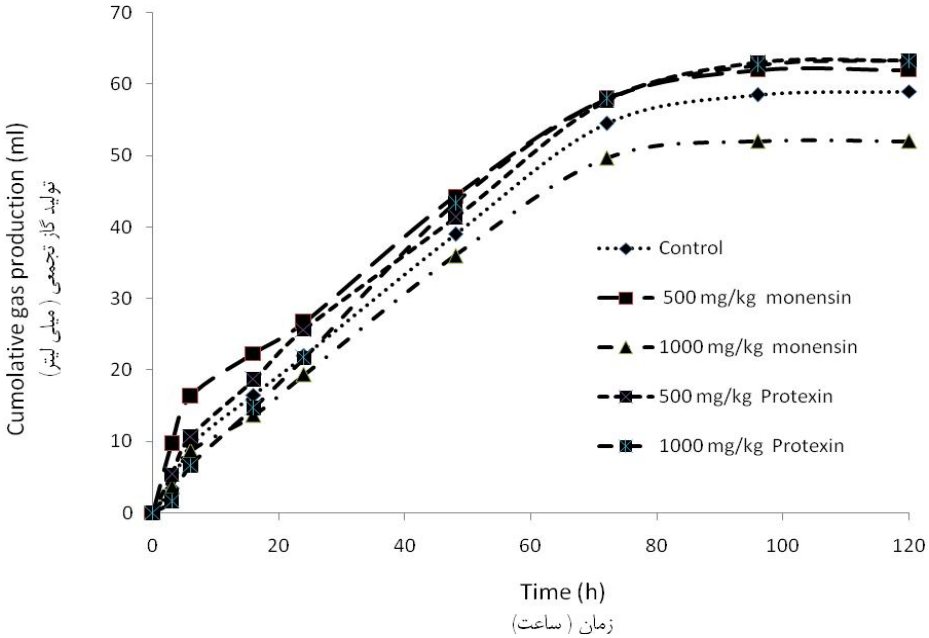
**جدول 3-** اثر سطوح مختلف مونسین و پروتکسین بر فراسنجه‌های تولید گاز ، هضم‌پذیری ماده آلی و انرژی قابل متابولیسم دانه جو[1]

**Table 3-** Effect of different levels of monensin and protexin on gas production parameters, organic digestibility and metabolisable energy of barley grain[1]

| تیمارهای آزمایشی Experimental Treatments | فراسنجه‌های تولید گاز Gas production parameters: تولید گاز از بخش قابل تخمیر (میلی لیتر به ازای 0/3 گرم) b | فراسنجه‌های تولید گاز Gas production parameters: نرخ تولید گاز (میلی لیتر در ساعت) c | تولید تجمعی گاز پس از 120 ساعت (میلی لیتر به ازای 0/3 گرم) Cumolative gas production (ml/0.3 g) | برآورد انرژی قابل سوخت و ساز (مگاژول در کیلوگرم ماده خشک) Metabolisable energy (Mj/kg DM) | برآورد گوارش‌پذیری ماده آلی (گرم در کیلوگرم ماده آلی) Organic digestibility (g/kg OM) |
|---|---|---|---|---|---|
| شاهد Control | 63.19[ab] | 0.021[ab] | 59.00[a] | 6.11[ab] | 393.51[ab] |
| 500 میلی گرم در مونسین سدیم کیلوگرم 500 mg/kg sodium monensin | 58.81[ab] | 0.031[a] | 62.00[a] | 6.74[a] | 435.00[a] |
| 1000 میلی گرم در مونسین سدیم کیلوگرم 1000 mg/kg sodium monensin | 57.10[b] | 0.021[ab] | 52.00[b] | 5.74[b] | 389.81[b] |
| 500 میلی گرم در کیلوگرم پروتکسین 500 mg/kg protexin | 65.53[ab] | 0.021[ab] | 63.33[a] | 6.06[ab] | 390.55[ab] |
| 1000 میلی گرم در کیلوگرم پروتکسین 1000 mg/kg protexin | 70.82[a] | 0.019[b] | 63.33[a] | 6.60[a] | 426.11[a] |
| SEM** | 4.40 | 0.003 | 2.12 | 0.22 | 14.58 |
| P value | 0.033 | 0.021 | 0.011 | 0.012 | 0.021 |
| مقایسه و اثر Comparison and Effect | | | | | |
| شاهد در مقایسه با سایر تیمارها Control vs. Other treatments | ns | ns | ns | ns | ns |
| مونسین در مقایسه با پروبیوتیک Monensin vs. Probiotic | * | ns | * | ns | ns |
| مقایسه دو سطح مونسین 500 VS. 1000 mg/kg of Monensin | ns | ns | * | * | * |
| مقایسه دو سطح پروبیوتیک 500 VS. 1000 mg/kg of Probiotic | ns | ns | ns | ns | ns |

