مجله تحقیقات دامپزشکی، ۱۳۹۰، دوره ۶۶، شماره ۱، ۵۳-۴۷

تأثیر مخمر ساکارومایسس سرویسیه و باکتری های تولید کننده اسید لاکتیک بر قابلیت هضم و فراسنجه های شکمبه و خون گوسفند

حمیدرضا خزانه‌ای کامران رضا یزدی * علی نیکخواه

گروه علوم دامی دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج - ایران.

(دریافت مقاله: ۳۱ تیر ۱۳۸۸ ، پذیرش نهایی: ۲۱ شهریور ۱۳۸۹)

چکیده

در دهه‌گذشته پروبیوتیک های متفاوتی در تغذیه نشخوارکنندگان مورد استفاده قرارگرفته اند که برخی ازآنها اثر مثبتی بر تولید حیوان داشته‌اند. در این پژوهش به‌منظور مطالعه تأثیر مخمر ساکارومایسس سرویسیه به همراه لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، لاکتوباسیلوس کازای، اینتروکوکوس فاسیوم و باسیلوس سابتیلیس بر قابلیت هضم، فراسنجه های‌شکمبه و خون، از چهار راس‌گوسفند نر ورامینی فیستوله دار با وزن ۴/۲ ± ۳۴ کیلوگرم استفاده‌گردید. حیوانات با چهار جیره درچهار دوره به روش فاکتوریل (۲×۲) در قالب طرح چرخشی متوازن تغذیه‌شدند. فاکتور اول‌شامل دو منبع علوفه‌ای (یونجه وذرت‌سیلوشده) وفاکتوردوم، دوسطح ازپروبیوتیک (صفرو۵گرم) بود. قابلیت‌هضم جیره‌ها به روش نشانگرداخلی خاکستر نامحلول در اسید اندازه‌گیری‌گردید. در زمان های صفر و ۴ساعت پس از خوراک دهی ازسیاهرگ‌گردنی وداج‌گوسفندان خونگیری به عمل‌آمد ومقدار دی اکسید کربن، pH، لاکتات دهیدروژناز وگلوکز خون‌آنها اندازه‌گیری‌گردید. همچنین مایع‌شکمبه‌گوسفندان در زمان‌های صفر، ۲ وچهارساعت پس از خوراک دهی جمع‌آوری ومقادیر pH، نیتروژن‌آمونیاکی واسیدهای چرب‌فرارآن (استات، پروپیونات، بوتیرات، والرات، ایزووالرات) اندازه‌گیری‌شد. نتایج به دست‌آمده نشان داد که قابلیت‌هضم دیواره‌سلولی بدون همی‌سلولز، دیواره‌سلولی، ماده‌آلی وماده خشک جیره‌ها تفاوت معنی‌داری نداشته وتنها قابلیت هضم پروتئین خام و چربی در جیره حاوی ذرت سیلوشده به ترتیب کمتر و بیشتر از جیره حاوی علوفه یونجه بود. تفاوت معنی‌داری بین مقادیر فراسنجه‌های خون‌گوسفندان تغذیه‌شده با جیره های مختلف مشاهده نشد. کل اسیدهای چرب فرار در حیواناتی که مخلوط میکروبی را دریافت کرده بودند، بیشتر ازآنهایی بود که پروبیوتیک را مصرف نکردند. همچنین غلظت استات وپروپیونات‌شکمبه‌ای‌گوسفندانی که یونجه مصرف کردند، نسبت به‌آنهایی که ذرت‌سیلوشده دریافت کرده بودند، بیشتر بود ($p<0/05$). همچنین‌گوسفندانی که مخلوط میکروبی دریافت کرده بودند، دارای غلظت نیتروژن‌آمونیاکی پائین‌تری بودند. به طور کلی می توان نتیجه‌گرفت که مخلوط میکروبی استفاده‌شده در این پژوهش باعث بهبود تخمیرشکمبه‌ای گوسفندان‌شد، در حالی که تأثیر معنی‌داری در قابلیت هضم و فراسنجه‌های خون‌آنها نداشت.

واژه‌های کلیدی: پروبیوتیک، یونجه، ذرت‌سیلوشده، گوسفند، فراسنجه‌های خون وشکمبه.

مقدمه

در سال‌های اخیر، مواد افزودنی متعددی جهت بهبود شرایط تخمیر در شکمبه و افزایش تولید حیوانات نشخوارکننده مورد استفاده قرار گرفته است. این ترکیبات شامل بازدارنده‌های تولید متان، آنتی بیوتیک‌ها، پروبیوتیک‌ها، عوامل رشد و آنزیم‌ها می‌باشند(۱۵). نگرانی‌های موجود در استفاده از آنتی بیوتیک‌ها و سایر مواد شیمیایی در تغذیه دام باعث شده است که اغلب پژوهشگران به ارزیابی اثر افزودنی‌های دیگر از جمله پروبیوتیک‌ها روی عملکرد حیوانات در دهه اخیر روی آورند. مهمترین ویژگی پروبیوتیک‌ها آن است که ضمن کاهش میکروب‌های بیماریزا در دستگاه گوارش و بهبود ضریب تبدیل غذایی در حیوان، باقی مانده بافتی نداشته و بر خلاف آنتی بیوتیک‌ها مقاومت میکروبی ایجاد نمی‌کند.

Nocek و Kautz در سال ۲۰۰۲ گزارش کردند که افزودن پروبیوتیک حاوی ساکارومیسس سرویسیه و اینتروکوکوس فاسیوم به جیره گاوهای شیرده باعث افزایش قابلیت هضم ماده خشک ذرت سیلو شده و یونجه شد(۱۸). Beauchemin و همکاران در سال ۲۰۰۳ بیان کردند که افزودن باکتری انتروکوکوس فاسیوم (باکتری تولیدکننده اسید لاکتیک) به همراه مخمر ساکارومیسس سرویسیه در جیره گاوهای پرواری باعث بهبود هضم ماده خشک دانه ذرت نسبت به زمانی که انتروکوکوس فاسیوم به تنهایی اضافه شده بود، گردید(۲).

