



تأثیر جیره‌های حاوی دانه جو و ذرت (پرک شده با بخار یا بلغور شده)، با یا بدون پروبیوتیک انتروکوکوس فاسیوم بر قابلیت هضم، pH مدفوع، گلوکز خون و آسیب‌های پاتولوژیک اسب‌های بالغ

ادریس سعیدی^۱، جعفر فخرایی^{۲*}، حسین منصوری یار احمدی^۲، سمیه مجاهدی^۳

۱- دانشجوی دکتری تخصصی، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اراک

۲- استادیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اراک

۳- دانش‌آموخته دکتری تخصصی، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

(تاریخ دریافت: ۹۹/۰۷/۰۹ - تاریخ پذیرش: ۹۹/۱۲/۰۴)

چکیده

هدف از انجام این تحقیق، بررسی اثر فرآوری دانه‌های جو و ذرت (پرک شده با بخار یا بلغور شده) و افزودن پروبیوتیک حاوی انتروکوکوس فاسیوم (*Enterococcus faecium*) ۱۰ گرم در روز با دوز ۲/۵×۱۰^{۱۱} واحد تشکیل‌دهنده کلونی) در جیره، بر قابلیت هضم مواد مغذی، pH مدفوع، گلوکز خون و آسیب‌های پاتولوژیک در اسب‌های بالغ نژاد کرد بود. در این آزمایش از ۱۲ رأس اسب بالغ با میانگین وزن ۴۱۶±۴۳ کیلوگرم در قالب طرح مربع لاتین تکرار شده ۴×۴ به روش فاکتوریل ۲×۲ استفاده شد. آزمایش در چهار دوره ۲۸ روزه، شامل ۲۱ روز برای سازگاری و هفت روز برای نمونه‌برداری، انجام شد. تیمارهای آزمایشی عبارت بودند از جیره‌های (با نسبت ۶۰ به ۴۰ علوفه به کنسانتره) حاوی: (۱) غلات بلغور شده بدون پروبیوتیک، (۲) غلات بلغور شده همراه با پروبیوتیک به میزان ۱۰ گرم در روز به ازای هر اسب، (۳) غلات پرک شده با بخار بدون پروبیوتیک و (۴) غلات پرک شده با بخار همراه با پروبیوتیک به میزان ۱۰ گرم در روز به ازای هر اسب. نتایج نشان داد قابلیت هضم ماده خشک، ماده آلی، NDF، ADF، گلوکز خون، وقوع لنگش و کولیک تحت تأثیر پرک کردن غلات با بخار، افزودن پروبیوتیک و اثر متقابل آنها قرار نگرفت ($P>0/05$). میانگین pH مدفوع در تیمارهای مختلف برابر با ۶/۵۷ بود و تحت تأثیر نوع فرآوری غله، افزودن پروبیوتیک و اثر متقابل آنها قرار نگرفت ($P>0/05$). در مجموع، تغذیه غلات پرک شده با بخار به جای غلات بلغور شده و کاربرد ۱۰ گرم پروبیوتیک انتروکوکوس فاسیوم به ازای هر رأس حیوان در جیره اسب، تأثیری بر قابلیت هضم، pH مدفوع، گلوکز خون، وقوع لنگش و کولیک نداشت. به هر حال، تأثیر تغذیه با سطوح بالاتر پروبیوتیک انتروکوکوس فاسیوم در جیره‌های حاوی سطح بالاتری از غلات فرآوری شده می‌تواند بررسی شود.

واژه‌های کلیدی: اسب، انتروکوکوس فاسیوم، فرآوری غلات، قابلیت هضم

* نویسنده مسئول: j-fakhraei@iau-arak.ac.ir

مقدمه

اسب‌ها برای سلامت، زیبایی و فعالیت‌های فیزیولوژیکی همچون رشد و تولیدمثل و فعالیت‌های فیزیکی مانند راه رفتن و دویدن معمولی و نیز فعالیت‌های ورزشی از جمله پرش، کورس، استقامت و... نیازمند تغذیه مناسب هستند (NRC, 2007; Frape, 2008). نیاز تغذیه‌ای اسب‌های بالغ با جیره‌های غنی از انرژی که حاوی مقدار قابل توجهی دانه غلات هستند تأمین می‌شود. دانه جو و ذرت از مهم‌ترین دانه‌های غلات در جیره اسب‌ها هستند. تغذیه سطوح زیاد نشاسته در جیره (نسبت علوفه به کنسانتره ۷۳ به ۲۷ درصد)، قابلیت هضم نشاسته را در روده کوچک کاهش داده و باعث عبور بخشی از آن به روده بزرگ می‌شود (Hussein *et al.*, 2004). تخمیر نشاسته در روده بزرگ سبب تغییر در جمعیت میکروبی این ناحیه از دستگاه گوارش، کاهش pH و ایجاد آسیب‌های پاتولوژیکی و بروز بیماری‌های متابولیکی از قبیل کولیک و لنگش می‌شود (Jullian and Grimm, 2017).