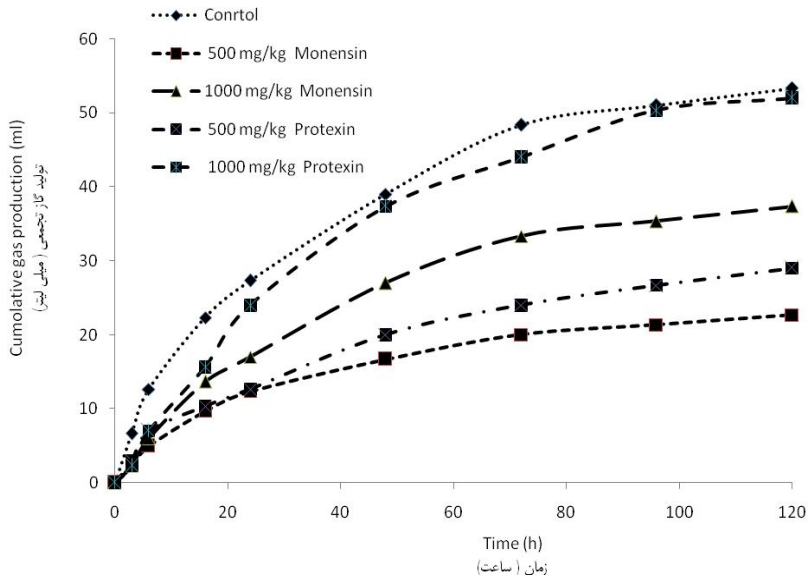
[1] میانگین‌های هر ستون با حروف غیر مشابه دارای اختلاف معنی دار می‌باشند (P <0/05).

[1]Means within same column with different superscripts differ (P<0.05).
Standard Error of Mean
*: P<0.05, ns: non-significant.




**شکل 2-** اثر سطوح مختلف مونسین سدیم و پروتکسین بر روند تولید کل گاز (میلی لیتر در 0/3 گرم ماده خشک) دانه جو توسط قارچهای شکمبه پس از 120 ساعت

**Figure 2-** Effect of different levels of monensin and protexin on cumulative gas production process (ml/ 0.3 g DM) of barley grain by ruminal fungi after 120 hours




**شکل 3-** اثر سطوح مختلف مونسین سدیم و پروتکسین بر روند تولید کل گاز (میلی لیتر در 0/3 گرم ماده خشک) یونجه+جو توسط قارچهای شکمبه پس از 120 ساعت

**Figure 3-** Effect of different levels of monensin and protexin on cumulative gas production process (ml/ 0.3 g DM) of alfalfa+barley grain by ruminal fungi after 120 hours

همچنین دیگر تحقیقات (28) گزارش داده اند پروبیوتیک‌ها می‌توانند در شکمبه رشد کنند و اثرت مفیدی در تعدیل اکوسیستم شکمبه و یا خصوصیات تخمیری داشته باشند. پروبیوتیک های غیر باکتریایی در پروبیوتیک مصرفی آزمایش حاضر نیز شامل آسپرژیلوس اریزا و کاندیدا پنتولوپسی می باشند. به نظر می رسد این دو سویه قارچی نیز بر محیط کشت خالص قارچهای شکمبه تاثیر داشته باشند، به عنوان مثال گزارش شده است قارچ‌های مخمری با حذف اکسیژن از شکمبه (25) شرایط زیستی را برای رشد میکروارگانیسم‌های بی

هوازی در شکمبه و از جمله قارچهای شکمبه فراهم می کنند (24). بنابراین علل نتایج متفاوت بدست آمده با پروبیوتیک ها متغیر است و باید به خاطر داشت که پروبیوتیک های تجاری فراورده های مشابهی نیستند و تنوع میکروبی بالایی دارند که ممکن است سبب نتایج متفاوتی در شرایط متفاوت تغذیه ای نشان دهند (31).

