Vol 26, No. 2, Summer 2024

University of Tehran Press

Journal of Animal Production

Online ISSN: 2382-994X

Homepage: https://jap.ut.ac.ir/

Effects of slow-feed hay net on forage intake rate, concentration of volatile fatty acids, microbial population and activity of large intestinal enzymes of horse

Parvin Sareminejad[1] | Ali Kiani[2]✉ | Ayoob Azizi[3]

1. Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Khorramabad, Iran. E-mail: saremi.par@fa.lu.ac.ir
2. Corresponding Author, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Khorramabad, Iran. E-mail: kiani.a@lu.ac.ir
3. Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Khorramabad, Iran. E-mail: azizi.ay@lu.ac.ir

Article Info

Article type:
Research Article

Article history:
Received 16 December 2023
Received in revised form
8 June 2024
Accepted 21 June 2024
Published online 14 July 2024

Keywords:
Arabian horse
Bacterial population
Equine nutrition
Forage-net
Large intestinal fermentation

ABSTRACT

Introduction The natural behavior of horses is to spend the most of their time foraging. The feeding time of stabled horses is often far from enough to fulfill their natural eating behavior. Hay-net technique is a method aiming to promote natural foraging behavior, slowing ingestion and increasing the length of feeding time. This study was conducted to investigate the effects of using a slow-feed (hay-net) on feeding time, forage intake rate, apparent digestibility, volatile fatty acids (VFA) concentration, bacterial population, and the activity of cellulolytic and amylolytic enzymes in the colon of horses.

Materials and Methods Eight Arabian horses (body weight= 396± 45 kg, age= 9±3 years) were used in a cross-over design. The length of the experimental period was eight weeks, which included two periods of four weeks in rotation. In each period, feed was provided for four horses freely and for other four horses using a hay net. Fecal samples were collected on days 21 to 28 of each period.

Results and Discussion The results showed that using hay net significantly increased feeding time from 257 to 659 minutes per day and decreased forage intake rate from 1592 and 610 g/h ($P<0.05$). The hay-net did not affect the total VFA and relative VFAs concentrations ($P< 0.05$). Lactobacillus populations in horses with hay-net increased compared to those without hay-net ($P<0.05$). The populations of cellulolytic, amylolytic, Escherichia coli, and coliforms bacteria were unchanged by hay-net. The activity of carboxy methyl cellulase enzyme significantly increased ($P<0.05$), while the activity of microcrystalline cellulase, amylase, and filter paper decomposition activity was not affected by hay-net.

Conclusion In comparison with the more traditional methods, slow-feed hay net devices successfully limited the forage intake rate, expanded feeding time, and changed the activity of some fiber-decomposing enzymes in the large intestine of horses; however, the recommendation of hay-nets for nutritional management in horses needs further investigations.

Cite this article: Sareminejad, P., Kiani, A., & Azizi, A. (2024). Effects of slow-feed hay net on forage intake rate, concentration of volatile fatty acids, microbial population and activity of large intestinal enzymes of horse. *Journal of Animal Production*, 26 (2), 123-135. DOI: https://doi.org/10.22059/jap.2024.369682.623772

© The Author(s).
Publisher: The University of Tehran Press.
DOI: https://doi.org/10.22059/jap.2024.369682.623772

دوره بیست و ششم، شماره دوم، تابستان ۱۴۰۳

انتشارات دانشگاه تهران

تولیدات دامی

شاپا الکترونیکی: ۲۳۸۲-۹۹۴x

Homepage: https://jap.ut.ac.ir/

اثرات استفاده از توری کندکننده مصرف علوفه، بر غلظت اسیدهای چرب فرّار، جمعیت و فعالیت آنزیم‌های میکروبی روده بزرگ اسب

پروین صارمی‌نژاد[۱] | علی کیانی[۲]✉ | ایوب عزیزی[۳]

۱. گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، ایران. رایانامه: saremi.par@fa.lu.ac.ir

۲. نویسنده مسئول، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، ایران. رایانامه: kiani.a@lu.ac.ir

۳. گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، ایران. رایانامه: azizi.ay@lu.ac.ir

اطلاعات مقاله

نوع مقاله: مقالهٔ پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۹/۲۵

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۳/۰۳/۱۹

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۴/۰۱

تاریخ انتشار: ۱۴۰۳/۰۴/۲۴

کلیدواژه‌ها:

اسب عربی

تخمیر روده بزرگ

تغذیه اسب

توری علوفه

جمعیت باکتریایی

چکیده

در این مطالعه تأثیر استفاده از کندکننده خوراک (توری) بر مدت زمان مصرف خوراک، نرخ مصرف علوفه، قابلیت هضم ظاهری مواد مغذی، غلظت اسیدهای چرب فرّار، جمعیت باکتریایی، فعالیت آنزیم‌های سلولولیتیک و آنزیم آمیلاز در روده بزرگ اسب‌ها با استفاده از هشت رأس اسب عربی (میانگین وزن ۴۵ ± ۳۹۶ کیلوگرم و میانگین سن ۳±۹ سال) در آزمایشی در دو دوره ۲۸ روزه به‌صورت چرخشی بررسی شد. در هر دوره چهار رأس اسب بخش علوفه جیره را از طریق توری مصرف کردند. در روزهای ۲۱ الی ۲۸ هر دوره نمونه مدفوع از رکتوم اسب‌ها تهیه شد. نتایج نشان داد که استفاده از توری سبب افزایش ($P<۰/۰۵$) زمان مصرف علوفه از ۲۵۷ به ۶۵۹ دقیقه در روز و کاهش ($P<۰/۰۵$) نرخ مصرف علوفه از ۱۵۹۲ به ۶۱۰ گرم در ساعت شد. غلظت اسیدهای چرب فرّار تحت تأثیر توری قرار نگرفت. جمعیت باکتری‌های لاکتوباسیلوس در اسب‌های محدودشده با توری در مقایسه با اسب‌های بدون توری افزایش یافت ($P< ۰/۰۵$). جمعیت باکتری‌های سلولولیتیک، آمیلولیتیک، اشریشیاکلای و کلی‌فرم‌ها بدون تغییر ماند. فعالیت آنزیم کربوکسی متیل سلولاز با افزایش مدت دسترسی به علوفه افزایش یافت ($P<۰/۰۵$)، درحالی‌که فعالیت آنزیم‌های میکروکریستالین سلولاز، آمیلاز و فعالیت تجزیه کاغذ صافی تحت تأثیر توری قرار نگرفت. براساس نتایج حاصل، استفاده از توری سبب افزایش مدت زمان مصرف خوراک، کاهش نرخ مصرف علوفه، تغییراتی در جمعیت باکتریایی و فعالیت برخی آنزیم‌های تجزیه‌کننده فیبر در روده بزرگ اسب‌های بالغ می‌شود.

استناد: صارمی‌نژاد، پروین؛ کیانی، علی و عزیزی، ایوب (۱۴۰۳). اثرات استفاده از توری کندکننده مصرف علوفه، بر غلظت اسیدهای چرب فرّار، جمعیت و فعالیت آنزیم‌های میکروبی روده بزرگ اسب. *نشریه تولیدات دامی*، ۲۶ (۲)، ۱۳۵-۱۲۳. DOI: https://doi.org/10.22059/jap.2024.369682.623772

ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.

© نویسندگان.

