



## نقش پروبیوتیک ها در تغذیه نشخوار کنندگان

واژه پروبیوتیک که واژه ای است یونانی، به معنای "برای زندگی" می باشد. طی سالیان متمادی بکارگیری این واژه معنی آن همواره در حال تغییر بوده است. این واژه نخستین بار در سال ۱۹۶۵ توسط لی لی و استیل ول برای مواد مترشح به وسیله ارگانسیم هایی به کار گرفته شد که موجب تحریک رشد در میکروارگانسیم های دیگر می شدند. بنابراین، این ترکیبات کاملاً در مقابل آنتی بیوتیک ها یا مواد "پادزیست" قرار می گیرند. با این وجود، بکارگیری این واژه بدین شکل تداوم نیافت و اسپرتی (۱۹۷۱) از این واژه تحت عنوان عصاره های بافتی موجب تحریک رشد میکروبی یاد نمود. پارکر در سال (۱۹۷۴) تعریفی را ارائه نمود که مطابق این تعریف، پروبیوتیک ها ارگانسیم ها یا موادی هستند که در تعادل میکروبی روده تأثیر گذارند. این تعریف بکارگیری پروبیوتیک ها را به میکروفلور روده مرتبط می سازد و بکارگیری کلمه "مواد یا ترکیبات" مفهوم وسیعی به آنها می بخشد که حتی آنتی بیوتیک ها را نیز فرا می گیرد. فولر (۱۹۸۹) تعریف جامعتری را ارائه نمود؛ مطابق این تعریف، پروبیوتیک ها مکمل های غذایی میکروبی هستند که از طریق بهبود تعادل میکروبی روده تأثیرات سودمندی بر روی میزبان دارند. این تعریف جدید بر ماهیت زنده پروبیوتیک ها تأکید دارد.

### تاریخچه

اگرچه بکارگیری واژه پروبیوتیک مرتبط با مکمل های غذایی فقط از سال ۱۹۷۴ به بعد بوده است، ولی تاریخچه حقیقی بکارگیری مکمل های غذایی میکروبی به هزاران سال قبل باز می گردد. احتمالاً نخستین غذای حاوی میکروارگانسیم های زنده شیرتخمیر شده بوده که در بخش عهد عتیق انجیل مورد اشاره قرار گرفته است. همچنین نقاشی های روی دیوار مربوط به ۲۵۰۰ سال قبل از میلاد مسیح نشان می دهد که سومریان نیز از شیرهای تخمیر شده استفاده می کرده اند. اگرچه در این رابطه تأثیرات سودمند بر سلامتی فرد مصرف کننده به دنبال مصرف پروبیوتیک ها می توانست مد نظر قرار گیرد، ولی جلوگیری از فساد ماده غذایی نیز بی گمان

تأثیرات سودمندی بر سلامتی و بهداشت جامعه به دنبال داشت. در سال ۱۹۷۸ یکی از محکم ترین موارد حاکی از نقش میکرو فلور دستگاه گوارش در مقاومت بر علیه بیماری ها توسط کارتر و کالینز ارائه گردید. آنها نشان دادند که خوکیچه های هندی عاری از میکروب به دنبال مصرف ۱۰ سلول سالمونلا انتریتیدیس بیمار شده و می میرند. در حالی که برای کشتن یک حیوان معمولی با میکروفلور کامل دستگاه گوارش به  $10^9$  سلول نیاز می باشد.

بنابراین، بدون شک حیوانات جمعیتی از میکروارگانیزم ها را در روده خود دارند که آنها را در برابر بیماری ها حفاظت و مراقبت می نماید. اگر این مساله حقیقت دارد، دیگر چه نیازی به مصرف پروبیوتیک ها است؟ لازم به ذکر است که در حالات معمولی نیازی به مصرف پروبیوتیک ها نیست. در طبیعت، نوزاد حیوانات فلور محافظت کننده را از مادر و محیط خود دریافت می دارند. با این وجود، روش های امروزی مراقبت در حین و پس از زایمان، در جهت محدود سازی تماس با مادر و فراهم آوری غذاها و محیط های غیر طبیعی است. در نتیجه، تعدادی از اجزای طبیعی میکروفلور دستگاه گوارش نوزادان و عامل ایجاد مقاومت در برابر بیماری ها دیگر موجود نمی باشد. ترکیب فلور بزرگسالان و بالغین نیز تحت تأثیر جیره غذایی، داروهای ضد باکتری و استرس قرار دارد. بکارگیری مکمل های پروبیوتیکی در جهت جبران این کمبودها است. بنابراین، مصرف این ترکیبات موجب پدید آمدن چیزی نمی گردد که در حالت طبیعی وجود ندارد، بلکه صرفاً قابلیت حفاظت کنندگی فلور را به طور کامل احیا می کند. با شناخت جامعه از تأثیرات جانبی و نامطلوب آنتی بیوتیک ها، بکارگیری پروبیوتیک ها به عنوان عوامل درمانی و افزایش دهنده رشد گسترش یافت.

### ترکیب و اجزای فرآورده های پروبیوتیکی

کارهای اولیه ای که توسط مچنیکف و همکارانش با استفاده از "باسیل بلغاری" انجام گرفت، به طور حتم با ارگانیزم دارای قرابت زیاد با لاکتوباسیل های تولید کننده ماست صورت گرفته است. حتی امروزه نیز لاکتوباسیل ها به عنوان متداول ترین ارگانیزم های بکار رفته در ساخت پروبیوتیک ها مطرح می باشند. بکارگیری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس با این تفکر همراه بود که این ارگانیزم در دستگاه گوارش زنده می ماند؛ چرا که تصور می شد این ارگانیزم لاکتوباسیل غالب در روده است. کارهای بعدی نشان داد که این امر صحت ندارد و به همین صورت طیف وسیعی از لاکتوباسیل ها به کار گرفته شد. در فرآورده های پروبیوتیکی موجود باکتری های ذیل یافت می شوند: لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، لاکتوباسیلوس بولگاریکوس تحت گونه

دلبروکی، لاکتوباسیلوس فرمنتوم، لاکتوباسیلوس کازئی، لاکتوباسیلوس برویس، لاکتوباسیلوس پلانٹاروم، لاکتوباسیلوس روتری، لاکتوباسیلوس لاکتیس و لاکتوباسیلوس سلویوسوس.

بکارگیری بیفیدوباکترها ناشی از کارهای تیزر (۱۹۰۵) است که نشان داد این ارگانسیم ها در دستگاه گوارش نوزادان تغذیه شده از شیر مادر با کتری های غالب هستند و در نوزادان تغذیه شده با جیره های فرموله شده یافت نمی شوند. علیرغم شواهد فراوان موجود در خصوص وجود بیفیدوباکترها در روده نوزادان تغذیه شده با جیره های فرموله، این عقیده که بین این باکتری ها و مقاومت مناسب موجود در نوزادان تغذیه شده با شیرمادر ارتباط وجود دارد، روز به روز قوی تر گردید. اگرچه بین تعداد بیفیدوباکترها و مقاومت موجود ارتباط مستقیمی وجود ندارد، ولی کشف این مطلب که گونه بیفیدوباکترهای موجود در روده نوزادان تغذیه شده با شیرمادر و نوزادان تغذیه شده با جیره فرموله شده متفاوت می باشند، می تواند حائز اهمیت باشد. در حال حاضر بیفیدوباکترهای ذیل در فرآورده های پروبیوتیکی به کار گرفته می شوند: بیفیدوباکتریوم ترموفیلوم، بیفیدوباکتریوم لانگوم، بیفیدوباکتریوم اینفانتیس، بیفیدوباکتریوم بیفیدوم، بیفیدوباکتریوم ادالستیس و بیفیدوباکتریوم انیمالیس.

نخستین شکل بکارگیری استرپتوکوک ها به عنوان پروبیوتیک به صورت شیر ترش شده و ماست بود. ارگانسیم موجود در ماست یا استرپتوکوکوس سالیواریوس تحت گونه ترموفیلوس هنوز هم در ساخت پروبیوتیک به کار گرفته می شود. حرکت به سوی بکارگیری ارگانسیم های جدا شده از روده موجب بکارگیری انتروکوکوس فاسیوم گردید. دوسویه متداولتر از سایر سویه ها (M۷۴ و SF۶۸) هر دو از انسان جدا شده اند، اما عمدتاً در فرآورده های دامی مورد استفاده قرار می گیرند. سایر گونه های استرپتوکوکی که در فرآورده های پروبیوتیکی به کار می روند عبارتند از: استرپتوکوکوس لاکتیس، استرپتوکوکوس اینترمیدیوس، استرپتوکوکوس دی استیلا کتیس و استرپتوکوکوس کرموریس.

در فرآورده های پروبیوتیکی همچنین باکتری های مختلف شاخه پدیوکوکوس، پروپیونی باکتریوم، لوکو نوستوک و باسیل ها یافت می شوند. مخمرها (ساکارومایسس سروسیه و کاندیدا پیتتولوپسی) و کپک ها (آسپرژیلوس نیگر و آسپرژیلوس اریزا) نیز بکار می روند، اگرچه عمدتاً در ساخت فرآورده های مورد مصرف دام به کار گرفته می شوند. پروبیوتیک ها ممکن است حاوی یک یا تعداد بیشتری (تا ۹) سویه میکروارگانیسمی باشند و می توانند به شکل پودر (پودر یا پودر در داخل کپسول)، قرص، گرانول یا خمیر به کار روند. آن ها همچنین می توانند به صورت مستقیم از طریق دهان یا همراه با آب یا غذا مصرف شوند.

آزمایشاتی به صورت تجویز به جوجه های تازه از تخم خارج شده از طریق اسپری کردن در محیط اطراف آنها نیز به عمل آمده است. علیرغم دقت زیاد در انتخاب سویه ها، احتمال نمی رود که مستقرسازی دائم ارگانسیم پروبیوتیک در دستگاه گوارش امکان پذیر باشد و برای دستیابی به تأثیر پروبیوتیک ها استفاده چند نوبته از آنها لازم است. یک پروبیوتیک مؤثر باید در شرایط محیطی مختلف و متفاوت خاصیت خود را حفظ نموده و در اشکال مختلف به صورت فعال باقی بماند. بنابراین، باید ویژگی ها و مشخصات ذیل را دارا باشد:

الف) به عنوان یک محصول زنده امکان تولید آن در سطح صنعتی موجود باشد.

ب) در انبار و محل مصرف در مزارع به مدتهای طولانی قابل نگهداری باشد و ثابت باقی بماند.

ج) در روده تأثیر خود را حفظ نماید.

د) بر سلامتی میزبان تأثیر مثبت داشته باشد.

ولی عملاً با مدنظر قرار دادن نوع این فرآورده ها ما انتظار داریم که چه نتایجی از مصرف این مواد به دست آید؟ تأثیرات مثبت و سودمند بکارگیری مکمل های پروبیوتیکی فراوانند و عبارتند از:

الف) بهبود رشد دام ها: این امر عمدتاً از کاهش عفونت تحت درمانگاهی ناشی از میکروارگانسیم های کاهش دهنده رشد حاصل می گردد. همین مکانیسم برای افزایش رشد ناشی از مصرف آنتی بیوتیک ها ذکر شده است. برای مثال، مشخص شده است که در طیور انتروکوکوس هیرا ارگانسیم عامل محدود کننده رشد است.

ب) بهبود بکارگیری غذا: این امر از طریق افزایش کارآیی روندهای موجود در هضم مواد غذایی یا بهینه سازی روند هضم موادی حاصل می گردد که پیشتر قابل هضم بودند؛ برای مثال بکارگیری انتروکوکوس فاسیوم در طیور آن ها را قادر می سازد تا سلولز را نیز هضم نمایند.

ج) افزایش تولید شیر در گاوهای شیرده: این حالت بویژه با مصرف مکمل های حاوی قارچ هایی مانند ساکارومایسس سرویسیه یا آسپرژیلوس اریزا حاصل می گردد. این حالت می تواند به صورت افزایش میزان شیر تولیدی و یا افزایش میزان چربی شیر ظهور یابد. این حالت نتیجه تأثیر بر متابولیسم شکمبه است.

د) افزایش تولید تخم مرغ: گزارشاتی مبنی بر افزایش تعداد تخم مرغ های تولیدی و وزن آن ها وجود دارد که البته به ندرت افزایش معنی داری را نشان می دهند.

و) بهبود وضعیت سلامتی: این امر افزایش مقاومت در برابر بیماری های عفونی از طریق آنتاگونیسم مستقیم یا تحریک ایمنی را شامل می گردد. در مورد تأثیر بر بهبود بیماری های قلبی و سرطان نیز ادعاهایی صورت گرفته است.

## نوع فرآورده

پروبیوتیک ها در اشکال مختلف عرضه می شوند و برای یک حیوان خاص شکلی از این فرآورده ها ممکن است در مقایسه با اشکال دیگر مناسب تر باشد. در صورتی که استقرار در دستگاه گوارش برای اخذ پاسخ پروبیوتیکی ضروری باشد، باید به خاطر داشت باکتری که در این ارتباط ویژگی میزبانی نشان می دهد و پروبیوتیک خوبی برای خوک محسوب می شود، ضرورتاً در طیور مؤثر نخواهد بود. اختصاصیت استقرار در میزبان با برقراری اتصال با سلول های مخاطی انعکاس می یابد. بارو و همکاران (۱۹۸۰) لاکتوباسیل ها و استرپتوکوک های جدا شده از طیف وسیعی از منابع را مورد آزمایش قرار دادند و دریافتند که به جز دو مورد استثناً فقط آنهایی که از خوک جداسازی شده اند قادر به برقراری اتصال با سلول های مخاطی خوک هستند. در گذشته، سویه های پروبیوتیکی به شیوه تجربی انتخاب می شدند؛ در حالی که آگاهی از وجود اختصاصیت میزبان برخی از تولیدکنندگان را بر آن داشت که آزمایشات آزمایشگاهی را انجام دهند تا محتمل ترین سویه های استقرار یابنده در دستگاه گوارش حیوانات دریافت کننده را مشخص نمایند. برای مثال، انجام آزمایشات برقراری اتصال با مخاط، میزان رشد، تحمل در برابر صفرا و مقاومت در برابر pH پایین ممکن است در گزینش سویه ها کارآمد باشد. با این وجود، باید به خاطر داشت که نتایج آزمایشگاهی را نباید همواره برای موقعیت های طبیعی و داخل بدن حیوان قابل تعمیم دانست. احتمالاً مناسب ترین روش آزمایشگاهی برای ارزیابی فعالیت ارگانیسم های پروبیوتیکی، بکارگیری روش کشت با جریان مداوم است. کارآیی این روش در آشکارسازی تغییرات اکولوژی میکروبی شکمبه و توانایی بالقوه آن در مطالعه فلور حیوانات تک معده ای باید به طور کامل مورد بررسی قرار گیرد. با مصرف مداوم پروبیوتیک ممکن است از اهمیت پدیده استقرار کاسته شود؛ چرا که امکان وجود تعداد بالای میکروارگانیسم پروبیوتیکی در دستگاه گوارش بدون نیاز به استقرار و رشد فراهم می گردد. برخی از ارگانیسم های پروبیوتیکی مانند اسپرزیلوس اریزا که محتمل نیست در شکمبه رشد کنند و یا تأثیری بر فعالیت متابولیسمی شکمبه داشته باشند، باید به این شیوه عمل کنند. ولی حتی اگر پروبیوتیک ها به نحوی طراحی شده باشند که نباید به صورت مداوم مصرف شوند، به حداکثر رسانیدن میزان

بقا در دستگاه گوارش و انجام آزمایشات فهرست شده فوق الذکر ممکن است در گزینش مؤثرترین سویه ها مفید واقع شود.