**جدول 4-** اثر سطوح مختلف مونسین و پروتکسین بر فراسنجه‌های تولید گاز، هضم‌پذیری ماده آلی و انرژی قابل متابولیسم یونجه+دانه جو[1]

**Table 4-** Effect of different levels of monensin and protexin on gas production parameters, organic digestibility and metabolisable energy of alfalfa+barley[1]

| تیمارهای آزمایشی Experimental Treatments | فراسنجه‌های تولید گاز Gas production parameters: تولید گاز از بخش قابل تخمیر (میلی لیتر به ازای 0/3 گرم) b | فراسنجه‌های تولید گاز Gas production parameters: نرخ تولید گاز (میلی لیتر در ساعت) c | تولید تجمعی گاز پس از 120 ساعت (میلی لیتر به ازای 0/3 گرم) Cumolative gas production (ml/0.3 g) | برآورد انرژی قابل سوخت و ساز (مگاژول در کیلوگرم ماده خشک) Metabolisable energy (Mj/kg DM) | برآورد گوارش‌پذیری ماده آلی (گرم در کیلوگرم ماده آلی) Organic digestibility (g/kg OM) |
|---|---|---|---|---|---|
| شاهد Control | 51.64[a] | 0.033[a] | 53.33[a] | 7.29[a] | 458.82[a] |
| 500 میلی گرم در کیلوگرم مونسین سدیم 500 mg/kg sodium monensin | 24.86[c] | 0.029[ab] | 22.66[b] | 5.25[b] | 325.47[b] |
| 1000 میلی گرم در کیلوگرم مونسین سدیم 1000 mg/kg sodium monensin | 39.15[b] | 0.024[b] | 37.33[ab] | 5.89[ab] | 366.96[ab] |
| 500 میلی گرم در کیلوگرم پروتکسین 500 mg/kg protexin | 31.04[c] | 0.024[b] | 29.00[ab] | 5.30[b] | 328.43[b] |
| 1000 میلی گرم در کیلوگرم پروتکسین 1000 mg/kg protexin | 53.78[a] | 0.023[b] | 52.00[a] | 6.84[ab] | 429.19[ab] |
| SEM** | 2.10 | 0.002 | 8.62 | 0.49 | 32.29 |
| P value | 0.015 | 0.010 | 0.0210 | 0.020 | 0.032 |
| مقایسه و اثر Comparison and Effect | | | | | |
| شاهد در مقایسه با سایر تیمارها Control vs. Other treatments | * | * | ns | * | * |
| مونسین در مقایسه با پروبیوتیک Monensin vs. Probiotic | * | ns | ns | ns | ns |
| مقایسه دو سطح مونسین 500 VS. 1000 mg/kg of Monensin | * | ns | ns | ns | ns |
| مقایسه دو سطح پروبیوتیک 500 VS. 1000 mg/kg of Probiotic | * | ns | ns | ns | ns |

[1] میانگین‌های هر ستون با حروف غیر مشابه دارای اختلاف معنی دار می‌باشند (P <0/05).

[1]Means within same column with different superscripts differ (P<0.05).
Standard Error of Mean
*: P<0.05, ns: non-significant.

## نتیجه‌گیری کلی

از نتایج آزمایش حاضر می‌توان نتیجه گرفت آنتی‌بیوتیک‌های یونوفری احتمالا سبب کاهش فعالیت قارچهای شکمبه (12) می‌شود. بنابراین با وجود دیگر مشکلات آنتی‌بیوتیک‌های تغذیه ای از قبیل مقاومت باکتریایی، بر هم زدن تعادل میکروبی دستگاه گوارش، بروز ناهنجاری‌های مادرزادی، بیماری‌های مزمن، آلایندگی محیطزیست و تهدید سلامت مصرف‌کنندگان، بررسی آزمایشات بیشتر به منظور بررسی اثر این افزودنی ها بر جمعیت انواع سویه های قارچی و باکتریایی شکمبه در شرایط برون تنی و درون تنی ضروری به نظر می رسد.

## سپاسگزاری

این طرح با حمایت مالی و معنوی دانشگاه آزاد اسلامی اجرا شده است. بدینوسیله مولفین از معاونت و همکاران محترم پژوهشی و

فناوری دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد تشکر و سپاسگزاری می‌نمایند.