۱. مقدمه

دستگاه گوارش اسب به‌خوبی با الگوی مصرف خوراک آهسته (تقریباً مستمر و در مقادیر کم) سازگار شده است. اسب‌ها در طبیعت تقریباً ۶۰–۷۰ درصد از روز و ۳۰–۴۰ درصد از زمان شب را صرف مصرف خوراک می‌کنند (Harris *et al*., 2017). اسب یک حیوان چراکننده است و وقتی در مرتع است، بین ۱۴ تا ۱۶ ساعت در روز چرا می‌کند (Marchette, 1999). ترشح مداوم صفرا، جریان سریع مواد در دستگاه گوارش، ظرفیت محدود برای هضم نشاسته و داشتن روده بزرگ با حجم زیاد همگی نشان می‌دهند که اسب نیاز به مصرف مداوم یک رژیم غذایی با فیبر بالا دارد (Jansson *et al*., 2006). محدودیت دسترسی به فیبر همراه با محدودیت حرکتی بسیار شدید در مقایسه با وضعیت طبیعی نگهداری اسب به‌طور بالقوه می‌تواند به برخی از رفتارهای غیرعادی منجر شود (Sarrafchi & Blokhuis, 2013). اسب‌های نگهداری‌شده در اصطبل معمولاً با ترکیبی از کنسانتره و علوفه تغذیه می‌شوند. کنسانتره و علوفه اغلب فقط دو بار در روز ارائه می‌شود، بنابراین اسب‌ها در دوره‌های نسبتاً طولانی در طول روز محروم از خوراک و به‌ویژه فیبر هستند. علاوه بر این، کاهش فرصت‌های جستجوی خوراک و انزوای اجتماعی می‌توانند منجر به تنش و ایجاد رفتارهای غیرعادی در اسب‌ها شود (Sarrafchi & Blokhuis, 2013). محدودکردن زمان چرای آزاد اسب‌ها سبب می‌شود که اسب‌ها همواره با یک حالت انتظار طولانی مدت برای وعده بعدی خوراک مواجه شوند که ممکن است سبب اختلالات گوارشی گردد. لذا افزایش مدت زمان دسترسی به علوفه یکی از فاکتورهای مهم در سلامت دستگاه گوارش اسب‌ها می‌باشد. روش‌های مختلفی از جمله استفاده از گلوله‌های فشرده فیبری، فیبرهای قابل‌حل در آب، سبد و توری‌های کندکننده مصرف علوفه برای افزایش مدت زمان مصرف خوراک و کاهش فاصله زمانی بین دو وعده خوراکی در اسب‌ها استفاده می‌شود (Lundqvist & Muller, 2022). با این وجود تاکنون تأثیرات مدت زمان دسترسی به علوفه بر غلظت فرآورده‌های تخمیری، جمعیت باکتریایی بی‌هوازی و فعالیت آنزیم‌های سلولولیتیک و آمیلولیتیک در روده بزرگ اسب انجام نشده است.

۲. پیشینه پژوهش

طبق نتایج پژوهش‌های مختلف، استفاده از وسایل کندکننده مصرف خوراک از جمله توری‌های محدودکننده مصرف علوفه بر رفتار تغذیه‌ای و گوارشی اسب‌ها تأثیرگذار است. در بیش‌تر این پژوهش‌ها تأثیر وسایل کندکننده مصرف علوفه بر میزان مصرف خوراک و اختلالات رفتاری اسب‌ها بررسی شده است (Glunk *et al*., 2014). استفاده از توری‌های محدودکننده مصرف کاه سبب طولانی شدن زمان مصرف علوفه در اسب‌ها شده است (Lundqvist & Muller, 2022). کیانی و همکاران (۲۰۱۸) تعامل بین ترتیب تغذیه یونجه و کنسانتره و فرآوری دانه جو با حرارت مرطوب (پختن جو در آب جوش به‌مدت ۳۰ دقیقه) بر میزان مصرف خوراک، غلظت اسیدهای چرب فرّار و فعالیت آنزیم‌های باکتریایی روده بزرگ اسب را بررسی کردند. نتایج آزمایش آن‌ها نشان داد که تغذیه کنسانتره قبل از یونجه و فرآوری دانه جو با حرارت مرطوب سبب افزایش مصرف خوراک و بهبود محیط روده بزرگ در مادیان‌های عربی شد (Kiani *et al*., 2018).

پژوهش‌گران دیگری تعداد دفعات تغذیه بر قابلیت هضم مواد مغذی و رفتار تغذیه‌ای اسب ترکمن را موردبررسی قرار دادند. آن‌ها جیره موردنظر در چهار تیمار به‌صورت دو وعده (چهار ساعت دسترسی)، چهار وعده (هشت ساعت دسترسی)، شش وعده (۱۲ ساعت دسترسی) و هشت وعده در روز (۱۶ ساعت دسترسی) برای یک دوره ۲۸ روزه در اختیار اسب‌ها قرار دادند. نتایج مطالعه آن‌ها نشان داد که افزایش دفعات تغذیه منجر به پایداری سطح گلوکز سرم در طول روز و افزایش قابلیت هضم مواد مغذی شد. میانگین جویدن و بلع (به‌ازای هر کیلوگرم ماده خشک) یونجه تحت تأثیر دفعات تغذیه قرار نگرفت. هم‌چنین میزان جویدن و بلع کنسانتره برای تیمار دو وعده غذایی در روز افزایش یافت. با افزایش

دفعات تغذیه، مصرف یونجه کاهش یافت، اما مدت زمان مصرف علوفه در تیمار هشت وعده غذایی در روز افزایش یافت. در مقابل، با افزایش دفعات تغذیه، مصرف کنسانتره افزایش یافت، اما مدت زمان مصرف کنسانتره در تیمار هشت وعده غذایی در روز کاهش یافت. در نتیجه، تغذیه دو بار در روز بیش‌تر از سایر دفعات تغذیه منجر به هضم کم‌تر مواد مغذی مختلف و سطح پایین‌تر گلوکز سرم در حالت پایدار شد (Direkvandi *et al*., 2016).

محدودکردن زمان چرای اسب‌ها به‌مدت ۱۲ ساعت در مقایسه با دسترسی آزاد به مرتع (بدون محدودیت دسترسی) تأثیری بر pH روده بزرگ نداشت (Siciliano & Schmitt, 2012). در هیچ‌کدام از پژوهش‌های انجام‌شده تأثیرات افزایش مدت زمان دسترسی به علوفه بر غلظت فرآورده‌های تخمیری، جمعیت باکتریایی بی‌هوازی و فعالیت آنزیم‌های سلولولتیک و آمیلولیتیک در روده بزرگ اسب موردبررسی قرار نگرفته است. در آزمایش حاضر فرض شده است که افزایش مدت دسترسی به علوفه با استفاده از توری‌های کندکننده خوراک، سبب ایجاد تأثیرات مثبتی بر قابلیت هضم، تخمیر، جمعیت باکتریایی و فعالیت آنزیم هیدرولیتیکی روده بزرگ اسب می‌شود. بنابراین، پژوهش حاضر با هدف بررسی تأثیرات استفاده از توری‌های کندکننده مصرف علوفه بر قابلیت هضم مواد مغذی، غلظت اسیدهای چرب فرّار، جمعیت باکتریایی و فعالیت آنزیم‌های روده بزرگ اسب‌های عربی انجام شد.

۳. روش‌شناسی پژوهش

در این آزمایش از هشت رأس اسب اصیل عربی (میانگین سن ۳±۹ سال و میانگین وزن ۴۵±۳۹۶ کیلوگرم) در اصطبل-های انفرادی با ابعاد ۴×۵ متر با بستری از پوشال و خاک‌اره استفاده شد. اسب‌ها در چهار وعده خوراکی در ساعت‌های هشت، ۱۲، ۱۶، و ۲۰ در طول شبانه‌روز به‌صورت انفرادی تغذیه شدند. جیره‌های غذایی در این آزمایش با استفاده از جدول‌های نیازهای غذایی اسب (NRC, 2007) و با درنظرگرفتن احتیاجات نگهداری و فعالیت متوسط تنظیم شد. اجزای خوراکی و مقدار آن‌ها و ترکیبات شیمیایی جیره در جدول (۱) نشان داده شده است.