تحقیقات حاکی از آن است که تغذیه با ذرت فرآوری نشده سبب کاهش قابلیت هضم نشاسته در روده کوچک اسب می‌شود، اما فرآوری‌های فیزیکی و یا حرارتی، قابلیت هضم نشاسته را در روده کوچک از ۲۹ تا ۹۰ درصد بهبود می‌دهند (Kienzle *et al.*, 1997; McLean *et al.*, 2000). از طرفی، مشخص شده است که فرآوری‌های فیزیکی، نسبت به فرآوری‌های حرارتی و یا رطوبتی-حرارتی، تأثیر کمتری بر هضم نشاسته در روده اسب دارند (Kienzle *et al.*, 1997). فرآوری‌های حرارتی باعث تورم و تخریب برگشت-ناپذیر ساختار کریستالی داخلی گرانول‌های نشاسته (ژلاتینه‌شدن) می‌شود. همچنین، این نوع فرآوری‌ها باعث بهبود هضم آنزیمی نشاسته می‌شوند (Selmi *et al.*, 2000) و این افزایش قابلیت هضم نشاسته در روده کوچک باعث بهبود بهره‌وری خوراک می‌شود و می‌تواند باعث کاهش جریان نشاسته به قسمت‌های انتهایی دستگاه گوارش و بهبود سلامت آن شود (Medina *et al.*, 2002).

پروبیوتیک‌ها معمولاً به منظور بهبود ضریب قابلیت هضم دستگاه گوارش، تثبیت جمعیت میکروبی انتهای دستگاه گوارش و پیشگیری و درمان بیماری‌های گوارشی تک معده‌ای‌ها و نشخوارکنندگان استفاده می‌شوند. پروبیوتیک‌های رایج در تغذیه دام شامل جنس‌های لاکتوباسیلوس،

انتروکوکوس، بیفیدوباکتریوم، استرپتوکوکوس و مخمر ساکارومایسس سرویزیه هستند (Coverdale, 2016; Ghorbani *et al.*, 2002). افزودن پروبیوتیک‌ها تا حدی در کاهش اسیدوز مؤثر بوده و چندین ساز و کار مانند افزایش میکروب‌های مصرف‌کننده اسید لاکتیک، افزایش جمعیت پروتوزوایی، کاهش استرپتوکوکوس بویس و کاهش دیگر میکروب‌های مصرف‌کننده نشاسته برای آن پیشنهاد شده است (Ghorbani *et al.*, 2002). همچنین در تحقیقی، استفاده از پروبیوتیک‌های باکتریایی شامل لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتریا، وقوع اسهال و طول دوره اسهال از زمان تولد تا سن بیست هفتگی کره‌های نژاد تروبرد را کاهش داد. در این تحقیق اشاره شده است که این پروبیوتیک، عملکرد روده را تنظیم نموده و از وقوع اسهال جلوگیری نموده است (Tanabe *et al.*, 2014).

گونه انتروکوکوس فاسیوم از باکتری‌های گرم مثبت بوده و به عنوان یکی از متداول‌ترین باکتری‌های زنده در تولید پروبیوتیک‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد. این گونه باکتریایی باعث بهبود رشد، تقویت سیستم ایمنی و کاهش بیماری و مرگ و میر در تک معده‌ای‌ها (Zeyner and Boldt, 2006; Benyacoub *et al.*, 2003) و بهبود ماده خشک مصرفی، قابلیت هضم بخش علوفه‌ای و تولید شیر و همچنین کاهش اسیدوز در نشخوارکنندگان شده است (Nocek *et al.*, 2002; Nocek and Kautz, 2006). همچنین در گاوهای شیری دوره انتقال، با افزایش سطح گلوکز و کاهش سطح بتا هیدروکسی بوتیرات خون، شرایط متابولیکی را بهبود داده است (Nocek and Kautz, 2006). در تحقیقاتی که به بررسی قابلیت هضم قبل سکومی نشاسته به روش کیسه‌های نایلونی متحرک در اسب پرداختند، نشان داده شد که قابلیت هضم نشاسته با فرآوری بلغور کردن نسبت به روش پرک شده با بخار، کمتر بوده (به ترتیب ۴۰ در مقابل ۹۲ درصد) و این احتمال وجود دارد که مقدار بیشتری نشاسته به قسمت‌های انتهایی روده منتقل شود و سلامت حیوان را تهدید کند (Hymøller *et al.*, 2012). از طرفی، همان‌طور که قبلاً اشاره شد، برخی پروبیوتیک‌های باکتریایی از جمله انتروکوکوس فاسیوم با تثبیت جمعیت میکروبی دستگاه گوارش و جلوگیری از کاهش pH و تولید اسیدلاکتیک و همچنین افزایش قابلیت هضم مواد مغذی و بهبود وضعیت متابولیکی حیوان، ممکن است آثار منفی جیره‌های پرنشاسته در اسب را تا حدی