## منابع


1- AOAC, 2005. Official Methods of Analysis of AOAC International, 18th ed. Association Official Analytical Chemists, Arligton, VA.
2- Bauchop, T. 1981. The anaerobic fungi in rumen fiber digestion. Agriculture and Environment, 6: 339-348.
3- Blümmel, M., and E. R. Ørskov. 1993. Comparison of *in vitro* gas production and nylon bag degradability of roughages in predicting feed intake in cattle. Animal Feed Science and Technology, 40: 109-119.
4- Chaucheyras, F., G. Fonty, G. Bertin, J. M. Salmon and P. Gouet. 1995. Effects of a strain of Saccharomyces cerevisiae) Levucell SC), a microbial additive for ruminants, on lactatemetabolism in vitro. Canadian Journal of Microbiology, 42:927-933.
5- Dinius, D. A., M. E. Simpson, and P. B. Marsh. 1976. Effect of monensin fed with forage on digestion and the ruminal ecosystem of steers. Journal of Animal Science, 42: 229-234.
6- Fumiaki, A., N. Ishibashi, and S. Shimamura. 1995. Effect of administration of bifidobacteria and lactic acid bacteria to newborn calves and piglets. Journal of Dairy Science, 78:2838-2846.
7- Galloway, D. L., A. L Goetsch, A. Patil, L. A. Froster, and Z. B. Johnson. 1993. Feed intake and digestion by Holstein steer calves consuming low-quality grass supplemented with lasalocid or monensin. Canadian Journal of Animal Science, 73: 869-879.
8- Harmon, D. L., K. K. Kreikemeier., and K. L. Gross. 1993. Influence of addition of monensin to an alfalfa hay diet on net portal and hepatic nutrient flux in steers. Journal of Animal Science, 71: 218 – 225.
9- Hong, H. A., L. H. Duc and S. M. Cutting. 2005. The use of bacterial spore formers as probiotics. FEMS Microbiology Reviews, 29:813-835.
10- Ipharraguerre, I. R., and J. H. Clark .2003. Usefulness of ionophores for lactating dairy cows: a review. Animal Feed Science and Technology, 106: 39-57.
11- Jacob, M. E., J. T. Fox., S. K. Narayanan., J. S. Drouillar., D. G. Renter., and T. G. Nagaraga. 2008. Effects of feeding wet corn distillers grains with solubles with or without monensin and tylosin on the prevalence and antimicrobial susceptibilities of fecal foodborne pathogenic and commensal bacteria in feedlot cattle. Journal of Animal Science, 86: 1182 – 1190.
12- Jafari, P., GH. Mohammad Zamani, F. Almasian, M. Tajabadi. 2010. Isolation and semi-Industrial production of Basillus strains for poultry. 1st National Conference of Probiotic and Functional Foods, Tehran. Iran. Pages 322-330 (In Persian).
13- Jalč, D., M. Baran, T. Vendrák, and P. Siroka. 1992. Effect of monensin on fermentation of hay and wheat bran investigated by the Rumen Simulation Technique (Rusitec). 2. End-products of fermentation and protein synthesis. Archiv für Tierernährung, 42:153-158.
14- Lee, S. S., J. K. Ha, and K. J. Cheng. 2000. Relative contributions of bacteria, protozoa, and fungi to *in vitro* degradation of orchard grass cell walls and their interactions. Applied and Environmental Microbiology, 66: 3807 – 3813.
15- Menke, K. H., and H. Steingass. 1988. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. Animal research and development, 28: 6-55.
16- Menke, K. H., L. Raab, A. Salewski, H. Steingass, D. Fritz, and W. Schneider. 1979. The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feedstuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor *in vitro*. Journal of Agricultural Science, 92: 217 -222.
17- Modaresi, M. H. 2012. The economic role of probiotic and Functional foods. 2th National Conference of Probiotic and Functional Foods, Tehran. Iran. (In Persian)
18- Nagaraja, T. G., C. J. Newbold, C. J. Van Nevel, and D. I. Demeyer. 1997. Manipulation of ruminal fermentation. Pages 523-632 in The Rumen Microbial Ecosystem. P. N. Hobson and C. S. Stewart, Chapman and Hall, London, UK.
19- Orpin, C. G., and K. N. Joblin. 1988. The rumen anaerobic fungi. In: Hobson PN, editor. The rumen microbial ecosystem. Elsevier Applied Science London.
20- Paul, S. S., D. N. Kamra, V. R. B. Sastry, N. P. Sahu, A. Kumar. 2003. Effect of phenolic monomers on growth and hydrolytic enzyme activities of an anaerobic fungus isolated from wild nilgai (Boselaphus tragocamelus). Letters in Applied Microbiology, 36: 377-381.
21- Plaizier, J. C., A. Martin, T. F Duffield, R. Bagg, P. Dick and B. W. McBride. 2000. Effect of a prepartumadministration of monensin in a controlled-release capsule on apparent digestibilities and nitrogen utilization in transition dairy cows. Journal of Dairy Science, 83: 2918-2925.