جدول ۱. مواد خوراکی و ترکیب شیمیایی جیره مورداستفاده برای تغذیه اسب‌های بالغ عربی

اقلام خوراکی	درصد در جیره
یونجه خشک	۴۷
کلش گندم	۲۳
تفاله چغندرقند	۱۴
پلت[۱]	۱۶
ترکیب شیمیایی	مقدار (گرم در کیلوگرم از ماده خشک)
ماده آلی	۹۰۲
خاکستر	۹۸
پروتئین خام	۱۳۰
الیاف نامحلول در شوینده خنثی	۴۳۱
الیاف نامحلول در شوینده اسیدی	۳۰۲
چربی خام	۲۲
کلسیم	۶
فسفر	۴
انرژی قابل هضم (مگاکالری در کیلوگرم ماده خشک)	۱/۹۹

۱. پلت شامل ذرت، جو، گندم، سبوس گندم، سویا، گلوتن ذرت، کربنات کلسیم، دی‌کلسیم فسفات، پریمیکس ویتامینی و معدنی می‌باشد که هر کیلوگرم از آن حاوی ۳۰۰۰ کیلوکالری انرژی قابل هضم، ۱۲۰ گرم پروتئین خام، ۳۱/۶ گرم چربی خام، ۳۱۰ گرم نشاسته، ۱۱/۳ گرم کلسیم و هفت گرم فسفر بود.

اسب‌ها در طول آزمایش به آب و لیسه‌های نمک/معدنی به‌صورت آزادانه دسترسی داشتند. بخش علوفه جیره اسب‌ها یا به‌صورت آزاد (بدون توری) و یا با استفاده از توری‌های کندکننده در اختیار اسب‌ها قرار گرفت. توری‌های استفاده‌شده از جنس نخ پلی‌پروپلین دارای ابعاد شبکه ۳/۸×۳/۸ سانتی‌متر، ارتفاع ۱۵۰ سانتی‌متر و ظرفیت ۶/۵ تا ۸ کیلوگرم علوفه بود (شرکت هورس‌کالا، کرمانشاه، ایران). نحوه دسترسی اسب‌ها به علوفه در داخل توری در شکل (۱) نشان داده شده است.

شکل ۱. توری کندکننده خوراک و نحوه دسترسی اسب‌ها به علوفه

طول دوره آزمایش هشت هفته بود که شامل دو دوره چهار هفته‌ای به‌صورت چرخشی بود. در هر دوره بخش علوفه جیره برای چهار رأس اسب به‌صورت آزاد و برای چهار رأس دیگر با استفاده از توری کندکننده در اختیار اسب‌ها قرار گرفت. هر دوره شامل سه هفته عادت‌پذیری و یک هفته جمع‌آوری نمونه مدفوع بود. اسب‌ها به‌صورت انفرادی تغذیه شدند و در کل دوره به آب تمیز و مکمل معدنی دسترسی آزاد داشتند. در هفته آخر هر دوره نمونه مدفوع از رکتوم اسب‌ها تهیه شد.

در هر دوره به‌صورت روزانه پس از خوراک‌دهی اسب‌های موردمطالعه جایگاه خوراک و توری‌ها بررسی و باقیمانده علوفه و کنسانتره توزین شد و از این طریق میزان کل خوراک مصرفی هم به‌صورت آزاد و هم توری اندازه‌گیری شد. هم‌چنین، با استفاده از دوربین‌های نصب‌شده در جایگاه نگهداری زمان شروع و پایان تغذیه هر وعده توسط اسب‌ها بررسی و مدت زمان واقعی مصرف خوراک در ساعت اندازه‌گیری شد. نرخ مصرف علوفه به‌صورت گرم در ساعت محاسبه شد. نمونه‌گیری از مدفوع اسب‌ها دو ساعت بعد از وعده صبحگاهی از طریق رکتوم به‌مدت هفت روز در انتهای هر دوره آزمایشی انجام شد و همه نمونه‌های مربوط به هر اسب با هم مخلوط شد و پس از قرار دادن در ظروف پلاستیکی به‌سرعت در فریزر با دمای ۲۰- درجه تا زمان آزمایش‌های مربوطه نگهداری شد.

برای اندازه‌گیری قابلیت هضم مواد مغذی، از روش نمونه‌برداری نقطه‌ای مدفوع (دو بار در روز) یک ساعت پس از تغذیه بین روزهای ۲۲ تا ۲۷ دوره انجام شد. در پایان دوره پنج روزه تمام ۱۰ نمونه هر اسب با یکدیگر مخلوط و یک نمونه جهت تجزیه شیمیایی درون کیسه پلاستیکی و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد منجمد و نگهداری شد در زمان آزمایش نمونه‌های منجمدشده به فویل‌های آلومینیومی منتقل شد و در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۴۸ ساعت در آون با هوای اجباری خشک، سپس تا اندازه ذرات یک میلی‌متر آسیاب شد و با مخلوط‌کردن مقادیر مساوی برای هر اسب یک نمونه همگن تهیه شد. نمونه‌های مدفوع برای ماده خشک، ماده آلی، عصاره اتری، فیبر شوینده خنثی عاری از خاکستر و فیبر شوینده اسیدی بدون خاکستر و پروتئین خام تجزیه شد. خاکستر نامحلول در اسید نمونه‌ها با روش جوشاندن خاکستر در اسیدکلریدریک دو نرمال به‌مدت پنج دقیقه اندازه‌گیری شد. ضرایب هضم ظاهری مواد مغذی با

استفاده از رابطه (۱) محاسبه شد (Direkvandi *et al.*, 2016). محتوای خاکستر نامحلول در اسید به‌عنوان نشانگر داخلی استفاده شد.

رابطه ۱) درصد قابلیت هضم = ۱۰۰−۱۰۰(درصد نشانگردرخوراک / درصد نشانگردر مدفوع × درصد ماده مغذی مدفوع / درصد ماده مغذی خوراک)

انرژی قابل هضم جیره با استفاده از رابطه (۲) (NRC, 2007) محاسبه شد.

رابطه ۲) انرژی قابل هضم (مگا کالری در کیلوگرم ماده خشک) = ۲/۱۱۸ + (پروتیین خام × ۰/۰۱۲۱۸) − (فیبر × ۰/۰۰۹۳۷) + {(فیبر نامحلول در شوینده اسیدی − فیبر نامحلول در شوینده خنثی) × ۰/۰۳۸۳} − (نامحلول در شوینده اسیدی (خاکستر × ۰/۰۲۶۳) - (کربوهیدرات غیر فیبری × ۰/۰۲۰۳۵) + (چربی خام × ۰/۰۴۷۱۸)

