Journal of Veterinary Research
J Vet Res: Volume 74, Number 3, 2019
Original Articles

Effects of Different Levels of Protexin™ Probiotics in Milk Replacer on Digestive Tract Development and Ruminal Parameters of *Suckling* Zel *Lambs*

Yadollah Chashnidel[1], Seyed Makan Mousavi Kashani[2], Mehdi Bahari[3]

[1]*Department of Animal Nutrition, College of Animal Science and Fisheries, Agriculture and Natural Resources, University of Sari, Iran*
[2]*Department of Genetic and Animal Breeding, Tehran, Iran*
[3]*Graduated from Animal Nutrition, University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Sari, Iran*

10.22059/jvr.2019.222161.2587
J Vet Res. 74(3): 338-347

Abstract

BACKGROUND: Due to the incomplete microbial population of the gastrointestinal tract in infant animals, the occurrence of any kind of stress causes gastrointestinal microbial imbalance and gastrointestinal disorders in the animal. The use of probiotics in diets of experimental animals improves the production of volatile fatty acids in rumen as the main stimulants of ruminal papillae. In this case the beneficial microbial population promotes in the rumen and its products improve the health and animal performance.

OBJECTIVES: The aim of this study was to investigate the effects of different levels of Protexin™ probiotics in milk replacer on digestive tract development and ruminal parameters of suckling Zel lambs.

METHODS: To conduct this experiment, 24 male lambs were used at 10 days of age with mean weight (4.2 ± 0.53 kg) in 4 treatments and 6 replicates per each treatment as individual pens for 60 days. Treatments include control (without probiotic) and 3, 6 and 9 g ($\times 10^9$ cfu/g) of probiotic in milk replacer. In day 60 of experiments, pH values were measured by a portable digital device and ammonia nitrogen and number of protozoa in rumen fluid were measured in laboratory. Ruminal morphological results were studied after animal was slaughtered.

RESULTS: The results of ruminal parameters showed that adding 9 g probiotic resulted in a significant increase in ammonia nitrogen and number of ruminal fluid protozoa compared to other levels ($P<0.05$). There were not significant differences in pH and VFA of ruminal fluid indicated no significant difference among treatments. In rumen morphology results, there was a significant difference between treatments in weight of empty whole digestive tract, rumen, omasum and abomasums weight and the volume of reticulum and abomasum ($P<0.05$) and this difference was significant between treatment of 9 g probiotic and other treatments. Also, the effect of experimental treatments was significant on length and width of the rumen papillae ($P<0.05$), so that level of 9 g probiotic was higher than other levels.

CONCLUSIONS: The results showed that the addition of probiotic in milk replacer of experimental lambs significantly increased ruminal VFA and developed the ruminal morphological traits, so that in these traits, amount of 9 g probiotic had better performance than the other levels.

Keywords: Ruminal parameters, Ruminal development, Probiotics, Suckling lambs of Zel

Copyright © 2019. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution- 4.0 International License which permits Share, copy and redistribution of the material in any medium or format or adapt, remix, transform, and build upon the material for any purpose, even commercially.

Corresponding author's email: ychashnidel2002@yahoo.com **Tel:**011-33687574 **Fax:** 011-33687565

How to cite this article:

Chashnidel, Y., Mousavi Kashani, M., & Bahari, M. (2019). Effects of Different Levels of Protexin™ Probiotics in Milk Replacer on Digestive Tract Development and Ruminal Parameters of *Suckling* Zel *Lambs*. *J Vet Res, 74*(3), 338-347. doi:10.22059/jvr.2019.222161.2587

Figure Legends and Table Captions

Table 1. Lambs starter ration ingredients and chemical composition.
Table 2. Milk replacer ingredients and chemical composition.
Table 3. The mean pH and ammonia nitrogen of rumen fluid in experimental lambs.
Table 4. The mean composition of ruminal fluid volatile fatty acids in experimental lambs (mm / L).
Table 5. The mean number of protozoan rumen fluid in experimental lambs ($\times$ml /10^6).
Table 6. The mean rumen morphological traits of experimental lambs.
Table 7. The mean rumen development traits of experimental lambs.

مجله تحقیقات دامپزشکی
دوره ۷۴، شماره ۳، ۱۳۹۸
مقاله پژوهشی

اثر سطوح مختلف پروبیوتیک پروتکسین در جایگزین شیر بر توسعه، تکامل و فراسنجه‌های شکمبه‌ای بره‌های شیرخوار زل

یدا... چاشنی دل [۱]، سید ماکان موسوی کاشانی [۲]، مهدی بهاری [۳]

[۱] گروه علوم دامی و شیلات، دانشکده علوم دامی و شیلات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران
[۲] دانش آموخته دکتری ژنتیک و اصلاح نژاد دام ، تهران، ایران
[۳] گروه تغذیه دام، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران

تاریخ دریافت: ۰۱ بهمن ۱۳۹۷ تاریخ پذیرش: ۳۰ اردیبهشت ۱۳۹۸ تاریخ انتشار آنلاین: ۱ شهریورماه ۱۳۹۸
10.22059/jvr.2019.222161.2587

چکیده

زمینهٔ مطالعه: عدم استقرار کامل جمعیت میکروبی در دستگاه گوارش دام‌های شیرخوار، بروز هر نوع تنش سبب می‌شود که تعادل میکروبی دستگاه گوارش به هم خورده و ناهنجاری‌های گوارشی را برای حیوان ایجاد نماید. استفاده از پروبیوتیک‌ها در تغذیه این نوع دام‌ها با بهبود تولید اسیدهای چرب فرار به عنوان محرک‌های اصلی رشد پرزهای شکمبه، سبب استقرار سریع‌تر جمعیت میکروبی مفید و متعادل در دستگاه گوارش شده و موجب بهبود وضعیت سلامت و عملکرد دام می‌شود.

هدف: هدف از این آزمایش بررسی اثر سطوح مختلف مکمل پروبیوتیک پروتکسین در جایگزین شیر بر توسعه، تکامل و فراسنجه‌های شکمبه‌ای بره‌های شیرخوار زل بود.

روش‌کار: برای انجام این تحقیق تعداد ۲۴ راس بره نر زل در سن ۱۰ روزگی با میانگین وزن کیلوگرم (۴/۵±۰/۵۳) در ۴ تیمار و ۶ تکرار در هر تیمار در قفس‌های انفرادی به مدت ۶۰ روز مورد آزمایش قرار گرفتند. تیمارهای آزمایشی شامل تیمار شاهد (بدون افزودن پروبیوتیک) و تیمارهای حاوی ۳، ۶ و ۹ گرم مکمل پروبیوتیک "(cfu/g ۱۰^{۹} ×) در جایگزین شیر مصرفی بودند. در روز ۶۰ آزمایش اندازه گیری مقادیر pH توسط دستگاه دیجیتال قابل حمل و نیتروژن آمونیاکی و تعداد پروتوزوآهای مایع شکمبه در آزمایشگاه و نتایج ریخت شناسی شکمبه پس از کشتار دام انجام شد.

نتایج: نتایج فراسنجه‌های شکمبه‌ای نشان داد که افزودن مکمل پروبیوتیک در سطح ۹ گرم باعث افزایش معنی دار در نیتروژن آمونیاکی و تعداد پروتوزوآهای مایع شکمبه نسبت به سایر سطوح شد ($P<۰/۰۵$). از نظر pH و ترکیب اسیدهای چرب فرار مایع شکمبه اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی مشاهده نشد. در نتایج ریخت شناسی شکمبه اختلاف معنی‌داری در حجم کل دستگاه گوارش، وزن خالی دستگاه گوارش، شکمبه، هزارلا و شیردان و حجم نگاری و شیردان در بین تیمارها وجود داشت ($P<۰/۰۵$) که اختلاف بین تیمار ۹ گرم پروبیوتیک با سایر تیمارها معنی‌داری بود و همچنین اثر تیمار آزمایشی بر طول و عرض پرزهای شکمبه در ناحیه کیسه‌های کور پشتی، شکمی و جلویی معنی‌دار بود ($P<۰/۰۵$). طوری که سطح ۹ گرم مکمل پروبیوتیک نسبت به سایر سطوح دارای مقادیر بالاتری بود.