Kumar و Sareen در سال ۱۹۹۴ نتیجه گرفتند که میزان هضم دیواره سلولی و دیواره سلولی بدون همی سلولز، سلولز و همی سلولز در اثر افزودن مخمر به جیره بهبود یافت که می تواند به دلیل افزایش باکتری های سلولولیتیک باشد(۱۳). در مطالعه Beauchemin و همکاران در سال ۲۰۰۳ افزودن اینتروکوکوس فاسیوم همراه با مخمر ساکارومایسس سرویسیه و یا به تنهایی تأثیری در متابولیت‌های خون گوساله‌های پرواری نداشت. Ghorbani و همکاران در سال ۲۰۰۲ دریافتند که افزودن اینتروکوکوس فاسیوم همراه با پروپیونوباکتریوم به جیره گوساله‌های پرواری باعث کاهش غلظت دی اکسید کربن خون آنها شد(۷). افزون بر این، آنها مشاهده نمودند که افزودن اینتروکوکوس فاسیوم همراه با پروپیونوباکتریوم باعث کاهش غلظت لاکتات دهیدروژناز در خون

*)نویسنده مسؤول: تلفن: ۰۲۶۱-۲۲۴۸۰۸۲ نمابر: ۰۲۶۱-۲۲۴۶۷۵۲ Email: rezayazdi@ut.ac.ir

گوساله‌های پرواری گردید و بیان کردند که افزودن باکتری‌های اینتروکوکوس فاسیوم یا پروپیونوباکتریوم یا مخلوط آنها اثری بر گلوکز خون حیوانات پرواری نداشت. Krehbiel و همکاران در سال ۲۰۰۳ پیشنهاد کردند که پروبیوتیک‌ها می‌توانند از طریق کاهش دی اکسید کربن و لاکتات دهیدروژناز خون از اسیدوز متابولیکی جلوگیری کنند(۱۲). Nocek و Kautz در سال ۲۰۰۶ نشان دادند که افزودن مخمر و اینتروکوکوس فاسیوم به جیره گاوها پس از زایش باعث افزایش گلوکز خون حیوانات نسبت به گروه شاهد شد(۱۹). Francisco و همکاران در سال ۲۰۰۲ گزارش کردند که افزودن پروپیونوباکتریا به‌عنوان یک باکتری مصرف کننده اسید لاکتیک و تولید کننده پروپیونات تأثیری بر گلوکز پلاسمای خون دام‌ها نداشت(۶). در اغلب پژوهش‌های انجام گرفته اثر یک میکروارگانیسم تولید کننده بر دام‌های کشور مورد بررسی قرار گرفته است. Nikkhah و همکاران در سال ۲۰۰۴ دریافتند که اثر مخمر ساکارومایسس سرویسیه بر ماده خشک مصرفی، تغییرات وزن بدن و تولید شیر خام گاوهای هلشتاین در مرحله اول شیردهی معنی‌دار نبود(۱۷). ولی درصد چربی، درصد مواد جامد بدون چربی و درصد کل مواد جامد شیر با مصرف مخمر افزایش پیدا کرد. Rezai و همکاران در سال ۲۰۰۸ مشاهده نمودند که مصرف سویه ۴۷ مخمر ساکارومایسس سرویسیه می‌تواند موجب بهبود وضعیت تخمیر و افزایش جمعیت میکروبی در شکمبه گوساله‌های پرواری شود که نتیجه آن بهبود عملکرد پرواری دام‌ها به ویژه در شرایط استفاده از جیره‌های حاوی کنسانتره زیاد می‌باشد(۲۱). لذا با توجه به مطالب ذکر شده، هدف از انجام این تحقیق تعیین اثر یک ترکیب میکروبی شامل میکروارگانیسم‌های تولید کننده اسید لاکتیک و مصرف کننده اسید لاکتیک بر مولفه‌های تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای ماده خشک، ماده آلی، دیواره سلولی و پروتئین خام علوفه یونجه، ذرت سیلوشده، کل خوراک بر پایه یونجه و کل خوراک بر پایه ذرت سیلوشده به‌عنوان علوفه‌های مرسوم در دامداری‌ها و همچنین تعیین اثر این ترکیب میکروبی بر قابلیت هضم، فراسنجه‌های شکمبه‌ای و خون گوسفندان ورامینی بود.

مواد و روش کار

در این تحقیق از چهار رأس گوسفند نراخته شده (توسط پنس بوردیزو) ورامینی با میانگین وزن ۴/۲ ± ۳۴ کیلوگرم استفاده گردید که پس از واکسیناسیون، پشم چینی و سم چینی تحت عمل جراحی فیستولاگذاری توسط دامپزشک و بر اساس روش Preston در سال ۱۹۸۶ قرار گرفتند(۲۰). بعد از عمل جراحی، حیوانات به مدت یک ماه در قفس‌های انفرادی نگهداری و تحت مراقبت قرار گرفتند تا کاملاً خوب شده و آماده انجام آزمایش شوند. جیره‌های غذایی با استفاده از نرم افزار CNCPS گوسفندی در سال ۲۰۰۷ متوازن گردیدند(۱۴). علوفه پایه جیره۱، یونجه و علوفه پایه جیره ۲، ذرت سیلوشده بود که هر کدام از این جیره‌ها همراه با دو سطح پروبیوتیک (صفر و ۵ گرم در روز) به حیوانات داده شدند(جدول ۱). جیره‌های ۱ الی ۴ به ترتیب شامل جیره حاوی علوفه یونجه، جیره حاوی یونجه به همراه پروبیوتیک، جیره حاوی ذرت سیلو شده، جیره حاوی ذرت سیلو شده به همراه پروبیوتیک بودند. علت انتخاب یونجه و ذرت سیلوشده به عنوان علوفه پایه مرسوم بودن استفاده از آنها در دامداری‌های کشور بود. جیره‌های مورد استفاده در این آزمایش با نسبت ۵۰:۵۰ علوفه به کنسانتره و در سطح دو برابر نگهداری تنظیم شده بودند تا حیوانات تمامی آن را مصرف کنند. خوراک مصرفی روزی دو بار در ساعت ۸ صبح و ساعت ۴ بعد از ظهر به صورت کاملاً مخلوط شده در اختیار گوسفندان قرار گرفت و باقیمانده خوراک روزانه آنها ثبت شد. هر گوسفند طی چهار دوره، هر چهار جیره را دریافت کرد. طول هر دوره آزمایشی ۲۴ روز بود که ۱۴ روز آن به دوره عادت دهی، یک هفته آزمایش‌های هضمی، یک روز خونگیری، یک روز استراحت به منظور برطرف شدن تنش خونگیری و روز آخر به نمونه‌گیری از مایع شکمبه اختصاص یافت.