## روش های تولید

رفتار یک ارگانسیم در دستگاه گوارش می تواند تحت تأثیر نحوه رشد و برداشت آن از محیط قرار گیرد. برای مثال، ظهور پدیده اتصال به مخاط تحت تأثیر منبع انرژی کربوهیدرات مورد استفاده برای رشد (فولر، ۱۹۷۵) یا وجود شیر در محل برقراری اتصال قرار دارد. رشد انتروکوکوس فاسیوم در شیر موجب افزایش خاصیت ایمنی دهندگی در برابر اسهال ناشی از اشرشیاگلی در خوک ها می گردد. تعلیق ارگانسیم های پروبیوتیکی در شیر نیز ممکن است موجب افزایش توانایی آنها برای برقراری اتصال و در نتیجه استقرار بهتر در دستگاه گوارش گردد. مرحله ای از چرخه رشد که در آن ارگانسیم های پروبیوتیکی اخذ شده اند نیز ممکن است بر اتصال آنها در سلولهای مخاطی مؤثر باشد. کوک و همکاران (۱۹۸۸) دریافتند که لاکتوباسیلوس کازئین در صورت جمع آوری در مرحله ایستایی در مقایسه با موارد مربوط به ابتدای مرحله رشد از قابلیت اتصال بهتری برای سلول های مخاطی دستگاه ادراری برخوردار است. حضور کلسیم در محیط رشد می تواند بر بقای ارگانسیم پس از انجماد یا خشک شدن در حالت انجماد مؤثر باشد که این امر اغلب ویژگی مهمی در روند تولید پروبیوتیک محسوب می شود. برخی از این عوامل ممکن است در روند تولید ماست یا سایر فرآورده های لبنی تخمیری مؤثر باشند. برای مثال، ماست می تواند از طریق تخمیر شیر در ۴۲ درجه سانتیگراد به مدت ۳-۴ ساعت یا تخمیر به طول یک شب در ۳۰ درجه سانتیگراد صورت پذیرد. این روندها زمانی پایان می یابند که به دنبال تخمیر به pH از قبل تعیین شده یعنی حدود ۴/۲ برسیم. با وجود آنکه هر دو محصول را ماست می نامند و هر دو با یک ارگانسیم آغازین تخمیر شده اند (لاکتوباسیلوس دلبروکی تحت گونه بولگاریکوس و استرپتوکوکوس سالیواریوس تحت گونه ترموفیلوس)، ولی با توجه به شرایط متفاوت رشدشان ممکن است دو محصول بیوشیمیایی متفاوت شوند و بنابراین در صورت مصرف در حیوانات تأثیر متفاوتی به همراه خواهند داشت.

## فرآورده های موجود پروبیوتیک

با توجه به دسترسی به اطلاعات مربوط به تولید، هیچ علتی وجود ندارد که تصور نماییم این فرآورده ها بی اثر هستند. همچنین، همان طور که ذیلاً اشاره خواهد شد، تمامی فرآورده های حاصل از اسپرژیلوس اریزا، مانند سایر فرآورده ها تأثیرات مشابه و یکسانی بر تخمیر ندارند و بنابراین انتظار نمی رود که تمامی مخمرها و قارچ

ها از تاثیرات تغذیه ای مشابهی برخوردار باشند. فرآورده های مخمیری که در بازار یافت می شوند، به صورت مخلوطی از مخمرهای زنده و کشته به همراه محیط کشت محل رشد مخمر یا تقطیر شده های محلول های خشک هستند. از آنجا که ادعا می شود که اجزای مربوط به محیط کشت در فعالیت محصول دخالت دارند، برای توصیف این مواد به جای تک واژه مخمر از واژه کشت مخمر استفاده می شود. کشت مخمر به صورت ذیل تعریف می شود: یک محصول خشک که از مخمر و محیط کشتی که روی آن رشد کرده تشکیل شده است. این محصول به شیوه ای خشک شده است که قدرت تخمیر کنندگی مخمر حفظ شده است. نوع محیط کشت مصرفی باید روی برچسب ذکر شود. به عبارت دیگر، عصاره تخمیری اسپرژیلوس اریزا متشکل از هاگ های قارچی و ریشه های خشک شده ای است که روی سبوس رشد کرده اند. به نظر می رسد که قابلیت حفظ حیات در فرآورده های موجود بسیار متفاوت باشد. در کشت مخمر  $10^{10}$  -  $10^9$  یا  $10^7$  \* ۲ سلول زنده در هر گرم یافت می شود که البته این مقدار به نوع محصول نیز بستگی دارد. برای مثال، عصاره تخمیری اسپرژیلوس اریزا حاوی  $10^3$  \*  $1/6$  سلول زنده در هر گرم می باشد. افزودنی های غذایی قارچی را می توان با پاشیدن روی جیره یا مخلوط سازی در جیره حاوی اقلام متفاوت به مصرف رسانید. آزمایشاتی نیز در خصوص مصرف اسپرژیلوس اریزا به عنوان مواد افزودنی به سیلو انجام شده است.

## ویژگی های یک پروبیوتیک مطلوب

### - مقاومت در برابر شرایط داخل بدن حیوان

پس از تجویز پروبیوتیک، میکروارگانیسم ها نباید توسط مکانیسم های دفاعی میزبان نابود شوند. آنها باید بسته به محل تجویز میکروارگانیسم ها در برابر شرایط اختصاصی موجود در آن قسمت از بدن مقاوم باشند. برای مثال، میکروارگانیسم های موجود در یک پروبیوتیک باید با مصرف خوراکی در برابر آنزیم های موجود در محوطه دهانی (آمیلاز و لیزوزیم)، آنزیم های معده (پپسین و لیپاز) و pH پایین (مقادیر بالای HCl) و آنزیم های موجود صفرا، شیره لوزالمعده و مخاط روده کوچک مقاوم باشند. بدین ترتیب برای سویه های میکروبی به کار گرفته شده در فرآورده های پروبیوتیکی با مصرف خوراکی، مقاومت در برابر دستگاه گوارش و دهان از مهمترین معیارهای انتخاب و گزینش می باشد.

گیلیند (۱۹۷۲) نشان داد که باکتری های گرم مثبت عمدتاً در برابر لیزوزیم حساسند، اما لاکتوباسیل ها و استرپتوکوک ها در مقایسه با سایر باکتری های گرم مثبت از مقاومت بیشتری در این زمینه برخوردار می باشند.

باکتری های اسید لاکتیکی در برابر اسید مقاوم هستند. کان وی و همکاران (۱۹۸۷) نشان دادند که لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در مقایسه با لاکتوباسیلوس دلبروکی تحت گونه بولگاریکوس از مقاومت بیشتری برخوردار است و در مقایسه با استرپتوکوکوس سالیواریوس تحت گونه ترموفیلوس نیز به نوبه خود مقاوم تر است. مقاومت در برابر pH پایین و خارج بدن حیوانات به نوع بافر و حضور غذا یا موادی مانند شیر بستگی دارد. این امر با نتایج مربوط به مطالعات داخل بدن حیوانات انجام شده توسط رابینز- براون و همکاران همخوانی دارد. در مطالعه آنها، میزان بقای لاکتوباسیلوس بولگاریکوس و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در مایع ژژنوم پس از عبور از معده در موارد اعمال محدودیت غذایی در مقایسه با موارد معمولی بسیار پایین بود. کان وی و همکاران (۱۹۸۷) نشان دادند که بقای لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در ژژنوم و دوازدهه بسیار بالاتر از بقای لاکتوباسیلوس دلبروکی تحت گونه بولگاریکوس می باشد. با توجه به این یافته ها، توجه به این نکته بسیار مهم است که نتایج حاصل از مطالعات داخل و خارج از بدن بسیار شبیه هستند. این امر بدان معناست که بخشی از روش انتخاب سویه های پروبیوتیکی را می توان بر اساس آزمایشات خارج از بدن قرار داد. بقای سویه ها هنگام عبور مواد از معده (۲ تا ۳ ساعت) را می توان با مطالعات خارج از بدن یعنی در شیر معده (برای مثال در حیوانات ذبح شده) در مقادیر مختلف pH، با انواع و مقادیر مختلف غذاها مورد آزمایش قرار داد. در صورتی که برای دستیابی به فعالیت مطلوب سویه های پروبیوتیکی، وقوع فعالیت متابولسمی و تکثیر یا استقرار در روده کوچک ضروری می نماید، تحمل پذیری در برابر صفرا یکی از معیارهای اساسی در انتخاب سویه های میکروبی خواهد بود. طبق بررسی های گیلیند و اسپک (۱۹۷۷)، باکتری های با منشأ خارج روده ای مانند لاکتوباسیلوس بولگاریکوس و لاکتوباسیلوس لاکتیس در برابر صفرا بسیار حساسند، به طوری که مقادیر کمتر از ۰/۰۵٪ نیز برای آنها مهار کننده است. با این وجود، حتی در میان گونه های باکتریایی نیز از نظر تحمل پذیری تفاوت هایی وجود دارد که این امر توسط گیلیند و همکاران (۱۹۸۷) برای لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس نشان داده شده است. مطالعات انجام شده توسط کالانهامر و کلیمن (۱۹۸۱) نشان داد که لاکتوباسیل های رشد یافته در پرگنه های صاف در مقایسه با پرگنه های سخت از مقاومت بیشتری در برابر صفرا برخوردارند. در حضور صفرا، ریخت شناسی پرگنه ها به ریزوئید تبدیل می شود و سلولها نیز بیرون زدگی غشای سیتوپلاسمی ناشی از فواصل موجود در دیواره سلولی را نشان می دهند. این امر می تواند بدین معنا باشد که ریخت شناسی سلولی و پرگنه ها نیز در گزینش سویه های لاکتوباسیلوس پارامترهای ارزشمندی محسوب می شوند. گزینش باکتریهای (اسید لاکتیکی) مقاوم در برابر صفرا می تواند از طریق کشت روی محیط آگار انتخابی دارای مقادیر متفاوت صفرا انجام شود (گیلیند و اسپک، ۱۹۷۷). مطابق نتایج حاصل از مطالعات گیلیند و همکاران (۱۹۸۴)،



براساس آزمایشات خارج بدن میان گزینش سویه های مقاوم در برابر صفرای لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و تعداد لاکتوباسیل های موجود در ژژنوم گوساله ها ارتباطی خوب وجود دارد(اما با تعداد آنها در دوازدهم ارتباطی ندارد). با توجه به آزمایشات خارج از بدن، باید تفاوت های موجود در ترکیب صفرا نیز مدنظر قرار گیرد. تفاوت ها در ترکیب نه تنها میان صفرای گونه های حیوانی مختلف بلکه میان صفرای کانوله شده و نمونه صفرای مأخوذه از کیسه صفرا نیز قابل مشاهده است. تعیین غلظتی از صفرا که سویه های منتخب باید در برابر آن مقاوم باشند بسیار دشوار است. میانگین صفرای تولیدی در خوک ها بسیار بالاست(حدود ۲ لیتر در یک خوک ۴۰ کیلوگرمی) که البته بسته به جیره مصرفی و ترکیب آن می تواند متفاوت باشد. علاوه بر مطالعه تحمل پذیری در برابر صفرا، تعیین تحمل پذیری در برابر شیر لوزالمعده و یا شیر کامل روده نیز می تواند از اهمیت برخوردار باشد. در یک محیط کشت پایه که حاوی مقادیر متغیری از شیر روده ای می باشد(ساتریفوژ و استریل شده)، باید منحنی های رشد را به منظور بررسی توان سویه ها در تکثیر در شرایط روده ای خارج از بدن حیوانات مورد بررسی قرار داد. این نوع آزمایش را حتی می توان با مدنظر قرار دادن متغیرهای روده ای و اجزای جیره مانند بهبود دهندگان رشد پیچیده تر نمود.

### - برقراری اتصال و استقرار در محل

جهت بقای طولانی مدت سویه های پروبیوتیکی در داخل بدن میزبان، باید زمان تکثیر میکروارگانیسم کوتاه باشد و یا اینکه سویه های مذکور قابلیت استقرار در سطوح داخل بدن را داشته باشند. در غیر این صورت، سویه ها به علت انقباض دستگاه گوارش از محل کنده می شوند. به طور کلی، برای سویه های پروبیوتیکی قابلیت برقراری اتصال و استقرار در مقایسه با حفظ قابلیت حیات و فعالیت متابولیسمی یک عامل مهم محسوب می شود. با این وجود، کاملاً مشخص نیست که آیا تجویز روزانه میکروارگانیسم های زنده با عدم توانایی استقرار نیز دارای خاصیت بهبود دهنده سلامتی هست یا خیر.