نتیجه‌گیری نهایی: نتایج نشان داد که افزودن مکمل پروبیوتیک در جایگزین شیر بره های شیرخوار سبب افزایش معنی دار نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه و تکامل بافت‌های شکمبه شد، طوری که سطح ۹ گرم به نسبت به سایر سطوح در صفات مورد آزمایش دارای عملکرد بهتری بود.

کلمات کلیدی: فراسنجه‌های شکمبه‌ای، توسعه شکمبه، مکمل پروبیوتیک، بره‌های شیرخوار

کپی‌رایت © تحقیقات دامپزشکی: دسترسی آزاد؛ کپی‌برداری، توزیع و نشر برای استفاده کامل با ذکر منبع آزاد است.

نویسنده مسئول: یدا... چاشنی دل، گروه علوم دامی و شیلات، دانشکده علوم دامی و شیلات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران
پست الکترونیکی: ychashnidel2002@yahoo.com

مقدمه

تخمیر شکمبه‌ای کربوهیدرات‌های سهل‌الهضم موجود در جیره‌های کنسانتره‌ای، سبب تولید اسید لاکتیک فراوان، کاهش شدید pH شکمبه و در مواردی ایجاد اسیدوز در دام می‌نماید. همچنین افزودن مواد دانه‌ای به جیره، تعداد باکتری‌های تجزیه‌کننده سلولز و قابلیت هضم الیاف خام را کاهش داده و منجر به کاهش مصرف علوفه می‌شود (۳۹). بنابراین ایجاد یک محیط مناسب و پایدار در شکمبه به منظور فعالیت بهینه میکروب‌ها از موثرترین روش‌های حفظ سلامتی، بهبود مصرف خوراک و رشد و نمو حیوان جوان است. مطابق با آخرین

پیشرفت‌های علمی، موادی با نام پروبیوتیک‌ها (زیست‌یارها) می‌توانند راه حل مناسبی به منظور حفظ تعادل جمعیت میکروبی و بهبود شرایط تخمیر اکوسیستم شکمبه و افزایش رشد و بهبود فراسنجه‌های تغذیه‌ای حیوانات نشخوارکننده جوان باشند (۲۲). پروبیوتیک‌ها مکمل‌های غذایی میکروبی هستند که از راه بهبود تعادل میکروبی روده، تأثیرات سودمندی بر میزبان دارند. پروبیوتیک‌ها به عنوان عضوی جدید در جمعیت میکرو فلورای دستگاه گوارش حیوان با ایجاد تبادلات سلولی با گونه‌های مختلف پروکاریوتی شکمبه و هم با سلول‌های یوکاریوتی دیواره روده، تعدیل قوی و جدید در عملکرد روده‌ای و نیز عملکردهای تولیدی و رشد رخ می‌دهد که منجر به افزایش سلامتی و کاهش خطر بیماری‌ها می‌شود (۲۱). استقرار جمعیت میکروبی در شکمبه در زمان کوتاهی پس از تولد آغاز می‌شود؛ به طوری که پس از ۴۸ ساعت جمعیت زیادی از باکتری‌های بی‌هوازی اجباری در این محل دیده می‌شوند. همزمان با آغاز مصرف غذای جامد، جمعیت میکروبی در شکمبه افزایش یافته و به تدریج این عضو شباهت بیشتری با شکمبه نشخوارکننده بالغ پیدا می‌کند. تکامل سریع شکمبه برای عبور موفقیت آمیز از مرحله تغذیه با مایعات به مرحله تغذیه با مواد جامد در سوددهی و بهره‌وری پرورش دام‌ها از اهمیت فوق العاده‌ای برخوردار است؛ چرا که در کاهش نیروی کار مورد نیاز و هزینه‌های مربوط به خوراک مصرفی و نیز جلوگیری از اختلالات گوارشی ناشی از مصرف خوراک مایع مؤثر است که در این میان ترکیبات پروبیوتیکی نقش مهم و اساسی را ایفا می‌کنند (۴). طبق نتیجه دو مطالعه روی گوساله‌های شیرخوار، پروبیوتیک‌ها باعث توسعه و تکامل شکمبه و ایجاد تغییرات معنی‌داری روی طول و عرض پرزهای شکمبه شد (۱۰، ۴۹). نتیجه دو مطالعه روی بره (۲۶) و گوساله جوان (۳۱) نشان داد که استفاده پروبیوتیک سبب بهبود برخی فراسنجه های شکمبه ای مانند کاهش تولید لاکتات، بهبود ثبات pH و افزایش قدرت بقای باکتری‌های شکمبه شد. نتیجه مطالعات نشان داد که افزودن پروبیوتیک در جیره سبب افزایش جمعیت پروتوزوآها در شکمبه بره‌ها (۱۸) و گوساله‌ها (۳۹) شد. با توجه به مزیت‌های استفاده از پروبیوتیک در تغذیه دام‌های شیرخوار در بهبود عملکرد و توسعه مناسب شکمبه، بنابراین در این تحقیق اثر سطوح مختلف پروبیوتیک پروتکسین در جایگزین شیر بر توسعه، تکامل و فراسنجه‌های شکمبه‌ای بره‌های شیرخوار زل از سن ۱۰ الی ۷۰ روزگی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش کار

حیوانات مورد مطالعه: در این آزمایش از تعداد ۲۴ رأس بره نر نژاد زل تازه متولد شده که در سن ۱۰ روزگی از مادر جدا شدند، با میانگین وزن نزدیک به هم kg (۴/۵±۰/۵۳) استفاده شد. بره‌های آزمایشی از سن ۱۰ روزگی تا سن ۷۰ روزگی به مدت ۶۰ روز مورد مطالعه قرار گرفتند.

تیمارهای آزمایشی: این آزمایش در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با ۴ تیمار و ۶ تکرار در هر تیمار انجام شد و تیمارها شامل تیمار شاهد (بدون افزودن پروبیوتیک)، تیمارهای حاوی۳ گرم (۳×۱۰^{۹} cfu/g)، ۶ (۶×۱۰^{۹} cfu/g) و ۹ (۹×۱۰^{۹} cfu/g) مکمل پروبیوتیک در جایگزین شیر مصرفی روزانه بودند. پس از قرار دادن بره‌ها در تیمارهای مربوطه، مصرف شیرخشک از شروع آزمایش و همچنین مصرف جیره آغازین بره‌ها از هفته دوم، آغاز شد و جایگزین شیر مصرفی در دو وعده (صبح و عصر) در اختیار بره‌ها قرار گرفت. مکمل پروبیوتیکی که در این تحقیق استفاده شد پروبیوتیک پروتکسین بود که ۹ سویه میکروارگانیسم‌های سودمند دستگاه گوارش گوسفند و بره را به همراه دارد. این میکروارگانیسم‌ها شامل ۴ سویه لاکتوباسیل (*پلانتاروم، اسیدوفیلوس؛ رامنوسوس، دلبروکی*)، یک سویه بیفیدو باکتریوم (بیفیدو *باکتریوم* بیفیدوم)، یک سویه انتروکوکوس (*انتروکوکوس فاسیوم*)، یک سویه استرپتوکوکوس (*استرپتوکوکوس سالیواریوس* زیرگونه *ترموفیلوس*)، دو سویه قارچ (*کاندیدا پینت لوپسی*) و مخمر (*اسپرژیلوس اوریزا*) هستند. این محصول، ساخت کشور انگلستان (Probiotics International Limited- United Kingdom) می‌باشد. همچنین مقدار مصرف این مکمل پروبیوتیک طبق توصیه شرکت تولیدکننده برای گوساله‌ها و بره‌های شیرخوار ۱ الی ۲ گرم روزانه به ازای هر رأس دام در شیر مصرفی می‌باشد.