22- Quigley, J. D., T. M. Steen, and S. I. Boehms. 1992. Postprandial changes of selected blood and ruminal metabolites in ruminating calves fed diets with or without hay. Journal of Animal Science,. 75:228-235.
23- Quinn, M.J., M.L. May, K.E. Hales, N. DiLorenzo, J. Leibovich, D.R. Smith, and M.L. Galyean. 2009. Effects of ionophores and antibiotics on in vitro hydrogen sulfide production, dry matter disappearance, and total gas production in cultures with a steam-flaked corn-based substrate with or without added sulfur. Journal of Animal Science, 87:1705-1713.
24- Roger, V., G. Fonty, S. Komisarczuk-Bony and P. Gouet. 1990. Effects of physicochemical factors on the adhesion to cellulose Avicel of the ruminal bacteria Ruminococcus flavefaciens and Fibrobacter succinogenes subsp. succinogenes. Applied and Environmental Microbiology, 56:3081-3087.
25- Rose, A. H. 1987. Responses to the chemical environment. In: The Yeasts (Ed. A. H. Rose and J. S. Harrisson) Vol. 2, Academic Press, London, pp. 5-40.
26- Russell, J. B., and H. J. Strobel. 1989. Effect of ionophores on ruminal fermentation. Applied and Environmental Microbiology, 55:1-6.
27- SAS Institute Inc. 2004. SAS/STAT User's Guide, Version 9.1. SAS Institute Inc., Cary, North Carolina.
28- 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, Vol. 23, No. 12: 1657 – 1667.
29- Surber, L. M. and J. G. P. Bowman. 1998. Monensin effects on digestion of corn or barley high-concentrate diets. Journal of Animal Science, 76:1945-1954.
30- Vagnoni, D. B., W. M. Craig, R. N. Gates, W. E. Wyatt, and L. L. Southern. 1995. Monensin and ammonication or urea supplementation of Bermuda grass hay diets for steers. J. Anim. Sci. 73: 1793-1802.
31- Vali, N. 2009. Probiotic in quail nutrition: A Review. International Journal of Poultry Science, 8(12): 1218-1222.
32- Van Soest, P.J., J. B. Robertson., and B. A.Lewis. 1991. Methods for dietary fiber, neutral-detergent fiber and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. Journal of Dairy Science, 74: 3583-3597.
33- Wallace, R. J., and K. N Joblin. 1985. Proteolytic activity of a rumen anaerobic fungus. FEMS Microbiology Letters, 29: 19-25.
34- Wischer, G. 2012. Effects of monensin and tannin extract supplementation on methane production and other criteria of rumen fermentation in vitro and in long -term studies with sheep. Thesis.
35- Zhang, Y., W. Gao., and Q. Meng. 2007. Fermentation of plant cell walls by ruminal bacteria, protozoa and fungi and their interaction with fibre particle size. Archives of Animal Nutrition, 61(2): 114–125.