قابلیت هضم ظاهری مواد مغذی خوراک توسط اندازه‌گیری خاکستر نامحلول در اسید (AIA) طبق روش Van Keulen و Young در سال ۱۹۷۷ انجام گرفت(۲۲). اندازه‌گیری ماده خشک، خاکستر، پروتئین خام و چربی خام نمونه‌های مدفوع بر اساس روش‌های AOAC در سال ۱۹۹۵ و مقادیر دیواره سلولی و دیواره سلولی بدون همی سلولز با روش Van soest و همکاران در سال ۱۹۹۱ اندازه گیری شدند(۱،۲۳).

پروبیوتیک مورد استفاده در این پژوهش حاوی پنج نوع میکروارگانیسم شامل ساکارومایسس سرویسیه، لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، لاکتوباسیلوس کازای، اینتروکوکوس فاسیوم، باسیلوس سابتیلیس با واحد تشکیل دهنده کلنی به ترتیب 1×10^{11}، 5×10^{9}، 5×10^{9}، 5×10^{9} و 1×10^{10} با نام تجاری Yeasture ساخت شرکت Cenzone محصول کشور آمریکا بود.

به منظور تعیین فراسنجه‌های خون، در روز ۲۲ هر دوره، صفر و چهار ساعت پس از خوراک دهی بر اساس بررسی منابع به عمل آمده(۲،۶،۷)، خونگیری از سیاهرگ گردنی وداج توسط لوله‌های تحت خلاء حاوی ماده ضد انعقاد هپارین انجام شد. مقدار ۲ سی سی از هر نمونه جدا و به منظور اندازه‌گیری pH و دی اکسید کربن در داخل یخ سریعاً به آزمایشگاه منتقل گردید. سپس باقی نمونه‌ها توسط دستگاه سانتریفیوژ با ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شده و پلاسمای آن توسط میکروپیپت جدا گردید. پلاسمای به دست آمده در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان آنالیز در فریزر نگهداری شد. اندازه‌گیری گلوکز به روش آنزیمی و با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتری در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و طول موج ۵۰۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. میزان لاکتات دهیدروژناز پلاسما با کیت شرکت پارس آزمون و توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و طول موج ۳۴۰ نانومتر اندازه‌گیری شد.

نمونه‌گیری از شکمبه در روز آخر هر دوره (در روز ۲۴ هر دوره) در

جدول ۱ـ مواد خوراکی، انرژی و مواد مغذی تشکیل دهنده جیره های پایه (بر اساس در صد در ماده خشک).

مواد خوراکی	جیره ۱	جیره ۲	انرژی و مواد مغذی	جیره ۱	جیره ۲
یونجه ٪	۳۶/۵۰	۰/۰۰	پروتئین خام (درصد)	۱۱/۴۰	۱۱/۶۰
ذرت سیلوشده ٪	۰/۰۰	۳۶/۵۰	دیواره سلولی (درصد)	۴۱/۸۰	۴۲/۲۰
کاه گندم ٪	۱۵/۰۰	۱۵/۰۰	چربی (درصد)	۲/۳۰	۲/۶۰
جو ٪	۴۵/۷۰	۳۷/۶۰	کلسیم (درصد)	۰/۶۰	۰/۵۰
کنجاله مناداب ٪	۲/۰۰	۹/۵۰	فسفر (درصد)	۰/۳۰	۰/۳۰
مکمل ویتامینه ٪	۰/۰۵	۰/۰۴	انرژی قابل متابولیسم (مگاکالری در کیلوگرم)	۲/۳۴	۲/۳۵
کربنات کلسیم ٪	۰/۰۱	۰/۰۸			
نمک ٪	۰/۰۲	۰/۰۲			

زمان‌های صفر، ۲ و ۴ ساعت بعد از خوراک دهی صبح بر اساس بررسی منابع به‌عمل آمده، انجام گرفت(۲،۶،۷). اندازه‌گیری pH مایع شکمبه بلافاصله پس از گرفتن نمونه و صاف کردن آن با پارچه کتان، تعیین شد(۲). اندازه‌گیری اسیدهای چرب فرار با استفاده از روش Bartely و Ottenstein در سال ۱۹۷۱ برای ساعت‌های صفر و ۴ با استفاده از دستگاه گاز کروماتوگرافی با ستون شیشه‌ای (۱/۶۵ × m ۴/۶ mm) صورت گرفت. نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه با استفاده از تیتراسیون به روش Conway در سال ۱۹۵۰ انجام گرفت(۳).

طرح آماری مورد استفاده در این آزمایش از نوع چرخشی متوازن با چهار جیره، چهار دوره و چهار حیوان بود. برای تجزیه و تحلیل آماری داده‌های قابلیت هضم ظاهری، از نرم افزار SAS در سال ۱۹۹۹ و رویه GLM استفاده شد. مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون حداقل مربعات انجام شد. مدل آماری استفاده شده به صورت زیر بود که Y_{ijk} = متغیر وابسته، μ = میانگین کلی هریک از مشاهدات، T_i = اثر جیره (۱،۲،۳،۴ = i)، b(BW) = اثر کوواریانس مربوط به وزن اولیه، P_j = اثر دوره (۱،۲،۳،۴ = j)، A_k = اثر حیوان (۱،۲،۳،۴ = k)، A_kT_i = اثر متقابل جیره و حیوان و e_{ijk} = اثر تصادفی اشتباه آزمایشی، می‌باشد.