اندازه‌گیری فراسنجه‌های شکمبه‌ای، توسعه و تکامل شکمبه: به منظور اندازه‌گیری pH مایع شکمبه، نمونه‌گیری در روز ۶۰ آزمایش دو ساعت بعد از مصرف خوراک انجام شد. به طوری که pH نمونه‌ها با دستگاه pH متر دیجیتال قابل حمل (مدل Metrohm ۸۲۷) و بلافاصله بعد از گرفتن نمونه و صاف کردن آن با پارچه کتان، تعیین شد (۹). نیتروژن آمونیاکی شکمبه با استفاده از تیتراسیون به روش Conway در سال ۱۹۵۰ (۱۳) انجام شد. در پایان آزمایش (روز ۶۰) تعداد ۱۲ راس بره (۳ بره از هر تیمار) بعد از محرومیت ۱۴ ساعت از مصرف خوراک، به‌طور کاملاً تصادفی انتخاب شدند و پس از کشتار و ذبح، بخش‌های مختلف دستگاه گوارش همراه با ماده هضمی و بدون ماده هضمی توزین شدند. نمونه‌گیری از دیواره شکمبه به منظور بررسی خصوصیات ریخت شناسی دیواره شکمبه با استفاده از روش Lesmeisterو همکاران (۲۰۰۴) انجام شد (۳۲). بعد از شستشوی

نمونه‌ها در سرم فیزیولوژیک، نمونه‌ها در فرمالین ۱۰ درصد قرار داده و در ۴ درجه سانتی‌گراد تا زمان برش نمونه‌ها نگهداری شدند. نمونه‌ها بعد از چند مرحله آبگیری با استفاده از اتانول، در پارافین قرار داده شدند و برش‌هایی با استفاده از دستگاه میکروتوم با عرض ۶ میکرومتر از دیواره شکمبه ایجاد شد. سپس نمونه‌ها با استفاده از هماتوکسیلین و ائوزین جهت اندازه گیری خصوصیات ریخت شناسی بلافاصله رنگ آمیزی شدند. خصوصیات توسعه و تکامل شکمبه شامل طول و عرض پرزهای دیواره شکمبه اندازه‌گیری شدند (۲۴).

شمارش تعداد جمعیت پروتوزوآها: به منظور بررسی جمعیت پروتوزوآها، محتویات شکمبه (۲۰میلی لیتر) با استفاده از لوله از شکمبه حیوان در ۱ ساعت قبل از وعده خوراک صبح، ۱ و ۳ ساعت بعد از وعده خوراک صبح نمونه گرفته و با استفاده از پارچه تنظیف چهار لایه صاف و با حجم مساوی از فرمالین ۱۸ درصد مخلوط شد و پس از رنگ آمیزی با رنگ متیلن بلو، بریلیانت گرین و لوگول در تاریکی و در دمای اتاق به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شد و برای شمارش ۱ میلی لیتر از نمونه رنگ آمیزی شده و با ۹ میلی‌لیتر گلیسرول ۳۰ درصد رقیق کرده و سپس شمارش مژکداران با استفاده از لام نئوبار و میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی X40 انجام گرفت. هر نمونه ۴ بار با لام هماسیتومتر (نئوبار) مورد شمارش قرار گرفت. نتایج شمارش به صورت غلظت (تعداد پروتوزوآ در هر میلی‌لیتر از مایع شکمبه) با استفاده از معادله زیرگزارش شد (۱۷). در فرمول زیر N تعداد مژه‌داران در ۱ میلی‌لیتر از مایع شکمبه، a تعداد مژه‌داران در ۴ بخش در لام هماسیستومتر(نئوبار) و d نرخ رقت نمونه است.

$$N= 10/4 * a * d$$

همچنین محاسبه ترکیب اسیدهای چرب فرار مایع شکمبه نیز به روش Ottenstein و Bartley در سال ۱۹۷۱ (۳۶) با استفاده از دستگاه گاز کروماتوگرافی (GC – PU4410 – PHILIPS) انجام شد.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها: این آزمایش در قالب یک طرح کاملاً تصادفی که اثر ۴ تیمار با ۶ تکرار روی ۲۴ رأس بره نر شیرخوار نژاد زل را مورد بررسی قرار داد. همچنین وزن تولد در هنگام شروع آزمایش به عنوان کوواریت در مدل قرار داده شد. تجزیه و تحلیل نهایی داده‌ها با استفاده از رویه ANOVA نرم افزار آماری SAS (نسخه ۹/۱) و مقایسه میانگین با آزمون دانکن در سطح احتمال ۰/۰۵ انجام گرفت.

جدول ۱. اجزای تشکیل دهنده جیره آغازین برهها و ترکیبات شیمیایی آن

ماده خوراکی	(٪)
دانه ذرت	۳۰
دانه جو	۲۵
کنجاله سویا	۱۵
ملاس چغندر قند	۲/۰
کنجاله پنبه دانه	۵ /۵
روغن نباتی	۱/۵
سبوس گندم	۳/۸
یونجه خشک	۱۵
نمک	۰/۲
بی کربنات سدیم	۰/۵
مکمل معدنی+ ویتامینی	۰/۵
کربنات کلسیم	۱/۰
ترکیبات شیمیایی جیره غذایی مورد استفاده	
انرژی متابولیسمی (Mcal/Kg)	۲/۳
پروتئین خام (٪)	۱۶/۹۰
کلسیم (٪)	۰/۷۲
فسفر کل (٪)	۰/۶۱
سدیم (٪)	۰/۱۵

جدول۲. اجزای تشکیل دهنده جایگزین شیر و ترکیبات شیمیایی آن

ترکیب شیر جایگزین	(per kg)
پروتئین	۲۴ (٪)
چربی	۲۰ (٪)
لاکتوز	۳۰ (٪)
کلسیم	۰/۹ (٪)
فسفر	۰/۷ (٪)
پتاسیم	۱/۶ (٪)
لیزین	۲/۵ (٪)
متیونین	۰/۷ (٪)
ویتامین A	۲۰۰۰۰ IU
ویتامین D	۴۰۰ IU
ویتامین E	۵۰ mg/kg
ویتامین C	۶۰ IU
آهن (Fe)	۷۰ mg/kg
مس (Cu)	۳ mg/kg
روی (Zn)	۳۰ mg/kg
کبالت (Co)	۰/۴ mg/kg
ید (I)	۰/۵ mg/kg
سلنیوم (Se)	۰/۳ mg/kg

نتایج

pH و نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه: نتایج داده‌های مربوط به pH و نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه (جدول ۳) نشان داد که تنها اختلاف معنی‌داری در نتایج نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه بین تیمارهای آزمایشی وجود داشت ($P<0/05$). بالاترین و کمترین مقدار نیتروژن آمونیاکی (mg/dl) به ترتیب در تیمارهای ۹ گرم پروبیوتیک و شاهد (بدون پروبیوتیک) مشاهده شد. نتایج مقایسه سطوح مختلف مکمل پروبیوتیک در نیتروژن آمونیاکی نشان داد که اختلاف معنی-داری بین سطوح مختلف مکمل پروبیوتیک بین تیمارهای آزمایشی

وجود دارد طوری که با افزایش سطح مکمل پروبیوتیک، مقدار نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه بره‌های آزمایشی افزایش یافت.