برای اندازه‌گیری تعداد کل باکتری‌های سلولولیتیک، لاکتوباسیل‌ها و آمیلولیتیک‌ها در هر گرم از دستورالعمل اصلاح‌شده استفاده شد. به‌طور خلاصه، ابتدا مقدار ۲۰ گرم مدفوع تازه با ۱۸۰ میلی‌لیتر محلول بافر پپتون واتر با توئین ۸۰ (یک درصد توئین۸۰) در داخل ارلن‌های مدرج سرپوشیده با فویل و پنبه به‌مدت سه دقیقه در داخل دستگاه شیکر انکوباتور (مدل PECO PBU- 405 ساخت ایران) همگن شد و به‌عنوان رقت شماره یک (رقت 10^{-1}) تعیین شد. سپس با استفاده از فالکون‌های مدرج استریل، مقدار ۲۰ میلی‌لیتر از مخلوط همگن‌شده رقت یک را به ارلن بعدی که آن نیز حاوی ۱۸۰ میلی‌لیتر بافر پپتون واتر با توئین ۸۰ درصد بود انتقال داده شد و به‌عنوان رقت شماره ۲ در نظر گرفته شد (10^{-2}). سپس نمونه را تا ۱۰ برابر به همین شکل با پپتون واتر استریل و توئین ۸۰ درصد رقیق و از هر رقت در دو نسخه، مقدار ۰/۱ میلی‌لیتر به‌طور یکنواخت روی پلیت‌های حاوی محیط کشت آگار مخصوص به همان باکتری در کنار شعله (برای جلوگیری از ورود میکروب‌ها به محیط کشت و نمونه) به هر نوع باکتری پخش گردید. پلیت‌های حاوی باکتری‌های سلولولایتیک و آمیلولایتیک به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در انکوباتور در شرایط بی هوازی با استفاده از جار بی‌هوازی و نیمه‌بی‌هوازی برای باکتری‌های لاکتوباسیلوس به‌مدت ۷۲ ساعت انکوبه شدند. پس از انکوباسیون تعداد کلنی‌های باکتریایی (کلنی‌های بین ۳۰۰−۳۰) شمارش شدند و به‌صورت لگاریتم بر پایه ۱۰ واحدهای تشکیل‌دهنده کلونی (CFU) در هر میلی‌لیتر از رابطه (۳) محاسبه شد (Duvnjak *et al.*, 2018).

رابطه ۳) CFU = حجم نمونه منتقل شده روی پلیت × شماره رقت × تعداد کلنی شمارش شده

برای اندازه‌گیری غلظت اسیدهای چرب فرّار مقدار پنج گرم نمونه رکتومی فریزشده با ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر داخل یک ظرف درب‌دار مخلوط شد و اجازه داده شد تا ۲۰−۳۰ دقیقه بماند و هر پنج دقیقه یک‌بار ظرف حاوی نمونه تکان داده شد تا نمونه بخوبی همگن شود. بعد از جداسازی شیرابه مخلوط با استفاده از دستگاه سانتریفیوژ یخچال‌دار چهار شاخه (مدل K.T.G، ایران) در دور ۱۵۰۰۰ جی در دمای چهار درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. مقدار شش میلی‌لیتر از قسمت سوپرناتانت را برداشته و با ۱/۵ میلی‌لیتر محلول متافسفریک ۲۵ درصد مخلوط کرده و به ویال‌های کروماتوگرافی انتقال داده شد و تا زمان آنالیز در دمای منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (An *et al.*, 2023). در آزمایشگاه از دستگاه گاز کروماتوگرافی (شیمیدازو−توکیو، ژاپن) دارای FID و ستون دو متری با قطر داخلی دو میلی‌متر استفاده شد. از ۲− متیل ان بوتیریک اسید به‌عنوان استاندارد داخلی برای تعیین مقدار کمی اسیدهای چرب فرّار استفاده شد. سوپرناتانت به داخل دستگاه گازکروماتوگرافی تزریق شد و غلظت اسیدهای چرب براساس میزان جریان گازهای نیتروژن، هیدروژن و هوا به‌ترتیب ۳۰، ۳۰ و ۳۲۰ میلی‌لیتر در دقیقه محاسبه شد. دمای اون تزریق، ستون و دتکتور به‌ترتیب ۲۷۰، ۱۷۲ و ۲۷۰ درجه سانتی‌گراد بود. پس از تزریق نمونه به دستگاه کروماتوگرافی گازی، منحنی رسم شده و زمان بازداری مربوط به هر اسید چرب با منحنی مربوط به اسید چرب استاندارد و زمان بازداری آن مقایسه گردید. به این ترتیب نوع و میزان اسیدهای چرب موجود در نمونه مورد آزمایش مشخص شد (Stewart & Duncan, 1985).

به‌منظور اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های هضمی شامل کربوکسی متیل سلولاز، میکروکریستالین سلولاز، فعالیت تجزیه کاغذ صافی و آلفاآمیلاز، در روز ۲۵ از هر دوره از محتویات جامد و مایع رکتوم دو ساعت پس از خوراک‌دهی وعده صبح از اسب‌ها جمع‌آوری شد. استخراج آنزیم‌ها با استفاده از تتراکلرید کربن، سونیکاسیون و آنزیم لیزوزیم صورت گرفت. برای تخمین فعالیت کربوکسی متیل سلولاز، مخلوط واکنش شامل یک میلی‌لیتر بافر فسفات ۰/۱ مولار، نیم میلی‌لیتر منبع آنزیمی و نیم میلی‌لیتر کربوکسی متیل سلولز یک درصد به‌عنوان سوبسترا بود که در دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد به‌مدت یک ساعت انکوبه شد. مخلوط واکنش برای آنزیم میکروکریستالین سلولاز که شامل یک میلی‌لیتر بافر فسفات ۰/۱ مولار، یک میلی‌لیتر منبع آنزیمی و یک میلی‌لیتر میکروکریستالین سلولز یک درصد به‌عنوان سوبسترا بود در دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد به‌مدت یک ساعت مورد انکوباسیون قرار گرفت. به‌منظور محاسبه فعالیت تجزیه کاغذ صافی مخلوط واکنش شامل یک میلی‌لیتر بافر فسفات میلی‌لیتر منبع آنزیمی و ۰/۵ گرم کاغذ صافی واتمن شماره یک به‌عنوان سوبسترا، در دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد به‌مدت یک ساعت نگهداری انجام شد. جهت اندازه‌گیری فعالیت آلفاآمیلاز، مخلوط واکنش محتوی یک میلی‌لیتر بافر فسفات ۰/۵ میلی‌لیتر منبع آنزیمی و ۰/۵ میلی‌لیتر محلول نشاسته یک درصد به‌عنوان سوبسترا در دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۳۰ دقیقه انکوبه شد. در همه آزمون‌های مذکور، واکنش با افزودن سه میلی‌لیتر محلول دی نیتروسالیسیلیک اسید متوقف شد. گلوکز آزادشده در اثر فعالیت هر یک از آنزیم‌های موردآزمون براساس روش میلر تخمین زده شد (Moore & Dehority, 1993). فعالیت آنزیم‌ها براساس یک واحد آنزیم که توانایی تولید یک میکرومول گلوکز در دقیقه در هر میلی‌لیتر سوبسترا را تحت شرایط مخلوط واکنش داشته باشد، محاسبه شد.

داده‌ها به روش کراس اوور با استفاده از رویه مختلط نرم‌افزار آماری SAS (نسخه۹/۱) برای مدل (۴) تجزیه و میانگین‌ها با استفاده از آزمون مقایسه چندگانه توکی در سطح معنی‌داری پنج درصد مقایسه شدند.

رابطه ۴) $Y_{ijk} = \mu + SEQ + Pk + T_i + Animal + e_{ijk}$

که در این رابطه، Y_{ijk} مشاهده، μ، میانگین کل؛ SEQ، ترتیب قرارگرفتن اسب‌ها در تیمار؛ Pk، دوره آزمایش؛ T_i، اثر تیمار مدت زمان دسترسی به علوفه در روز و Animal، به‌عنوان اثر تصادفی حیوان و e_{ijk}، خطای آزمایش است.

