نشریه پژوهش‌های علوم دامی/ جلد ۲۲ شماره ۱/ سال۱۳۹۱

اثرات سطوح مختلف مخمر ساکارومایسس سرویسیا بر اکوسیستم شکمبه ای و جمعیت پروتوزوآیی گوسفندان نژاد قزل

عادل انصاری[۱]، ا کبرتقی زاده [۲*] و حسین جانمحمدی[۲]

تاریخ دریافت: ۸۹/۷/۱۰ تاریخ پذیرش: ۹۰/۸/۱۵

[۱] دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم دامی دانشگاه تبریز

[۲] دانشیار گروه علوم دامی دانشگاه تبریز

[*]مسئول مکاتبه: E mail:ataghius@yahoo.com

چکیده

هدف این مطالعه بررسی اثرات مخمر ساکارومایسس سرویسیا بر پارامترهای تخمیر شکمبه ای و تنوع زیستی و توزیع جمعیتی پروتوزوآهای مژکدار شکمبه در گوسفند قزل بود. بدین منظور ۱۶راس گوسفند نر با وزن زنده (۳۳/۸±۶/۵) در قالب طرح کاملا تصادفی انتخاب و ۴ جیره حاوی صفر،۲/۵، ۵ و ۷/۵ گرم مخمر ساکارومایسس سرویسیا به ازای هر راس در هر روز مورد تغذیه قرار گرفت. نمونه برداری از مایع شکمبه گوسفندان در دو زمان، قبل از مصرف غذا (صفر ساعت) و همچنین ۲ ساعت بعد از غذا صورت گرفت. تعداد و تنوع زیستی پروتوزوآها در سطح گونه با استفاده از لام نئوبار مورد شمارش قرار گرفت. پارامترهای pH شکمبه ای، مدت زمان احیاء متیلن بلو و زمان ترسیب و شناوری نیز مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج در قالب طرح کاملا تصادفی با ۴ تکرار با نرم افزار SAS مورد تجزیه وتحلیل قرار گرفت و برای مقایسه میانگین ها از آزمون دانکن استفاده گردید. pH شکمبه ای گوسفندان تیمار شده با مخمر نسبت به تیمار کنترل بالاتر بود (P< ۰/۰۵) همچنین گوسفندانی که مخمر دریافت کرده بودند مدت زمان احیاء متیلن بلو و زمان ترسیب و شناوری پایین تری (P< ۰/۰۵) نسبت به گروه کنترل داشتند. بر پایه نتایج حاصل از این مطالعه، با افزایش سطح مخمر مصرفی، تعداد کل جمعیت پروتوزوآیی در هر دو زمان نمونه برداری روند افزایشی نشان داد. همچنین توزیع جنسی پروتوزوآها نیز در هر دو زمان نمونه برداری شده تحت تاثیر افزودن مخمر قرار گرفت (P<۰/۰۵). پروتوزوآی انتودینیوم، جنس غالب مشاهده شده و شمارش شده در نمونه های مایع شکمبه استحصالی بود و بیشترین تعداد پروتوزوآ در تیمار حاوی ۷/۵ گرم مخمر ساکارومایسس سرویسیا مشاهده گردید. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که مخمر ساکارومایسس سرویسیا روند تخمیر شکمبه ای را تغییر داده، و متعاقبا پتانسیل ایجاد تغییر و دستکاری اکوسیستم شکمبه را نیز داراست.

واژه های کلیدی: انتودینومورف، پروتوزوآ، مخمر ساکارومایسس سرویسیا، هولوتریش

Effects of different levels of yeast *Saccharomyces cerevisiae* on ruminal ecosystem and ciliate protozoa population in Ghizel sheep

A Ansari[1], A Taghizadeh[2*] and H Janmohammadi[2]

Received: October 02, 2010 Accepted: November 06, 2011
[1]MSc Graduated Student, Department of Animal Science, University of Tabriz, Tabriz, Iran
[2]Associate Professor, Department of Animal Science, University of Tabriz, Tabriz, Iran
[*]Corresponding author: E-mail: ataghius@yahoo.com