جدول ۳. میانگین pH و نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه بره‌های آزمایشی

تیمارها / فاکتورها	pH مایع شکمبه	نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه (mg/dl)
شاهد (فاقد پروبیوتیک)	۵/۶۴	۷/۲۰^{b}
۳ g پروبیوتیک	۵/۷۵	۷/۶۸^{ab}
۶ g پروبیوتیک	۵/۸۹	۹/۱۲^{b}
۹ g پروبیوتیک	۶/۰۱	۹/۸۴^{a}
اشتباه استاندارد میانگین	۰/۰۶	۰/۱۵
احتمال معنی‌داری	۰/۵۱	۰/۰۳

میانگین‌هایی که در هر ستون با حروف لاتین متفاوت نشان داده شده است دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند ($P<$ ۰/۰۵).

ترکیب اسیدهای چرب فرار و جمعیت پروتوزوآهای مایع شکمبه: نتایج میانگین ترکیب اسیدهای چرب مایع شکمبه (جدول ۴) نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی وجود نداشت. نتایج میانگین تعداد پروتوزوآهای مایع شکمبه (جدول ۵) نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی وجود داشت ($P<$۰/۰۵). بالاترین و کمترین تعداد پروتوزوآهای مایع شکمبه در یک ساعت قبل، یک ساعت بعد از خوراک دادن و سه ساعت بعد از خوراک دادن به ترتیب در تیمارهای ۹ g مکمل پروبیوتیک و شاهد (بدون پروبیوتیک) مشاهده شد. نتایج نشان داد که با افزایش سطح مکمل پروبیوتیک جمعیت پروتوزوآهای مایع شکمبه بره‌های آزمایشی نیز افزایش یافت طوری که اختلاف آماری بین سطوح مختلف مکمل پروبیوتیک در تیمارهای آزمایشی قابل مشاهده است.

جدول ۴. میانگین ترکیب اسیدهای چرب فرار مایع شکمبه بره‌های آزمایشی (mmol/L)

تیمارها / اسیدچرب	والریک	ایزووالریک	بوتیریک	پروپیونیک + بوتیریک	استیک
شاهد (فاقد پروبیوتیک)	۳/۴۳	۳/۱۰	۲۳/۱۰	۲۹/۵۰	۳۹/۰۳
۳ g پروبیوتیک	۳/۵۰	۳/۰۳	۲۶/۵۵	۲۸/۶۵	۳۹/۳۵
۶ g پروبیوتیک	۳/۶۰	۲/۸۰	۲۴/۵۰	۲۷/۲۵	۴۱/۱۰
۹ g پروبیوتیک	۴/۱۰	۲/۹۳	۲۶/۶۰	۲۸/۸۰	۴۱/۷۰
اشتباه استاندارد میانگین	۰/۲۰	۰/۳۸	۲/۷۰	۱/۹۸	۱/۱۵
احتمال معنی‌داری	۰/۶۹	۰/۵۴	۰/۷۰	۰/۹۳	۰/۸۱

جدول ۵. میانگین تعداد پروتوزوآ مایع شکمبه بره‌های آزمایشی ($ml\times10^{6}$)

تیمارها/زمان‌های نمونه‌گیری	یک ساعت قبل از خوراک‌دادن	یک ساعت بعد از خوراک‌دادن	سه ساعت بعد از خوراک‌دادن
شاهد (فاقد پروبیوتیک)	۰/۶۵^{c}	۰/۸۸^{c}	۲/۵۵^{b}
۳ g پروبیوتیک	۱/۱۹^{bc}	۱/۲۷^{bc}	۲/۵۸^{bc}
۶ g پروبیوتیک	۱/۳۸^{b}	۲/۵۲^{b}	۲/۶۳^{b}
۹ g پروبیوتیک	۱/۶۹^{a}	۲/۵۸^{a}	۳/۲۷^{a}
اشتباه استاندارد میانگین	۰/۰۳	۰/۰۱	۰/۰۱
احتمال معنی‌داری	۰/۰۰۲	<۰۰۰۱	<۰۰۰۱

میانگین‌هایی که در هر ستون با حروف لاتین متفاوت نشان داده شده است دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند ($P<$ ۰/۰۵).

ریخت شناسی، توسعه و تکامل شکمبه: نتایج ریخت شناسی شکمبه (جدول ۶) نشان داد که اختلاف معنی‌داری در حجم کل دستگاه گوارش، وزن خالی دستگاه گوارش، شکمبه، هزارلا و شیردان و حجم نگاری و شیردان بین تیمارهای آزمایشی وجود داشت ($P<$۰/۰۵). نتایج نشان داد که با افزایش سطح پروبیوتیک، وزن و حجم برخی قسمت‌های مختلف شکمبه به طور معنی‌داری افزایش یافت طوری که بین سطوح مختلف مکمل پروبیوتیک اختلاف معنی‌داری بود و همچنین سطح ۹ گرم نسبت به سایر سطوح مکمل پروبیوتیک سبب بهبود فاکتورهای مورفولوژی در بره‌های آزمایشی شد. نتایج میانگین طول و عرض قسمت‌های مختلف پرزهای شکمبه (جدول ۷) نشان داد که تنها اختلاف معنی‌داری در کیسه کور پشتی بین تیمارهای آزمایشی وجود داشت ($P<$۰/۰۵). به طوری که بیشترین و کمترین طول و عرض پرز کیسه کور پشتی به ترتیب در تیمار ۹ گرم مکمل پروبیوتیک و تیمار شاهد (بدون پروبیوتیک) مشاهده شد. نتایج نشان داد سطح ۹ گرم مکمل پروبیوتیک نسبت به سایر سطوح دارای بالاترین مقادیر صفات مذکور بود.

جدول ۶. میانگین صفات ریخت شناسی شکمبه برههای آزمایشی

فاکتورها	تیمارها				
	شاهد (فاقد پروبیوتیک)	۳ g پروبیوتیک	۶ g پروبیوتیک	۹ g پروبیوتیک	اشتباه استاندارد میانگین	احتمال معنی‌داری
حجم کل دستگاه گوارش (L)	۲/۶۵^{b}	۲/۷۰^{b}	۲/۹۰^{a}	۲/۹۵^{a}	۰/۰۴	۰/۴۲
وزن خالی کل دستگاه گوارش (g)	۶۳۱/۰۰^{b}	۶۵۲/۰۰^{ab}	۶۹۷/۰۰^{a}	۶۹۸/۰۰^{a}	۳/۸۶	۰/۰۲
وزن شکمبه (g)	۴۱۹/۰۰^{b}	۴۲۸/۰۰^{ab}	۴۵۵/۰۰^{b}	۴۷۳/۵۰^{a}	۱/۸۱	۰/۰۵
وزن نگاری (g)	۵۵/۵۰	۵۵/۷۷	۵۶/۵۰	۵۶/۶۱	۰/۴۰	۰/۸۷
وزن هزارلا (g)	۵۴/۱۶^{c}	۷۲/۴۵^{bc}	۹۴/۴۶^{b}	۹۷/۵۰^{a}	۰/۷۳	<۰/۰۰۱
وزن شیردان (g)	۷۷/۷۹^{b}	۸۱/۵۰^{ab}	۸۷/۹۱^{b}	۹۶/۰۲^{a}	۱/۲۳	۰/۰۰۱
حجم شکمبه (ml)	۲۰۵۰/۰۰	۲۱۰۰/۰۰	۲۱۵۰/۰۰	۲۲۵/۰۰	۲۲/۰۹	۰/۳۵
حجم نگاری (ml)	۱۴۵/۰۰^{c}	۱۶۰/۰۰^{bc}	۱۹۰/۰۰^{b}	۲۲۵/۰۰^{a}	۲/۳۳	۰/۰۰۲
حجم هزارلا (ml)	۶۵/۰۰	۶۵/۵۰	۶۷/۰۰	۶۷/۵۰	۲/۶۵	۰/۹۷
حجم شیردان (ml)	۱۹۵/۰۰^{c}	۳۰۵/۰۰^{b}	۳۱۵/۰۰^{b}	۳۴۵/۰۰^{a}	۴/۳۴	<۰/۰۰۱