۴. یافته‌های پژوهش و بحث

نتایج استفاده از توری محدودکننده بر مدت زمان مصرف خوراک و نرخ مصرف خوراک به‌صورت گرم در دقیقه در جدول (۲) نشان داده شده است. در آزمایش حاضر، در حالی‌که میانگین میزان علوفه مصرفی (کیلوگرم در روز)، میزان کنسانتره مصرفی (کیلوگرم در روز) و کل خوراک مصرفی (کیلوگرم در روز) توسط هر دو گروه اسب‌ها یکسان بود (۹/۶ کیلوگرم در روز)؛ مدت زمان مصرف خوراک در اسب‌هایی که از توری استفاده کردند به‌طور قابل‌توجهی افزایش یافت. توری کندکننده مصرف علوفه منجر به افزایش مدت زمان مصرف خوراک (حدوداً دو برابر زمان بیش‌تر نسبت به تیمار بدون توری) در اسب‌ها شد. مدت زمان مصرف خوراک در اسب‌هایی که علوفه را با توری دریافت کردند ۶۵۹ دقیقه در روز یعنی حدود ۱۱ ساعت در روز بود که بیش‌تر از ۲۵۷ دقیقه (چهار ساعت در روز) بود (P<۰/۰۵). افزایش مدت زمان دسترسی به علوفه در اسب‌هایی که از توری استفاده کردند سبب محدودشدن نرخ مصرف علوفه در آن‌ها شد. اسب‌ها در زمانی که به‌صورت آزاد (بدون توری) تغذیه شدند، ۱۵۹۲ گرم در ساعت خوراک مصرف کردند که بیش‌تر (P<۰/۰۵) از اسب‌های محدودشده با توری (۶۱۰ گرم در ساعت) بود.

جدول ۲. اثر استفاده از توری محدودکننده بر مدت زمان، میزان مصرف خوراک و نرخ مصرف علوفه در اسب‌های بالغ عربی

	بدون توری	با توری	میانگین خطای استاندارد	سطح معنی‌داری	
				تیمار	ترتیب اسب در تیمار
زمان مصرف خوراک (دقیقه در روز)	۲۵۷[a]	۶۵۹[b]	۱۴/۱	<۰/۰۰۱	۰/۲۵
میزان علوفه مصرفی (کیلوگرم در روز)	۶/۷۵	۶/۷۰	۰/۳۲	۰/۹۳	۱/۰
میزان کنسانتره مصرفی (کیلوگرم در روز)	۲/۸۴	۲/۹۰	۰/۱۴	۰/۸۰	۰/۹۰
کل خوراک مصرفی (کیلوگرم در روز)	۹/۵۹	۹/۶۱	۰/۴۳	۰/۹۸	۰/۹۵
نرخ مصرف علوفه (گرم در ساعت)	۱۵۹۲[a]	۶۱۰[b]	۵۸/۲	<۰/۰۰۱	۰/۱۰

a-b: تفاوت اعداد در هر ردیف با حروف نامشابه، معنی‌دار است (P<۰/۰۵).

مشابه با نتایج مطالعه حاضر، استفاده از توری کندکننده در تغذیه اسب‌ها سبب افزایش مدت زمان مصرف خوراک در اسب‌ها شده است (Glunk *et al*., 2014). افزایش زمان مصرف علوفه و کاهش هم‌زمان نرخ مصرف علوفه برای بسیاری از اسب‌های بالغ منجر به افزایش سرعت عبور مواد غذایی از طریق دستگاه گوارش شده است (Siciliano & Schmitt, 2012). هم‌چنین افزایش زمان مصرف خوراک توسط کندکننده تغذیه سبب کاهش بروز و شدت برخی از اختلالات رفتاری، از جمله گازگرفتن و مکیدن هوا شده است (Glunk *et al*., 2014). این نتایج نشان می‌دهد که توری‌های کندکننده خوراک به‌طور مؤثری می‌تواند باعث طولانی‌ترشدن مدت زمان مصرف خوراک و تدریجی نمودن مصرف علوفه جیره گردد که با تغذیه اسب در شرایط طبیعی، مطابقت بیش‌تری دارد. این نتایج تأیید می‌کند که استفاده از توری به‌طور مؤثری می‌تواند سرعت مصرف را کاهش دهد و مصرف آسان علوفه را برای اسب دشوارتر کند. تغذیه آهسته، به اسب اجازه می‌دهد تا به‌جای لقمه‌های بزرگ، علوفه را به‌صورت تدریجی مصرف کند، از این‌رو تمرکز بیش‌تری روی خوراک خود داشته و زمانی را که اسب با معده خالی می‌گذراند، به حداقل برساند. تداوم عرضه علوفه سبب شباهت بیش‌تر رفتار تغذیه‌ای اسب‌ها با حالت چرای آزاد می‌شود. علاوه بر این استفاده از توری از پراکنده‌شدن خوراک توسط اسب‌ها جلوگیری می‌کند، احتمال آلودگی علوفه با مدفوع و ادرار را کاهش می‌دهد و در نتیجه میزان ضایعات علوفه را کاهش می‌دهد. نتایج مطالعه حاضر این فرضیه را تأیید می‌کند که استفاده از توری خوراک برای مدیریت تغذیه اسب‌های نگهداری شده در اصطبل می‌تواند دسترسی اسب به علوفه را محدود کند و منجر به افزایش زمان مصرف علوفه و کاهش سرعت دریافت خوراک گردد.

نتایج تأثیر استفاده از توری محدودکننده مصرف علوفه بر قابلیت هضم ماده خشک و مواد مغذی خوراک اسب‌های عربی در جدول (۳) آمده است. به‌طور کلی نتایج نشان داد که استفاده از توری‌های محدودکننده مصرف علوفه تأثیر معنی‌داری بر قابلیت هضم ماده خشک و مواد مغذی نداشت تنها در مورد قابلیت هضم پروتئین خام، اسب‌های استفاده‌کننده از توری در مقایسه با اسب‌های بدون توری تمایل به معنی‌داری (P=۰/۰۶) نشان دادند.

جدول ۳. اثر استفاده از توری محدودکننده مصرف علوفه بر قابلیت هضم ظاهری مواد مغذی در اسب‌های بالغ عربی

قابلیت هضم (درصد)	بدون توری	با توری	میانگین خطای استاندارد	سطح معنی‌داری	
				تیمار	ترتیب اسب در تیمار
ماده خشک	۵۱/۲	۵۵/۰	۲/۳۰	۰/۲۵	۰/۱۰
ماده آلی	۴۳/۵	۴۶/۶	۲/۷۸	۰/۴۴	۰/۲۵
پروتئین خام	۵۲/۳	۵۸/۵	۲/۰۷	۰/۰۶	۰/۲۳
الیاف نامحلول در شوینده خنثی	۲۶/۶	۳۳/۹	۳/۱۸	۰/۱۲	۰/۹۰
الیاف نامحلول در شوینده اسیدی	۲۰/۳	۲۲/۶	۳/۴۸	۰/۶۵	۰/۸۷

a-b: تفاوت اعداد در هر ردیف با حروف نامشابه، معنی‌دار است (P<۰/۰۵).

مشابه با مطالعه حاضر، افزایش تعداد دفعات خوراک‌دهی تأثیری بر قابلیت هضم مواد مغذی در اسب‌ها نداشت (Jansson *et al*., 2006). در مقابل دریکوندی و همکاران (۲۰۱۶) گزارش کردند که افزایش تعداد دفعات خوراک‌دهی منجر به افزایش قابلیت هضم مواد مغذی به‌ویژه بخش فیبر در اسب‌های ترکمن شد..