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + P_j + A_k + A_kT_i + b(BW) + e_{ijkl}$$

تجزیه و تحلیل فراسنجه‌های خون و شکمبه که به صورت تکرار شده در زمان بودند، بر اساس طرح اندازه‌گیری‌های مکرر و با رویه Mixed این نرم افزار با استفاده از مدل زیر انجام گرفت که Y_{ijk} = متغیر وابسته، μ = میانگین کلی هریک از مشاهدات، T_j = اثر ثابت جیره (۱،۲،۳،۴ = j)، A_iT_j = اثر تصادفی iامین حیوان درون jامین جیره، P_k = اثر دوره (۱،۲،۳،۴ = k)، t_l = اثر ثابت lامین زمان اندازه گیری، T_jt_l = اثر ثابت بین جیره و زمان، b(BW) = اثر کوواریانس مربوط به وزن اولیه و e_{ijkl} = اثر تصادفی اشتباه آزمایشی، می‌باشد.

$$Y_{ijk} = \mu + T_j + A_iT_j + P_k + t_l + T_jt_l + b(BW) + e_{ijkl}$$

جدول ۲ـ قابلیت هضم ظاهری مواد مغذی خوراک به روش نشانگر داخلی خاکستر نا محلول در اسید. جیره های ۱ الی ۴ به ترتیب شامل جیره حاوی علوفه یونجه، جیره حاوی یونجه به همراه پروبیوتیک، جیره حاوی ذرت سیلو شده، جیره حاوی ذرت سیلو شده به همراه پروبیوتیک بودند. ۱ـ اشتباه معیار میانگین‌ها، a, b: میانگین‌های یک ردیف که حروف انگلیسی مشترک ندارند، در سطح ۰/۰۵ اختلاف معنی دار داشته است.

	جیره				
قابلیت هضم (درصد)	۱	۲	۳	۴	SEM[1]
دیواره سلولی بدون همی سلولز	۴۷/۷۴	۵۰/۲۳	۴۹/۸۵	۵۳/۸۵	۲/۱۶
دیواره سلولی	۵۶/۶۷	۶۰/۸	۶۰/۳۴	۶۶/۱۸	۱/۲۳
ماده آلی	۶۲/۷۱	۶۹/۲۶	۶۵/۳۲	۷۲/۲۶	۱/۲۴
ماده خشک	۶۴/۵۶	۷۲/۲۱	۶۵/۶۵	۷۵/۲۴	۱/۵۳
پروتئین خام	۶۱/۷۸[a]	۶۵/۴۵[a]	۵۰/۳۴[b]	۵۴/۶۱[b]	۱/۰۲
چربی	۵۴/۳۵[b]	۵۵/۸۶[b]	۶۳/۳۱[a]	۶۴/۱۹[a]	۱/۶۹

نتایج

قابلیت هضم ظاهری کل خوراک به روش نشانگر داخلی خاکستر نا محلول در اسید: میانگین قابلیت هضم ماده خشک، ماده آلی، چربی، پروتئین خام، دیواره سلولی (NDF) و دیواره سلولی بدون همی سلولز (ADF) جیره‌ها در جدول ۲ ارائه شده است. تجزیه واریانس داده‌های مربوط به این صفات نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین میانگین آنها در جیره‌های مختلف وجود نداشت. تنها بین جیره‌های حاوی علوفه یونجه و جیره‌های حاوی ذرت سیلوشده برای قابلیت هضم پروتئین خام و چربی تفاوت معنی‌دار مشاهده شد($p<$ ۰/۰۵). میزان قابلیت هضم پروتئین خام در جیره حاوی ذرت سیلوشده کمتر از جیره‌های حاوی علوفه یونجه بود و میزان قابلیت هضم چربی در جیره‌های حاوی ذرت سیلو شده نسبت به جیره‌های حاوی علوفه یونجه بیشتر بود. همچنین بین جیره‌های حاوی پروبیوتیک و بدون پروبیوتیک تفاوت معنی‌دار مشاهده نشد.

فراسنجه‌های خون: میانگین غلظت فراسنجه‌های پلاسمای خون گوسفندان تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی در دو زمان صفر و ۴ ساعت پس از خوراک‌دهی در جدول ۳ گزارش شده است. تجزیه واریانس داده‌های مربوط به این صفات نشان داد که افزودن پروبیوتیک به خوراک در این آزمایش، اثر معنی‌داری بر روی این فراسنجه‌ها نداشت.

فراسنجه‌های شکمبه: میانگین pH مایع شکمبه در زمان‌های صفر، ۲ و ۴ ساعت پس از خوراک دهی وعده صبح در جدول ۴ آمده است. تفاوت

جدول ۳- فراسنجه‌های پلاسمای خون گوسفندان تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی در زمان‌های مختلف. جیره‌های ۱ الی ۴ به ترتیب شامل جیره حاوی علوفه یونجه، جیره حاوی یونجه به همراه پروبیوتیک، جیره حاوی ذرت سیلو شده، جیره حاوی ذرت سیلو شده به همراه پروبیوتیک بودند. ۱ـ اشتباه معیار میانگین زمان صفر، ۲ـ اشتباه معیار میانگین زمان چهار

فراسنجه	جیره۱		جیره۲		جیره۳		جیره۴			
	زمان صفر	زمان ۴	زمان صفر	زمان ۴	زمان صفر	زمان ۴	زمان صفر	زمان ۴	SEM[1]	SEM[2]
دی‌اکسیدکربن meq/lit	۳۹/۵۶	۴۳/۸	۳۸/۷۱	۴۴/۱۵	۳۹/۸۳	۴۴/۲۳	۴۰/۲۶	۴۵/۱۸	۰/۵۵	۰/۲۹
pH	۷/۳۲	۷/۳	۷/۲۵	۷/۲۹	۷/۲۶	۷/۳۲	۷/۲۸	۷/۳۴	۰/۰۲	۰/۰۲
لاکتات دهیدروژناز units/lit	۳۵۴/۹۱	۳۷۸/۴۴	۳۸۶/۵۷	۳۹۵/۲۹	۳۶۹/۶۸	۳۸۱/۱۶	۳۷۱/۵۹	۴۰۱/۳۲	۳۹/۶۷	۳۹/۶
گلوکز mg/dlit	۷۳/۵۹	۸۱/۴۱	۷۴/۱۶	۸۲/۸۱	۷۱/۸۱	۸۰/۱۳	۷۲/۹۳	۸۱/۱	۳/۱	۳/۱

جدول ۴ـ میانگین pH مایع شکمبه در زمان‌های مختلف پس از مصرف خوراک در جیره‌های آزمایشی. جیره‌های ۱ الی ۴ به ترتیب شامل جیره حاوی علوفه یونجه، جیره حاوی یونجه به همراه پروبیوتیک، جیره حاوی ذرت سیلو شده، جیره حاوی ذرت سیلو شده به همراه پروبیوتیک بودند. ۱- اشتباه معیار میانگین‌ها، a, b: میانگین‌های یک ردیف که حروف انگلیسی مشترک ندارند، در سطح ۰/۰۵ اختلاف معنی‌دار داشته است.