Abstract
The purpose of this study was to evaluate effects of yeast culture on rumen fermentation parameters, rumen protozoa biodiversity and generic distribution in Ghizel sheep. Sixteen rams (33.8±6.5) were used in a completely randomized design and treatments contained 0, 2.5, 5 and 7.5 g YSC (yeast Saccharomyces cerevisiae)/head/day. Rumen fluid samples were collected from all rams pre feeding and 2 h after morning feeding. Protozoa were counted using a Neubauer Improved Bright-Line counting cell. Ruminal pH, Methylen Blue Retention Time and Sedimentation and Floating Time also were evaluated. Data were analyzed in a completely randomized design with 4 replacements by SAS software and treatment means were compared by the Duncan test. Ruminal pH of YSC treated sheep were higher than control sheep (P<0.05), also sheep that received YSC, had lower (P<0.05) MBRT and SFT than control group. According to obtained data, total count of protozoa population in both sampling time showed an upward trend by increasing of YSC level. Also generic distribution of protozoa were affected by yeast addition in both sampling time (P<0.05). Entodinium genus was the most popular ciliate protozoa which identified and counted in the ruminal fluid. Number of total protozoa was higher in the 7.5 g YSC treatment. It was concluded that YSC was affected ruminal fermentation mechanism, so YSC had potential for ruminal ecosystem manipulating.

Keywords: Entodiniomorph, Protozoa, Yeast saccharomyces cerevisiae, Holotricha

مقدمه

متخصصین میکروبیولوژی و تغذیه نشخوارکنندگان علاقه‌مند به دستکاری اکوسیستم شکمبه برای بهبود راندمان تولید نشخوارکنندگان می باشند. اثرات سودمندی مخمر ساکارومایسس سرویسیا در نشخوارکنندگان احتمالا در ارتباط با توسعه و افزایش جمعیت باکتری های سلولولایتیک، پکتینولایتیک و کل باکتری های شکمبه (داوسون و همکاران ۱۹۹۰)، ایجاد تغییرات در جمعیت پروتوزوآیی شکمبه (آیالا و همکاران ۱۹۹۲) و همچنین تاثیر بر درصد جمعیتی پروتوزوآهای مختلف (آراکاکی وهمکاران ۲۰۰۰) باشد.

افزودن مخمر ساکارومایسس سرویسیا به جیره نشخوارکنندگان منجر به کاهش میزان اسیدلاکتیک و پتانسیل اکسیداسیون- احیا مایع شکمبه، افزایش pH شکمبه و تعداد باکتری های سلولولایتیک و همچنین افزایش هضم شکمبه ای فیبر می گردد (کالاوی و مارتین ۱۹۹۷). نیوبلد وهمکاران (۱۹۹۳) نتیجه گیری نمودند که مصرف اکسیژن موجود در شکمبه به عنوان حداقل فعالیت مخمر ساکارومایسس سرویسیا در شکمبه، مطرح می باشد. هرچند تمام این تاثیرات در همه آزمایشات مشاهده نشده است و نتایج به نوع سویه مخمر انتخابی نیز بستگی دارد (نیوبلد و همکاران ۱۹۹۵).

استفاده از محصولات مخمری به عنوان افزودنی سالم و همچنین وسیله ای برای ایجاد تغییرات در سیستم شکمبه ای مطرح می باشد. گزارشات نشان می دهد که مصرف سلول های زنده مخمر ساکارومایسس

سرویسیا منجر به حذف و مصرف شدن اکسیژن موجود در محیط شکمبه وهمچنین آزاد شدن برخی آنزیم های ضروری، ویتامین ها و سایر مواد مغذی و فاکتورهای رشد می گردد که این عوامل می تواند به حیات و فعالیت مناسب میکروارگانیسم های شکمبه ای در محیط شکمبه کمک شایانی نماید (دینگ و همکاران ۲۰۰۸). پروتوزوآهای مژکدار بصورت طبیعی در مایع شکمبه اغلب نشخوارکنندگان دیده می شوند. هرچند توزیع جنسی و گونه ای آن در حیوانات مختلف بسته به غذای مصرفی و موقعیت جغرافیایی می تواند متغییر باشد (دهوریتی ۱۹۷۹).