میانگین‌هایی که در هر ردیف با حروف لاتین متفاوت نشان داده شده است دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند ($P<$ ۰/۰۵)

جدول ۷. میانگین طول و عرض پرزهای شکمبه برههای آزمایشی

تیمارها / فاکتورها	طول پرز (mm)			عرض پرز (mm)		
	کور پشتی	کور شکمی	جلویی	کور پشتی	کور شکمی	جلویی
شاهد (فاقد پروبیوتیک)	۴/۰۰^{b}	۳/۹۵	۴/۱۰	۱/۱۱^{b}	۱/۰۳	۱/۰۲
۳ g پروبیوتیک	۴/۰۵^{b}	۴/۰۵	۴/۱۵	۱/۱۳^{b}	۱/۰۵	۱/۰۴
۶ g پروبیوتیک	۴/۱۰^{b}	۴/۱۹	۴/۱۷	۱/۱۲^{b}	۱/۰۶	۱/۰۵
۹ g پروبیوتیک	۴/۴۴^{a}	۴/۲۴	۴/۲۵	۱/۲۰^{a}	۱/۰۷	۱/۰۷
اشتباه استاندارد میانگین	۰/۰۲	۰/۰۵	۰/۰۳	۰/۰۰۶	۰/۰۰۵	۰/۰۱
احتمال معنی‌داری	۰/۰۲	۰/۳۰	۰/۴۵	۰/۰۳	۰/۱۶	۰/۴۴

میانگین‌هایی که در هر ستون با حروف لاتین متفاوت نشان داده شده است دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند ($P <$ ۰/۰۵)

بحث

مایع شکمبه و نیتروژن آمونیاکی: نتایج مطالعه حاضر در مورد نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین سطوح مختلف مکمل پروبیوتیک بین تیمارهای آزمایشی وجود داشت به طوری که با افزایش سطح مکمل پروبیوتیک، مقدار نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه برههای آزمایشی افزایش یافت. در همین راستا، در یک مطالعه افزودن پروبیوتیک به جیره گوسالهها سبب شد نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه در تیمار حاوی پروبیوتیک نسبت به تیمار شاهد دارای مقدار بالاتری باشد که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت داشت (۴۳). مکمل پروبیوتیک فعالیت میکروبی در شکمبه را در نتیجه افزایش جذب آمونیاک برای سنتز پروتئین میکروبی، بهبود میبخشد (۲۹) که دارای اثربخشی بالایی در برهها میباشد (۳۰). در یک مطالعه اثر افزودن پروبیوتیک باکتریایی (پروتکسین) بر فراسنجههای شکمبهای گوسالههای هلشتاین مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که میانگین pH مایع شکمبه گوسالههای تغذیه شده با سه جیره (شامل شاهد بدون پروبیوتیک، پروبیوتیک در شیر جایگزین و در خوراک آغازین) مورد مطالعه با هم تفاوت معنیدار نداشتند (۱) که با نتایج تحقیق حاضر در مقدار pH مایع شکمبه برههای آزمایشی همسو بود. در یک تحقیق اختلاف آماری معنیداری در pH مایع شکمبه بین تیمار شاهد (بدون مکمل پروبیوتیک) و تیمارهای حاوی سطوح مختلف مکمل پروبیوتیک در برهها مشاهده نشد (۲۸) ولی روی نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه اثر معنیداری داشت که با نتایج تحقیق حاضر همخوانی دارد.

استفاده از پروبیوتیکها دارای مزایای زیادی برای حیوانات نشخوارکننده میباشد که از آن جمله میتوان به کاهش تولید لاکتات، بهبود ثبات pH، تغییر نسبت های اسیدهای چرب فرار، افزایش جریان پروتئین میکروبی، افزایش تجزیه سلولز و افزایش قدرت بقای باکتریهای شکمبه اشاره کرد (۲۶،۳۱،۴۱). مطابق با نتایج مربوط به تحقیق حاضر، نتایج دو مطالعه روی گاوهای شیری نشان داد که pH مایع شکمبه تحت تأثیر تیمار پروبیوتیک قرار نگرفت (۳۹،۴۳). Brossard و همکاران (۲۰۰۶) گزارش نمودند که پروبیوتیک قادر به

تثبیت pH شکمبه گوسفند به وسیله افزایش پروتوزوآها است (۱۱). بر خلاف نتاج جدول ۳ در مطاله حاضر، طبق گزارش Abd El – Ghani در سال ۲۰۰۴ افزودن پروبیوتیک در جیره گوسفندان pH شکمبه را افزایش داد (۲) که می‌تواند به دلیل کاهش غلظت اسیدلاکتیک از طریق افزایش فعالیت باکتری‌های مصرف کننده لاکتات با تأمین عوامل رشد مانند ویتامین‌های گروه ب و اسیدهای آمینه و اسید دی‌کربوکسیک چرخه کربس مانند فومارات و مالات در شکمبه دام تغذیه شده با جیره‌های مکمل سازی شده با پروبیوتیک باشد (۳۴). همچنین برخلاف نتایج مربوط به نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه در تحقیق حاضر (جدول ۳)، نتیجه یک مطالعه نشان داد که پروبیوتیک‌ها تأثیری روی غلظت نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه گاوهای شیری نداشت (۱۵). علت تفاوت در نتایج مقادیر نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه دام‌های آزمایشی در این تحقیق با تحقیقات دیگر، ممکن است به خاطر ماهیت پروتئین جیره و تفاوت سویه‌های مکمل پروبیوتیک مورد استفاده، باشد.

نتایج برخی مطالعات نشان داد در حیوانات دریافت‌کننده پروبیوتیک به دلیل فعال بودن فعالیت‌های متابولیکی باکتری‌های مصرف کننده لاکتات در زمان اوج تخمیر، افت pH کمتری نسبت به تیمار شاهد اتفاق افتاد (۲۹،۳۵). یکی از روش‌های کنترل فرایند تخمیر در شکمبه استفاده از پروبیوتیک‌ها در جیره غذایی دام است که اثر مثبت روی تخمیر گذاشته و ثبات pH مایع شکمبه و افزایش غلظت اسیدهای چرب فرار مایع شکمبه گاو شیری (۱۴)، افزایش جمعیت کل باکتری‌های مایع شکمبه گوسفند (۳۳)، باکتری‌های تجزیه کننده لاکتات، تک یاخته‌های مایع شکمبه گوساله پرواری (۳۷) و کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی گاو شیری (۱۹) و لاکتات مایع شکمبه در شرایط in vitro (۳۴) را موجب می‌شود. شیوه عمل پروبیوتیک‌ها در جیره بر بهبود عملکرد حیوانات اهلی ناشی از تغییر و تعدیل فعالیت میکروبی، فعالیت تخمیری و هضمی در شکمبه می‌باشد و اثبات شده است که فرآورده‌های پروبیوتیک حاوی باکتری‌های زنده می‌توانند گروه‌های ویژه‌ای از باکتری‌های مفید در شکمبه را تحریک کند. اثرات مکمل‌های پروبیوتیکی بر تولید حیوان، وابسته به سویه باکتریایی هستند (۵). برخلاف نتیجه تحقیق حاضر (جدول ۳)، نتیجه یک مطالعه در شرایط آزمایشگاهی نشان داد که پروبیوتیک از نوع مخمر منجر به کاهش میزان اسیدلاکتیک و پتانسیل اکسیداسیون-احیاء مایع شکمبه، افزایش pH مایع شکمبه و تعداد باکتری‌های سلولولایتیک و همچنین افزایش هضم شکمبه‌ای الیاف خام می‌شود (۱۲).