	جیره				
زمان(ساعت)	۱	۲	۳	۴	SEM[1]
صفر	۷/۱۲	۷/۰۶	۷/۰۵	۶/۹۸	۰/۰۴
۲	۵/۹۳[b]	۶/۱۰[a]	۵/۸۵[b]	۶/۰۴[a]	۰/۰۴
۴	۶/۱۴	۶/۱۸	۶/۱۰	۶/۰۸	۰/۰۴

معنی‌داری بین میانگین pH مایع شکمبه گوسفندان در زمان صفر و چهار بین جیره‌های یک الی چهار مشاهده نشد. در زمان ۲، بین جیره‌های حاوی پروبیوتیک و شاهد اختلاف معنی‌دار مشاهده شد. به طوری که میانگین pH شکمبه حیواناتی که پروبیوتیک دریافت کرده بودند، بیشتر از گروه شاهد بود($p<0/05$). ولی اختلاف معنی‌داری به دلیل تفاوت در منبع علوفه‌ای در زمان ۲ مشاهده نشد.

میانگین نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه گوسفندان تغذیه شده با جیره‌های یک الی چهار در زمان‌های صفر، ۲ و ۴ ساعت پس از خوراک‌دهی در جدول ۵ آمده است. تجزیه واریانس داده‌های مربوط به این صفت نشان داد که در زمان‌های مختلف نمونه‌گیری تفاوت معنی‌داری بین غلظت نیتروژن آمونیاکی شکمبه گوسفندان تغذیه شده با جیره‌های مختلف آزمایشی وجود داشت($p<0/05$)، به طوری که در زمان صفر و ۲ ساعت پس از خوراک‌دهی میانگین غلظت نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه در حیواناتی که جیره حاوی ذرت سیلوشده به همراه پروبیوتیک را دریافت کردند، به طور معنی‌داری کاهش یافت. در ۴ ساعت پس از خوراک‌دهی در جیره‌های حاوی یونجه، استفاده از پروبیوتیک سبب

جدول ۵ـ میانگین غلظت نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه گوسفندان در زمان‌های مختلف(میلی‌گرم در لیتر). جیره‌های ۱ الی ۴ به ترتیب شامل جیره حاوی علوفه یونجه، جیره حاوی یونجه به همراه پروبیوتیک، جیره حاوی ذرت سیلو شده، جیره حاوی ذرت سیلو شده به همراه پروبیوتیک بودند. ۱ـ اشتباه معیار میانگین‌ها، a, b, c: میانگین‌های یک ردیف که حروف انگلیسی مشترک ندارند، در سطح ۰/۰۵ اختلاف معنی‌دار داشته است.

	جیره				
زمان(ساعت)	۱	۲	۳	۴	SEM[1]
صفر	۷/۵۹[a]	۷/۲۳[a]	۷/۳۸[a]	۵/۹۳[b]	۰/۳۵
۲	۸/۵۱[c]	۹/۲۱[bc]	۱۰/۶۳[a]	۹/۶[b]	۰/۳۵
۴	۱۳/۰۱[a]	۱۰/۱۸	۹/۱۵[c]	۹/۱۳[c]	۰/۳۵

کاهش غلظت نیتروژن آمونیکی مایع شکمبه گردید($p<0/05$). همچنین بین جیره‌های حاوی پروبیوتیک تفاوت معنی‌داری مشاهده شد ($p<0/05$)، به طوری که جیره حاوی یونجه به همراه پروبیوتیک نیتروژن آمونیاکی بیشتری نسبت به جیره حاوی ذرت سیلوشده به همراه پروبیوتیک داشت.

میانگین اسیدهای چرب فرار مایع شکمبه در دو زمان صفر و چهار در جدول ۶ آمده است. تجزیه واریانس داده‌های مربوط به زمان صفر و چهار این صفات نشان داد که تفاوت در کل اسیدهای چرب فرار بین جیره‌های یک الی چهار وجود داشت. به طوری که کل اسیدهای چرب فرار در حیواناتی که پروبیوتیک دریافت کردند، در زمان صفر و چهار بیشتر از حیواناتی بود که پروبیوتیک مصرف نکردند ($p<0/05$). بین میانگین داده‌های مربوط به اسید بوتیریک، اسید والریک، اسید ایزو والریک و نسبت بین استات و پروپیونات بین جیره‌های یک الی چهار در زمان صفر و چهار تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. البته میزان غلظت استات و پروپیونات در زمان صفر در جیره‌های حاوی ذرت سیلوشده کمتر از

جدول ۶ـ میانگین غلظت اسیدهای چرب فرار مایع شکمبه گوسفندان تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی در زمان‌های مختلف. جیره‌های ۱ الی ۴ به ترتیب شامل جیره حاوی علوفه یونجه، جیره حاوی یونجه به همراه پروبیوتیک، جیره حاوی ذرت سیلو شده، جیره حاوی ذرت سیلو شده به همراه پروبیوتیک بودند. ۱ـ اشتباه معیار میانگین زمان صفر، ۲ـ اشتباه معیار میانگین زمان چهار، a, b, c, d: میانگین‌های یک ردیف در هر زمان که حروف انگلیسی مشترک ندارند، در سطح ۰/۰۵ اختلاف معنی‌دار داشته است.