چنین تصور می شود که این میکروارگانیسم ها ممکن است از خواص و ویژگی های تحریک ایمنی برخوردار باشند. نخستین گام درخصوص پدیده استقرار، برقراری اتصال است. با این وجود، هود و زوتولا(۱۹۸۸) نشان دادند که لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس به علت pH پایین نابود می شود، بی آنکه اسید بر لایه پلی ساکارییدی تأثیر گذارد و آنها هنوز قدرت برقراری اتصال به کشت سلول بافت های روده تک سلولی را دارا می باشند. این اتصال با همان قدرت و کارآیی انجام می شود که سلول های لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس زنده این کار را انجام می دهند. این امر نشان می دهد که وجود متابولیسم فعال برای برقراری اتصال پیش شرط نیست؛ اگرچه وجود

آن برای رشد و استقرار حیاتی است. انتخاب سویه های با قابلیت برقراری اتصال به سلول های دستگاه گوارش را می توان براساس آزمایشات خارج از بدن حیوانات استوار نمود اما تعمیم این نتایج به موقعیت های داخل بدن دشوار است. عامل اصلی و کنترل کننده برقراری اتصال و استقرار در داخل بدن حیوانات، اختصاصی بودن گونه های حیوانی برای میکروارگانیزم هاست. اگرچه گونه های مشابه لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتریوم از حیوان و انسان جدا شده اند، ولی بسته به نوع حیوانی که میکروارگانیزم از آن جدا شده است، یعنی در داخل گونه های باکتریایی نیز بیوتیپ های متفاوتی قابل مشاهده اند. این امر نشان می دهد که یک سویه باکتریایی جدا شده از میکروفلور بومی یک گونه حیوانی در سایر گونه های حیوانی ضرورتاً در همان محل استقرار نمی یابد. علاوه بر اختصاصیت گونه های حیوانی برای برقراری اتصال، اختصاصی بودن سویه ای نیز در همان گونه های باکتریایی دیده می شود. بارو و همکاران (۱۹۸۰) نشان دادند که شدت و میزان برقراری ارتباط با سلول های مخاطی خاردار معده خوک برای سویه های متفاوت موجود در گونه های مشابه لاکتوباسیل ها متفاوت می باشد. این امر ممکن است ناشی از این مطلب باشد که برخی از گونه های لاکتوباسیلوس از نظر ژنتیکی حاوی یک گروه همولوگ نیستند. برای مثال، براساس فن آوری هیبریدسازی DNA، لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس یک گروه هترولوگ از باکتری ها را تشکیل می دهد. اختصاصی بودن برای گونه های میزبان مربوط به میکروفلور روده ای از مطالعات بر روی تعیین ویژگی ها مشخص گردید (اختصاصات در بیوتیپ ها، سروتیپ ها و انواع پلاسمید). در مطالعه ای که توسط کان وی و همکاران (۱۹۸۷) انجام گردید، باکتری های اسید لاکتیکی مورد آزمایش برای سلول های دوازدهه خوک و انسان شیوه های مختلف و قابل مقایسه برقراری اتصال را نشان دادند. به عبارت دیگر، تعجب آور نیست که میرا- ماکینین و همکاران (۱۹۸۳) نشان دادند که لاکتوباسیل های به دست آمده از مواد گیاهی و شیر و پنیر و کشت داده شده در خارج از بدن حیوانات به سلول های مخاطی خوک ها و گوساله ها اتصال نمی یابند. عامل دیگری که در برقراری اتصال مؤثر می باشد مصرف غذا است. برخلاف طیور معمولی سویه های لاکتوباسیلوس در طیور با ۱۲ ساعت محدودیت غذایی به دیواره چینه دان اتصال نمی یابند. میزان ارتباط در آزمایشات خارج از بدن حیوانات می تواند تحت تأثیر شرایط آزمایشگاهی مانند pH، حضور آنزیم ها، ترکیب محیط کشت (یک درصد شیر بدون چربی موجب افزایش میزان برقراری ارتباط می گردد) و سوسپانسیون بافر قرار گیرد. اگرچه می توان شرایط انجام آزمایش خارج از بدن حیوانات را تا حد ممکن مشابه شرایط داخل یا روی بدن انتخاب کرد، ولی با این وجود نتایج باید به دقت مورد تفسیر قرار گیرند. برقراری اتصال در شرایط خارج از بدن هیچ گونه تضمینی برای برقراری اتصال در شرایط داخل بدن و سپس استقرار بعدی را به دست نمی دهد. در یک اکوسیستم میکروبی، استقرار یک سویه

پروبیوتیکی نیازمند چیزی بیش از برقراری اتصال به تنهایی می باشد. این سویه پروبیوتیکی باید قادر باشد پس از استقرار روی مخاط میزبان و علیرغم حضور مکانیسم های دفاعی میزبان و تأثیرات متقابل با میکروفلور اطراف سویه تکثیر گردد. میکروارگانیسم های با قابلیت رقابت با سایر میکروارگانیسم ها برای مثال از طریق تولید مواد ضد میکروبی از بیشترین احتمال برای استقرار در اکوسیستم برخوردارند.

### - فعالیت ضد میکروبی

هنگامی که یک پروبیوتیک به منظور تضعیف عوامل بالقوه بیماریزا یا سایر میکروارگانیسم های مضر در میزبان به کار می رود، برخورداری از ویژگی های آنتاگونیستی می تواند سودمند باشد. باکتری های اسید لاکتیکی که اغلب به عنوان پروبیوتیک به کار گرفته می شوند، دارای خواص آنتاگونیستی هستند که از طرق ذیل خواص خود را اعمال می کنند:

- کاهش pH از طریق تولید اسید لاکتیک

- مصرف مواد غذایی در دسترس

- کاهش پتانسیل اکسیداسیون- احیا

- تولید پراکسید هیدروژن (تحت شرایط بی هوازی).

- تولید اجزای مهارکننده اختصاصی مانند باکتریوسینها.

### عوامل تأثیرگذار بر تأثیر پروبیوتیکی

تأثیرات متقابل یک افزودنی میکروبی با میزبان و میکروفلور دستگاه گوارش آن موجب ظهور تأثیرات مربوطه می گردد که ماهیتی بسیار پیچیده دارد. برخی از عوامل مؤثر بر این تأثیر نهایی را ذیلاً مورد بررسی قرار خواهیم داد.

### ترکیب فلور دستگاه گوارش حیوان میزبان

محتمل به نظر می رسد که پروبیوتیک ها به نحوی از طریق تأثیرگذاری بر ترکیب میکروفلور روده ای میزبان عمل می کنند. بدین ترتیب، پیش شرط اخذ یک پاسخ مثبت پس از مصرف ترکیب پروبیوتیکی، حضور میکروبی است که تأثیر نامطلوب مانند کاهش میزان رشد را به همراه داشته باشد. بنابراین این احتمال وجود دارد

که در صورت عدم وجود ارگانسیم تضعیف کننده رشد هیچ گونه تأثیری از مصرف پروبیوتیک ها حاصل نشود. همین طور در صورتی که ارگانسیم پروبیوتیک به صورت طبیعی کسب شده باشد، هیچ پاسخی از مصرف پروبیوتیک حاصل نمی شود. نیاز به مصرف افزودنی پروبیوتیک از زندگی غیرمعمول امروزی که بر انسان و حیوان تحمیل شده ناشی گردیده است. نمونه بسیار واضح طیور هستند که تخم مرغ آنها از کنار مرغ مادر برداشته شده و در یک انکوباتور تمیز نگهداری می گردد. در این محل، جوجه ها به علت عدم تماس با میکروارگانسیم های روده ای مادر قادر به کسب فلور محافظت کننده نمی باشند. در مورد نوزاد پستانداران نیز محدودیت دسترسی به ارگانسیم های روده ای مشابه مصداق دارد؛ اما در اینجا معمولاً جداسازی مادر از نوزاد کمتر به صورت کامل انجام می شود. با این وجود، در مواردی که نوزاد انسان از طریق عمل سزارین به دنیا می آید و به داخل انکوباتور انتقال می یابد، تأثیر مادر در حداقل میزان خود می باشد و تغییرات در میکروفلور دستگاه گوارش قابل مشاهده است. پروبیوتیک های موجود در بازار اغلب غیر مؤثر تلقی می گردند و به همین علت مورد مصرف قرار نمی گیرند؛ چرا که ترکیبات بسیار ساده ای هستند و حاوی باکتری های بی هوازی اجباری نمی باشند که در آزمایشات انجام شده اهمیت و ایجاد تأثیرات محافظت کنندگی آنها نشان داده شده است. با این وجود، در شرایط عملی ممکن است حیوان فاقد یک یا تعدادی از کل مجموعه ای باشد که فلور محافظت کننده را تشکیل می دهند. نشان داده شده است که در طیور برای ایجاد تأثیر محافظت کنندگی در برابر استقرار سالمونلا، حضور ۴۸ سویه در دستگاه گوارش ضروری می باشد. این مجموعه حاوی سویه های ناشناخته ای از کوکسی های بی هوازی گرم مثبت، باسیل های بی هوازی گرم مثبت، باکتری های جوانه زننده و همچنین نمایندگانی از جنس اشیریشیا، استرپتوکوکوس، باسیلوس، باکتریوئیدس، فوزوباکتریوم، لاکتوباسیلوس، یوباکتریوم، پروپیونوباکتریوم، کلستریدیوم و بیفیدوباکتریوم می باشد. اگرچه لاکتوباسیلها به تنهایی موجب افزایش مقاومت در برابر استقرار سالمونلا در دستگاه گوارش نمی شوند، ولی حذف آنها از فلور محافظت کننده میزان ایمنی موجود را کاهش می دهد. بنابراین می توان شرایطی را تصور نمود که حیوان دارای تمامی سویه ها بجز تعداد اندکی از سویه های ضروری مورد نیاز برای ایجاد ایمنی می باشد. در چنین شرایطی، تجویز باکتری های اسید لاکتیکی می تواند موجب افزایش ایمنی شود و نتیجه مثبتی به همراه داشته باشد. اینکه یک پروبیوتیک حاوی ارگانسیم های مناسب هست یا خیر به آن بستگی دارد که کدام یک از آنها در فلور دستگاه حاضر نباشند و این امر ممکن است اساس و پایه برخی از تفاوت های قابل مشاهده در میزان تأثیر آنها باشد.

## میزان و نحوه مصرف

در آزمایشات مختلف بررسی یک پروبیوتیک ممکن است رژیم های مصرفی متفاوتی به کار گرفته شوند؛ به طوری که در یکی مصرف به صورت مداوم و در دیگری فقط یک دز مصرف می شود. اگرچه حداقل دز مؤثر تعیین نشده است، ولی مشخص شده است که تأثیر پروبیوتیکی پس از توقف تجویز از میان می رود. آزمایشات روی موش های صحرایی و انسان نشان داده است که تأثیر پروبیوتیک ها پس از توقف مصرف از میان می رود و در خوک و طیور نیز ارگانسیم های موجود در پروبیوتیک را نمی توان ۷ روز پس از مصرف در دستگاه گوارش یافت. به نظر نمی رسد که استقرار دائم ارگانسیم های بلع شده یک نتیجه محتمل باشد؛ چرا که حتی میکروارگانسیم های بومی نیز به طور دائم در دستگاه گوارش قرار ندارند. با وجود آنکه فلور را دایمی و ثابت تصور می کنند، ولی ترکیب فلور مرتباً تغییر می نماید. بدین ترتیب، با وجود آنکه ممکن است شمارش اشرشیاکلی در تمام دوران حیات یک حیوان یکسان باشد، ولی سروتیپ های غالب به صورت دوره ای متغیر هستند. در بچه خوک ها نیز به صورت مشابه لاکتوباسیل ها در طول ۱۴ روز نخست زندگی تغییر می یابند که این امر با استفاده از روش تعیین ویژگی های پلاسمیدی مشخص می شود. این تغییرات پویای سویه ها در گونه های حیوانی نشان می دهد که اگرچه یک سویه مصرفی ممکن است در دستگاه گوارش استقرار یابد، ولی سویه فقط تا زمانی که در آن محل باقی می ماند که از قابلیت تطابق بیشتری برای استقرار در آنجا برخوردار باشد.

## سن و نوع حیوان

میکروفلور دستگاه گوارش، فیزیولوژی و وضعیت ایمنی حیوان تغییر می یابد و وضعیت آن در دوران نوزادی و پس از شیرگیری و مرحله بلوغ یکسان نیست. پولمن و همکاران (۱۹۸۰) دریافتند که خوک ها در اول دوره پرورش در مقایسه با اواسط دوره پرورش و انتهای آن بهتر به پروبیوتیک ها پاسخ می دهند. همچنین پاسخ نشخوارکنندگان در برابر پروبیوتیک های قارچی در مراحل مختلف شیردهی متفاوت می باشد. از آنجا که فلور در مرحله نوزادی نیز هنوز در حال تغییر می باشد، این اصل کلی همواره حاکم است که تأثیرگذاری بر فلور در طول این دوره در مقایسه با مراحل بعدی زندگی آسانتر است؛ چرا که بعدها فلور نسبتاً ثابتی پایدار می گردد. بنابراین می توان توصیه نمود که مصرف پروبیوتیک ها باید تا حد ممکن مدت کوتاهی پس از تولد آغاز شود. تغییرات در ترکیب جیره نیز ممکن است در این دوره رخ دهد. براکت و تانوک (۱۹۸۱) دریافتند که تغییرات جیره ای در ظهور فلور لاکتوباسیلوس مرتبط با مخاط در معده موش همبستگی دارد. آنها بر این عقیده بودند

که مقادیر نسبی اسید اولئیک و پالمیتیک در جیره از این لحاظ دارای اهمیت است. امروزه بخوبی می دانیم که در فلور دستگاه گوارش نوزاد انسان پس از شیرگیری و مصرف شیر خشک یا غذای جامد تغییراتی صورت می گیرد. نشان داده شده است که شیر حاوی عواملی است که موجب رشد بیفیدو باکتری ها می گردد و می تواند بر پاسخ ظاهر شده به دنبال مصرف پروبیوتیک های حاوی این ارگانسیم ها مؤثر باشد. تأثیر تضعیف کننده افزودنی حاوی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس بر فعالیت آنزیم به نوع جیره بستگی دارد، ولی در موش های صحرائی دریافت کننده یک جیره حاوی دانه ها تأثیری مشاهده نشده است، ولی در موش های دریافت کننده جیره حاوی گوشت پاسخ مثبتی گرفته شده است.

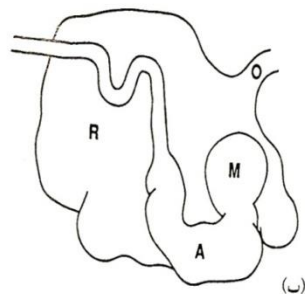
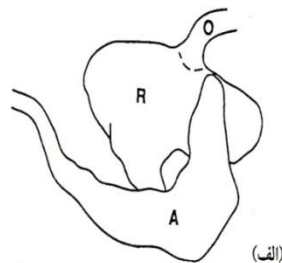
### تضمین کیفیت

قابلیت حفظ حیات یک محصول پروبیوتیکی از اهمیت حیاتی برخوردار است، ولی متأسفانه تعداد ارگانسیم های زنده همیشه مقداری نیست که روی برچسب ها ذکر می گردد، گیلیند و اسپک (۱۹۷۷) ۱۵ فرآورده پروبیوتیکی را مورد آزمایش قرار دادند که ادعا می شد حاوی مقادیر بالایی از لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس هستند. پس از آزمایش فقط در ۷ محصول لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس یافت گردید. از آنجا که میزان ارگانسیم های زنده همیشه قبل از آزمایشات تجربی کنترل نمی شد، این احتمال وجود دارد که برخی از نتایج منفی از فقدان تعداد کافی سلول های زنده در فرآورده مورد آزمایش ناشی شده باشد. عامل پیچیده کننده دیگری که باید در خاطر داشت تفاوت های سویه ای است که می توانند در داخل یک گونه نیز رخ دهند. بسیار محتمل است که مصرف دو پروبیوتیک تهیه شده از گونه های مشابه و یکسان باکتریایی نیز نتایج متفاوتی به همراه داشته باشد. بارو و همکاران (۱۹۸۰) دریافتند که حتی میان سویه های گونه های مشابه جدا شده از خوک نیز از لحاظ توانایی برای برقراری اتصال با سلول های مخاطی خوک تفاوت هایی وجود دارد. آنها همچنین دریافتند که در میان سویه های گونه های مشابه تفاوت های سویه ای زیادی از لحاظ میزان رشد و متابولیسم دیده می شود. بنابراین در زمان مقایسه دو فرآورده پروبیوتیکی حاوی گونه های مشابه، آگاهی از اینکه کشت های به کار گرفته شده برای تولید فرآورده پروبیوتیکی از یک سویه منشأ گرفته اند یا خیر، نیز ضروری است.