پروتوزوآها خاصیت صیادی نسبت به باکتری ها داشته و فعالیت پروتئولایتیکی شدیدی دارند. اگرچه پروتوزوآها در تخمیر در شکمبه ای نقش ضروری ندارند، غالبا در هضم فیبر موثر بوده و از افت شدید pH شکمبه جلوگیری می کنند. اگرچه ارزش بیولوژیکی پروتئین پروتوزوآیی و باکتریایی یکسان می‌باشد، قابلیت هضم پروتئین پروتوزوآیی بطور معنی داری بالاتر می باشد (دهوریتی ۱۹۸۶).

تاثیر پروتوزوآ بر هضم شکمبه بستگی به تراکم جمعیتی و توزیع جنسیتی جمعیت آنها دارد. تفاوت های موجود بین جنس های مختلف پروتوزوآها در مصرف ذرات غذایی و باکتری ها می تواند تنوع موجود در اثرات پروتوزوآ بر هضم را توجیه کند (جوانی و یوشیدا ۱۹۹۹).

هدف این مطالعه ارزیابی اثرات سطوح مختلف مخمر ساکارومایسس سرویسیا بر تنوع زیستی و تنوع جنسیتی پروتوزوآهای مژکدار شکمبه و همچنین پارامترهای تخمیری شکمبه در گوسفندان قزل بود.

مواد و روش ها

حیوانات آزمایشی وتیمارها

شانزده راس گوسفند نر قزل با وزن تقریبی (۶/۵±۳۳/۸ کیلوگرم) در این آزمایش مورد استفاده قرار گرفت. گوسفندان با توجه به وزن در ۴ گروه دسته بندی و در قفس های متابولیکی قرار گرفتند و روزانه دو بار (ساعت ۸ و ۱۶) بصورت آزاد با یونجه تغذیه شدند. مخمر مورد استفاده در این آزمایش مخمر بایوساف بود که حاوی سلول های زنده مخمر ساکارومایسس سرویسیا سویه SC47 (۵×۱۰^{۹} در هر گرم) می باشد. تیمارهای آزمایشی شامل ۴ تیماربود که تیمار شاهد بدون مخمر و سایر تیمارها حاوی ۲/۵، ۵ و ۷/۵ گرم مخمر ساکارومایسس سرویسیا به ازای هر راس در هرروز بود، که در وعده غذایی صبح به صورت محلول در مقدار کمی آب بر روی یونجه مصرفی حیوان اضافه شد.

جمع آوری نمونه

دوره آزمایشی ۲۱ روزه بود که ۷ روز برای عادت دهی به جیره مصرفی و قفس های متابولیکی و بقیه روزها به عنوان دوره آزمایش اصلی در نظر گرفته شد. در روز پایانی آزمایش نمونه های مایع شکمبه از همه گوسفندان در دومرحله‌ی قبل از مصرف خوراک و ۲ ساعت بعد از مصرف خوراک بوسیله لوله معدی استحصال گردید و بلافاصله از توری ۴ لایه فیلتر گردید. پنج میلی لیتر از مایع شکمبه به ۲۰ میلی لیتر محلول فرمالین (۸/۵ گرم نمک مرک، ۱۰۰ میلی لیتر فرمالین ۴۰٪ و ۹۰۰ میلی لیتر آب مقطر) اضافه شد و برای شناسایی و شمارش پروتوزوآها در دمای ۴ درجه سانتیگراد نگهداری گردید (ایوان و همکاران ۲۰۰۴). توزیع جنسیتی پروتوزوآها با روش اگیموتو و ایمای (۱۹۸۱) تعیین و شمارش پروتوزوآها با استفاده از لام نئوبار[1] صورت پذیرفت.