فراسنجه	جیره۱		جیره۲		جیره۳		جیره۴			
	زمان صفر	زمان ۴	زمان صفر	زمان ۴	زمان صفر	زمان ۴	زمان صفر	زمان ۴	SEM[1]	SEM[2]
استات (A) mmol/100mol	۴۳/۹۶[a]	۴۱/۹۷[a]	۴۳/۸۴[a]	۴۳/۶۳[a]	۳۹/۷۲[b]	۳۹/۷۲[b]	۳۸/۲۹[b]	۳۸/۲۹[b]	۰/۸۲	۰/۸۲
پروبیوتات (P) mmol/100mol	۱۹/۱۰[a]	۲۱/۹۶	۱۹/۸۳[a]	۲۲/۸۷	۱۶/۰۸[b]	۱۶/۰۸[b]	۱۷/۰۹[b]	۱۷/۰۹[b]	۰/۴۶	۰/۴۶
بوتیرات mmol/100mol	۱۰/۱۵	۹/۸	۹/۵۲	۹/۱۶	۹/۲۶	۹/۲۶	۸/۰۴	۸/۰۴	۰/۵۴	۰/۵۴
والرات mmol/100mol	۱/۴۰	۱/۴۲	۱/۴۹	۱/۵۰	۱/۱۷	۱/۱۷	۱/۲۵	۱/۲۵	۰/۱۲	۰/۱۲
ایزووالرات mmol/100mol	۱/۹	۱/۸۷	۲/۰	۲/۱۰	۱/۶	۱/۶	۱/۶۸	۱/۶۸	۰/۲	۰/۲
نسبت A:P	۲/۳۰	۱/۹۱	۲/۲۱	۱/۹۰	۲/۴۷	۲/۴۷	۲/۲۴	۲/۲۴	۰/۲۱	۰/۲۱
کل اسیدهای چرب فرار mmol	۷۱/۰[b]	۸۲/۳[b]	۷۹/۷[a]	۸۸/۶۰[a]	۵۹/۵[d]	۵۹/۵[d]	۶۷/۰[c]	۶۷/۰[c]	۴/۶۱	۴/۶۱

جیره‌های حاوی یونجه بود ($p<0/05$). ولی در زمان چهار تنها غلظت استات در جیره‌های حاوی ذرت سیلو شده در مقایسه با جیره‌های حاوی علوفه یونجه کاهش یافت ($p<0/05$).

بحث

همان‌طور که در جدول ۲ مشاهده می‌شود تفاوت معنی‌داری در میانگین قابلیت هضم ماده خشک، ماده آلی، دیواره سلولی (NDF) و دیواره سلولی بدون همی سلولز (ADF) بین جیره‌های حاوی پروبیوتیک و بدون پروبیوتیک مشاهده نشد که مشابه با نتایج Ghorbani و همکاران در سال ۲۰۰۲ می‌باشد(۷). همچنین عدم تاثیر بر قابلیت هضم با افزودن مخمر ساکارومایسس سرویسیه به جیره نشخوارکنندگان توسط Williams و همکاران در سال ۱۹۹۱ گزارش شده است. Hovell و همکاران در سال ۱۹۸۶ گزارش کردند که افزودن میکروارگانیسم‌ها به جیره نشخوارکنندگان ممکن است با تغییر در تعداد باکتری‌ها بر نرخ هضم فیبر تأثیر بگذارد(۱۰). اما بر قابلیت هضم کل جیره که متأثر از ساختار فیزیکوشیمیایی خوراک است، تأثیری ندارد. بر طبق نتایج به دست آمده، میزان قابلیت هضم پروتئین خام در جیره حاوی ذرت سیلو شده کمتر از جیره‌های حاوی علوفه یونجه بود و میزان قابلیت هضم چربی در جیره‌های حاوی ذرت سیلو شده نسبت به جیره‌های حاوی علوفه یونجه بیشتر بود. از آنجایی که محتوای چربی ذرت سیلو شده ممکن است با افزایش توده میکروبی سیلو افزایش یابد (۱۴)، افزایش در قابلیت هضم چربی در پژوهش حاضر احتمالاً به دلیل افزایش قابلیت هضم چربی دیواره سلولی میکروبی می‌باشد. از طرفی کاهش در قابلیت هضم پروتئین خام ذرت سیلو شده احتمالاً به دلیل افزایش حرارت به هنگام سیلو کردن و افزایش در پروتئین باند شده به فیبر می‌باشد.

بین pH شکمبه و غلظت لاکتات دهیدروژناز، pH و دی اکسید کربن خون رابطه مستقیم وجود دارد. به طوری که هر چه pH شکمبه پائین‌تر باشد، غلظت دی اکسید کربن و لاکتات دهیدروژناز خون افزایش و pH آن کاهش می‌یابد که این امر منجر به اسیدوز متابولیکی می‌گردد. همان‌طور که مشاهده می‌شود pH شکمبه در حیواناتی که پروبیوتیک دریافت کرده‌اند، نسبت به شاهد تفاوت معنی‌داری ندارد که این امر باعث شد عدم تأثیر پروبیوتیک بر فراسنجه‌های خون قابل انتظار باشد. پروبیوتیک مورد استفاده در این آزمایش حاوی باکتری‌های تولید کننده اسید لاکتیک و مخمر بود. این میکروارگانیسم‌ها باعث تحریک باکتری‌های مصرف کننده لاکتات می‌شوند که محصول نهایی آنها اسید پروپیونیک و اسید استیک است. اسید پروپیونیک یک سوبسترای مهم برای گلوکونئوژنز و تولید گلوکز و انرژی برای نشخوارکنندگان می‌باشد (۲). عدم تغییر گلوکز خون در این تحقیق با عدم تغییر اسید پروپیونیک شکمبه قابل توجیه می‌باشد.