بلغور شده همراه با پروبیوتیک انتروکوکوس فاسیوم به میزان ۱۰ گرم و با دوز $10^{11} \times 2/5$ (واحد تشکیل‌دهنده کلونی میکروب زنده) روزانه به ازای هر اسب، ۳ جیره حاوی دانه جو و ذرت پرک شده با بخار بدون پروبیوتیک و ۴ جیره حاوی دانه جو و ذرت پرک شده با بخار همراه با پروبیوتیک انتروکوکوس فاسیوم به میزان ۱۰ گرم روزانه به ازای هر اسب. در این تحقیق از پروبیوتیک انتروکوکوس فاسیوم DSM 3530 ساخته شده در شرکت بایومین اتریش، استفاده شد. برای به حداقل رساندن خطای آزمایش، قبل از شروع آزمایش، داروی ضدانگل آئورمکتین (Ivermectin) برای از بین بردن انگل‌های داخلی احتمالی به مقدار ۲۰۰ میکروگرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، به هر راس اسب خورانه شد. اسب‌ها در اصطبل‌های انفرادی با ابعاد ۴×۵ متر با بستری از پوشال و خاکاره نگهداری شدند. جیره‌های غذایی در این آزمایش با استفاده از جداول نیازهای غذایی اسب (NRC, 2007) و با در نظر گرفتن احتیاجات نگهداری و فعالیت متوسط، بر اساس ۶۰ درصد علوفه (شامل یونجه و کاه با نسبت ۷۵ به ۲۵ درصد که در اندازه سه تا چهار سانتی‌متری خرد شده بودند) و ۴۰ درصد کنسانتره تنظیم شد و به میزان حدود هشت کیلوگرم در روز برای هر راس اسب تغذیه شد. اقلام تشکیل‌دهنده جیره‌های آزمایشی در جدول ۱ و ترکیب شیمیایی جیره‌ها در جدول ۲ ارائه شده است.

تعدیل نماید. بنابراین فرضیه تحقیق حاضر مبنی بر این بود که در جیره‌های حاوی سهم نسبتاً زیاد غلات، که انتظار می‌رود بخش زیادی از نشاسته مصرف شده به سکوم یا روده بزرگ منتقل شود، افزودن پروبیوتیک حاوی انتروکوکوس فاسیوم با بهبود جمعیت میکروبی، منجر به بهبود قابلیت هضم مواد مغذی و کاهش شرایط اسیدوزی شود. بنابراین، هدف از انجام این تحقیق، بررسی اثر تغذیه با جیره‌های حاوی دانه غلات (جو و ذرت) فرآوری شده شامل پرک شده با بخار و بلغور شده و همچنین تأثیر افزودن پروبیوتیک انتروکوکوس فاسیوم در این جیره‌ها بر قابلیت هضم مواد مغذی، pH مدفوع، گلوکز خون و آسیب‌های پاتولوژیک اسب بود.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در باشگاه پرورش اسب و سوارکاری کانی (کرمانشاه، ایران) انجام شد. در این آزمایش از ۱۲ رأس اسب کرد بالغ (نریان) با میانگین سن $6 \pm 1/8$ سال و میانگین وزن 416 ± 43 کیلوگرم در قالب طرح مربع لاتین 4×4 تکرار شده در زمان به روش فاکتوریل 2×2 با چهار تیمار، استفاده شد. آزمایش طی چهار دوره ۲۸ روزه (۲۱ روز سازگاری و یک هفته نمونه‌برداری) انجام شد. تیمارهای آزمایشی عبارت بودند از: ۱) جیره حاوی دانه جو و ذرت بلغور شده بدون پروبیوتیک، ۲) جیره حاوی دانه جو و ذرت

جدول ۱- اقلام خوراکی (درصد ماده خشک) تشکیل‌دهنده جیره‌های آزمایشی حاوی ذرت و جو فرآوری شده، با یا بدون پروبیوتیک انتروکوکوس فاسیوم

Table 1. Ingredients (% of DM) of experimental diets including processed corn or barley, with or without probiotic *Enterococcus faecium* (EF)

	Cracked grains		Steam-flaked grains	
	No EF	EF	No EF	EF
Alfalfa hay	45.0	45.0	45.0	45.0
Wheat straw	15.0	15.0	15.0	15.0
Cracked corn	6.4	6.4	-	-
Steam-flaked corn	-	-	6.4	6.4
Cracked barley	21.8	21.8	-	-
Steam-flaked barley	-	-	21.8	21.8
Soybean meal	3.1	3.1	3.1	3.1
Wheat bran	8.2	8.1	8.2	8.1
Salt	0.1	0.1	0.1	0.1
Probiotic	-	0.125	-	0.125
Mineral-vitamin supplement ¹	0.4	0.4	0.4	0.4

¹ Composition: Each one kg consisting of 15000 IU Vitamin, 1650 IU vitamin D3, 565 IU vitamin E, 20 mg vitamin thiamin, 15 mg riboflavin and 0.5 mg biotin, 1.1 g Mg, 29 g K, 8.8 g Cl, 4.5 g Na and 2.7 g Ca.

جدول ۲- ترکیب شیمیایی جیره‌های آزمایشی

Table 2. Chemical composition of experimental diets

Chemical composition of diets	Value
Dry matter (%)	88.3
Crude protein (% of DM)	11.7
Neutral detergent fiber (% of DM)	41.3
Organic matter (% of DM)	90.7
Digestible energy (Mcal/kg DM)	2.4
Ether extract (% of DM)	2.65

قابلیت هضم مواد مغذی با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

$$\text{Digestibility (\%)} = 100 - 100 \times \left[\frac{\text{marker in feed}}{\text{marker in feces}} \times \frac{\text{nutrient in feces}}{\text{nutrient in feed}} \right]$$

قبل از تجزیه شیمیایی، نمونه‌های مدفوع و جیره در داخل آون با دمای ۵۵ درجه سلسیوس تا رسیدن به وزن ثابت، خشک شده و سپس با آسیاب مجهز به یک غربال یک میلی‌متری آسیاب شدند (Mill, Swedesboro, USA). ماده خشک، خاکستر، ماده آلی، پروتئین خام و عصاره اتری نمونه‌ها مطابق با روش (AOAC 1990) و اجزای دیواره سلولی شامل لیاف نامحلول در شوینده خنثی (NDF) و لیاف نامحلول در شوینده اسیدی (ADF) با استفاده از روش (Van Soest *et al.* 1991) تعیین شد.