برای اندازه گیری پارامترهای شکمبه ای ۲ ساعت بعد از مصرف خوراک بوسیله لوله معدی مایع شکمبه استحصال و بلافاصله بوسیله pH متر دیجیتال pH مایع شکمبه اندازه گیری گردید. برای تعیین مدت زمان ترسیب و شناوری[2] مقداری از محتویات تازه جمع آوری شده را با عبور از پارچه تنزیب صاف نموده و در داخل لوله آزمایش (۱۵ سی سی) ریخته و زمان ته نشین شدن بررسی شد، همچنین برای تعیین مدت زمان احیا متیلن بلو[3] که شاخص مهمی برای فعالیت مایع شکمبه می باشد

[1] Neubauer Improved Bright-Line counting cell
[2] Sedemintation and floating time
[3] Methelyne blue reduction time

۱ میلی لیتر از محلول ۳ درصد متیلن بلو با ۲۰ میلی لیتر مایع شکمبه مخلوط و زمان احیا متیلن بلو یادداشت گردید (مقدم و تقی زاده ۱۳۷۹).

مدل آماری

برای اینکه داده‌های اولیه حاصل از شمارش پروتوزوآها دارای توزیع نرمال گردند، تبدیل داده لگاریتمی بر آنها اعمال گردید. آنالیز آماری بر روی داده های حاصل از تبدیل داده صورت گرفت. نتایج در قالب طرح کاملا تصادفی با ۴ تکرار با نرم افزار SAS مورد تجزیه وتحلیل قرار گرفت و میانگین ها با آزمون دانکن مورد ارزیابی قرار گرفت. و مدل آماری طرح به قرار زیر بود:

$$Yij = \mu + Ti + e\,ij$$

در این مدل μ میانگین کل، Ti اثر تیمار و eij خطای آزمایش است.

همچنین مقایسات متعامد برای اثرات سطوح مختلف مخمر با نرم افزار SAS (۲۰۰۲) صورت گرفت.

نتایج و بحث

نمونه های قبل از مصرف خوراک

میانگین پروتوزوآهای شمارش شده در نمونه های قبل از مصرف خوراک در جدول (۱) نشان داده شده است. بالاترین تعداد پروتوزوآی تشخیص داده شده و شمارش شده مربوط به نمونه های تیمار ۷/۵ گرم مخمر بود و اختلاف معنی داری (P<۰/۰۵) بین تیمارها مشاهده گردید.

توزیع جنسیتی پروتوزوآهای مژکدار در نمونه های قبل از مصرف خوراک در جدول (۲) نشان داده شده است. پروتوزوآهای مژکدار تشخیص داده شده در این نمونه ها متعلق به خانواده انتودینیومورف بود و تنها جنس های انتودینیوم، اپیدینیوم و ائودیپلودینیوم شناسایی و شمارش شدند. جنس انتودینیوم، پروتوزوآی غالب شمارش شده در این نمونه ها بود. جنس های انتودینیوم و ائودیپلودینیوم شمارش شده بین تیمارهای مختلف، اختلاف معنی داری (P<۰/۰۵) نشان داد که این اختلاف معنی دار در مقایسات متعامد بصورت رابطه خطی بود.

افزایش مشخص در تعداد پروتوزوآهای مژکدار شکمبه به عنوان نتیجه افزودن مخمر ساکارومایسس سرویسیا در این مطالعه با نتایج محققین دیگر نظیر پلاتا و همکاران (۱۹۹۴)، میراندا و همکاران (۱۹۹۶)، آراکاکی و همکاران (۲۰۰۰) و بروسارد و همکاران (۲۰۰۶) همخوانی دارد.

نمونه های بعد از مصرف خوراک

میانگین پروتوزوآهای شمارش شده در نمونه های بعد از مصرف خوراک در جدول (۳) نشان داده شده است. تعداد پروتوزوآهای مربوط به خانواده انتودینیومورف و خانواده هولوتریشا و همچنین تعداد کل پروتوزوآهای شمارش شده در بین تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری (P<۰/۰۵) نشان داد. بین تیمار کنترل و تیمار های حاوی مخمر و همچنین بین تیمارهای حاوی سطوح مختلف مخمر نیز اختلاف معنی داری (P<۰/۰۵) مشاهده شد.

داده های مطالعه حاضر، نتایج تحقیق انجام شده توسط ایمای و همکاران (۱۹۹۵) را تایید می کند که پیشنهاد داده بودند که تغییرات روزانه در تعداد پروتوزوآهای مژکدار شکمبه در گوسفند به علت کاهش تعداد پروتوزوآهای انتودینومورف بعد از مصرف خوراک و سپس افزایش تدریجی آنها و همچنین افزایش تعداد پروتوزوآهای هولوتریشا بعد از مصرف خوراک می‌باشد.