به نظر می‌رسد که وجود باکتری‌های تولید کننده اسید لاکتیک به

دلیل تولید تونیک لاکتات در شکمبه باعث رشد باکتری‌های مصرف کننده لاکتات و فعال نگه داشتن آنها می‌گردد(۷). همچنین مشخص شده است که ساکارومایسس سرویسیه از طریق حذف اکسیژن و تولید اسیدهای آلی (مالیک)، اسیدهای آمینه و ویتامین‌ها باعث تحریک باکتری‌های مصرف کننده لاکتات (سلنوموناس رومینانتیوم و مگسفرا السدینی) و همچنین باکتری‌های تجزیه کننده سلولز می‌شود. همچنین خود ساکارومایسس سرویسیه از طریق رقابت با استرپتوکوکوس بوویس برای جذب گلوکز باعث کاهش لاکتات می‌شود(۸). در مجموع، این ویژگی‌ها باعث می‌شوند تا غلظت لاکتات شکمبه کاهش یابد. همان‌طور که در جدول ۶ مشخص است، در حیواناتی که پروبیوتیک دریافت کرده‌اند به دلیل فعال بودن متابولیکی باکتری‌های مصرف کننده لاکتات در زمان اوج تخمیر افت pH کمتری نسبت به شاهد اتفاق افتاده است(۱۱،۱۸). در حالی که در سایر زمان‌های نمونه‌گیری بین جیره‌ها تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد که با مطالعات Miller-webster و همکاران در سال ۲۰۰۲، Enjalbert و همکاران در سال ۱۹۹۹ و Doerue و Jouani در سال ۱۹۹۸ مطابقت دارد(۴،۵،۱۶).

کاهش میزان نیتروژن آمونیاکی در این پژوهش با بررسی منابع صورت گرفته احتمالاً به دلیل وجود مخمر ساکارومایسس سرویسیه و باکتری‌های تولید کننده لاکتات و همچنین آنزیم‌های تولیدی باسیلوس سابتیلیس می‌باشد که موجب افزایش تعداد باکتری‌های سلولولایتیک و مصرف کننده لاکتات و افزایش پروتئین میکروبی می‌شوند (۲۵).

مقایسه نتایج این پژوهش با سایرین به دلیل تفاوت در ترکیب پروبیوتیک و جیره مشکل می‌باشد. انتظار می‌رفت که در جیره‌های حاوی پروبیوتیک غلظت پروپیونات افزایش پیدا کند. زیرا افزودن باکتری‌های تولید کننده اسید لاکتیک باعث تحریک باکتری‌های مصرف کننده آن می‌شود که اسید لاکتیک را به پروپیونات تبدیل می‌کنند، ولی احتمالاً به دلیل پائین تر بودن سطح کنسانتره در این مطالعه چنین نتیجه‌ای حاصل نشد. Beauchemin و همکاران در سال ۲۰۰۳ گزارش کردند که افزودن باکتری اینتروکوکوس فاسیوم (باکتری تولید کننده اسید لاکتیک) به جیره گوساله‌های پرواری باعث افزایش غلظت پروپیونات می‌شود(۲). افزایش غلظت استات در جیره‌های حاوی علوفه یونجه احتمالاً به دلیل افزایش در تعداد باکتری‌های سلولولایتیک می‌باشد (۹).

نتایج

استفاده از پروبیوتیک در جیره گوسفندان در این آزمایش مانع از افت pH مایع شکمبه در ۲ ساعت پس از خوراک دهی شد. نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه حیواناتی که پروبیوتیک دریافت کردند، کمتر بود. کل اسیدهای چرب فرار در جیره‌های حاوی پروبیوتیک افزایش یافت، اگرچه تأثیر معنی‌داری در نسبت‌های بوتیرات، والرات، ایزووالرات و نسبت استات به پروپیونات در قبل و بعد از خوراک دهی مشاهده نشد. غلظت استات پس از خوراک دهی و غلظت پروپیونات قبل از خوراک دهی در گوسفندانی که علوفه یونجه را به‌عنوان منبع اصلی علوفه دریافت کرده بودند، بیشتر بود. استفاده از پروبیوتیک تأثیر معنی‌داری بر متابولیت‌های خون و همچنین قابلیت هضم ظاهری ماده خشک، ماده آلی، دیواره سلولی و دیواره سلولی بدون همی سلولز جیره‌ها نداشت. اگرچه قابلیت هضم پروتئین خام و چربی در گوسفندانی که ذرت سیلوشده دریافت کرده بودند، نسبت به یونجه به ترتیب کمتر و بیشتر بود.

References

1. AOAC. (1995) Official methods of analysis. (16th ed.) Association of Official Analytical Chemists., Arlington, USA.
2. Beauchemin, K. A., Yang, W. Z., Morgavi, D. P., Ghorbani, G. R., Kautz, W., Leedle J. A. Z. (2003) Effects of bacterial direct fed microbials and yeast on site and extent of digestion, blood chemistry, and subclinical ruminal acidosis in feedlot cattle. J. Anim. Sci. 81:1628-1640.
3. Conway, W. J. (1950) Micro diffusion analysis and volumetric error. (2th ed.) Crosby Lock Wood and Son. London, U.K.
4. Doerue, M., Jouani, J. P. (1998) Effect of a *Saccharomyces cerevisiae* culture on nutrient digestion in lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 81:3214-3221.
5. Enjalbert, F., Garrett, J. E., Moncoulan, R., Bayurrthe, C., Chicoteau, P. (1999) Effects of yeast culture *saccharomyces cerevisiae* on ruminal digestion in non-lactating dairy cows. Anim. Feed Sci. and Tech. 76:195-206.
6. Francisco, C. C., Chamberlain, C. S., Waldner, D. N., Wettemann, R. P., Spicer, L. J. (2002) Propioni bacteria fed to dairy cows: effects on energy balance, plasma metabolites , hormones and reproduction. J. Dairy Sci. 85:1738-1746.
7. Ghorbani G. R., Morgavi, D. P., Beauchemin, K. A.,

Leedle, J. A. Z. (2002) Effects of bacterial direct-fed microbials on ruminal fermentation, blood variables, and the microbial populations of feedlot cattle. J. Anim. Sci. 2002. 80:1977-1986.