### کاربرد پروبیوتیک ها برای نشخوارکنندگان

آناتومی و فیزیولوژی بدن نشخوارکنندگان به طور مشخصی از بدن حیوانات غیرنشخوار کننده یعنی انسانی و سایر حیوانات تک معده ای متفاوت است. نشخوارکنندگان در قسمت پیشین دستگاه گوارش خود دو اندام

اضافی نیز دارند. نخستین آن‌ها شکمبه است که برای مثال در گاو شیری حجم آن ۱۰۰-۶۰ لیتر و در گوسفند ۲۵-۱۴ لیتر می‌باشد. این اندام ضرورتاً یک اتاق تخمیر است که در هر میلی لیتر آن حدود  $10^{10}$  باکتری و  $10^6$ - $10^5$  تک یاخته مژکدار یافت می‌شود و احتمالاً تعداد ناشناخته‌ای از قارچ‌های بی‌هوازی نیز یافت می‌شوند. غذای نسبتاً تخمیر شده و میکروارگانیزم‌ها از شیردان عبور می‌کنند که این عضو کوچکتر از شکمبه است. کارکرد این عضو عمدتاً جذب آب و مواد غذایی محلول می‌باشد. هضم غذا در شکمبه توسط نشخوارکنندگان از طریق ترکیبی از تخمیر میکروبی و تجزیه فیزیکی هنگام نشخوار صورت می‌پذیرد که گمان نمی‌رود هیچ‌یک از آنزیم‌های میزبان در این امر دخیل باشند. نشخوارکنندگان به نحوی تکامل یافته‌اند که می‌توانند اسیدهای چرب فرار حاصل از تخمیر را به عنوان سوسترای اصلی برای رشد و شیردهی به مصرف برسانند. این اسیدهای چرب فرار عمدتاً از اسیدهای پروپیونیک، استیک، بوتیریک و مقدار اندکی از اسیدهای بالاتر و زنجیردار تشکیل شده‌اند. مزیت تخمیر در قسمت‌های پیشین دستگاه گوارش بر تخمیر در قسمت‌های انتهایی دستگاه گوارش آن است که میکروب‌های ایجاد شده در نتیجه تخمیر هنگام ورود به قسمت‌های پایینی دستگاه گوارش مانند معده و شیردان در دسترس خواهند بود. در واقع، پروتئین میکروبی مهم‌ترین منبع اسیدهای آمینه برای جذب در نشخوارکنندگان است.



شکل: تفاوت های شماتیک میان (الف) نشخوار کنندگان جوان و (ب) نشخوار کنندگان بالغ.  $O =$  مری؛  $R =$  شکمبه؛  $M =$  هزار لا؛  $A =$  شیردان. خطوط خط چین در تصویر الف شکاف مری- معدی است که در هنگام شیر خواری بسته می شود.

در مراحل اولیه زندگی که شیر ماده غذایی اصلی است، غذا از شکمبه عبور نمی کند. فاصله میان انتهای مری و سوراخ نگاری- شیردان کوتاه است و از طریق آن غذا وارد شکمبه نمی شود (شکل ۱-۱). در حیوانات جوان واکنشی دیده می شود که شکاف مری میان دو سوراخ یا اصطلاحاً شکاف مری را می بندد و بدین ترتیب غذا به طور مستقیم از مری به شکمبه و سپس به شیردان وارد می شود. با این وجود، برخی از غذاها وارد شکمبه می شوند و در شکمبه با باکتری، تک یاخته و قارچ تلقیح شده تا حیوان برای مرحله از شیرگیری و آغاز مرحله بزرگسالی یعنی غلبه جمعیت میکروبی هضم کننده فیبر در محل آماده شود (افشار مازندران و رجب، ۱۳۸۰). بدین ترتیب مزایای بالقوه پروبیوتیکها برای نشخوار کنندگان احتمالاً بیشتر از مزایای مصرف این مواد در حیوانات تک معده ای خواهد بود. ضرورت پیشگیری از وقوع اسهال در گوساله ها در سایر گونه ها نیز وجود دارد. با این وجود، مصرف پروبیوتیک ها در نشخوار کنندگان از طریق افزایش سرعت شکل گیری فلور و فون شکمبه نیز مزایایی به همراه دارد. در موارد تثبیت تخمیر در حیوانات بالغ نیز مصرف این مواد با تحریک تخمیر در حیوانات بالغ سودمند خواهد بود (افشار مازندران و رجب، ۱۳۸۰).

### تأثیرات متقابل متابولیسمی در دستگاه گوارش

یکی از مهمترین راه هایی که یک ارگانیزم پروبیوتیکی می تواند تأثیر سودمند خود را بر میزبان اعمال نماید، تغییر روندهای متابولیسمی بویژه آنهایی است که در دستگاه گوارش رخ می دهد. چنین تأثیر سودمندی به صورت فرضیه ای می تواند ناشی از یکی از مکانیسم های ذیل باشد:

- الف) تضعیف واکنش هایی که موجب تولید متابولیت های سمی و سرطان زا می گردند.
- ب) تحریک واکنش های آنزیمی دخیل در غیر سمی زایی مواد بالقوه سمی که بلع شده و یا به صورت داخلی تولید شده اند.
- ج) تحریک آنزیم های درگیر پستانداران در هضم غذایی پیچیده و یا فراهم آوری آنزیم ها توسط منبع باکتریایی در مواردی که این آنزیم ها وجود ندارند (به صورت ژنتیکی یا به علت بیماری).
- د) ساخت ویتامین ها و سایر مواد غذایی ضروری که در جیره غذایی به مقادیر کافی وجود ندارند.



میکروفلور دستگاه گوارش را نباید به عنوان قسمتی تصور نمود که از طریق دیواره دستگاه گوارش از سایر قسمت های بدن کاملاً مجزا شده است. میکرو فلور دستگاه گوارش اکوسیستمی است که با میزبان خود و روندهای متابولیکی بدن او تأثیرات متقابل پیچیده و نزدیک دارد. بدین ترتیب واکنش های متابولیکی که در دستگاه گوارش رخ می دهند هم از تأثیرات موضعی، برای مثال بر روی مخاط دستگاه گوارش و هم از تأثیرات عمومی برخوردارند. به عنوان مثال از عواقب جزئی یک متابولیت تولید شده در دستگاه گوارش می توان به تولید آمین ها و فنل ها از اسیدهای آمینه اشاره نمود که می توانند بر دستگاه عصبی مرکزی، عروق و احتمالاً بر ایجاد تومور در اندام های مختلف بدن تأثیر گذار باشند.

### فلور دستگاه گوارش و مقاومت در برابر بیماری ها

امروزه می دانیم که میکروفلور بومی انسان و حیوانات آنها را در برابر میکروارگانیسم های بیماری زا حفاظت می کند. شواهد مربوط به نقش حفاظتی فلور روده عمدتاً از مطالعات انجام شده در حیوانات عاری از میکروب یا حیوانات آزمایشگاهی درمان شده با آنتی بیوتیک بدست آمده است که از حساسیت بیشتری در برابر عفونت های ناشی از عوامل بیماریزای روده ای در مقایسه با حیوانات معمولی با فلور دست نخورده برخوردارند. برای مثال، در موش های عاری از میکروب، کمپیلوباکتر ژورنی، سالمونلا انتریتیدیس و شیگلا فلکسنری به راحتی استقرار می یابند؛ در حالی که موش های معمولی در برابر این پدیده از مقاومت بیشتری برخوردارند. اخیراً گزارش شده است که تلقیح دهانی  $10^2 \times 1/7$  سالمونلا انتریتیدیس زنده موجب بروز عفونت منجر به مرگ در تمام موش ها حدود ۷ روز بعد گردیده؛ در حالی که تمام موش های گروه شاهد تحت آزمایش زنده ماندند.

### مقاومت در برابر استقرار سایر باکتری ها

وان درواجی و همکاران (۱۹۷۱) ایمنی در برابر استقرار باکتری های بالقوه بیماریزای دستگاه گوارش ناشی از حضور میکروفلور روده را اصطلاحاً مقاومت در برابر استقرار سایر باکتری ها نامیدند. این محققان به مطالعه این پدیده در موش ها قبل، هنگام و پس از تجویز خوراکی استرپتومایسین و نئومایسین پرداختند. در هر یک از سه دوره آزمایش، این موش ها از طریق دهان با کلبسیلا نومونیه، سودوموناس آئروژینوزا و اشریشیاکلی آلوده شدند. این مقاومت به صورت کمی به شکل لگاریتم دهدهی دز خوراکی مورد نیاز برای هر ارگانیسم جهت استقرار در ۵۰٪ موش ها برای مدت حداقل ۲ هفته بیان می شود. قبل از درمان با آنتی بیوتیک، مقاومت در برابر استقرار باکتری ها در برابر هر سه ارگانیسم بالا بود. در طول تجویز آنتی بیوتیک که در واقع به حذف فلور

روده منجر شده بود، کاهش محسوسی در مقاومت مشاهده شد و هر سه ارگانسیم به آسانی در تمامی موش ها استقرار یافتند. مقاومت در برابر استقرار پس از توقف تجویز آنتی بیوتیک بتدریج به مقادیر اولیه خود باز می گردد که علت آن را می توان در تجدید جمعیت ارگانسیم های بی هوازی زنده مانده پس از تجویز آنتی بیوتیک جستجو نمود.

### **سرکوب تکثیر عوامل بیماریزا توسط میکروفلور روده ای**

شواهدی در دسترس است که فلور روده ای در برابر استقرار طیف وسیعی از عوامل بیماریزا در روده حفاظت به عمل می آورد. از جمله این عوامل می توان به باکتری های بی هوازی مانند کلستریدیوم دیفیسیل، کلستریدیوم بوتولینوم و باکتری های روده ای اشریشیاکلی، سالمونلا، شیگلا، سودوموناس و مخمر کاندیدا اشاره نمود.

### **مکانسیم های سرکوب عوامل بیماریزا توسط روده**

شواهد قابل توجهی در دسترس می باشد که حیوانات آزمایشگاهی با بکارگیری آنتی بیوتیک ها به منظور نابودی فلور روده ای در برابر استقرار عوامل بیماریزا و سایر ارگانسیم های غیربومی حساس می شوند که در موارد یکپارچگی فلور در برابر آنها بسیار مقاوم هستند. برخی از فعالیت های فلور روده ای به عنوان مکانسیم های حذف ارگانسیم های غیربومی مطرح می شوند. آنها عبارتند از: رقابت میان فلور و ارگانسیم های غیربومی برای مواد غذایی که به مقادیر محدود یافت می شوند، تولید متابولیت هایی که تکثیر ارگانسیم های غیربومی را مهار می کنند، ایجاد شرایط محیطی توسط فلور که بر ارگانسیم غیر بومی تأثیر نامطلوب دارد و رقابت میان فلور و ارگانسیم های غیربومی برای استقرار در مخاط روده که هر یک از آنها به تنهایی یا تمامی آنها ممکن است عمل نمایند.

### **پروبیوتیک ها برای نشخوار کنندگان جوان**

#### **تکامل کارکرد گوارشی**

تکامل یک جمعیت میکروبی کارکردی در دستگاه گوارش نشخوار کننده تازه متولد شده نه تنها موجب تسهیل هضم فیبر توسط میزبان می گردد، بلکه دستگاه گوارش را در برابر عفونت با ارگانسیم های بیماریزا حفاظت می کند. نشخوار کنندگان نیز مانند سایر پستانداران جوان با دستگاه گوارش استریل متولد می شوند.

با این وجود، استقرار باکتری ها در دستگاه گوارش به سرعت صورت می پذیرد. به طوری که اشتریشیاکلی را می توان در تمامی قسمت های دستگاه گوارش بره و گوساله ۸ ساعت پس از تولد و لاکتوباسیل ها و استرپتوکوک ها را ۲۴ ساعت پس از تولد مشاهده نمود. در حیوانات سالم، لاکتوباسیل ها به سرعت در دستگاه گوارش استقرار می یابند و در یک هفتهگی جمعیت آنها ۱۰<sup>۷</sup> تا ۱۰<sup>۹</sup> در هر گرم رسیده و جایگزین کلی فرم ها می گردند (افشار مازندران و رجب، ۱۳۸۰). مصرف غذای جامد نشانگر آغاز مرحله دوم در استقرار یک فلور روده ای در نشخوارکنندگان جوان و تکامل پدیده تخمیر در شکمبه است. استقرار میکروبی در شکمبه بلافاصله پس از تولد آغاز می شود، به طوری که پس از ۴۸ ساعت جمعیت بزرگی از باکتری های بی هوازی اجباری در محل دیده می شوند. در نخستین روزهای پس از تولد، شکمبه به طور کامل فعال نیست و قسمت اعظم شیر به واسطه وجود شکاف مری-معدی از شکمبه عبور نمی کند. همزمان با آغاز مصرف غذای جامد، جمعیت میکروبی در شکمبه افزایش یافته و این عضو شباهت بیشتری با شکمبه بزرگسالان پیدا می کند. فراورده های نهایی تخمیر میکروبی موجب تقویت کارکرد و افزایش حجم شکمبه می گردند؛ به طوری که شکمبه هم در حوالی زمان از شیرگیری به عنوان یک اندام هضم کننده و جذب کننده کاملاً آماده شده است. تکامل سریع شکمبه برای عبور موفقیت آمیز از مرحله تغذیه با مایعات به مرحله تغذیه با مواد جامد در سوددهی و بهره وری پرورش امروزی دام ها از اهمیت فوق العاده ای برخوردار است چرا که در کاهش نیروی کار موردنیاز و هزینه های مربوط به غذای مصرفی موثر است. علت آن است که میزان بروز اختلالات گوارشی در گوساله های از شیر گرفته شده در مقایسه با گوساله های شیرخوار پایین تر است (افشار مازندران و رجب، ۱۳۸۰).