ترکیب اسیدهای چرب فرار: نتایج میانگین ترکیب اسیدهای چرب مایع شکمبه در تحقیق حاضر (جدول ۴) نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی وجود نداشت. در همین راستا، در مطالعه Qadis و همکاران (۲۰۱۴) اثر پروبیوتیک باکتریایی بر فراسنجه‌های شکمبه‌ای گوساله‌های هلشتاین مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که غلظت اسیدهای چرب فرار شکمبه تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت (۳۸) که با نتایج تحقیق حاضر همسو است. برخلاف نتایج تحقیق حاضر، نتایج برخی تحقیقات نشان داد که پروبیوتیک‌ها می‌تواند سبب افزایش غلظت اسیدهای چرب فرار مایع شکمبه شوند؛ طوری که افزایش غلظت اسیدهای چرب فرار مایع شکمبه حیوانات مصرف کننده پروبیوتیک ناشی از افزایش جمعیت باکتری‌های شکمبه و در نتیجه افزایش میزان و شدت تخمیر در شکمبه می‌باشد (۴۶، ۲۸،۱۴). محصولات نهایی تخمیر خوراک در شکمبه دام‌های شیرخوار به ترتیب استات، پروپیونات و بوتیرات می‌باشند. بوتیرات به رغم غلظت پایین‌تر اما نقش مهم‌تری در تحریک رشد و توسعه دیواره شکمبه دارد (۴۶). توانایی نشخوارکننده جوان برای حفظ خود از راه تغذیه تا حد زیادی به تکامل شکمبه وابسته است. تکامل شکمبه چندین فرایند را در بر می‌گیرد که شامل افزایش حجم و بافت عضلانی و رشد بافت پوششی شکمبه و ایجاد جمعیت پایدار و متعدد میکروارگانیسم‌های شکمبه است که پیش از تبدیل یک دام شیرخوار به دام نشخوارکننده، رشد و توسعه سطحی جذبی شکمبه (پرزها) ضروری است تا قابلیت جذب و مصرف محصولات نهایی حاصل از هضم میکروبی، به خصوص اسیدهای چرب فرار شکمبه‌ای فراهم شود (۲۷). حضور جذب اسیدهای چرب فرار، حاکی از تحریک متابولیسم بافت پوششی شکمبه است و در این میان استفاده از افزودنی‌های پروبیوتیکی موجب تکامل و توسعه بافت‌های شکمبه می‌شوند (۴۲). مقایسه نتایج این پژوهش با سایرین به دلیل تفاوت در ترکیب پروبیوتیک و جیره مشکل است. انتظار می‌رفت در جیره‌های حاوی پروبیوتیک غلظت اسیدهای چرب فرار مایع شکمبه بره‌های آزمایشی به خصوص پروپیونات افزایش یابد. زیرا افزودن پروبیوتیک می‌تواند سبب تحریک باکتری‌های مصرف کننده اسید لاکتیک و تبدیل آن به پروپیونات شود، ولی احتمالاً به دلیل نوع جیره غذایی، سطح پروبیوتیک مورد استفاده، سن دام مورد آزمایش و همچنین اعمال پروبیوتیک در جایگزین شیر مصرفی بره های آزمایشی در این مطالعه، تفاوت در نتایج حاصل شد.

جمعیت پروتوزوآها: نتایج میانگین تعداد پروتوزوآهای مایع شکمبه در مطالعه حاضر (جدول ۵) نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی وجود داشت طوری که با افزایش سطح مکمل پروبیوتیک جمعیت پروتوزوآهای مایع شکمبه بره‌های آزمایشی نیز افزایش یافت همسو با نتایج تحقیق حاضر، در یک مطالعه نشان داده شد که افزودن پروبیوتیک در جیره بره‌های شیرخوار، سبب استقرار زودتر پروتوزوآها در شکمبه نسبت به تیمار شاهد شد و همچنین تنوع بالاتری از جمعیت پروتوزوآها در حضور پروبیوتیک مشاهد شد (۱۸). متخصصین میکروبیولوژی و تغذیه نشخوارکنندگان علاقه‌مند به دستکاری اکوسیستم شکمبه برای بهبود اندمان تولید نشخوارکنندگان می‌باشند. اثرات سودمندی پروبیوتیک‌ها در نشخوارکنندگان احتمالاً در ارتباط با توسعه و افزایش جمعیت باکتری‌های سلولولایتیک، پکتینولایتیک و کل باکتری‌های شکمبه (۱۶)، ایجاد تغییرات در جمعیت پروتوزوآی شکمبه (۸) و همچنین تاثیر بر درصد جمعیتی پروتوزوآهای مختلف (۶) می‌باشد. نتایج برخی پژوهش‌ها نشان داد که پروبیوتیک باعث افزایش معنی‌داری در جمعیت کل پروتوزوآی مایع شکمبه گوسفند شد (۷، ۱۱) که با نتایج تحقیق حاضر همخوانی داشت. پروبیوتیک‌ها احتمالاً به دلایل زیر می‌توانند باعث افزایش در تعداد جمعیت پروتوزوآهای شکمبه شوند. افزایش پروبیوتیک می‌تواند منجر به افزایش جمعیت باکتریایی شکمبه شود که در نهایت باکتری‌ها به عنوان منبع انرژی و پروتئین مورد مصرف پروتوزوآها قرار می‌گیرند. از این طریق پروبیوتیک می‌تواند باعث تعادل نیتروژن در شکمبه نیز شود. همچنین پروبیوتیک می‌تواند باعث حفظ و تثبیت pH شکمبه شده و از این طریق می‌تواند باعث افزایش مقدار خوراک مصرفی و افزایش تعداد و فعالیت پروتوزوآی شکمبه شود (۱۲،۵۰) که در تحقیق حاضر چنین نتایج حاصل شد.

ریخت شناسی، توسعه و تکامل شکمبه: نتایج ریخت شناسی شکمبه در تحقیق حاضر (جدول ۶) نشان داد که با افزایش سطح مکمل پروبیوتیک، وزن و حجم برخی قسمت‌های مختلف شکمبه به طور معنی‌داری افزایش یافت طوری که بین سطوح مختلف مکمل پروبیوتیک اختلاف معنی‌داری بود و همچنین سطح ۹ گرم نسبت به سایر سطوح پروبیوتیک سبب بهبود فاکتورهای مور نظر در بره‌های آزمایشی شد. همچنین نتایج میانگین طول و عرض قسمت-های مختلف پرزهای شکمبه در تحقیق حاضر (جدول ۷) نشان داد که بیشترین و کمترین طول و عرض پرز کیسه کور پشتی به ترتیب در تیمار ۹ گرم مکمل پروبیوتیک و تیمار شاهد (بدون مکمل پروبیوتیک) مشاهده شد. همسو با نتایج تحقیق حاضر، در یک مطالعه نشان داده شد که تیمارهای حاوی پروبیوتیک نسبت به تیمار شاهد دارای عمق کریپت بیشتری در روده باریک گوساله‌های جوان بودند (۴۵). در مراحل اولیه زندگی نشخوارکنندگان که شیر ماده غذایی اصلی است، غذا از شکمبه عبور نمی‌کند. فاصله میان انتهای مری و سوراخ نگاری- شیردان کوتاه است و از طریق آن غذا وارد شکمبه نمی‌شود. در حیوانات جوان واکنشی دیده می‌شود که شکاف مری میان دو سوراخ یا اصطلاحاً شکاف مری را می‌بندد و بدین ترتیب غذا به طور مستقیم از مری به نگاری و سپس به شیردان وارد می‌شود. بدین ترتیب، مزایای بالقوه پروبیوتیک‌ها برای نشخوارکنندگان احتمالاً ببشتر از مزایای مصرف این مواد در حیوانات تک‌معده‌ای خواهد بود. مصرف پروبیوتیک‌ها در نشخوارکنندگان از طریق افزایش سرعت شکل گیری فلور و فون شکمبه، مزایایی را به همراه دارد (۳،۳۵). استفاده از پروبیوتیک‌ها می‌توانند باعث توسعه دستگاه گوارش (شکمبه) و در نتیجه افزایش قابلیت هضم مواد مغذی در گوساله‌ها شود (۲۳). طبق نتیجه مطالعه Brewer و همکاران (۲۰۱۴)، پروبیوتیک باعث توسعه و تکامل شکمبه در گوساله‌های شیرخوار هلشتاین شد (۱۰). در تحقیق Xiao و همکاران (۲۰۱۶) نشان داده شد که پروبیوتیک سبب ایجاد تغییرات معنی‌داری روی طول و عرض پرزهای شکمبه گوساله‌های شیرخوار ۴ الی ۵۶ روزگی شد؛ طوری که کیسه‌های کور جلویی و شکمی در تیمار مکمل پروبیوتیک دارای طول بیشتری نسبت به تیمار شاهد بودند و همچنین اختلاف معنی‌داری در وزن شکمبه، نگاری، هزارلا و شیردان بین تیمارها مشاهده نشد که با نتایج تحقیق حاضر (جدول ۶) مطابقت نداشت (۴۸).