جدول ۱- میانگین تعداد پروتوزوآها در نمونه های قبل از مصرف غذا

	تیمار(گرم مخمر/ راس /روز)				SEM [۱]	مقایسات متعامد[۲] (P<)		
	صفر	۲/۵	۵	۷/۵		L	Q	C
کل پروتوزوآها	(۱۵۵/۲)[۳]	(۱۷۱/۶۸)	(۲۵۲/۲۵)	(۲۷۳/۱۸)				
	۷/۱۸[b]	۷/۲۳[b]	۷/۴[a]	۷/۴۳[a]	۰/۰۱۷	<۰/۰۰۰۱	۰/۰۱۵	۰/۰۰۸
انتودینیوومورف	(۱۵۵/۲)	(۱۷۱/۶۸)	(۲۵۲/۲۵)	(۲۷۳/۱۸)				
	۷/۱۸[b]	۷/۲۳[b]	۷/۴[a]	۷/۴۳[a]	۰/۰۱۷	<۰/۰۰۰۱	۰/۰۱۵	۰/۰۰۸
هولوتریش	(۰)	(۰)	(۰)	(۰)				
	–	–	–	–				

حروف انگلیسی متفاوت در هر ردیف نشان دهنده تفاوت معنی دار درسطح (P<۰/۰۵) است.

۱) Standard Error of Mean

۲) L= خطی Q = درجه دو C = درجه سه

۳) اعداد داخل پارانتز داده های خام حاصل از شمارش پروتوزوآها ($\times 10^5$/ml) می باشد و سایر اعداد حاصل از تبدیل داده لگاریتمی می باشد.

جدول ۲- میانگین توزیع جنسیتی پروتوزوآها در نمونه های قبل از مصرف غذا

	تیمار(گرم مخمر/ راس /روز)				SEM [۱]	مقایسات متعامد[۲] (P<)		
	صفر	۲/۵	۵	۷/۵		L	Q	C
انتودینیوم	(۱۴۸/۱۲)	(۱۵۹/۴۵)	(۲۳۷/۸۵)	(۲۴۸/۷۲)				
	۷/۱۶[b]	۷/۲[b]	۷/۳۷[a]	۷/۳۹[a]	۰/۰۲	<۰/۰۰۰۱	۰/۶۷۹	۰/۰۰۳
اپیدینیوم	(۴/۵۷)	(۵/۵)	(۷/۵۷)	(۱۱/۸۸)				
	۲/۹۵	۳/۰۲	۴/۴۵	۶/۰۴	۱/۴۳	۰/۱۶۳	۰/۶۳۹	۰/۸۶۷
ائودیپلودینیوم	(۲/۵)	(۶/۷۲)	(۶/۸۲)	(۱۲/۵۷)				
	۲/۷۸[b]	۵/۸[a]	۵/۸[a]	۶/۰۷[a]	۱/۳۱	۰/۰۲۴	۰/۱۲۸	۰/۳۹۳

حروف انگلیسی متفاوت در هر ردیف نشان دهنده تفاوت معنی دار درسطح (P<۰/۰۵) است.

۱) Standard Error of Mean

۲) L= خطی Q = درجه دو C = درجه سه

۳) اعداد داخل پارانتز داده های خام حاصل از شمارش پروتوزوآها ($\times 10^5$/ml) می باشد و سایر اعداد حاصل از تبدیل داده لگاریتمی می باشد.

توزیع جنسیتی پروتوزوآهای مژکدار در نمونه های بعد از مصرف خوراک در جدول (۴) نشان داده شده است. در این نمونه ها پروتوزوآهای متعلق به دو خانواده انتودینیومورف و هولوتریش شناسایی شد.

جنس های انتودینیوم، اپیدینیوم، ائودیپلودینیوم و افاریوکالکس متعلق به خانواده انتودینیومورف و جنس های ایزوتریشا و داسی‌تریشا متعلق به خانواده هولوتریش شناسایی و شمارش شدند. افزایش سطح مخمر در تیمارها رابطه خطی با افزایش تعداد پروتوزوآ نشان داد (P<۰/۰۵).