در پژوهش حاضر با توجه به افزایش زمان مصرف خوراک توسط توری‌های محدودکننده مصرف علوفه این انتظار وجود داشت که با کاهش نرخ مصرف علوفه و افزایش مدت زمان جویدن بخش علوفه جیره، قابلیت هضم مواد بهبود یابد. افزایش زمان جستجوی علوفه که همراه با کاهش مقدار خوراک وارد شده به دستگاه گوارش در واحد زمان است می‌تواند قابلیت هضم مواد غذایی در دستگاه گوارش اسب را افزایش دهد (Siciliano & Schmitt, 2012). در حالت چرای آزاد، دسترسی یکنواخت به خوراک در طول روز با تولید مداوم بزاق در اسب همراه است، در مقابل اگر فاصله دوره‌های تغذیه زیاد باشد بزاق کم‌تری تولید می‌شود (Morgan *et al*., 2016). از این منظر، کندکردن دسترسی اسب به خوراک بایستی سبب افزایش نسبی تولید بزاق گردد. به‌عبارت دیگر، زمانی‌که نرخ مصرف علوفه در هر وعده غذایی توسط موانع تغذیه‌ای مانند توری محدود می‌شود این انتظار وجود دارد که کارایی دستگاه گوارش بهبود یابد، چون مواد به‌تدریج به روده بزرگ می‌رسند و جمعیت باکتریایی فرصت بیش‌تری برای تخمیر مواد دارند (Jansson *et al*., 2006). در مقابل، کاهش نرخ مصرف علوفه می‌تواند سبب کاهش قابلیت هضم در دستگاه گوارش اسب گردد، زیرا هرچه توده خوراکی کوچک‌تر باشد با سرعت بیش‌تری در روده کوچک حرکت می‌کند و زمان کم‌تری برای عمل آنزیم‌های روده کوچک وجود دارد (Frape, 2004). با این‌حال، در آزمایش حاضر استفاده از توری هیچ تأثیر منفی بر قابلیت هضم مواد خوراکی نداشت و حتی در مورد قابلیت هضم پروتئین خام یک اثر افزایشی خفیفی نشان داد.

غلظت اسیدهای چرب فرّار نمونه‌های مدفوع اسب‌ها در جدول (۴) نشان داده شده است. به‌طور کلی مقدار کل اسیدهای چرب فرّار، غلظت اسیدهای چرب فرّار به تفکیک تحت تأثیر استفاده از توری محدودکننده مصرف علوفه قرار نگرفت. اعداد به‌دست‌آمده در مطالعه حاضر با دامنه غلظت‌های اسیدهای چرب فرّار گزارش شده برای اسب‌های عربی مشابهت داشت (Kiani *et al*., 2018).

جدول ٤. اثر استفاده از توری محدودکننده مصرف علوفه بر غلظت اسیدهای چرب فرّار روده بزرگ اسب‌های بالغ عربی

اسیدهای چرب فرّار	بدون توری	با توری	میانگین خطای استاندارد	سطح معنی‌داری	
				تیمار	ترتیب اسب در تیمار
کل اسیدهای چرب فرّار (میلی‌مول در لیتر)	۱۱۳	۱۱۱	۶/۵۹	۰/۸۷	۰/۱۰
اسید استیک (میلی‌مول در لیتر)	۵۲/۷	۵۵/۶	۸/۰۲	۰/۸۱	۰/۳۴
اسید پروپیونیک(میلی‌مول در لیتر)	۳۳/۱	۳۴/۴	۳/۰۸	۰/۷۶	۰/۲۴
اسید بوتیریک(میلی‌مول در لیتر)	۱۹/۴	۱۴/۶	۳/۹۰	۰/۳۹	۰/۹۸
اسید والریک(میلی‌مول در لیتر)	۴/۵۷	۳/۵۵	۰/۴۰	۰/۰۹	۰/۴۲
اسید ایزووالریک(میلی‌مول در لیتر)	۳/۰۹	۳/۳۰	۰/۲۲	۰/۵۲	۰/۱۵
نسبت اسید استیک به اسید پروپیونیک	۱/۷۲	۱/۷۹	۰/۳۵	۰/۸۹	۰/۸۶
اسید استیک (درصد)	۴۶/۲	۴۹/۵	۵/۱۱	۰/۶۵	۰/۷۷
اسید پروپیونیک (درصد)	۲۹/۳	۳۱/۱	۲/۴۳	۰/۵۹	۰/۸۶
اسید بوتیریک (درصد)	۱۷/۵	۱۳/۱	۳/۲۳	۰/۳۵	۰/۶۵
اسید والریک (درصد)	۴/۱۸	۳/۱۹	۰/۳۶	۰/۰۸	۰/۹۲
اسید ایزووالریک (درصد)	۲/۸۷	۳/۰۱	۰/۲۷	۰/۷۱	۰/۰۹

a-b: تفاوت اعداد در هر ردیف با حروف نامشابه، معنی‌دار است ($p<۰/۰۵$).

اسید استیک، اسید پروپیونیک و اسید بوتیریک به‌ترتیب با بیش‌ترین درصد، سه اسید چرب فرّار عمده هستند که در اثر تخمیر باکتریایی در دستگاه گوارش اسب تولید می‌شوند. سایر اسیدهای چرب فرّار (ایزوبوتیرات، والرات و ایزووالرات) بین سه الی شش درصد کل اسیدهای چرب فرّار در روده بزرگ اسب را تشکیل می‌دهند (Merritt & Julliand, 2013).

هر چه مقدار فیبر جیره بالاتر باشد، نسبت اسید استیک افزایش می‌یابد و برعکس هرچه محتوی نشاسته جیره بالا باشد، تولید و نسبت اسید پروپیونیک افزایش می‌یابد (Sadet *et al*., 2017). افزایش مقدار غلات در جیره اسب باعث افزایش تولید پروپیونات نسبت به استات شده است (De Fombelle *et al*., 2001). در مطالعه حاضر، جیره همه اسب‌ها یکسان بود و ۷۰ درصد جیره را علوفه تشکیل داد، لذا هرگونه اختلاف در فرآورده‌های تخمیر مرتبط با نرخ مصرف علوفه است. ازآنجاکه استفاده از توری محدودکننده مصرف علوفه سبب افزایش زمان مصرف و کاهش نرخ مصرف علوفه در واحد زمان شد، انتظار این بود که این تدریجی‌شدن مصرف علوفه در اسب‌های گروه توری، سبب افزایش غلظت اسیدهای چرب فرّار شود، با این وجود استفاده از توری خوراک تأثیر قابل‌توجهی بر تولید اسیدهای چرب فرّار در روده بزرگ اسب‌های عربی نداشت.

نتایج مربوط به جمعیت باکتری‌های بی هوازی و باکتری‌های سلولولیتیک در جدول (۵) آمده است. بالاترین جمعیت باکتری‌ها در مدفوع اسب‌های بالغ عربی به‌ترتیب باکتری‌های آمیلولیتیک، اشریشیاکلای، کلی‌فرم‌ها، لاکتوباسیلوس‌ها و باکتری‌های سلولولیتیک بود. استفاده از توری خوراک برای افزایش مدت زمان دسترسی به علوفه تأثیری بر جمعیت باکتری‌های سلولولیتیک، آمیلولیتیک، اشریشای کلی، کلی‌فرم‌های بی‌هوازی و باکتری‌های سلولولیتیک نداشت، با این وجود یک تمایل به افزایش و معنی‌داری در جمعیت لاکتوباسیلوس‌ها در مدفوع اسب‌هایی که از توری استفاده کردند مشاهده شد.

جدول ۵. اثر استفاده از توری محدودکننده علوفه بر جمعیت کل باکتری‌های بی‌هوازی و باکتری‌های سلولولیتیک مدفوع اسب-های بالغ عربی

باکتری (گرم نمونه مدفوع/ واحد تشکیل‌دهنده کلنی)	بدون توری	با توری	میانگین خطای استاندارد	سطح معنی‌داری	
				تیمار	ترتیب اسب در تیمار
لاکتوباسیلوس‌ها	$۰/۸۶ \times ۱۰^{۸}$	$۱/۴۰ \times ۱۰^{۸}$	۰/۲۰	۰/۰۸	۰/۰۲
سلولولیتیک‌ها	$۰/۶۳ \times ۱۰^{۸}$	$۰/۶۸ \times ۱۰^{۸}$	۰/۱۱	۰/۷۷	۰/۳۳
آمیلولیتیک‌ها	$۱/۶۹ \times ۱۰^{۸}$	$۱/۶۷ \times ۱۰^{۸}$	۰/۳۰	۰/۹۷	۰/۳۵
اشریشیاکلای	$۱/۳۰ \times ۱۰^{۸}$	$۱/۶۱ \times ۱۰^{۸}$	۰/۲۴	۰/۳۹	۰/۶۹
کلی فرم‌ها	$۰/۹ \times ۱۰^{۸}$	$۰/۹۹ \times ۱۰^{۸}$	۰/۱۵	۰/۶۸	۰/۴۰

a-b: تفاوت اعداد در هر ردیف با حروف نامشابه، معنی‌دار است ($P<۰/۰۵$).