در روز آخر هر دوره آزمایشی، تقریباً ۳/۵ ساعت بعد از وعده کنسانتره صبحگاهی (۱۰:۰۰ صبح)، نمونه‌های خون از سیاهرگ وداجی با لوله‌های ونوجکت حاوی EDTA گرفته شد. نمونه‌ها با دور ۳۰۰۰ در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند و نمونه‌های پلاسما پس از جداسازی، در دمای ۱۰- درجه سلسیوس منجمد شدند. سطح گلوکز خون با کیت تجاری شرکت پارس آزمون و به روش دستی و بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده اندازه‌گیری شد. وضعیت سلامت اسب‌ها روزانه به وسیله یک کارشناس مجرب و در ابتدا و انتهای هر دوره آزمایشی به وسیله یک دامپزشک مجرب مورد بررسی قرار گرفت.

تجزیه آماری داده‌های حاصل از گلوکز خون، قابلیت هضم و pH مدفوع با استفاده از رویه MIXED نرم‌افزار SAS (SAS, 2008) نسخه ۹/۲ در قالب طرح مربع لاتین به صورت آزمایش فاکتوریل ۲×۲ (دو نوع فرآوری غلات با دو سطح ۰ و ۱۰ گرم پروبیوتیک) در چهار دوره انجام شد. مدل آماری استفاده شده به صورت زیر بود:

$$Y_{ijklm} = \mu + S_m + P(S)_{jm} + A(S)_{jm} + R_k + C_l + (R \times C)_{kl} + e_{ijklm}$$

جهت اطمینان از مصرف کامل پروبیوتیک استفاده شده در این تحقیق، پروبیوتیک با مقداری از کنسانتره مخلوط و در اختیار حیوانات قرار داده شد. در تمام مدت انجام آزمایش، آب به صورت آزاد با استفاده از آبخوری‌های اتوماتیک در اختیار اسب‌ها قرار گرفت. همچنین، سنگ نمک به صورت آزاد در اختیار آن‌ها قرار داشت. توزین اسب‌ها به وسیله باسکول دیجیتالی انجام شد. جیره غذایی در پنج نوبت و در رأس ساعات: ۰۷:۰۰، ۱۰:۰۰، ۱۴:۰۰، ۱۷:۰۰ و ۲۱:۰۰ در اختیار اسب‌ها قرار گرفت. علوفه (مخلوط یونجه و کاه به ترتیب به نسبت ۷۵ به ۲۵ درصد) به سه بخش مساوی تقسیم شد و در ساعات ۰۷:۰۰، ۱۴:۰۰ و ۲۱:۰۰ خورنده شد و کنسانتره نیز به دو بخش تقسیم شده و در ساعات ۱۰:۰۰ و ۱۷:۰۰ به اسب‌ها خورنده شد. اسب‌ها روزانه بر اساس برنامه مشخص که شامل ۱۰ دقیقه قدم زدن، ۱۵ دقیقه یورتمه و چهار نعل کوتاه و پنج دقیقه راهپیمایی بود، تمرین داده شدند (Harris *et al.*, 1997).

برای اندازه‌گیری pH مدفوع از یک روش معتبر (Berg *et al.*, 2005) استفاده شد. نمونه‌ای از مدفوع تازه (برداشته شده از رکتوم) با مقدار برابری از آب مقطر همگن شده و pH عصاره آن پس از صاف کردن، با استفاده از pH متر خودکار مدل Lutron WA-2017SD، اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری قابلیت هضم مواد مغذی در طول هفته، از روش نمونه‌برداری نقطه‌ای مدفوع (چهار بار در روز) استفاده شد. در پایان هر روز، نمونه‌ها با یکدیگر مخلوط و یک نمونه جهت تجزیه شیمیایی درون کیسه پلاستیکی و در دمای ۲۰- درجه سلسیوس منجمد و نگهداری شد. جهت اندازه‌گیری قابلیت هضم مواد مغذی از روش اندازه‌گیری نشانگر داخلی خاکستر نامحلول در اسید (Van Keulen and Young, 1997) استفاده شد. مقدار خاکستر نامحلول در محلول اسیدی، با روش جوشاندن خاکستر در اسید کلریدریک دو نرمال به مدت پنج دقیقه، اندازه‌گیری شد.

استفاده شده در آزمایش‌ها و همچنین توانایی این میکروب-ها برای پایداری در محیط دستگاه گوارش و رسیدن به انتهای دستگاه گوارش اسب و کلونیزه شدن در این قسمت بستگی دارد (Jouany *et al.*, 2009; Mackenthun *et al.*, 2013).