نتیجه گیری نهایی: نتایج کلی حاصل از تحقیق نشان داد که میانگین نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه بره‌های آزمایشی با افزایش سطح مکمل پروبیوتیک، به طور معنی داری افزایش یافت. در نتایج میانگین تعداد پروتوزوآهای مایع شکمبه نیز با افزایش سطح پروبیوتیک جمعیت پروتوزوآهای مایع شکمبه بره‌های آزمایشی افزایش یافت. در خصوص نتایج ریخت شناسی شکمبه با افزایش سطح مکمل پروبیوتیک، وزن و حجم برخی قسمت‌های مختلف شکمبه و طول و عرض قسمت‌های مختلف پرزهای شکمبه به طور معنی‌داری افزایش یافت طوری که سطح ۹ گرم نسبت به سایر سطوح مکمل پروبیوتیک سبب بهبود صفات مورد اشاره در بره‌های آزمایشی شد. در کل با توجه به نقش افزودنی‌های میکروبی در بهبود عملکرد شکمبه و به خصوص رشد و توسعه مناسب بخش‌های مختلف دستگاه گوارش حیوانات شیرخوار و تعدیل جمعیت میکروبی شکمبه، استفاده از این

گونه مکمل‌های مفید با توجه به سطح مورد استفاده در جیره غذایی و جایگزین شیر مصرفی می‌تواند توصیه شود.

سپاسگزاری

بدین وسیله از مدیریت مزرعه پروش گوسفند داشتی، آقای دکتر موسوی به جهت فراهم آوردن کلیه امکانات و تسهیلات برای اجرای پروژه قدردانی می‌شود. همچنین از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری که شرایط انجام این طرح پژوهشی را فراهم کردند تشکر می شود.

تعارض منافع

بین نویسندگان تعارض در منافع گزارش نشده است.

References

1. Abaadi, M. H., Dehghan Bonadaki, M., Zali, A. (2013). The effect of feeding of bacterial probiotic in milk or starter on growth performance, health, blood and rumen parameters of suckling calves. Res on Anim Prod. 4, 57-69. (In Persian)
2. Abd El –Ghani, A. A. (2004) Influence of diet supplementation with yeast *Saccharomyces erevisiae* on performance of Zaraibi goats. Small Rumin Res. 52, 223-229. https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2003.06.002.
3. ABE, F., Ishibashi, N., Shimamura, S. (1995). Effect of administration of Bifidobacteria and lactic Acid bacteria to newborn calves and piglets. J Dairy Sci. 78, 2838-2846. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(95)76914-4 PMID: 8675766.
4. Agarwal, N., Kamra, D. N., Chaudhary, L. C., Sahoo, A., Pathak, N. N. (2002). Microbial status and rumen enzyme profile of crossbred calves fed on different microbial feed additives. Lett Appl Microbiol. 34, 329-336. https://doi.org/10.1046/j.1472-765X.2002.01092.x . PMID: 11967054.
5. Aldana, C., Cabra, S., Ospina, C. A., Carvajal, F., Rodríguez, F. (2008). Effect of a probiotic compound in rumen development, diarrhea Incidence and weight gain in young Holstein calves. Waste J. 9, 489-492.
6. Arakaki, L. C., Stahringer, R. C., Garrett, J. E., Dehority, B. A. (2000). The effects of feeding monensin and yeast culture, alone or in combination, on the concentration and generic composition of rumen protozoa in steers fed on low-quality pasture supplemented with increasing levels of concentrate. Anim Feed Sci Technol. 84, 121-127. https://doi.org/10.1016/S0377-8401(00)00108-5.
7. Arcos- Garcia, J. L., Castrejon, F. A., Mendoza, G. D., Perez –gavilan, E. P. (2000). Effect of two commercial Yeast culture with *Saccharomyces cerevisiae* on ruminal fermentation and digestion in sheep fed sugar cane tops. Livest Prod Sci. 63, 153-157. https://doi.org/10.1016/S0301-6226(99)00116-5 .
8. Ayala, O. J., Gonzalez, S. S., Herrera, R., Mendoza, G. D. (1992) Effect of a probiotic and a molasses-urea supplement on fiber digestibility of sesame straw. J Anim Sci 70, 307-314. (Abstr).
9. 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. https://doi.org/10.2527/2003.8161628x. PMID: 12817511.
10. Brewer, M. T., Anderson, K. L., Yoon, I., Scott, M., Carlson, S. A. (2014) Amelioration of salmonellosis in pre-weaned dairy calves fed Saccharomyces cerevisiae fermentation products in feed and milk replacer. Vet. Microbiol. 172, 248–255. https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2014.05.026. PMID: 24954478
11. Brossard, L., Chaucheyras-Durand, F., Michalet-Doreau, B., Martin, C. (2006). Dose effect of live yeasts on rumen microbial communities and fermentations during butyric latent acidosis in sheep: new type of interaction. Anim Sci. 82, 1-8. https://doi.org/10.1017/ASC200693.
12. Callaway, E. S., Martin, S. A. (1997). Effects of a *Saccharomyces cerevisiae* culture on ruminal bacteria that utilize lactate and digest cellulose. J Dairy Sci. 80, 2035–2044. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(97)76148-4. PMID: 9313145.
13. Conway, W. J. (1950). Micro diffusion analysis and volumetric error. (2th ed). Crosby Lock Wood and Son. London, U.K.
14. Corro, M. D., Lebzien, P., Rohr, K. (1992). Effect of yeast culture on rumen fermentation, digestibility and duodenal flow in dairy cows fed a silage based Diet. Livest Prod Sci. 32, 219-229. https://doi.org/10.1016/S0301-6226(12)80003-0.
15. Chiquette, J., Allison, M. J., Rasmussen, M. (2012). Use of *Prevotella bryantii* 25A and a commercial probiotic during sub-acute acidosis challenge in midlactation dairy cows. J Dairy Sci. 95, 5958-5995. https://doi.org/10.3168/jds.2012-5511 PMID:22901468.
16. Dawson, K. A., Newman, K. E., Boiling, J.E. (1990). Effects of microbial supplements containing yeast and lactobacilli on roughage-fed ruminal microbial activities. J Anim Sci. 68, 3392-3398. PMID: 2123850.
17. Dehority, B. A. (1993). Laboratory Manual for Classification and Morphology of Rumen Ciliate Protozoa. (1st ed.). Taylor & Francis Group. Boca Raton London New York. USA. p. 120-124.
18. Durand, C. F., Fonty, G. (2002) Inuence of Probiotic Yeast (*Saccharomyces cerevisiae* CNCM I-1077) on microbial colonization and fermentations in the rumen of newborn lambs. Microb Ecol Health Dis. 14, 30-36. https://doi.org/10.3402/mehd.v14i1.8215 .
19. Enjalbert, F., Garret, J. E., Moneoulon, R., Bayourthe C., Chicoteau, P. (1999). Effects of yeast culture (Saccharomyces cerevisiae) on ruminal digestion in non-lactating dairy cows. Anim Feed Sci Technol. 76, 195-206. https://doi.org/10.1016/S0377-8401(98)00230-2 .
20. Erasmus, L. J., Botha, P. M., Kistner, A. (1992). Effect of yeast culture supplement on production, rumen fermentation and duodenal nitrogen flow in dairy cows. J Dairy Sci. 75, 3056-3065. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(92)78069-2 . PMID:1460136.
21. Fuller, R. (1989) Probiotics in man and animal. J APP Bacteriol. 66, 365-378. PMID: 2666378.
22. Fuller, R. (1992) Probiotics: the scientific basis. (1st ed.). Springer. New York City. USA. p.1-20.