اگرچه بیش‌تر تجزیه باکتریایی مواد فیبری در انتهای دستگاه گوارش اسب اتفاق می‌افتد، مکانیسم‌های دخیل در هضم مواد سلولزی شباهت‌های زیادی به هضم در شکمبه نشخوارکنندگان دارد. در اسب‌ها، همانند نشخوارکنندگان، کارایی هضم میکروبی خوراک سلولزی تا حد زیادی به رژیم غذایی و ترکیبات جیره بستگی دارد. برای مثال، جمعیت باکتریایی آمیلولیتیک‌ها و فعالیت‌های آنزیمی آلفا–آمیلاز بسته به منشأ گیاه‌شناسی، میزان فرآوری غلات و یا مقدار نشاسته مصرفی تغییر می‌کند (Jouany *et al*., 2009). علاوه بر ترکیب رژیم خوراکی، مدیریت تغذیه مانند اندازه و دفعات وعده‌های خوراک نیز بر ترکیب جمعیت میکروبی روده بزرگ تأثیر می‌گذارد. معمولاً ترکیب جمعیت میکروبی روده بزرگ به سرعت تحت تأثیر تغییرات ناگهانی خوراک، به‌ویژه ادغام ناگهانی یک کنسانتره غنی از نشاسته در یک رژیم خوراکی

با فیبر بالا قرار می‌گیرد (Julliand & Grimm, 2017). در آزمایشی اسب‌هایی که با سه وعده خوراک کوچک تغذیه شدند، در مقایسه با اسب‌هایی که یک وعده خوراک بزرگ در روز دریافت می‌کردند دارای میکروبیوتای سکوم متفاوتی بودند، با افزایش تعداد دفعات تغذیه اسب، چندین گونه مرتبط، از جمله استرپتوکوک و لاکتوباسیلوس، تحت تأثیر این تغییر در مدیریت تغذیه قرار گرفتند (Venable *et al*., 2017). داده‌های آزمایش حاضر نشان داد گونه لاکتوباسیلوس، تحت تأثیر تغییر در مدیریت تغذیه یعنی استفاده از توری خوراک برای افزایش میزان زمان دسترسی به علوفه افزایش یافت. از طرفی مشخص شده که لاکتوباسیلوس‌ها به‌عنوان پروبیوتیک در تغذیه شناخته می‌شوند، لذا افزایش غلظت لاکتوباسیلوس‌ها می‌تواند به‌عنوان یک اثر مثبت برای استفاده از توری خوراک در مدیریت تغذیه اسب تلقی شود. البته برای تأیید اثرات مثبت توری و تدریجی‌نمودن مصرف علوفه بر جمعیت لاکتوباسیلوس‌ها در روده بزرگ اسب پژوهش‌های تکمیلی لازم است.

فعالیت آنزیم‌های باکتریایی روده بزرگ اسب‌های مورد مطالعه حاضر در جدول (۶) ارائه شده است. نتایج نشان داد که فعالیت آنزیم کربوکسی متیل سلولاز به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر استفاده از توری افزایش یافت (P<۰/۰۵). در مطالعه حاضر بخش فیبری جیره با استفاده از توری به‌صورت تدریجی در اختیار اسب‌ها قرار گرفت، لذا افزایش غلظت آنزیم کربوکسی متیل سلولاز که آنزیم تجزیه‌کننده فیبر است ممکن است به‌دلیل دسترسی بیش‌تر به سوبسترای این آنزیم باشد.

جدول ٦. اثر استفاده از توری محدودکننده مصرف علوفه بر بر فعالیت آنزیم‌های میکروبی مدفوع اسب‌های بالغ عربی

آنزیم‌های میکروبی (واحد در دقیقه در میلی‌لیتر)	بدون توری	با توری	میانگین خطای استاندارد	سطح معنی‌داری	
				تیمار	ترتیب اسب در تیمار
کربوکسی متیل سلولاز	۲۶۹	۳۱۵	۹/۶۳	۰/۰۰۷	۰/۰۴
میکرو کریستالین سلولاز	۴۸۹	۵۹۴	۳۴/۱	۰/۱۳	۰/۱۹
فعالیت تجزیه کاغذ صافی	۴۱۱	۴۲۲	۲۶/۲	۰/۷۵	۰/۰۴
آلفا آمیلاز	۳۰۱	۳۱۸	۱۳/۰	۰/۵۱	۰/۱۴

a-b: تفاوت اعداد در هر ردیف با حروف نامشابه، معنی‌دار است (P<۰/۰۵).

در جیره‌های حاوی علوفه زیاد، میزان فعالیت کربوکسی متیل سلولاز و زایلاناز افزایش می‌یابد. تداوم دسترسی به علوفه و تدریجی‌شدن مصرف علوفه در اسب‌هایی که از توری استفاده کردند می‌تواند دلیلی بر افرایش فعالیت کربوکسی متیل سلولاز باشد. در آزمایش حاضر اسب‌هایی که از توری‌های کندکننده مصرف علوفه استفاده کردند، مدت زمان بیش‌تری برای دسترسی به فیبر داشتند. با طولانی‌شدن مدت زمان مصرف فیبر، دستگاه گوارش اسب مدت زمان بیش‌تری برای هضم و ترشح آنزیم‌های باکتریایی بالاخص آنزیم‌های فیبرولیتیک در اختیار دارد. در حالت ایده‌آل باید بخش فیبری خوراک در روده بزرگ اسب برای مدت کافی باقی بماند تا فرآیند گوارش به‌صورت مؤثر رخ دهد. بنابراین، هضم و جذب کربوهیدرات‌های باقیمانده به عملکرد باکتریایی و جذب محصولات نهایی تخمیر میکروبی بستگی دارد (Pagan & Harris, 1999). زمان ماندگاری طولانی‌تر خوراک در دستگاه گوارش در اکثر آزمایش‌ها با افزایش قابلیت هضم، افزایش فعالیت میکروبی و افزایش حرکات روده مرتبط است (VanWeyenberg *et al*., 2006).

یکی دیگر از آنزیم‌های موردبررسی در این پژوهش آلفا آمیلاز است که تحت تأثیر استفاده از توری کندکننده مصرف علوفه قرار نگرفت. آنزیم آمیلاز دارای کم‌ترین غلظت در بین آنزیم‌های اندازه‌گیری‌شده در آزمایش حاضر بود. نشاسته در روده بزرگ اسب‌ها توسط باکتری‌های آمیلولیتیک به اسید لاکتیک تبدیل می‌شود (Marchette, 1999) که سپس توسط

باکتری‌های استفاده‌کننده از اسید لاکتیک به پروپیونات متابولیزه می‌شود. کم‌تر بودن فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز نسبت به سایر آنزیم‌ها در مطالعه حاضر می‌تواند نشانه‌ای از کم‌بودن مقدار نشاسته ورودی به روده بزرگ باشد. این موضوع می‌تواند به‌دلیل سطح پایین نشاسته در جیره و یا به‌خاطر راندمان بالای هضم نشاسته در روده کوچک اسب‌ها باشد. مطالعات نشان داده است که مقدار نشاسته‌ای که از هضم در روده کوچک فرّار می‌کند و به روده بزرگ می‌رسد، احتمالاً حتی برای رژیم غذایی حاوی نشاسته زیاد هم، کم است (Marchette, 1999).