## پیشگیری از وقوع اسهال

موارد اسهال ناشی از استقرار باکتریهای انترتوکسیژنیک در دستگاه گوارش، ضررهای جدی اقتصادی را بر پرورش حیوانات جوان وارد می کند. ماسیپ و پوندانت (۱۹۷۵) گزارش نمودند که تا ۶/۵٪ از گوساله های بلژیکی در نخستین ماه زندگی خود بر اثر ابتلا به اختلالات گوارشی تلف می شوند. همچنین در موارد ملایم تر بیماری احتمالاً از میزان جذب مواد غذایی در دستگاه گوارش و بهره وری حیوان کاسته خواهد شد. در گوساله های مبتلا به اسهال نیز افزایش تعداد کلی فرم ها گزارش شده است. گارد (۱۹۸۶) بیان نمود که اشتریشیاکلی عمدتاً در حیوانات جوان (زیر یک هفته) موجب بروز اسهال می شود؛ در حالی که افزایش تعداد کلی فرم در حوالی زمان از شیرگیری نیز قابل توجه و محسوس می باشد. برای اینکه اشتریشیاکلی بتواند از طریق تولید

انتروتوکسین موجب بروز اسهال شود، باید در ابتدا در دستگاه گوارش استقرار یابد. پیشنهاد شده است که پروبیوتیک ها را می توان برای جابجایی اشریشیاکلی انتروتوکسیژنیک در دیواره دستگاه گوارش یا تقویت جمعیت باکتریایی سالم و حذف کلی فرم ها از دستگاه گوارش به کار گرفت. همچنین گزارش شده است که لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس موجب کاهش تعداد کلی فرم ها در روده گوساله ها می شود. گیلیند و همکاران (۱۹۸۰) توجه نمودند که لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس هایی که از گوساله ها جدا شده اند، در مقایسه با لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس های جدا شده از خوک، از این لحاظ موثرترند. گزارش شده است که در گوساله ها لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس به تنهایی یا در ترکیب با سایر لاکتوباسیل ها نیز موجب کاهش اسهال و افزایش وزن البته نه در تمامی آزمایشات شده است. همچنین بکارگیری مخلوط های لاکتوباسیلوس در کاهش میزان تلفات در بره های دچار استرس از شیرگیری موثر بوده است. الدر و واندی و همکاران (۱۹۸۴) و ولتر و همکاران (۱۹۸۷) هر دو توجه نمودند که لاکتوباسیل های زنده در مقایسه با لاکتوباسیل های کشته از تاثیر بیشتری برخوردارند. در این زمینه سایر باکتری ها نیز مورد استفاده قرار گرفتند. گزارش شده است که انتروکوکوس فاسیوم موجب کاهش موارد اسهال و افزایش وزن گیری در دوره میان تولد و از شیرگیری می شود. تورنوت (۱۹۸۹) گزارش نمود که مصرف مخلوطی از لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و انتروکوکوس فاسیوم در گوساله های یک تا پنج روزه موجب کاهش موارد وقوع اسهال تا ۷۰٪ و تلفات به میزان ۹۹٪ می گردد. گزارش شده است که مصرف لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و باسیلوس تویوی نیز موجب کاهش اسهال در گوساله های جوان می گردد.

اگرچه نتایج فوق الذکر نشان داد که لاکتوباسیل ها و انتروکوک ها می توانند موجب کاهش موارد اسهال در نشخوارکنندگان جوان شوند، ولی نحوه عملکرد آنها هنوز در پرده ای از ابهام قرار دارد. همان طور که پیشتر گفته شد، نشان داده شده است که لاکتوباسیل ها از استقرار کلی فرمها در دستگاه گوارش گوساله ها و استرپتوکوک ها نیز از تکثیر کلی فرم ها در روده حیوانات غیرنشخوار کننده جلوگیری می نمایند. توضیحات مختلفی برای توجیه تاثیرات لاکتوباسیل ها و استرپتوکوک ها در دستگاه گوارش بر اشریشیاکلی داده شده است. برقراری اتصال با دیواره دستگاه گوارش ممکن است از استقرار کلی فرم ها جلوگیری کند. همچنین این باکتری ها ممکن است از برخی جهات موجب خنثی سازی انتروتوکسین شود. نشان داده شده است که لاکتوباسیل ها متابولیتی تولید می کنند که هنوز ناشناخته مانده و در خوک ها موجب خنثی سازی انتروتوکسین اشریشیاکلی می گردد. آنها ممکن است اسیدهای آلی را تولید نموده و بدین وسیله موجب کاهش pH معده

گردند. شرایط و محیط اسیدی، رشد خارج از بدن حیوان اشریشیاکلی را مهار می کند. از آنجا که بسیاری از سویه های لاکتوباسیل ها و استرپتوکوک ها مقادیر زیادی اسید لاکتیک در خارج از بدن حیوان تولید می کنند، چنین نتیجه گیری شده است که ممکن است آن ها در کاهش pH روده و بدین ترتیب کاهش رشد بیش از اندازه اشریشیاکلی دخیل باشند. سویه های پروبیوتیکی ممکن است خواص باکتری کشی نیز داشته باشند. گزارش شده است که لاکتوباسیل ها موجب تولید پراکسید هیدروژن می شوند که در خارج از بدن حیوان خاصیت باکتری کشی دارد. لاکتوباسیلوس لاکتیس موجب فعال شدن سیستم تیوسیانات لاکتوپراکسیداز در روده گوساله ها می شود که سبب کاهش قابلیت اشریشیاکلی برای حفظ حیات در دستگاه گوارش می گردد. اشریشیاکلی در صورتی در دستگاه گوارش استقرار می یابد که عوامل احیا کننده به منظور جلوگیری از تاثیر تیوسیانات لاکتوپراکسیداز به کار گرفته شوند. نیومن و همکاران (۱۹۹۰) عاملی با وزن کمتر از ۵۰۰۰ دالتون مقاوم در برابر حرارت کشف نموده اند که توسط انتروکوکوس فاسیون تولید و قادر به مهار رشد اشریشیاکلی، انتروکوکوس فکالیس و سایر باکتری های مربوطه می گردد. با این وجود، اهمیت وجود چنین موادی در داخل بدن حیوانات هنوز شناخته شده نیست.

### **بکارگیری پروبیوتیک ها در بهبود پدیده تخمیر در شکمبه**

پروبیوتیک های قارچی و باکتریایی، علاوه بر پیشگیری از بروز اسهال، به منظور کمک به ایجاد و حفظ یک تخمیر شکمبه ای ثابت و پایدار به کار گرفته می شوند. نشان داده شده است که هم لاکتوباسیل ها و هم انتروکوکوس فاسیوم موجب افزایش اشتها و وزن گیری در گاوهای پرواری می شوند اما کی و پول (۱۹۸۸) دریافتند که لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در حقیقت موجب کاهش اشتهای گوساله های شیرخوار می گردد. اومبرگر و همکاران (۱۹۸۹) گزارش دادند که لاکتوباسیلوس موجب تحریک اشتها و وزن گیری در بره های پرواری می گردد. از او و همکاران (۱۹۸۳) دریافتند که انتروکوکوس فکالیس A موجب تثبیت فلور روده ای و افزایش وزن گیری در گوساله ها پس از مصرف آنتی بیوتیک می گردد. مصرف فرآورده های پروبیوتیکی حاوی ارگانیسیم های شکمبه ای نیز ممکن است مفید باشد. تئودور و همکاران (۱۹۹۰) گزارش نمودند که پروبیوتیکی متشکل از قارچ بی هوازی شکمبه ای (گونه نئوکالیماستیکس) موجب افزایش مصرف غذا و وزن گیری در گوساله ها پس از شیرگیری می شود؛ در حالی که زیولیکا و همکاران (۱۹۸۴) گزارش نمودند که مصرف نوعی عصاره شکمبه ای تثبیت شده موجب افزایش وزن گیری و تسریع تکامل شکمبه در گوساله ها هنگام از شیرگیری می گردد. ترکیبات حاوی مخمرها یا قارچهای هوازی را می توان در نشخوار کنندگان

جوان و بالغ به کار گرفت. مصرف ساکارومایسس سروسیسه در گوساله ها و بره ها موجب افزایش غذای مصرفی و وزن گیری پس از شیرگیری آنها می شود. فیلیپس و فون تانگل (۱۹۸۵) دریافتند که ساکارومایسس سروسیسه به دنبال استرس حمل و نقل در گوساله ها موجب افزایش غذای مصرفی و وزن گیری می گردد. آلیسون و مک کراو (۱۹۸۹) گزارش نمودند که مصرف عصاره تخمیری آسپرژیلوس اریزا در ۲۸ روز اول زندگی گوساله های پرواری موجب بهبود وزن گیری می گردد. بهارکا و همکاران (۱۹۹۰) دریافتند که مصرف عصاره آسپرژیلوس اریزا موجب افزایش میزان ماده خشک مصرفی در گوساله ها می گردد و امکان از شیرگرفتن سریعتر آنها را فراهم می سازد. آسپرژیلوس اریزا موجب تسریع تکامل شکمبه به همراه افزایش تعداد کمی از باکتری های موجود و باکتریهای آمیلولیتیک، پکتینولیتیک، سلولیتیک و همی سلولیتیک از هفته دوم تولد به بعد می گردد. مصرف عصاره قارچ به همراه انتروکوکوس بویس موجب افزایش تعداد باکتری ها در ۳۰ روز نخست زندگی گوساله خواهد شد. در بره های تازه از شیر گرفته شده، مصرف فرآورده مشابه موجب افزایش تخمیر در شکمبه گردیده است.

### افزودنی های غذایی حاوی قارچ برای نشخوار کنندگان بالغ

سال هاست که مخمرها و فرآورده های جانبی آنها به عنوان منابع پروتئین و انرژی در تغذیه نشخوار کنندگان به کار می روند. با این وجود، از اواخر دهه ۱۹۸۰ علاقمندی موجود برای مصرف فرآورده های حاوی مخمر و یا قارچ های رشته ای مشابه پروبیوتیک ها افزایش یافت که موجب بهبود کارکردهای دستگاه گوارش می گردند. فرآورده های حاوی مخمر یا قارچ که برای افزایش تولید به نشخوار کنندگان بالغ خورانیده می شوند، هیچ ارتباطی با پیشگیری از اسهال در آنها ندارد. این فرآورده ها موجب افزایش رشد نشخوار کنندگان بالغ می گردند؛ به نحوی که این افزایش بسیار بیش از آن چیزی است که با توجه به آنالیز این فرآورده ها انتظار می رفت. فرآورده های موجود در بازار حاوی مخمر ساکارومایسس سروسیسه یا قارچ هوازی آسپرژیلوس اریزا هستند و گاهی اوقات نیز حاوی هر دوی آنها می باشند و به همین علت از آنها به عنوان پروبیوتیک های قارچی یا افزودنی های غذایی قارچی یاد می شود.

علت افزایش علاقمندی به مصرف این فرآورده ها عمدتاً تجارتمندی است. با این وجود بخشی از آن به خاطر رفع شک و شبهه های موجود در خصوص کارایی این فرآورده ها بود که با انجام آزمایشات و مطالعات در خصوص نحوه عملکرد آنها رفع گردید. از آنجا که قرنهای ساکارومایسس سروسیسه و آسپرژیلوس اریزا برای تولید غذا ها و نوشابه ها مورد استفاده قرار می گیرند، تقریباً می توان با اطمینان بیان داشت که این مواد

کاملاً بی خطرند. علاوه بر آن، مقدار افزودنی غذایی قارچی به جیره نشخوار کنندگان بسیار اندک است. بدین ترتیب، وخیم ترین عارضه قابل پیش بینی پس از افزودن مواد افزودنی غذایی قارچی به جیره می تواند عدم مشاهده افزایش در میزان تولید باشد. به نظر می رسد که کارایی و تاثیر افزودنی های غذایی قارچی در تاثیر آنها بر تخمیر شکمبه ای باشد و به همین علت آنها به اصطلاح محرک های رشدی هستند که در گروه تغییردهندگان وضعیت شکمبه قرار می گیرند. از دیگر مواد اصلی تغییردهنده وضعیت شکمبه که در حال حاضر مورد استفاده قرار می گیرند، در گاوهای پرواری می توان از یونوفرها و آنتی بیوتیک ها نام برد که تاثیر بسیار زیادی در خصوص صرفه اقتصادی جیره مصرفی در نشخوار کنندگان به همراه دارند. در طی تلاش های به عمل آمده برای تعیین مکانیسم عمل آنها، تاکنون اطلاعات زیادی در خصوص اکوسیستم میکروبی شکمبه و ارتباط آن با نیازهای غذایی حیوانات به دست آمده است. اگرچه به نظر نمی رسد که یونوفرها و آنتی بیوتیک ها همانند فراورده های قارچی فرآورده هایی صددرصد طبیعی باشند، ولی باید به خاطر داشت که آنها قبل از اخذ جواز ورود به بازار تمامی استانداردهای بالا را کسب کرده اند و آزمایشات بی خطر بودن را گذرانیده اند. علاوه بر آن، یونوفرها در صورت مصرف در مقادیر بالاتر از مقادیر توصیه شده و یا توسط سایر حیوانات اهلی غیرنشخوار کننده می توانند خطر ساز باشند که بروز این حالت در اسب و بوقلمون گزارش شده است؛ ولی بالعکس، افزودنی های غذایی قارچی در موارد مصرف توسط سایر گونه ها نیز می تواند تاثیرات سودمندی به همراه داشته باشند. افزودنی های غذایی قارچی، بر خلاف یونوفرها که سبب ایجاد باقیمانده ها در شیر می شوند و به همین علت فقط در تولید گوشت به کار می روند، را می توان هم برای مصرف در دام های شیری و هم دام های گوشتی به کار گرفت. اگرچه ارقام مربوط به ارزش اقتصادی افزودنی های غذایی قارچی تاکنون منتشر نشده است ولی ارزش بالقوه آنها در مقایسه با یونوفرها قابل تصور است. تخمین زده می شود که در آمریکا ارزش یونوفرهای مصرفی در تغذیه گاو گوشتی سالیانه به ۷۰ میلیون دلار بالغ گردد. باید به خاطر داشت که فقط یک سوم جمعیت گاوهای صد میلیون راسی آمریکا را گاوهای گوشتی تشکیل می دهند. بدین ترتیب، در صورت قابل قیاس بودن کارایی افزودنیهای غذایی قارچی یونوفرها که برخی از مطالعات آنها را قابل قیاس دانسته اند، محتمل است که ارزش بالقوه این بازار در سال بیش از ۲۰۰ میلیون دلار باشد.