همان‌طور که در جدول ۴ نشان داده شده است، قابلیت هضم ماده خشک، ماده آلی، NDF و ADF جیره تحت تأثیر تغذیه غلات پرک شده به جای غلات بلغور شده قرار نگیرد ($P > 0.05$). فرآوری غلات، مخصوصاً فرآوری‌های رطوبتی-حرارتی، با ژلاتینه کردن نشاسته و افزایش سطح تماس با آنزیم‌ها می‌تواند قابلیت هضم را بهبود دهد. همچنین، فرآوری غلات می‌تواند ماندگاری مواد در قسمت‌های مختلف دستگاه گوارش را تغییر داده (Rosenfeld and Austbø, 2009b) و متعاقباً، قابلیت هضم را تغییر دهد (Rosenfeld and Austbø, 2009a). در این آزمایش انتظار می‌رفت پرک کردن سبب بهبود قابلیت هضم شود، در حالی که قابلیت هضم مواد مغذی با هم برابر بود. چندین ساز و کار برای عدم بهبود قابلیت هضم مواد مغذی در جیره‌های حاوی ذرت و جو پرک شده در مقایسه با جیره‌های حاوی غلات بلغور شده پیشنهاد شده است. نشاسته پس از فرآوری‌های حرارتی و در حین خنک شدن و یا انبارداری ممکن است به حالت ژل در آید که به آن نشاسته واگشته گفته می‌شود و این ترکیب در برابر آنزیم‌های گوارشی به شدت مقاوم است (Philpot *et al.*, 2006) و باعث می‌شود که قابلیت هضم پیش‌سکومی نشاسته که بخش قابل توجهی از جیره‌های پرنشاسته را تشکیل می‌دهد، کاهش یابد. در تحقیقی نشان داده شد که قابلیت هضم ماده خشک، ماده آلی و NDF بین جیره‌های حاوی دانه جو کامل و پرک شده (۶۲ درصد علوفه و ۳۸ درصد کنسانتره) برابر بود (Philippeau *et al.*, 2015). این نتایج نشان می‌دهد نوع فرآوری غلات، pH مدفوع و قابلیت هضم نشاسته را تحت تأثیر قرار نمی‌دهد. بنابراین فرآوری بلغور کردن با هزینه کمتر می‌تواند از لحاظ اقتصادی به نفع پرورش دهنده‌های اسب باشد. قابلیت هضم ماده خشک، ماده آلی، NDF و ADF تحت تأثیر افزودن پروبیوتیک انتروکوکوس فاسیوم قرار نگیرد ($P > 0.05$). موافق با نتایج تحقیق حاضر، در تحقیقی دیگر نشان داده شد که در اسب‌های دریافت‌کننده جیره حاوی ذرت بلغور شده (۷۳ درصد علوفه و ۲۷ درصد کنسانتره)،

که در آن، Y_{ijklm} = مقادیر مشاهده شده صفت مورد اندازه‌گیری، μ = میانگین صفت مورد مطالعه، S_m = اثر ثابت مربع، $P(S)_{im}$ = اثر ثابت دوره در مربع، $A(S)_{jm}$ = اثر تصادفی اسب در مربع، C_1 = اثر ثابت روش فرآوری غلات، R_k = اثر ثابت مصرف پروبیوتیک، $(R \times C)_{kl}$ = اثر متقابل مصرف پروبیوتیک با روش فرآوری غلات و e_{ijklm} = اثر تصادفی باقیمانده. میانگین تیمارها با استفاده از آزمون توکی مقایسه شده و سطح معنی‌داری برابر با پنج درصد در نظر گرفته شد.

نتایج و بحث

همان‌طور که قبلاً اشاره شد در این تحقیق، روزانه مقدار هشت کیلوگرم خوراک ارائه شد که اسب‌ها در طول دوره آزمایشی آن را مصرف نمودند و پس‌آوری نداشتند. میانگین pH مدفوع در تیمارهای مختلف برابر با ۶/۵۷ بود و تحت تأثیر نوع فرآوری غله، اضافه کردن پروبیوتیک و اثر متقابل آن‌ها قرار نگیرد (جدول ۳، $P > 0.05$). در تحقیق دیگری، اسب‌های دریافت‌کننده جیره حاوی ذرت بلغور شده (شش گرم نشاسته به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در روز) در مقایسه با جیره بدون ذرت، pH مدفوع پایین‌تری داشتند، ولی با تیمار حاوی همان مقدار ذرت پرک شده تفاوتی نداشتند (Whitehouse *et al.*, 2015). در این تحقیق، به نظر می‌رسد شرایط اسیدی قسمت‌های انتهایی دستگاه گوارش برای فعالیت بهینه میکروب‌های هضم‌کننده الیاف مناسب بوده (Brøkner *et al.*, 2012) و احتمالاً تفاوت در مقدار نشاسته رسیده به انتهای دستگاه گوارش بین دو نوع فرآوری، جزئی بوده است که تأثیر زیادی بر تولید اسیدهای چرب فرار و لاکتات نداشته است. از سوی دیگر، موافق با نتایج آزمایش حاضر، مکمل کردن جیره با مخلوطی از باکتری‌های تولیدکننده اسید لاکتیک تأثیری بر جلوگیری از ایجاد اسیدوز در قسمت‌های انتهایی دستگاه گوارش اسب‌ها، حتی در جیره پرنشاسته (۷۳ درصد علوفه و ۲۷ درصد کنسانتره)، نداشته است (Swyers *et al.*, 2008). در تحقیقی نشان داده شد که pH مدفوع اسب‌ها در جیره حاوی انواعی از پروبیوتیک‌های لاکتوباسیلوس و انتروکوکوس فاسیوم در مقایسه با تیمار شاهد که هیچ‌گونه پروبیوتیکی دریافت نکرده بود، تحت تأثیر قرار نگیرد، ولی جیره حاوی پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس توانست pH مدفوع را بیشتر نماید (Swyers *et al.*, 2008). فعالیت و موثر بودن پروبیوتیک‌ها احتمالاً به سویه‌های