۵. نتیجه‌گیری و پیشنهاد

براساس نتایج این پژوهش، استفاده از توری‌های محدودکننده مصرف علوفه با وجود تأثیر مثبت بر مدت زمان مصرف خوراک و نرخ مصرف علوفه در اسب، تأثیر چندانی بر قابلیت هضم ظاهری مواد مغذی، ترکیب جمعیتی میکروفلورای روده بزرگ و فعالیت آنزیم‌های هیدرولیتیکی در روده بزرگ اسب‌ها ندارد. انجام پژوهش‌های تکمیلی در این خصوص توصیه می‌شود.

۶. تشکر و قدردانی

از همکاری کارکنان محترم باشگاه سوارکاری یکه تاز خرم‌آباد و حمایت دانشکده کشاورزی دانشگاه لرستان برای انجام این پژوهش، تشکر و قدردانی می‌گردد.

۷. تعارض منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان وجود ندارد.

۸. منابع

An, J., Shen, W., Liu, H., Yang, C., Chen, K., Yuan, Q., & Wan, F. (2023). Comparison of the effects of rumen-protected and unprotected L-leucine on fermentation parameters, bacterial composition, and amino acids metabolism in in vitro rumen batch cultures. *Frontiers in Microbiology*, 14. https:// doi: 10.3389/fmicb.2023.1282767.

De Fombelle, A., Julliand, V., Drogoul, C., & Jacotot, E. (2001). Feeding and microbial disorders in horses:1-efects of an abrupt incorporation of two levels of barley in a hay diet on microbial profile and activities. *Journal. Equine Veterinary Science*, 21, 439-445. https://doi.org/10.1016/S0737-0806(01)70018-4.

Direkvandi, E., Rouzbehan, Y., & Fazaeli, H. (2016). Effects of Feeding Frequency on Nutrient Digestibility and Feeding Behavior in the Turkmen Horse. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 18(4), 937-948.

Duvnjak, M., Bosnjak, A., Zadravec, M., Pintar, J., Grbesa, D., & Kis, G. (2018). Starch in horse diet improves feces microbiota, in vitro digestibility of fiber and dry matter. *Journal of Central European Agriculture*, 19(4), 918-9. https://doi.org/10.5513/JCEA01/19.4.2114.

Frape, D. (2004). Equine Nutrition and Feeding. *Blackwell Sciences Ltd*: London.

Glunk, E. C., Hathaway, M. R., Weber, W. J., Sheaffer, C. C., & Martinson, K. L. (2014). The effect of hay net design on rate of forage consumption when feeding adult horses. *Journal of Equine Veterinary Science*, 34(8), 986-991. http://doi: 10.1016/j.jevs.2014.05.006.

Harris, P. A., Ellis, A. D., Fradinho, M. J., Jansson, A., Julliand, V., Luthersson, N., & Santos, A. S. (2017). Vervuert Review: Feeding conserved forage to horses: *Recent advances and recommendations. Animal*, 11, 958-967. http://doi: 10.1017/S1751731116002469.

Jansson, A., Sandin, A., & Lindberg, J. E. (2006). Digestive and metabolic effects of altering feeding frequency in athletic horses. *Equine and Comparative Exercise Physiology*, 3(2), 83-91. https://doi.org/10.1079/ECP200683.

Jouany, J. P., Medina, B., Bertin, G., & Julliand, V. (2009). Effect of live yeast culture supplementation on hindgut microbial communities and their polysaccharides and glycoside hydrolase activities in horses fed a high-fiber or high-starch diet. *Journal of Animal Science*, 87: 2844–2852. https://doi.org/10.2527/jas.2008-1602.

Julliand, V., & Grimm, P. (2017). The Impact of diet on the hindgut microbiome. *Journal Equine Science*, 52, 23-28. https://doi.org/10.1016/j.jevs.2017.03.002.

Kiani, A., Hoseini, F., Ghorbaninejad, P., Azarfar, A., Kreuzer, M., & Aziz, A. (2018). Interaction between the sequence of feeding of hay and concentrate, and boiling of barley on feed intake, the activity of hydrolytic enzymes and fermentation in the hindgut of Arabian mares. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 102(3), 810-817. https://doi: 10.1111/jpn.12872.

Lundqvist, H., & Muller, C. E. (2022). Feeding time in horses provided roughage in different combinations of haynets and on the stable floor. *Applied Animal Behaviour Science*, 253, 105685. https://doi.org/10.1016/j.applanim.2022.105685.

Marchette, L. D. (1999). Equine nutrition: needs and feeds. *Texas Tech University*, Texas, USA.

Merritt, A. M., & Julliand, V. (2013). Gastrointestinal physiology. In: Elsevier Ltd.: Amsterdam, The Netherlands. Equine Applied and Clinical Nutrition, E-Book, Health, Welfare and Performance. WB, Saunders: Pp. 3-32. DOI:10.1016/B978-0-7020-3422.

Moore, B. E., & Dehority, B. A. (1993). Effects of diet and hindgut defaunation on diet digestibility and microbial concentrations in the cecum and colon of the horse. *Journal of Animal Science*, 71: 3350-3358. DOI: 10.2527/1993.71123350x.

Morgan, K., Kjellberg, L., Budde, L. K., Kjell, E., & Ryman, M. (2016). Pilot study on work load management and feed intake time when feeding horses with small mesh hay nets. *Livestock Science*, 186, 63-68. DOI: 10.1016/j.livsci.2015.06.005.

NRC. (2007). Nutrient Requirements of Horses. 6th Revised Edition, National Research Council of the National Academies, Washington, DC, USA, PP. 224-226.

Pagan, J. D., & Harris, P. A. (1999). The effects of timing and amount of forage and grain on exercise response in Thoroughbred horses, *Equine Veterinary Journal*, Suppl, 30, 451-457. DOI:10.1111/j.2042-3306.1999.tb05264.x

Sadet-Bourgeteau, S., Philippeau, C., & Julliand, V. (2017). Effect of concentrate feeding sequence on equine hindgut fermentation parameters. Animal, 11, 1146-52. https://doi.org/10.1017/S1751731116002603.

Sarrafchi, A., & Blokhuis, H. (2013). Review: Equine stereotypic behaviors: Causation, occurrence, and prevention. *Journal of Veterinary Behavior*, 1-9. http://dx.doi.org/10.1016/j.jveb.2013.04.068.

Siciliano, P. D., & Schmitt, S. (2012). Effect of restricted grazing on hindgut pH and fluid balance. *Journal Equine Veterinary Science*, 32, 558-61. https://doi.org/10.1016/j.jevs.2012.01.004.

Stewart, C. S., & Duncan, S. H. (1985). The effect of avoparcin on cellulolytic bacteria of the ovine rumen. *Journal of General Microbiology*, 131, 427-435. https://doi.org/10.1099/00221287-131-3-427.

VanWeyenberg, S., Sales, J., & Janssens, G. P. J. (2006). Passage rate of digesta through the equine gastrointestinal tract: A review. *Livestock science*, 99(1), 3-12. https://doi.org/10.1016/j.livprodsci.2005.04.008.

Venable, E. B., Fenton, K. A., Braner, V. M., Reddington, C. E., Halpin, M. J., Heitz, S. A., & Swanson, K. S. (2017). Effects of feeding management on the equine cecal microbiota. *Journal of Equine Veterinary Science*, 49, 113-121. https://doi.org/10.1016/j.jevs.2016.09.010.