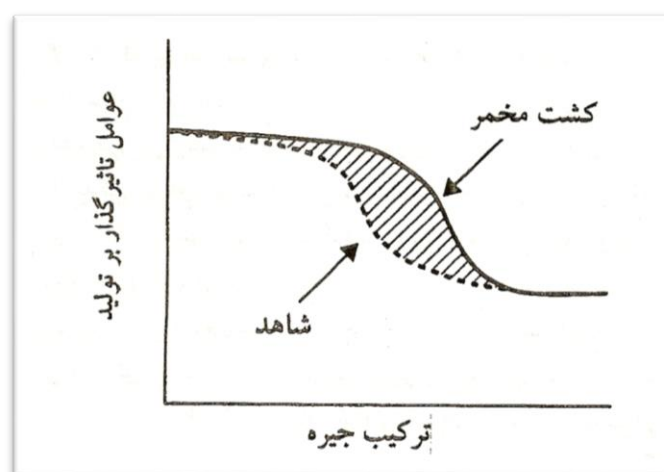
### **تاثیر مصرف پروبیوتیک ها در تولید شیر و گوشت**

در میان دامداران و متخصصین تغذیه در خصوص مصرف پروبیوتیک های قارچی نیز، مانند پروبیوتیک های باکتریایی قابل مصرف در حیوانات غیرنشخوار کننده، شک و تردیدهایی وجود دارد. بخشی از این شبهات

احتمالاً بر آزمایشات عملی استوار شده که تاثیرات قابل اندازه گیری را به همراه نداشته اند و ما در آغاز درک علل آن هستیم و ذیلاً در خصوص آن به بحث خواهیم پرداخت. البته بخشی از آن نیز به احساسات موجود در بازار بر می گردد. دانستن زمان عدم مشاهده تاثیر قابل اندازه گیری نیز از اهمیت یکسانی برخوردار است؛ چرا که می توان زمان وقوع تاثیرات سودمند ناشی از مصرف پروبیوتیک های قارچی را مشخص نمود. مانند سایر آزمایشات عملی انجام شده، انتشار نتایج آزمایشات انجام شده که هیچ گونه تاثیری را نشان نداده اند چندان انگیزه مند نمی باشد. ما هیچ گونه اطلاعی در خصوص میزان مخدوشگری ناشی از وجود این تمایل در مطالعه خود نداریم. ولی مشکوک هستیم که این مخدوشگری وجود داشته باشد. الگوی کلی در نشخوار کنندگان مصرف کننده افزودنی های غذایی قارچی، افزایش و بهبود تولید شیر و گوشت می باشد. ویلیامز و نیوبولد (۱۹۹۰) به بررسی این موضوع پرداختند و به این نتیجه رسیدند که در ۸ مورد از آزمایشات عملی انجام شده در خصوص آسپرژیلوس اریزا به طور میانگین ۴/۳٪ افزایش در تولید شیر قابل مشاهده بوده است. بررسی مشابهی در خصوص ۹ مورد آزمایش عملی در خصوص کشت مخمر انجام گرفت و ۵/۱٪ افزایش تولید به صورت میانگین مشاهده شد. مقادیر افزایش که میانگین آن ها محاسبه گردیده بود برای آسپرژیلوس اریزا از ۱۱۲-۹۱٪ و برای کشت مخمر از ۹۶/۳ تا ۱۱۶/۷٪ متغیر بوده و بنابراین محاسبه میانگین حتی موجب پنهان شدن تاثیرات مناسب تر این مواد در شرایط مطلوب غذایی یا جیره ای شده است. در خصوص تاثیر این ترکیبات بر نشخوار کنندگان در حال رشد در مقایسه با حیوانات شیرخوار اطلاعات کمتری وجود دارد. در برخی از مطالعات، افزایش وزن گیری مانند افزایش تولید شیر مشاهده شده است که این امر در تعدادی نیز دیده نشد. آدامز و همکاران (۱۹۸۱) دریافتند که در گاوهای اخته پرواری افزایش وزن روزانه در موارد مصرف کشت مخمر ۱/۳۹ و در گروه شاهد ۱/۳۴ کیلوگرم بود. اگرچه در موارد زیادی افزایش وزن اندک مشاهده شده است، ولی این افزایش از لحاظ آماری معنی دار نمی باشد. این امر همچنین در مورد بسیاری از آزمایشات انجام شده در مورد یونوفرها نیز رخ داده است؛ مگر در مواردی که تعداد حیوانات تحت آزمایش بسیار زیاد بوده است. ادواردز و همکاران (۱۹۹۰) هیچ گونه افزایش معنی داری را در مورد مصرف کشت مخمر در گاوهای نر از وزن ۱۳۵ کیلوگرمی تا زمان کشتار مشاهده نکردند؛ اگرچه بار دیگر باید تاکید نمود که مصرف این مواد نتایج مثبتی را به همراه داشته است. دیویل و گالبرایت (۱۹۹۰) نتایج متناقضی را در بزهای آنقوره مشاهده نمودند. مصرف آسپرژیلوس اریزا در گاوهای گوشتی و گوساله های چرا کننده در مراتع فقیر افزایش وزن روزانه را از ۵۷/۰٪ به ۰/۸٪ کیلوگرم افزایش داد. به نظر می رسد که ویژگی اصلی برای تاثیر گذاری مخمر، جیره و نیازهای غذایی حیوان باشد. ویلیامز و همکاران (۱۹۹۱) نشان دادند که چگونه تاثیرات کشت مخمر می تواند در



برابر یک تخمیر نسبتاً کوچک در ترکیب جیره حساس باشد. افزایش شیر روزانه ۴/۱ کیلوگرم در موارد افزودن کشت مخمر به جیره حاوی ۴۰ درصد کنسانتره و ۶۰ درصد علوفه در صورت تغییر ترکیب جیره به ۵۰٪ کنسانتره و ۵۰٪ علوفه به صفر می رسد. گومز و آلاکون (۱۹۸۸) دریافتند که در موارد مصرف آسپرژیلوس اریزا تبادلات متقابل مشابهی در ارتباط با نسبت علوفه به کنسانتره در گاوها وجود دارد و هوبر و همکاران (۱۹۸۵) مشاهده نمودند که افزودن آسپرژیلوس اریزا موجب افزایش میزان شیر در گاوهایی می شود که نه جیره حاوی مقادیر بالای علوفه بلکه جیره طبیعی و معمولی را دریافت می دارند. بنابراین، باید به خاطر داشت که منحنی پاسخ جیره ای می تواند از نوعی باشد که در (شکل زیر) ملاحظه می نماید. مصرف آسپرژیلوس اریزا و کشت مخمر می تواند موجب تغییر شکل منحنی به سمت و سوی قسمتی شود که از اهمیت بیشتری برخوردار است. منحنی ای که ملاحظه می کنید ممکن است نمایانگر تاثیرات افزودن کنسانتره بر هضم مواد خشبی باشد و بدین ترتیب پنجره ای از امید و افق روشن را برای ما ترسیم کند. در ترکیب غذایی خارج از این طیف انتظار نمی رود با افزودن افزودنی های غذایی قارچی به جیره تاثیرات سودمندی ظاهر شود. تصور می شود که افزودنی های مختلف شکل منحنی را به اشکال مختلف تغییر دهند. شکل منحنی به تک تک اجزای موجود در جیره نیز بستگی دارد. برای مثال، در بررسی ویلیامز و همکاران (۱۹۹۱) افزایش تولید شیر در موارد مصرف علوفه مشاهده می گردد ولی این امر در موارد مصرف کاه غنی شده با آمونیاک مشاهده نمی شود. برای تعیین این ارتباطات مربوط به جیره های مختلف کارهای زیادی مانده است که باید انجام شود.



شکل: تصویر فرضی که نشان می دهد چرا کارایی افزودنی غذایی قارچی به ترکیب جیره بستگی دارد.

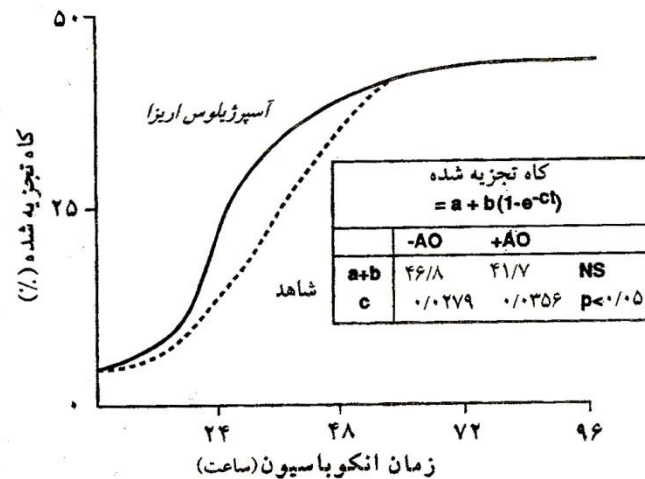
پاسخ در برابر افزودنی های غذایی قارچی مانند سایر افزودنیهای غذایی از جمله مکمل های پروتئینی به نیازهای حیوان و نحوه مدیریت گله بستگی دارد که این امر پیشتر توسط چیس به وضوح بیان شده است (۱۹۸۹). بدین

ترتیب گاوها در اوایل دوره شیردهی در مقایسه با مراحل آتی بهتر در برابر مصرف کشت مخمر پاسخ می دهند. همچنین پاسخ در برابر مصرف آسپرژیلوس اریزا در اوایل شیردهی بر خلاف اواسط یا اواخر شیردهی از بیشترین مقدار خود برخوردار است. این تاثیرات تغذیه ای، تبادلات متقابل موجود در جیره را با مشکل مواجه می سازد و در صورت آگاهی دقیق از مکانیسم عملکرد کشت مخمر و آسپرژیلوس اریزا کمکی در این راه خواهد بود.

### تأثیر پروبیوتیک ها بر مقدار خوراک مصرفی و هضم خوراک

بیشتر مطالعات نشان داده است که افزودنی های غذایی قارچی بیشتر موجب افزایش مقدار خوراک مصرفی می گردند تا اینکه بر بهره وری تبدیل غذا تاثیرگذار باشند. فقط در موارد اندکی بهره وری غذایی می تواند یک تاثیر سودمند حاصله باشد. تناقض با یونوفرها در اینجا آشکار می گردد؛ بدین ترتیب که آنها تاثیر کاهنده جزئی روی میزان غذای مصرفی دارند، ولی بهره وری تبدیل غذا را افزایش می دهند (افشار مازندران و رجب، ۱۳۸۰). ویلیامز و نیوبولد (۱۹۹۰) محاسبه نمودند که میزان افزایش غذای مصرفی در گاوهای شیری با تاثیرات مشاهده شده بر بهره وری بخوبی مرتبط است. بنابراین اصلی ترین تاثیرات حاصل از افزودنی های غذایی قارچی خاصیت اشتها آوری و افزایش غذای مصرفی است. عوامل بسیاری شناخته شده اند که بر اشتها تاثیرگذارند. اما عوامل مربوط به کشت مخمر آسپرژیلوس اریزا در نشخوارکنندگان شامل افزایش خوش خوراکی، نرخ بیشتر هضم مواد خشبی (بدین ترتیب بر حجم دستگاه گوارش تاثیرگذار است)، سرعت حرکت مواد در دستگاه گوارش و وضعیت پروتئین هاست. عصاره های مخمری و فراورده های تخمیری آسپرژیلوس اریزا به صورت گسترده ای به عنوان مواد طعم دهنده در غذای انسان به کار گرفته می شوند. تاثیرات مشابه کشت مخمر و آسپرژیلوس اریزا بر روی افزایش قابلیت پذیرش خوراک ها برای نشخوارکنندگان نیز باید مورد توجه قرار گیرد. به طور مشخص این فرآورده ها از بوی خوشایندی برخوردارند و لیونز (۱۹۸۷) و روز (۱۹۸۷) نشان دادند که قابلیت مخمر برای تولید اسیدگلوتامیک می تواند طعم مواد غذایی دارای کشت مخمر را نیز خوشایند نماید. افزایش خوش خوراکی مسلماً ضروری به همراه ندارد و در حال حاضر شواهد قاطعی در دست است که نشان می دهد افزودنی های غذایی قارچی تاثیر متابولیسمی بسیار قوی دارند. در صورت افزایش هضم مواد خشبی در شکمبه، انتظار می رود که میزان غذای مصرفی نیز افزایش یابد. حالت اخیر نه همیشه بلکه زمانی قابل مشاهده است که قابلیت هضم کنندگی کل دستگاه گوارش اندازه گیری می شود. وایدمایر و همکاران (۱۹۸۷) افزایش در قابلیت هضم ماده خشک، ADF و همی سلولز را پس از مصرف آسپرژیلوس

اریزا و کشت مخمر به صورت جداگانه و ترکیبی در گاوهای خشک مصرف کننده جیره مخلوطی از کنسانتره و علوفه مشاهده نمودند. گومز-آلارکون و همکاران (۱۹۹۰) در سه آزمایش بر روی گاوها مشاهده نمودند که بجز یک مورد که میزان علوفه بسیار بالا بود (۶۳٪ یونجه خشک)، آسپرژیلوس اریزا موجب افزایش قابلیت هضم ماده خشک، ADF و NDF گردید. آسپرژیلوس اریزا موجب افزایش ماده خشک در آزمایشی گردید که در آن هیچ گونه تغییری در میزان غذای مصرفی دیده نشده بود؛ ولی بر خلاف این، آرامبل و کنت (۱۹۸۸)، آرامبل و همکاران (۱۹۹۰، ۱۹۸۷) و والرمن و همکاران (۱۹۹۰) هیچ گونه تغییری را در قابلیت هضم تلیسه های مصرف کننده آسپرژیلوس اریزا مشاهده نکردند. جودکینز و استوبارت (۱۹۸۸) هیچ گونه افزایشی در قابلیت هضم مصرف کنندگان آسپرژیلوس اریزا ندیدند. هاریسون و همکاران (۱۹۸۸) و ویلیامز و نیوبولد (۱۹۹۰) گزارش نمودند که در گاوهای مصرف کننده آسپرژیلوس اریزا پدیده خاصی مشاهده نشد. همچنین مصرف همزمان آسپرژیلوس اریزا و کشت مخمر در تلیسه های دریافت کننده جیره حاوی ۵۰٪ علف باغی تاثیری بر میزان هضم آنها نداشت. با این وجود، قابلیت هضم دستگاه گوارش می تواند تغییرات اصلی در دستگاه گوارش یا سرعت تجزیه مواد خشبی را پنهان سازد. در صورت افزایش سرعت تجزیه مواد خشبی در شکمبه، این امر صرفاً از باقیمانده موادی می کاهد که به صورت طبیعی در قسمت تحتانی دستگاه گوارش تجزیه می شوند و در نتیجه قابلیت هضم یکسانی ایجاد می شود. گومز و آلارکون (۱۹۸۸) دریافتند که آسپرژیلوس اریزا و کشت مخمر سرعت تجزیه مواد خشبی در شکمبه را افزایش می دهند و به طور موثری سبب هضم بیشتر در شکمبه می گردند تا قسمت تحتانی دستگاه گوارش. فوندویلا و همکاران (۱۹۹۰) مشاهده نمودند که آسپرژیلوس اریزا سرعت تجزیه گاه داخل کیسه های نایلونی در داخل شکمبه را ۲۸٪ افزایش می دهد؛ اگرچه میزان تجزیه در پایان کار تغییری نشان نمی دهد (شکل ۱-۳). خوراندن کشت مخمر به گوسفندان تاثیر مشابهی بر هضم علوفه خشک اعمال نمود. همچنین هیچ گونه تغییری در قابلیت هضم ماده آلی، NDF یا قابلیت هضم انرژی تام سه جیره حاوی نسبتهای متفاوت علوفه به کنسانتره و تجزیه پذیری ۴۸ ساعته علوفه خشک در شکمبه مشاهده نشد ولی میزان تجزیه ۲۴ ساعته در قابلیت هضم ماده آلی جیره های حاوی مقادیر اندک، متوسط و بالای علوفه بترتیب ۱۱/۶، ۱۵/۶ و ۱۲/۱٪ افزایش نشان داد. در گاوهای غیرشیرده که عمدتاً با چوب بلال تغذیه می شدند نیز موارد مشابه تجزیه در محل مشاهده شد. در موارد مصرف آسپرژیلوس اریزا بهبود قابلیت هضم در خارج از بدن حیوان در ۲۴ ساعت بعد رخ می دهد، ولی در ۴۸ ساعت بعد چنین امری قابل مشاهده نیست.



شکل: منحنی تجزیه کاه نگهداری شده در داخل کیسه های نایلونی در شکمبه گوسفندانی که کاه و آسپرژیلوس اریزا مصرف کرده بودند. (a+b) حداکثر قابلیت تجزیه شوندگی و C سرعت اولیه تجزیه است.