جدول ۳- اثر جیره‌های آزمایشی بر pH مدفوع، وقوع کولیک و لنگش در اسب‌ها

Table 3. Effect of experimental diets on fecal pH, colic, and lameness incidence in horses

Item	Cracked		Steam-flaked		SEM ¹	P-value		
	No EF ²	EF	No EF	EF		Processing	Probiotic	Interaction
Fecal pH	6.61	6.57	6.51	6.61	0.10	0.67	0.62	0.42
Colic incidence	0	0	0	0	-	-	-	-
Lameness incidence	0	0	0	0	-	-	-	-

¹ Standard error of the means² *Enterococcus faecium* probiotic

جدول ۴- اثر جیره‌های آزمایشی بر قابلیت هضم مواد مغذی و غلظت گلوکز خون

Table 4. Effect of experimental diets on nutrient digestibility and blood glucose concentration

Item	Cracked		Steam-flaked		SEM ¹	P-value		
	No EF ²	EF	No EF	EF		Processing	Probiotic	Interaction
DM (%)	52.47	52.69	52.44	52.55	0.51	0.86	0.74	0.91
OM (%)	51.15	51.12	51.07	51.30	0.43	0.90	0.81	0.77
NDF (%)	33.97	33.71	33.97	33.32	0.33	0.56	0.17	0.56
ADF (%)	33.56	33.23	33.45	32.82	0.28	0.35	0.10	0.69
Blood glucose (mg/dL)	94.9	94.3	94.0	94.2	0.85	0.84	0.71	0.46

¹ Standard error of the means² *Enterococcus faecium* probiotic

گلوکز خون تحت تأثیر نوع فرآوری منبع غله، افزودن پروبیوتیک و یا اثر متقابل بین آن‌ها قرار نگرفت ($P > 0.05$ ، جدول ۴). با توجه به اینکه پروبیوتیک اضافه شده به جیره-ها در آزمایش حاضر، تأثیر قابل توجهی بر قابلیت هضم مواد مغذی نداشت، بنابراین، عدم معنی‌دار بودن سطح گلوکز خون نیز در این آزمایش قابل انتظار بود. سطح گلوکز خون در اسب از نظر وقوع برخی بیماری‌ها از جمله کولیک متابولیکی مهم است و افزایش سطح گلوکز خون ممکن است وقوع کولیت با علامت کولیک را افزایش دهد (Frape, 2008). موافق با نتایج آزمایش حاضر، در تحقیقی دیگر گزارش شد که تغذیه جیره‌های (تقریباً ۸۵ درصد علوفه و ۱۵ درصد کنسانتره) بر پایه ذرت با فرآوری‌های مختلف شامل آسیاب کردن، حرارت‌دهی با بخار، میکرونیزه کردن و پرک کردن با بخار، تأثیری بر غلظت گلوکز و شاخص گلوکز خونی (مقدار قندی که پس از مصرف کربوهیدرات‌ها در واحد زمان در بدن آزاد می‌شود) اسب‌ها نداشت (Vervuert et al., 2004). در تحقیقی دیگر و بر خلاف نتایج تحقیق حاضر، افزودن پروبیوتیک‌های باکتریایی تولید کننده اسیدلاکتیک شامل *Lactobacillus equigenosus*، *Lactobacillus reuteri* Lr1، *Le1*، *Enterococcus mundtii* ST4SA و *plantarum* 423 غلظت گلوکز خون را کاهش دادند. در این تحقیق به آثار مثبت احتمالی این پروبیوتیک‌ها بر سلامت حیوان اشاره

قابلیت هضم ماده خشک، ماده آلی و الیاف تحت تأثیر افزودن باکتری‌های تولید کننده اسید لاکتیک قرار نگرفت (Swyers et al., 2008). شاید یکی از دلایلی که قابلیت هضم مواد مغذی جیره مخصوصاً بخش الیاف آن تحت تأثیر افزودن پروبیوتیک قرار نگرفته است به عدم تأثیر آن بر pH بخش‌های انتهایی دستگاه گوارش مربوط باشد. از طرفی، در این آزمایش، pH مدفوع نشان داد که محیط مناسبی در انتهای دستگاه گوارش برای هضم الیاف مهیا بوده است و در این شرایط، احتمالاً افزودنی‌های باکتریایی زنده تأثیر قابل تشخیصی بر هضم مواد مغذی نداشتند است. با توجه به بررسی منابع صورت گرفته، تحقیقات اندکی به بررسی آثار باکتری انتروکوکوس فاسیوم در جیره اسب پرداخته‌اند. در تحقیقی اشاره شده است که برای مشاهده بهبود در قابلیت هضم با افزودن پروبیوتیک، باید سطح نشاسته جیره، مخصوصاً از نوع عبوری آن، بیشتر بوده و شرایط اسیدوزی شدیدتری را در انتهای دستگاه گوارش اسب ایجاد کرده باشد (Swyers et al., 2008). همچنین، این احتمال وجود دارد که مقدار میکروب زنده فراهم شده از راه جیره به اندازه کافی نبوده و برای بهبود تخمیر و جلوگیری از پدیده ناتراز شدن همزیستی میکروب‌های دستگاه گوارش، باید روزانه مقدار بیشتری میکروب زنده به جیره اضافه شود.

سطوح بالاتر این پروبیوتیک در جیره اسب در دوره‌های آزمایشی پیوسته و طولانی‌تر می‌تواند بررسی شود.