23. Galvao, K. N., Santos, J. E., Coscioni, A., Villasenor, Sischo, M. W. M., Berge, A. C. (2005). Effect of feeding live yeast products to calves with failure of passive transfer on performance and patterns of antibiotic resistance in fecal Echerchia coli. Reprod Nutr Dev. 45, 427-440. https://doi.org/ 10.1051/rnd:2005040. PMID: 16045891.

24. Górka, P., Kowalski, Z. M., Pietrzak, P., Kotunia, A., Jagusiak, W., Holst, J. J., Guilloteau, P. (2011). Effect of method of delivery of sodium butyrate on rumen development in newborn calves. J Dairy Sci 94, 5578- 5588. https://doi.org/10.3168/jds.2011-4166. PMID: 22032381.

25. Ghorbani, G. R., Morgavi, D. P., Beauchemin, K. A., Leedle, J. A. Z. (2002). Effects of bacterial direct-fed microbials on rumi nal fermentation, blood variables, and the microbial populations of feedlot cattle. J Anim Sci. 80, 1977–1985. PMID: 12162668.

26. Haddad, S. G., Goussous, S. N. (2005). Effect of yeast culture supplementation on nutrient intake, digestibility and growth performance of Awassi lambs. J Anim Feed Sci Tech. 118, 343-348. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2004.10.003 .

27. Heinrichs, J. (2005). Rumen Development in the Dairy calf. Adv in Dairy Technolo. 17, 179-187.

28. Hillal, H., Gamal, E., Mohamed, A. (2011). Effect of growth promoters (probiotics) supplementation on performance, rumen activity and some blood constituents in growing lambs. Arch. Tierz 54, 607-617. https://doi.org/10.5194/aab-54-607-2011.

29. 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. (Abstr).

30. Jouany, J. P., Mathieu, F., Senaud, J., Bohaitier, J., Bertin, G., Mercier, M. (1998). The effect of *Saccharomyces cerevisiae* and Aspergilus oryzae on the digestion of nitrogen in rumen of defaunated and refaunated sheep. Anim Feed Sci Tech. 75, 1-13. https://doi.org/10.1016/S0377-8401(98)00194-1

31. Kumar, U., V. Sareen, K., Singh, S. (1997). Effect of yeast culture supplementation on ruminal microbial populations and metabolism in buffalo calves fed a high roughage diet. J Sci Food Agric. 73, 231–236. https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(199702)73:2<231::AID-JSFA710>3.0.CO;2-D .

32. Lesmeister, K. E., Tozer, P. R., Heinrichs, A. J. (2004). Development and analysis of a rumen tissue sampling procedure. J Dairy Sci. 87, 1336–1344. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(04)73283-X . PMID: 15290981.

33. Newbold, C. J., Wallace, R. J., Chen, X. B., McIntosh, F. M. (1995). Different strains of *Saccharomuces cerevisiae* differ in rheir effects on ruminal bacterial numbers in vitro and in sheep. J Anim Sci. 73,1811-1818. PMID: 7673076.

34. Nisbet, D. J., Martin, S. A., (1991). Effect of *Saccharomyces cerevisiae* culture on lactate utilization by the ruminal bacterium Selenomonas ruminantium. J Anim Sci 69, 4628-4633. PMID: 1752834.

35. 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. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(02)74091-5 .

36. Ottenstein, D. M., Bartley, D. A. (1971). Separation of free acids in dilute aqueous solution column technology. J Chromatogr Sci: 9, 673–681. https://doi.org/10.1093/chromsci/9.11.673 .

37. Plata, F., Menfoza, G., Barcena, D.,Gonzalez, S. (1994). Effect of a yeast culture(*Saccharomyces cerevisiae*)on neutral detergent fiber digestion in steers fed oat straw based diets. Anim Feed Sci Technol. 49, 203-210. https://doi.org/10.1016/0377-8401(94)90046-9.

38. Qadis, A. Q., Goya. S., Ikuta, K., Yatsu, M., Kimura, A., Nakanishi, S., Sato, S. (2014). Effects of a bacteria-based probiotic on ruminal pH, volatile fatty acids and bacterial flora of Holstein calves. J Vet Med Sci. 76, 877-885. https://doi.org/10.1292/jvms.14-0028. PMID: 24614603.

39. Raeth-Knight, M. L., Linn, J.G., Jung, H. G. (2007). Effect of Direct-fed microbials on performance diet digestibility, and rumen characteristics of Holstein dairy cows. J Dairy Sci. 90, 1802-1809. https://doi.org/10.3168/jds.2006-643. PMID: 17369221.

40. 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. (In Persian).

41. Robinson, P. H, (2002) Yeast products for growing and lactating dairy cattle: Impact on rumen fermentation and performance. Dairy Rev. 9, 1-4.

42. Rupert, L. D., Gene, C., McCoy, M., Hutjens, F. (1998). Feeding of Probiotics to Calves. J Dairy Sci. 77, 296. (Abstr.)

43. Shahmoradi, A., Khoresh, M., Ghorbani, Gh., Nasrolahi, S. M., Vatandost, A. (2011) Effect of Two Stage Probiotic Supplementing as Monensin Replacement on High Producing Holstein Dairy Cows Performance. Res on Anim Prod. 2, 70-81. (In Persian).

44. Soren, N. M., Tripathi, M. K, Bhatt, R. S, Karim, S. A. (2013). Effect of yeast supplementation on the growth performance of Malpura lambs. Trop Anim Health Prod. 45, 547-554. https://doi.org/10.1007/s11250-012-0257-3. PMID: 22945430.

45. Tao, M., Yan, T., Qui, Y. (2014). Effects of Dietary Yeast β-Glucan on Nutrient Digestibilityand Serum *profiles in* pre-ruminant Holstein calve. J Integr Agr. 4, 749-757. https://doi.org/10.1016/S2095-3119(14)60843-1.

46. Weidmeier, R. D., Arambel, M. J., Walters, J. L. (1987). Effect of yeast culture and *Aspergillus oryzae* fermentation extract on ruminal characteristics and nutrient digestion. J Dairy Sci. 70, 2063-2071. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(87)80254-0. PMID: 3680724.

47. 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.

48. Xiao, J. X. Alugongo, G. M., Chung, R., Dong, S. Z., Li, S. L., Yoon, I., Wu ,Z. H., Cao, Z. J. (2014). Effects of *Saccharomyces cerevisiae* fermentation products on dairy calves: Ruminal fermentation, gastrointestinal morphology, and microbial community. J Dairy Sci. 99, 1-12. https://doi.org/10.3168/jds.2016-11399. PMID: 28012624.

49. Yoon, I. K., Stern, M. D. (1996). Effects of *Saccharomyces cerevisiae* and Aspergillus oryzae cultures on ruminal fermentation in dairy cows. J Dairy Sci. 79, 411-417. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(96)76380-4. PMID: 8708102.