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 8, No. 2, Summer 2016, p. 258-270

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد 8، شماره 2، تابستان 1395، ص. 270-258

# The Effect of Monensin or Protexin on Gas Production Parameters of Alfalfa and Barley in the Ruminal Fungi Culture

**S. Sobhanirad[1]*- M. Elahi Torshizi[2]**
Received: 13-08-2015
Accepted: 12-03-2016

**Introduction** Since the legislation of European Union has prohibited the use of growth-promoting antibiotics such as: monensin, there is an interest in alternatives to manipulate the rumen fermentation. The use of growth-promoting antibiotics in animal feeds is banned in Europe due to having potential risks such as the spread of antibiotic resistance genes or the contamination of milk or meat with antibiotic residues. Recently, probiotics have been increasingly evaluated to replace or facilitate reductions in the use of antibiotics. Thus, the aim of this study was investigating the comparison of antibiotic (sodium monensin) and probiotic (protexin) on the gas production parameters and organic matter digestibility of feedstuffs (alfalfa hay, barley grain, and alfalfa+ barley mixture)

**Materials and Methods** Experimental treatments were included control (basal feeds without additive), basal feeds supplemented with sodium monensin or protexin probiotic at levels of 500 or 1000 mg per kg of DM in a rumen fungi culture. Ruminal fluid was collected from two fistulated sheep (49.5±2.5 kg) and all samples were withdrawn 2 h after the morning ration had been consumed. Collected ruminal contents were strained through four layers of cheesecloth and brought immediately to the laboratory. To have a pure ruminal fungi culture, whole ruminal fluid was centrifuged at 1000 g for 10 min and added 0.100 mg/ml antibacterial agent (streptomycin sulfate, penicillin G, and chloramphenicol (14, 35). Gas production technique was used to detect the fermentation parameters of the treatments (16).Three parallel syringes of each treatment were prepared in this experiment. To measure the total gas production (A) and the rate of gas production (c), cumulative gas production, organic digestibility and metabolizable energy of treatments until 120 h. Gas production was measured directly from the volume of the syringes at 0, 3, 6, 16, 24, 48, 72, 96, and 120 h. Statistical analysis of data were statistically analyzed in a completely randomized design was performed by SAS (9.1 version) and the least square of means.

**Results and Discussion** Results showed the higher level of sodium monensin (1000 mg/kg) decreased fermentable fraction (b), organic digestibility and metabolizable energy of both alfalfa hay and barley grain compared with other treatments significantly. The total gas production (A) and the rate of gas production (c) of gas production, cumulative gas production, organic digestibility and metabolizable energy of alfalfa were highest for control treatment (alfalfa without additives). But the level of 1000 mg/kg of protexin supplemented with barley increased fermentable fraction (b), cumulative gas production, organic digestibility and metabolizable energy than other treatments by ruminal fungi ($p<0.05$). But treatment contained 1000 mg/kg of protexin supplemented to barley grain decreased ($p<0.05$) rate (c) of gas production. Also, rate (c) of gas production was increased ($p<0.05$) in treatment contained 500 mg/kg of sodium monensin. Also, when the 1000 mg/kg of protexin supplemented to the alfalfa+barley mixture, estimated total gas production (A) and fermentable fraction (b) of gas production were increased ($p<0.05$) in treatments containing alfalfa+barley mixture. These results are in agreement with the reports of researchers who observed 14 and 8% reduction of gas production when the grass silage or grass silage+concentrate were supplemented with monensin, respectively (32). Other researchers indicated that the administration of the 125 or 313 mg monensin per 1 kg of feed with hay and wheat bran increased total gas production, but the levels more than 313 mg monensin/kg feed reduced total gas production. In our study, the protexine supplementation had improved the gas production of the barley fermented in the ruminal fungi culture in compare to the monensin ($P<0.05$). It may be concluded, the variety of the types of nutrients, (especially the kind of carbohydrate) and the variability of the microorganisms in the different commercial probiotic may increase the gas production and digestibility of the barley grain in the ruminal fungi culture, regardless of any improvement were seen in gas production of other feeds supplemented with protexin.

**Conclusion** The results of this experiment showed that the ionophore antibiotics such as monensin can led to

1, 2- Assistant Professor, Department of Animal Science, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, Iran.
(*-Corresponding Author Email: sobhanirad@gmail.com)

the decline of the ruminal fungi fermentation. The probiotics such as protexin may have the beneficial effects on the fungi fermentation of some feeds. Due to the environmental and human safety hazardous of using antibiotic in animal nutrition, it would be suggested more studies about the replacement of probiotics with ionophore antibiotics to manipulation and improvement of the ruminal ecosystem and fermentation function are needed.

**Keywords:** Antibiotic, Fermentative parameters, *in vitro*, Probiotic, Ruminal fungi.