تشکر و قدردانی

از مدیریت و پرسنل محترم باشگاه سوارکاری کانی (کرمانشاه، ایران) و همچنین مدیریت محترم کارخانه خوراک دام و طیور روانسر برای فراهم کردن اسب و امکانات آزمایش تشکر و قدردانی می‌شود. همچنین نویسندگان مقاله از مدیریت و پرسنل محترم آزمایشگاه اداره کل دامپزشکی استان کرمانشاه و آزمایشگاه دامپزشکی آریان برای انجام تجزیه‌های شیمیایی تشکر می‌نمایند.

شد (Botha, 2011) که از دلایل احتمالی اختلاف با نتایج آزمایش حاضر می‌توان مواردی همچون اختلاف در میزان نشاسته و فرآوری غلات، و تفاوت در میزان و سویه‌های باکتری‌های استفاده شده در پروبیوتیک مصرفی اشاره نمود.

نتیجه‌گیری کلی

در مجموع، تغذیه اسب‌ها با غلات پرک شده همراه با بخار به جای غلات بلغور شده و کاربرد ۱۰ گرم پروبیوتیک انتروکوکوس فاسیوم به ازای هر رأس حیوان در جیره (با نسبت ۶۰ به ۴۰ علوفه به کنسانتره)، تأثیری بر قابلیت هضم، pH مدفوع و گلوکز خون نداشت. به هر حال، تأثیر

فهرست منابع

- Benyacoub J., Czarnecki-Maulden G. L., Cavadini C., Sauthier T., Anderson R. E., Schiffrin E. J. and von der Weid T. 2003. Supplementation of food with *enterococcus faecium* (SF68) stimulates immune functions in young dogs. The Journal of Nutrition, 133: 1158-1162.
- Berg E. L., Fu C.J., Porter J. H. and Kerley M. S. 2005. Fructooligosaccharide supplementation in the yearling horse: Effects on fecal pH, microbial content, and volatile fatty acid concentrations. Journal of Animal Science, 83: 1549-1553.
- Botha M. 2011. Selection of probiotic lactic acid bacteria for horses based on *in vitro* and *in vivo* studies. Master of Science Thesis, University of Stellenbosch, Stellenbosch, South Africa.
- Brøknær C., Austbø D., Næsset J. A., Knudsen K. E. B. and Tauson A.-H. 2012. Equine pre caecal and total tract digestibility of individual carbohydrate fractions and their effect on caecal pH response. Archives of Animal Nutrition, 66(6): 490-506.
- Coverdale J. A. 2016. Horse species symposium: Can the microbiome of the horse be altered to improve digestion? Journal of Animal Science, 94(6): 2275-2281.
- Frape D. 2008. Equine nutrition and feeding. Blackwell Science Ltd., Cornwall. UK.
- Ghorbani G., Morgavi D., Beauchemin K. and Leedle J. 2002. Effects of bacterial direct-fed microbials on ruminal fermentation, blood variables, and the microbial populations of feedlot cattle. Journal of Animal Science, 80(7): 1977-1985.
- Harris P.A. 1997. Energy sources and requirements of the exercising horse. Annual Review of Nutrition, 17: 185-210.
- Hussein H. S., Vogedes L. A., Fernandez G. C. J. and Frankeny R. L. 2004. Effects of cereal grain supplementation on apparent digestibility of nutrients and concentrations of fermentation end-products in the feces and serum of horses consuming alfalfa cubes. Journal of Animal Science, 82(7): 1986-1996.
- Hymøller L., Dickow M. S. Brøknær C. Austbø D. and Jensen S. K. 2012. Cereal starch, protein, and fatty acid pre-caecal disappearance is affected by both feed technological treatment and efficiency of the chewing action in horses. Livestock Science, 150(1): 159-169.
- Jouany J.-P., Medina B., Bertin G. and Julliand V. 2009. Effect of live yeast culture supplementation on hindgut microbial communities and their polysaccharidase and glycoside hydrolase activities in horses fed a high-fiber or high-starch diet. Journal of Animal Science, 87(9): 2844-2852.
- Julliand V. and Grimm P. 2017. The impact of diet on the hindgut microbiome. Journal of Equine Veterinary Science, 52: 23-28.
- Kienzle E., Pohlenz J. and Radicke S. 1997. Morphology of starch digestion in the horse. Journal of Veterinary Medicine Series A, 44: 207-221.
- Mackenthun E., Coenen M. and Vervuert I. 2013. Effects of *Saccharomyces cerevisiae* supplementation on apparent total tract digestibility of nutrients and fermentation profile in healthy horses. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 97: 115-120.
- McLean B. M. L., Hyslop J. J., Longland A. C., Cuddeford D. and Hollands T. 2000. Physical processing of barley and its effects on intra-caecal fermentation parameters in ponies. Animal Feed Science and Technology, 85(1): 79-87.