عامل مهم دیگری که می تواند بر میزان غذای مصرفی تاثیر گذار باشد، سرعت خروج مواد موجود از داخل شکمبه است که البته نتایج حاصل از بکارگیری افزودنیهای غذایی قارچی در این ارتباط متغیر و مختلف بوده است. وایدمایر و همکاران (۱۹۸۷) کاهش سرعت خروج مایعات و ذرات را در موارد مصرف آسپرژیلوس اریزا و افزایش آن را در موارد مصرف کشت مخمر ملاحظه نمودند. در گاوهای اخته پروراری نیز مصرف کشت مخمر موجب افزایش سرعت حرکت مایعات در دستگاه گوارش می گردد، ولی در گوسفندان دریافت کننده کشت مخمر تاثیر قابل توجهی مشاهده نمی شود و در گوسفندان مصرف کننده کاه نیز اصولاً تغییری در جریان مایعات دستگاه گوارش به وقوع نمی پیوندد.

بنابراین می توان چنین نتیجه گیری نمود که افزایش غذای مصرفی به دنبال بکارگیری افزودنیهای غذایی قارچی که موجبات بهبود تولیدات دامی را فراهم می آورد، به احتمال زیاد از افزایش میزان تجزیه و هضم مواد غذایی در شکمبه ناشی می شود. افزایش میزان هضم مواد بویژه مواد خشبی ضرورتاً بر قابلیت هضم کلی دستگاه گوارش یا قدرت کلی تجزیه کنندگی شکمبه تاثیر گذار نمی باشد.

### تاثیر پروبیوتیک بر تخمیر در شکمبه و فرآورده های حاصل از تخمیر و pH

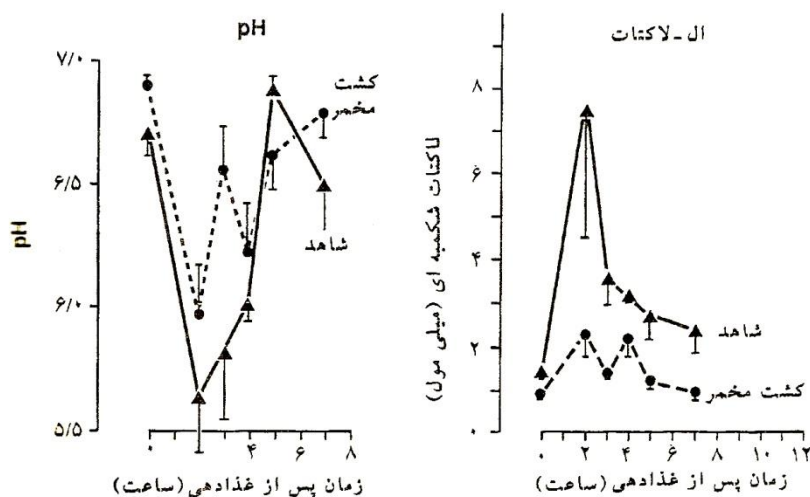
مطالعات مربوط به تغذیه نشخوارکنندگان اغلب با اندازه گیری تقریبی برخی از پارامترهای سهل الوصول در مایع شکمبه شامل pH، میزان اسیدهای چرب فرار و آمونیاک همراه است. اندازه گیری این پارامترها اغلب توجیه تاثیرات متفاوت تغییرات غذایی بر تغذیه حیوان میزبان را امکان پذیر می سازد. با این وجود، در مورد

افزودنی های غذایی قارچی، بجز pH مایع شکمبه، سایر عوامل اطلاعات چندانی را در خصوص مکانیسم عمل کشت مخمر و آسپرژیلوس اریزا به دست نمی دهند. به نظر می رسد که تاثیرات کشت مخمر و آسپرژیلوس اریزا بر میزان اسیدهای چرب فرار موجود در مایع شکمبه متفاوت باشد. تاثیرات مذکور همواره اندک بوده و اغلب معنی دار نمی باشند. به نظر می رسد که هر دو نوع از این افزودنیها موجب افزایش اسیدهای چرب فرار شوند. در زمان بررسی مقادیر نسبی اسیدهای چرب فرار مشخص شد که کشت مخمر موجب افزایش میزان پروپیونات تولیدی می گردد؛ در حالی که آسپرژیلوس اریزا تولید استات را افزایش می دهد. از سوی دیگر گومز-آلارکون و همکاران (۱۹۹۰) تولید مقادیر کمتری از استات را در موارد مصرف جیره حاوی مقدار زیاد کنسانتره مشاهده نمودند و ادواردز و همکاران (۱۹۹۰) نیز در گاوهای نر مصرف کننده مخمر مقادیر بالاتر استات را یافتند. در کشت های مخلوط و مدام آسپرژیلوس اریزا در خارج از بدن حیوان نیز افزایش تولید استات مشاهده شد ولی تغییری در نسبت های اسیدهای چرب فرار در موارد مصرف کشت مخمر دیده نشد. وجود مقادیر بالای آسپرژیلوس اریزا و کشت مخمر (۱ گرم در هر لیتر) در انکوباسیون های کوتاه مدت محموله ها در خارج از بدن حیوان موجب افزایش تولید پروپیونات می گردد. بنابراین، به نظر می رسد که تغییر در مقادیر اسیدهای چرب فرار به خودی خود تاثیر اندکی بر نحوه اعمال تاثیر افزودنی های قارچی بر تخمیر شکمبه داشته باشد. یافته بسیار مهم تر و احتمالاً با اهمیت بسیار زیادتر آن است که کشت مخمر موجب افزایش میزان تولید اسیدهای چرب فرار از سوبستراهای مختلف در مایع شکمبه اخذ شده از گوسفندان دریافت کننده کشت مخمر می گردد. اینکه این تاثیر نوعی تحریک اصلی و خالص تولید اسیدهای چرب فرار به ازای هر واحد از بیوماس میکروبی است و یا صرفاً نتیجه وجود یک جمعیت میکروبی بزرگتر در شکمبه حیوانات مصرف کننده کشت مخمر می باشد، موضوعی است که باید مشخص شود. در نشخوار کنندگان، تولید متان نشانگر یک افت اساسی در انرژی می باشد. این امر همچنین با مقادیر معین اسیدهای چرب فرار تولیدی و دامینه شدن اسیدهای امینه همبستگی بسیار نزدیکی دارد. در دو مطالعه در خارج از بدن حیوانات، افزودن کشت مخمر به یک سیستم محموله ای افزایشی در تولید متان ایجاد نمود و به طور تعجب آوری افزایش تولید هیدروژن نیز مشاهده گردید. در موارد افزودن آسپرژیلوس اریزا به فرماتور نیمه مداوم شکمبه، کاهش مدار متان در گاز تولیدی و انباشته شده در بالای محتویات شکمبه دیده شد و در موارد مصرف کشت مخمر در جیره غذایی گوساله ها نیز میزان تولید متان کاهش نشان داد. کاملاً واضح است که برای نشان دادن میزان اهمیت تاثیرات حاصل از مصرف افزودنی های غذایی قارچی بر تولید متان انجام مطالعات بیشتر در داخل بدن حیوانات ضروری است. در مطالعاتی که غلظت آمونیاک شکمبه تحت تاثیر افزودنی های غذایی قارچی قرار گرفته بود،

معمولاً این تاثیرات از نوع کاهش بود، با این وجود، در مطالعات داخل و خارج از بدن حیوانات با آسپرژیلوس اریزا نتیجه نهایی افزایشی بوده است. از آنجا که مجموع آمونیاک موجود از عوارض نهایی تولید پروتئین وارده از یک سو و تقاضای میکروبی برای ساخت پروتئین از سوی دیگر ایجاد می شود، آگاهی از میزان تاثیرگذاری افزودنی ها بر میزان آن از کارایی محدودی در پیش بینی کارکرد مواد افزودنی برخوردار است. آرامبل و همکاران (۱۹۸۷) نشان دادند که ممکن است آسپرژیلوس اریزا با توجه به فعالیت پروتئازی خود موجب پروتولیز پروتئین های موجود شود. افزایش قابلیت هضم پروتئین خام پاسخی است که به دنبال مصرف آسپرژیلوس اریزا و کشت مخمر مشاهده می شود. با این وجود، وقوع این حالت همیشگی نیست و اندازه گیری مستقیم فعالیت های آنزیمی در سیستم روزیتک نشان داد که با مصرف آسپرژیلوس اریزا فعالیت پروتئازی کاهش و آمینه شدن اسیدهای آمینه افزایش می یابد. به دنبال مصرف کشت مخمر همین حالت در شکمبه گوسفند دیده می شود.

pH مایع شکمبه، یکی از مهمترین تعیین کنندگان کارکرد شکمبه بویژه برای باکتری های سلولیتیک است که در  $pH=6$  یا کمتر از آن رشد نمی کنند. pH مایع شکمبه در نتیجه افزایش کنسانتره موجود در جیره غذایی کاهش می یابد. این کاهش تجزیه اجزای فیبری را مهار و حداقل به طور نسبی موجب بروز تاثیرات همبستگی منفی میان علوفه و کنسانتره موجود در جیره می گردد. قابلیت تجزیه پذیری اجزای خشبی جیره با افزودن کنسانتره به میزان بالاتر از یک حد مشخص مهار می گردد. به نظر می رسد که افزودنی های غذایی قارچی معمولاً موجب افزایش جزئی pH مایع شکمبه می شوند. اگرچه این حالت همواره رخ نمی دهد و در برخی از آزمایشات کشت مخمر حقیقتاً موجب کاهش pH مایع شکمبه می گردد، ولی در سیستم های تخمیری خارج از بدن حیوانات افزایش مقادیر pH نیز ثبت شده است. شاید اساسی ترین جنبه اثرگذاری افزودنی های غذایی قارچی بر تخمیر شکمبه، در سایه مقادیر گزارش شده اسیدهای چرب فرار، آمونیاک و pH پنهان مانده باشد. اختلاف در مقادیر آمونیاک در مایع شکمبه گرفته شده از گاوهای مصرف کننده کشت مخمر کمتر از مقادیر مربوط به گاوهای گروه شاهد بود و مقادیر میکروبی نیز به طور مشابهی از ثبات بیشتری برخوردار بودند. هاریسون و همکاران چنین نتیجه گیری نمودند که در گاوهای مصرف کننده مکمل های حاوی کشت مخمر، تخمیر شکمبه ای از ثبات بیشتری برخوردار می باشد. آزمایشات در گاوهای نر اخته که جو را به همراه علوفه خشک مصرف می کردند، این مطلب را آشکار ساخت.

اسیدهای چرب فرار تولید شده به مقادیر اندک که عمدتاً از دامینه شدن اسیدهای آمینه ایجاد می شوند از دیگر ترکیبات با وزن مولکولی پایین هستند که تغییر در آنها به دنبال مصرف کشت مخمر و آسپرژیلوس اریزا نشان داده شده است. کشت مخمر و آسپرژیلوس اریزا هر دو موجب افزایش درصد اسیدهای چرب فرار با شاخه های جانبی در مایع شکمبه گاوها می گردند. در گاوهای دریافت کننده کشت مخمر، مقادیر مولاری ایزووالرات کاهش و مقادیر مربوط به والرات افزایش می یابد. در گاوهای دریافت کننده آسپرژیلوس اریزا افزایش مقادیر ایزووالرات نیز قابل مشاهده است. مشاهدات خارج از بدن مشابهی نیز صورت گرفته است که هیچ گونه تفاوتی را در مقدار کلی ایزو- اسیدهای تولیدی در شرایط داخل و یا خارج از بدن حیوانات آشکار نساخته اند. این مقادیر بالاتر اسیدهای چرب فرار موجب رشد باکتری های سلولیتیک غالب در شکمبه می گردند.



شکل ۱-۴- تاثیر مصرف کشت مخمر بر pH و غلظت لاکتات در شکمبه گاو های نراخته

## بار میکروبی

تأثیر بر بار میکروبی متفاوت و متغیر است. واندرلی و همکاران (۱۹۸۷) دریافتند که مصرف آسپرژیلوس اریزا تأثیری بر بار میکروبی ندارد؛ در حالی که گومز- آلاکون و همکاران (۱۹۹۰) مشاهده نمودند که دو مورد از سه آزمایش انجام شده روی گاوها مصرف آسپرژیلوس اریزا موجب افزایش بار میکروبی گردیده بود. در آزمایش سوم که آسپرژیلوس اریزا تأثیری به همراه نداشت، مصرف کشت مخمر به عنوان روش تیماری دیگری به کار گرفته شد، ولی نتوانست تأثیری بر بار میکروبی داشته باشد. واندرلی و همکاران (۱۹۸۷) دریافتند که جریان پروتئینی افزایش می یابد و ویلیامز و همکاران (۱۹۹۰) که جریان پروتئین را در دوازدهه گوسفند اندازه گیری می کردند، ملاحظه نمودند که این جریان با مصرف کشت مخمر سرعت یافته و به جذب بیشتر

نیترژن غیر آمونیاکی منجر می گردد. اندازه گیریهای آلانتوئین ادراری در گاوهای نر مشخص نمود که مصرف کشت مخمر بار میکروبی را بهبود بخشیده است. در مطالعه و اندرلی و همکاران (۱۹۸۷)، چنین به نظر رسید که افزایش جریان پروتئین میکروبی و هم ناشی از افزایش پروتئین جیره ای تجزیه نشده در محتویات دستگاه گوارش در ناحیه دوازدهه بوده است.

## میکروب شناسی

وایدمایر و همکاران (۱۹۸۷) برای نخستین بار افزایش قابل توجه شمارش کلی باکتری های زنده و بی هوازی در شکمبه نشخوار کنندگان را در موارد مصرف افزودنی های غذایی قارچی، در آسپرژیلوس اریزا به میزان ۰/۰۱۴ و در کشت مخمر به میزان ۰/۰۳۰ ملاحظه نمودند. بعداً هاریسون و همکاران (۱۹۸۸) افزایش ۵۸٪ در شمارش کلی باکتری های زنده را به دنبال مصرف کشت مخمر و داسون و همکاران (۱۹۹۰) افزایش پنج برابری را در گاوهای نر اخته مصرف کننده کشت مخمر مشاهده نمودند. فرومهولتز و همکاران (۱۹۸۹) نیز افزایش ۷۹٪ در شمارش کلی باکتری های زنده را به دنبال مصرف آسپرژیلوس اریزا و سپس افزایش ۹۰٪ در مطالعات آتی با همین باکتری را شاهد بودند. در محیط های کشت مداوم، به دنبال مصرف کشت مخمر بیش از ده برابر افزایش ملاحظه شد. کاملاً آشکار است که چنین افزایش های قابل توجهی در تعداد کل باکتری های زنده موجود نشانگر تغییرات رخ داده در مقدار کلی پروتئین باکتریایی، بویژه با توجه به عدم تأثیر یا تأثیر اندک بر بار میکروبی نمی باشد. در عوض، نشانگر تغییرات فوق العاده در حیات باکتری های موجود در موارد مصرف افزودنی های غذایی قارچی، بویژه در موارد بکارگیری شرایط نامساعد در خارج از بدن حیوانات می باشد. بدین ترتیب، کشت مخمر و آسپرژیلوس اریزا باید به شکلی شرایط رشد باکتری های شکمبه را بهبود بخشند.