افزایش جمعیت پروتوزوآهای هولوتریش در نمونه های بعد از مصرف خوراک، به علت حضور خوراک در شکمبه و متعاقب آن مهاجرت پروتوزوآهای مژکدار شکمبه و بویژه پروتوزوآهای هولوتریش از دیواره نگاری- شکمبه ای به میانه شکمبه باشد که در پاسخ به محرک های شیمیایی از منشا خوراک مصرفی می باشد.

مهاجرت پروتوزوآها به درون مایع شکمبه ناشی از تحرکات پروتوزوآها برای جذب مواد غذایی وارد شده به شکمبه می باشد. بعد از اینکه غذا مورد استفاده قرار گرفت، پروتوزوآها به تدریج به سمت دیواره نگاری- شکمبه ای بر می گردند (سانترا و همکاران ۲۰۰۳).

جدول۳- میانگین تعداد پروتوزوآها در نمونه های بعد از مصرف غذا

	تیمار(گرم مخمر/ راس /روز)				SEM[۱]	مقایسات متعامد[۲] (P<)		
	صفر	۲/۵	۵	۷/۵		L	Q	C
کل پروتوزوآها	(۱۳۸/۹۶) ۷/۱۳^{c}	(۱۸۳/۷۶) ۷/۲۶^{b}	(۲۰۷/۹۳) ۷/۳۱^{b}	(۲۵۷/۵۲) ۷/۴۱^{a}	۰/۰۲۶	<۰/۰۰۰۱	۰/۵۶۵	۰/۳۶۵
انتودینیوومورف	(۱۱۵/۲۱) ۷/۰۵^{c}	(۱۴۸/۷۶) ۷/۱۷^{b}	(۱۵۶/۶۸) ۷/۱۹^{b}	(۱۹۷/۵۲) ۷/۲۹^{a}	۰/۰۳۱	۰/۰۰۰۲	۰/۶۳۴	۰/۱۷۷
هولوتریشا	(۲۳/۷۵) ۶/۳۵^{c}	(۳۵) ۶/۵۳^{bc}	(۵۱/۲۵) ۶/۶۹^{ab}	(۶۰) ۶/۷۷^{a}	۰/۰۵۸	<۰/۰۰۰۱	۰/۳۱۶	۰/۷۰۰

حروف انگلیسی متفاوت در هر ردیف نشان دهنده تفاوت معنی دار درسطح(P<۰/۰۵) است.

۱) Standard Error of Mean

۲) L= خطی Q = درجه دو C = درجه سه

۳) اعداد داخل پارانتز داده های خام حاصل از شمارش پروتوزوآها ($\times 10^{5}$/ml) می باشد و سایر اعداد حاصل از تبدیل داده لگاریتمی می باشد.