- Medina B., Girard I. D., Jacotot E. and Julliand V. 2002. Effect of a preparation of *Saccharomyces cerevisiae* on microbial profiles and fermentation patterns in the large intestine of horses fed a high fiber or a high starch diet. *Journal of Animal Science*, 80(10): 2600-2609.
- Nocek J. E. and Kautz W. P. 2006 Direct-fed microbial supplementation on ruminal digestion, health, and performance of pre- and postpartum dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 89: 260-266.
- Nocek J. E., Kautz W. P., Leedle J. A. Z. and Allman J. G. 2002. Ruminal supplementation of direct-fed microbials on diurnal pH variation and *in Situ* digestion in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 85: 429-433.
- NRC. 2007. Nutrient requirements of horses. (6th ed.). Washington DC., USA: National Research Council of the National Academies. Pp. 3-33.
- Philippeau C., Sadet-Bourgeteau S., Varloud M. and Julliand V. 2015. Impact of barley form on equine total tract fibre digestibility and colonic microbiota. *Animal*, 9(12): 1943-1948.
- Philpot K., Martin M., Butardo V., Willoughby D. and Fitzgerald M. 2006. Environmental factors that affect the ability of amylose to contribute to retrogradation in gels made from rice flour. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(14): 5182-5190.
- Rosenfeld I. and Austbø D. 2009a. Digestion of cereals in the equine gastrointestinal tract measured by the mobile bag technique on caecally cannulated horses. *Animal Feed Science and Technology*, 150(3): 249-258.
- Rosenfeld I. and Austbø D. 2009b. Effect of type of grain and feed processing on gastrointestinal retention times in horses. *Journal of Animal Science* 87(12): 3991-3996.
- Selmi B., Marion D., Perrier Cornet J. M., Douzals J. P. and Gervais P. 2000. Amyloglucosidase hydrolysis of high-Pressure and thermally gelatinized corn and wheat starches. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(7): 2629-2633.
- Swyers K. L., Burk A. O., Hartsock T. G., Ungerfeld E. M. and Shelton J. L. 2008. Effects of direct-fed microbial supplementation on digestibility and fermentation end-products in horses fed low- and high-starch concentrates. *Journal of Animal Science*, 86(10): 2596-2608.
- Tanabe S., Suzuki T., Wasano Y., Nakajima F., Kawasaki H., Tsuda T., Nagamine N., Tsurumachi T., Sugaya K., Akita H., Takagi M., Takagi K., Inoue Y., Asai Y. and Morita H. 2014. Anti-inflammatory and intestinal barrier-protective activities of commensal lactobacilli and bifidobacteria in Thoroughbreds: Role of probiotics in diarrhea prevention in neonatal Thoroughbreds. *Journal of Equine Science*, 25: 37-43.
- Van Keulen J. and Young B. A. 1977. Evaluation of acid-insoluble ash as a natural marker in ruminant digestibility studies. *Journal of Animal Science*, 44(2): 282-287.
- Van Soest P. J., Robertson J. B. and Lewis B. A. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, 74(10): 3583-3597.
- Vervuert I., Coenen M. and Bothe C. 2004. Effects of corn processing on the glycaemic and insulinaemic responses in horses. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 88: 348-355.
- Whitehouse C., Pagan J., Coleman R., Waldridge B., Yates O. and Garling S. 2015. Evaluation of apparent total tract digestibility and glycemic responses to processed corn in non-exercised Thoroughbred horses. *Journal of Equine Veterinary Science*, 5(35): 408.
- Zeyner A. and Boldt E. 2006. Effects of a probiotic *Enterococcus faecium* strain supplemented from birth to weaning on diarrhoea patterns and performance of piglets. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 90: 25-31.



Research paper

Influence of diets containing barley and corn grain (steam-flaked or cracked), with or without *Enterococcus faecium* probiotic on digestibility, fecal pH, blood glucose, and pathologic problems of adult horses

E. Saecidi¹, J. Fakhraei^{2*}, H. Mansoori Yarahmadi², S. Mojahedi³

1. Ph.D. Student of Animal Nutrition, Department of Animal Science, Islamic Azad University, Arak Branch, Arak, Iran

2. Assistant Professor, Department of Animal Science, Islamic Azad University, Arak Branch, Arak, Iran

3. Former Ph.D. Student, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran

(Received: 30-09-2020 – Accepted: 22-02-2021)

Abstract

The objective of this study was to investigate the effect of two processing methods of barley and corn grains (steam-flaking or cracking) and the addition of a probiotic containing *Enterococcus faecium* (10 g/d to provide 2.5×10^{11} colony-forming unit) to diet on nutrients digestibility, fecal pH, blood glucose, and pathologic problems of horses. In this experiment, 12 adult Kurdish horses with an average weight of 416 ± 43 kg were used in a replicated 4×4 Latin Square experiment with a 2×2 factorial design during four periods of 28 days, including 21 days for dietary adaptation and seven days for sampling. Experimental diets (60:40 forage to concentrate ratio) were: 1) Cracked grains based diet without probiotic, 2) Cracked grains based diet with 10 g/d probiotics, 3) Steam-flaked grains based diet without probiotic, 4) Steam-flaked grains based diet with 10 g/d probiotics. Results showed that mean fecal pH was 6.57 in different treatments and was not affected by the type of grain processing, probiotic supplementation, and their interaction ($P > 0.05$). Also, digestibility of dry matter, organic matter, NDF, and ADF, as well as blood glucose, lameness, and colitis incidence were not affected by two types of cereal processing including cracking or steam-flaking, the addition of probiotic, and their interaction. Overall, our results showed that replacing steam-flaked corn for cracked corn and supplementing 10 g per day *enterococcus faecium* probiotic did not affect digestibility, fecal pH, and blood glucose. However, further research is recommended to investigate the effects of higher *enterococcus faecium* probiotic doses in high grain diets.

Keywords: Horse, *Enterococcus faecium*, Cereal processing, Digestibility

*Corresponding author: j-fakhraei@iau-arak.ac.ir