افزودنی های غذایی قارچی همچنین موجب رشد باکتری های سلولیتیک می شوند. افزایش جمعیت در داخل بدن حیوانات به صورت نسبی در مقایسه با افزایش در کل جمعیت به مقدار اندک، افزایش نشان می دهد؛ البته این حالت همواره رخ نمی دهد. مطالعات خارج از بدن حیوانات نشان می دهد که گاهی اوقات میزان تأثیر بر باکتری های سلولیتیک در مقایسه با جمعیت کل باکتری ها بسیار بیشتر است؛ اگر چه باز هم باید ذکر نمود که این حالت همیشگی نیست. تک یاخته های مؤکدار تا نیمی از بیوماس تام میکروبی در شکمبه را تشکیل می دهد و عامل اصلی برای تجزیه ناکارآمد و ساخت مجدد پروتئین باکتریایی است که موجب کاهش بار میکروبی می گردد. آن ها همچنین در تجزیه سلولز دخالت دارند. با این وجود، تاکنون و علیرغم اهمیت مشهود آنها، تعداد موارد گزارش شده مربوط به شمارش تک یاخته ها در نشخوار کنندگان مصرف کننده افزودنی



های غذایی قارچی اندک بوده است. مصرف اسپرژیلوس اریزا در سیستم رزیتک تعداد تک یاخته ها را به میزان ۴۵٪ کاهش می دهد، اما در گاوها با مصرف اسپرژیلوس اریزا تعداد آنها رو به افزایش گذارد. در این میان، سومین گروه اصلی از میکروارگانیزم های شکمبه یعنی قارچ های بی هوازی که بشدت سلولیتیک هستند نیز کمتر مورد توجه واقع شده اند. اسپرژیلوس اریزا موجب افزایش مقدار قارچ های موجود در محتویات شکمبه گاوهای دریافت کننده می گردد. در دوازدهه گاوهای دریافت کننده اسپرژیلوس اریزا قارچ دیگری که هویت آن مشخص نشده است به همراه اسپرژیلوس به ذرات مواد خشبی می چسبد. تعداد قارچ های بی هوازی در شکمبه گاو کمتر از قارچ های هوازی است و با مصرف اسپرژیلوس اریزا نیز تعداد آن ها افزایش نمی یابد. افزودن مستقیم اسپرژیلوس اریزا به کشت های خالص نئوکالیماستیکس فرانتالیس و نئوکالیماستیکس پاتری سیاروم و اسفارو مونس کامیونیس هیچ گونه تأثیری بر تولید گاز توسط این گروه های اصلی از قارچ های بی هوازی شکمبه نداشته است. بدین ترتیب، اغلب شواهد موجود حاکی از آن است که افزودنی های غذایی قارچی تأثیر اندکی بر جمعیت طبیعی قارچ های بی هوازی در حال رشد در شکمبه دارند.

### سایر تأثیرات پروبیوتیک ها

تأثیرات دیگری نیز به افزودنی های غذایی قارچی نسبت داده می شود که ممکن است به صورت مستقیم با عملکرد آنها مرتبط باشد. در گاوهایی که در معرض دمای بالای محیط قرار گرفته اند، مصرف اسپرژیلوس اریزا موجب کاهش دمای مقعدی و استرس گرمایی می گردد. مصرف کشت مخمر نیز ممکن است به علت خواص اتصال یونی دیواره سلولی آن متابولیسم مواد معدنی تأثیرگذار باشد. بهبود بکارگیری روی موجود در جیره ممکن است توجیه کننده برخی از تأثیرات کشت مخمر و دیواره سلولی آن باشد. این یافته که مخمرهای زنده هنگام عبور از دستگاه گوارش زنده باقی می ماند تا در دوازدهه وایلثوم گوسفند تعدادشان افزایش یابد و اینکه هاگهای اسپرژیلوس در محتویات دستگاه گوارش موجود در دوازدهه گاوهای دریافت کننده اسپرژیلوس اریزا یافت می شوند نیز می تواند استنتاج های مهمی بر اثبات وجود یک مکان دیگر برای عمل افزودنی های غذایی قارچی باشند. تا امروز تأثیرات احتمالی پس از شکمبه ای مربوط به افزودنی های غذایی قارچی بسیار مورد غفلت واقع شده اند. این احتمال وجود دارد که مزایای مورد توجه برای اسب های دریافت کننده کشت مخمر مانند بهبود هضم مواد غذایی ناشی از تحریک میکروفلور روده کور در نشخوارکنندگان نیز به وقوع پیوندد.

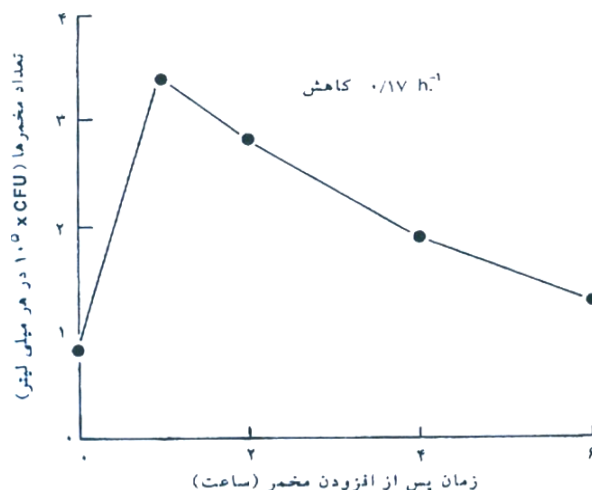
## مکانیسم عمل احتمالی پروبیوتیک ها

برخی از ادعاهای مطرح شده برای فرآورده های موجود بویژه در مورد مکانیسم عمل آنها غیر عملی به نظر می رسد. علاوه بر آن، سازندگان عموماً تمایلی به بیان نحوه گزینش میکروب های موجود در محصول ندارند. ما بر این عقیده ایم که در صورت امکان، شناسایی دقیق مکانیسم عمل افزودنی های غذایی قارچی در سطح سلولی و مولکول در برقراری و جلب اعتماد بر فرآورده های موجود و ایجاد پایه ای برای پیشرفت های آتی از بیشترین اهمیت برخوردار است. با این وجود، در درجه نخست باید تلاش کنیم تا از تبدیل بسیاری از تأثیرات گزارش شده به مدل های قابل انتقاد و نیازمند به آزمایش آزمایشگاهی جلوگیری نماییم. همچنین باید مشخص شود که تأثیرات مربوطه با دز مصرفی مرتبط است و یا به رشد مخمر یا اسپرژیلوس در شکمبه بستگی دارد.

### رشد مخمرها و قارچ ها در شکمبه

مخمرها و کپک ها به صورت طبیعی در میان جمعیت میکروبی شکمبه یافت می شوند. در صورت نگهداری مایع شکمبه رقیق شده در ۲۵ درجه سانتیگراد تا  $10^5 * 1/3$  و در ۳۹ درجه سانتیگراد تا  $10^3 * 3/5$  مخمر در هر میلی لیتر رشد می کند. این امر نشان می دهد که مخمرهایی که به صورت طبیعی در این محل یافت می شوند، ضرورتاً اعضای موقت این جامعه هستند که از طریق مصرف علوفه وارد این قسمت شده اند. در این میان، نه گونه مورد شناسایی قرار گرفته اند که ساکارومایسس جزو آنها نبوده است. تعداد مخمرهای موجود در گوسفند نیز مشابه می باشد. اندازه گیری جمعیت طبیعی مخمرها در برخی از گاوهای نر اخته مصرف کننده جیره حاوی علوفه امکان پذیر نمی باشد؛ این امر در موارد تهیه کشت های مداوم از مایع شکمبه در خارج از بدن حیوانات نیز صادق می باشد. بدین ترتیب مخمرها بخصوص ساکارومایسس سرویسیه به صورت طبیعی اعضای مهم و غالب جمعیت میکروبی شکمبه نیستند. به نظر می رسد که دما ۳۹ درجه سانتیگراد و ترکیب شیمیایی مایع شکمبه سبب مهار رشد خارج از بدن حیوانات ساکارومایسس سرویسیه می گردند. داسون (۱۹۸۷) از آزمایشات خارج از بدن حیوانات داده هایی را به دست داد که از آنها استنباط می شود که ساکارومایسس سرویسیه ممکن است در شکمبه رشد کند. با این وجود، آزمایشات آتی نشان داد که رشد اساسی مخمر محتمل نیست. در گاوهای مصرف کننده کشت مخمر نیز مخمرها یک ساعت پس از غذاهای از  $10^5 * 2/5$  به  $10^5 * 4/7$  در هر میلی لیتر افزایش می یابند. همچنین در موارد مصرف کشت مخمر در گوسفندان، تعداد مخمرها در مایع شکمبه یک ساعت پس از غذاهای از  $10^3 * 1/5$  به  $10^5 * 3/34$  مخمر خواهد رسید. زمانی که تعداد آنها در شکمبه گوسفندان در زمان صفر در نظر گرفته شود (شکل ۱-۵)، جمعیت مخمر معادل تعداد سلول های زنده ای

خواهد بود که به عنوان کشت مخمر به جیره افزوده شده اند. سپس تعداد آنها به میزان ۰/۱۷ در هر ساعت کاهش نشان می دهد که بیشتر از رقمی است که صرفاً از محلول های رقیق شده انتظار می رود. این امر نشان می دهد که هر گونه رشد خالص مخمر در شکمبه معنی دار نمی باشد و سلول ها تلف می شوند.



شکل: شمارش مخمر های زنده در مایع شکمبه گوسفندان پس از افزودن  $10^9 * 1/6$  سلول زنده مخمر در کشت مخمر. میزان ۰/۱۷ در هر ساعت می باشد.

آرامبل و تانگ (۱۹۸۹) نیز با بکارگیری اتاقک های آکواریومی مجهز به فیلترهای غشایی در ابعاد مختلف به نتایج مشابهی دست یافتند. بکارگیری کشت های مداوم در خارج از بدن حیوانات تأیید نمود که تعداد مخمر های زنده در مایع شکمبه افزایش نمی یابد. با این وجود، نباید فقدان حیات را با فقدان فعالیت متابولیکی اشتباه گرفت. انگلودو و جونز (۱۹۸۲) دریافتند که از نظر متابولیکی ساکارومیسس سرویسیه برای مدت ۶ ساعت در مایع شکمبه فعال باقی می ماند. در گوسفندان گروه شاهد، تعداد قارچ های هوازی در شکمبه گوسفندان تغذیه شده با کاه  $10^5 * 4/2$  در هر میلی لیتر و در حیوانات دریافت کننده اسپرژیلوس اریزا  $10^5 * 5/8$  در هر میلی لیتر بود. این تعداد در گاوهای مصرف کننده جیره مخلوط کمتر بوده ( $10^3 * 1/7$  در هر میلی لیتر) و در پاسخ به مقادیر روبه افزایش اسپرژیلوس اریزا افزایشی مشاهده نشد. با توجه به پایین بودن میزان حیات در عصاره های تخمیری اسپرژیلوس اریزا که پیشتر مورد اشاره قرار گرفت، احتمالاً دستیابی به این نتایج تعجب آور نخواهد بود و با توجه به این نظر که رشد آن در محیط هوازی است، ما انتظار نداریم که اسپرژیلوس در داخل بدن حیوانات تکثیر یابد. عصاره مخمر فاقد سلول های زنده موجب تحریک رشد خارج از بدن حیوانات فیروباکتر سوکسینونز روی سلولز می گردد که این امر در مورد ساکارومیسس سرویسیه نیز مصداق دارد. همچنین در موارد آزمایش خارج از بدن حیوانات، کشت مخمر اسپرژیلوس اویس اتوکلاو شده فقدان اثر

تحریک کنندگی برای افزایش تعداد باکتری ها در تخمیرهای مخلوط می باشند. آسپرژیلوس اویس که به وسیله تابش اشعه گاما و نه به روش اتوکلاو استریل می شود، به طور فریبنده ای بیشتر فعالیت تحریک کنندگی خود را حفظ می کند. اینکه آسپرژیلوس اریزا ماده غذایی حساسی دارد که در برابر حرارت به روش اتوکلاو کردن نابود می گردد و یا فعالیت متابولیسمی دارد که نه بر اثر تابش اشعه بلکه بر اثر حرارت نابود می گردد، هنوز مشخص نیست.

## اثرات پروبیوتیک بر مواد غذایی

الف) باکتری های سودمند از همان مواد غذایی بهره برداری می کنند که میکروارگانیزم های بیماریزا، بنابراین همواره یک رقابت عمومی بر سر مواد غذایی بین آنها، برای رشد و تکثیر، در دستگاه گوارش جریان دارد. هر چه شمار باکتری های سودمند بیشتر باشد، این رقابت به زیان میکروارگانیزم های بیماریزا تمام می شود و میکروارگانیزم های بیماریزا که از دریافت خوراک محروم می شوند، نمی توانند رشد کنند و شمار آنها به اندازه ای نمی رسد که بتوانند در جانور میزبان ایجاد بیماری کنند.

ب) پروبیوتیک ها با پیشگیری از آسیب دیدن « ویلی های شکمبه » و بازسازی بخش های آسیب دیده احتمالی، کارآیی آنها در جذب مواد را افزایش می دهد.

ج) به صورت بخشی از پروتئین باکتریایی از شکمبه به روده گذر می کند و بخشی از نیاز پروتئین باکتریایی برای تولید شیر را برآورده می سازند.

د) با تولید آنزیم هایی که مولکول های پلی ساکارید را می شکنند به کار فلور سالم دستگاه گوارش در بهره برداری بیشتر از مواد غذایی جیره کمک می رساند.

## اثرات در روده

الف) پروبیوتیک با برقراری تعادل میکروفلور باکتریایی، سلامت دیواره روده را برقراری نماید که سبب جذب بالاتر مواد مغذی می شود.

ب) پروبیوتیک ها با تولید ویتامین B، بخشی از نیاز دام به این ویتامین را نیز برآورده می سازند.

ج) پروبیوتیک ها با برقراری پیوند با آلودگی های قارچی خوراک و بیرون بردن آنها از دستگاه گوارش، از ورود آنها به جریان خون پیشگیری می نمایند.

د) بررسی های فولر (۲۰۰۱) نشان داد که وجود این سموم در روده باعث کاهش هضم پروتئین و شکستن پروتئین و تبدیل آن به نیتروژن می گردد. همچنین استفاده از پروبیوتیک ها سبب غلبه باکتری های تجزیه کننده قندها (ساکارولیتیک) بر باکتریهای تجزیه کننده پروتئین ها (پروتولیتیک) می شود که در نتیجه هضم پروتئین افزایش و تجزیه آنها کاهش می یابد.

## گروه تحقیق و توسعه گهر دانه شرق