8. Girard, I. D., Jones, C. R., Dawson, K. A. (1993) Lactic acid utilization in rumen stimulating cultures receiving a yeast culture supplement. J. Anim. Sci. 71:288-295.
9. Harrison, G. A., Hemken, R. W., Dawson, K. A., Harmon, R. J., Barker, K. B. (1988) Influence of addition of yeast culture supplement to diets of lactating cows on ruminal fermentation and microbial populations. J. Dairy Sci. 71:2967-2975.
10. Hovell, F. D., Deb, J. W., Ngambi, W. P., Kyle, D. J. (1986) The voluntary intake of hay by sheep in relation to its degradability in the rumen as measured in nylon bags. Anim. Prod. 42: 111- 118.
11. Huffman, R. P., Karges, K. K., Klopfenstein, T. J., Stock, R. A., Britton, R. A., Roth, L. D. (1992) The effect of Lactobacillus acidophilus on subacute ruminal acidosis. J. Anim. Sci. 70:87.
12. Krehbiel, C. R., Rust, S. R., Zhang, G., Gillilan, S. E. (2003) Bacterial direct fed microbials in ruminant diets: performance response and mode of action. J. Anim. Sci. 81:120-132.
13. Kumar, U., Sareen, V. K. (1994) Effect of *saccharomyces cerevisiae* yeast culture supplement on ruminal metabolism in buffalo calves given a high concentrate diet. Anim. Prod. 59:209-215.
14. Lanzas. C, Sniffen, C. J., Seo, S., Tedeschi, L. O., Fox, D. G. (2007) A revised CNCPS feed carbohydrate fractionation scheme for formulating rations for ruminants. Anim. Feed Sci. Tech. 136: 167-190.
15. Limin, K. J. (2001) Direct fed microbials for dairy cows and enzymes for lactating dairy cows: new theories and applications. Newark, Delaware, USA.
16. Miller-webster, T., Hoover, W. H., Ho, M., Nocek, J. E. (2002) Influence of yeast culture on ruminal microbial metabolism in continuous culture. J. Dairy Sci. 85:2014-2019.
17. Nikkhah, A., Dehghan-banadaki, M., Zali, A. (2004) Effects of feeding yeast (*Saccharomyces Cerevisiae*) on productive performance of lactating Holstein dairy cows. Iranian J. Agric. 35: 53-60.
18. Nocek, J. E. Kautz, W. P. (2002) Ruminal supplementation of direct fed microbials on diurnal pH and in situ digestion in dairy cattle. J. Anim. Sci. 85: 429-433.
19. Nocek, J. E., Kautz, W. P. (2006) Direct fed microbial supplementation on ruminal digestion, health, and performance of pre and postpartum dairy cattle. J. Dairy Sci. 89:260-266.
20. Preston, T. R. (1986) Better utilization of crop residue and by-products in animal feeding: A Practical manual for research workers. FAO Animal Production and Health. No. 50/2.
21. Rezaee, M., Rezaeian, M., Mirhadi, S. A. Moradi, M. (2008) Effects of yeast supplementation on rumen fermentation, microbial population and the performance of male fattening calves. J. Vet. Res. 62: 403-409.
22. Van Keulen, J., Young, B. A. (1977) Evaluation of acid insoluble ash as a natural marker in ruminant digestibility studies. J. Anim. Sci. 2:282-287.
23. Van Soest, P. J., Robertson, J. B., Lewis, B. A. (1991) Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and non-starch polysaccharide in relation to animal nutrition. J. Dairy Sci. 74:3583- 3597.
24. Williams, P. E. V., Tait, C. A. G., Innes, G. M., Newbold, C. J. (1991) Effects of the inclusion of yeast culture (*saccharomyces cerevisiae* plus growth medium) in the diet of cows on milk yield and forage degradation and fermentation patterns in the rumen of sheep and steers. J. Anim. Sci. 69: 3016-3026.
25. Williams, P. E. V., Newbold, C. J.(1990) Rumen probiosis: the effects of novel microorganisms on rumen fermentation and ruminant productivity. In: Recent Advances in Animal Nutrition. Haresign, W., Cole, D. J. A. (eds.). Butterworths. London, UK. p.211-227.

J.Vet.Res. 66,1:47-53,2011

THE EFFECTS OF SACCHAROMYCES CEREVISIAE AND LACTIC ACID PRODUCING BACTERIA ON DIGESTIBILITY, RUMEN AND BLOOD PARAMETERS OF SHEEP

Khazanei, H.R., Rezayazdi, K.*, Nikkhah, A.

Department of Animal Sciences, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj- Iran.

(Received 22 July 2009 , Accepted 12 September 2010)

Abstract:

Various probiotic products have been used in ruminant nutrition over the past decade. Some of them had positive effects on animal production. Present study was conducted to investigate the effects of *Saccharomyces cerevisiae*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Enterococcus faecium*, *Bacillus subtilis* mixture on digestibility, rumen and blood parameters of 4 fistulated varamini sheeps . Animals fed with 4 diets during 4 periods using a 2×2 factorial arrangement in a change-over design. First factor included two sources of forages (alfalfa hay and corn silage) and second factor included two levels of above probiotic mixture (0 and 5 gr/day/head). Digestibility of diets were measured by acid insoluble ash as marker. Blood samples were taken at 0 and 4 hours after feeding via jugular vein to determine concentration of CO2, pH, LDH and Glucose. Also ruminal liquor samples were taken at 0 and 4 hours after feeding to determine rumen pH and concentration of N-NH3 and volatile fatty acids. The results showed that digestibility of acid detergent fiber, neutral detergent fiber, organic matter and dry matter of diets were not significantly different among diets. However, digestibility of crude protein and ether extract in diets containing corn silage were lower and higher than alfalfa hay, respectively. There was no significant difference on blood metabolites of sheep fed various diets. Total volatile fatty acids in sheep fed microbial mixture were more than control group. Diets containing alfalfa hay had higher propionate and acetate concentrations than diets containing corn silage. Ruminal ammonia concentration decreased in sheep fed diets containing microbial mixture ($P < 0.05$). We concluded that present microbial mixture improved ruminal fermentation but could not significantly affect digestibility and blood metabolites of sheep.

Key words: probiotic, alfalfa hay, corn silage, sheep, rumen and blood parameters.

***Corresponding author's email: rezayazdi@ut.ac.ir, Tel: 0261-2248082, Fax: 0261-2246752**