جدول۴- میانگین توزیع جنسیتی پروتوزوآها در نمونه های بعد از مصرف غذا

	تیمار(گرم مخمر/ راس /روز)				SEM	مقایسات متعامد		
	صفر	۲/۵	۵	۷/۵		L	Q	C
انتودینیوم	(۸۲/۰۸) ۶/۸۹^{b}	(۹۱/۲۶) ۶/۹۵^{ab}	(۹۶/۶۸) ۶/۹۸^{ab}	(۱۲۰/۰۲) ۷/۰۷^{a}	۰/۰۴۲	۰/۰۰۶	۰/۶۹۳	۰/۵۵۸
اپیدینیوم	(۲۰) ۶/۲۱^{b}	(۳۵) ۶/۵۳^{a}	(۳۵) ۶/۵۳^{a}	(۴۷/۵) ۶/۶۷^{a}	۰/۰۹۹	۰/۰۱۰	۰/۳۴۶	۰/۳۳۹
ائودیپلودینیوم	(۶/۲۵) ۵/۷۷^{b}	(۱۳/۷۵) ۶/۰۷^{a}	(۱۶/۲۵) ۶/۲۱^{a}	(۲۰) ۶/۲۹^{a}	۰/۰۹	۰/۰۰۲	۰/۲۷۴	۰/۸۲۳
افاریوکالکس	(۶/۸۷) ۵/۷۷	(۸/۷۵) ۵/۸۹	(۸/۷۵) ۵/۹۲	(۱۰) ۵/۹۷	۰/۱۱۱	۰/۲۸۱	۰/۷۶۱	۰/۸۴۹
ایزوتریشا	(۱۸/۷۵) ۶/۲۶^{c}	(۲۶/۲۵) ۶/۴۱^{bc}	(۳۶/۲۵) ۶/۵۵^{ab}	(۳۸/۷۵) ۶/۵۸^{a}	۰/۰۴۸	۰/۰۰۰۲	۰/۱۶۶	۰/۵۳۴
داسی‌تریشا	(۵) ۵/۶۲^{c}	(۸/۷۵) ۵/۸۹^{bc}	(۱۵) ۶/۱۱^{ab}	(۲۱/۲۵) ۶/۳۲^{a}	۰/۱۱۹	۰/۰۰۰۲	۰/۷۳۷	۰/۹۲۰

حروف انگلیسی متفاوت در هر ردیف نشان دهنده تفاوت معنی دار درسطح (P<۰/۰۵) است.

۱) Standard Error of Mean

۲) L= خطی Q = درجه دو C = درجه سه

۳) اعداد داخل پارانتز داده های خام حاصل از شمارش پروتوزوآها ($\times 10^{5}$/ml) می باشد و سایر اعداد حاصل از تبدیل داده لگاریتمی می باشد.

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که نسبت تعداد پروتوزوآهای هولوتریش به تعداد کل پروتوزوآها مقدار کمتری بود. این نتایج می تواند مرتبط با تغییرات جمعیت پروتوزوآیی ناشی از تغییرات جیره باشد. این تغییرات تنها در جمعیت کل پروتوزوآها نبوده و شامل نسبت جمعیتی جنس های مختلف پروتوزوآ نیز می باشد، که این نکته می تواند مربوط به مدت زمان تکثیر جنس های مختلف پروتوزوآ باشد. فاکتورهای دیگری نظیر ترکیب جیره مصرفی، خصوصیات فیزیکی جیره مصرفی، فاصله زمانی بین وعده های خوراک‌دهی می‌تواند بر جمعیت پروتوزوآیی موثر باشد (ایوان و همکاران ۲۰۰۰).

مشابه با نمونه های قبل از مصرف خوراک، جنس انتودینیوم پروتوزوآی غالب شمارش شده در نمونه های بعد از مصرف خوراک بود. تعداد همه‌ی جنس‌های پروتوزوآهای شمارش شده در تیمار ۷/۵ گرم مخمر،نسبت به سایر تیمارها بالاتر بود و این اختلاف بین تیمارها معنی دار (P<۰/۰۵) و در مقایسات اورتوگنال بصورت رابطه خطی بود.

مکانیسم موثر بر رابطه بین مخمر ساکارومایسس سرویسیا و پروتوزوآها بطور دقیق و مشخص شناخته شده نیست. مخمر می تواند مواد مغذی مورد نیاز پروتوزوآها را تامین کند و یا شرایط بی هوازی مطلوب شکمبه را برای پروتوزوآها، ازطریق مصرف اکسیژن ایجاد نماید (نیوبلد و همکاران ۱۹۹۳). اثر محرکی مخمر بر پروتوزوآها نیز می تواند متاثر از فاکتورهای تغذیه ای باشد.

اثر متقابل بین پروتوزوآ و مخمر توسط ماتیو و همکاران (۱۹۹۶) نیز گزارش شده است بطوریکه آنها در گوسفندان فاقد پروتوزوآ (پروتوزوآ زدایی شده) هیچ تاثیری از تغذیه مخمر بر pH شکمبه مشاهده نکردند، اما در گوسفندان پروتوزوآدار افزایش در pH شکمبه با حضور مخمر مشاهده شد.

نتایج حاصل از تجزیه واریانس تاثیر مخمر ساکارومایسس سرویسیا بر متابولیت های شکمبه‌ای در جدول (۵) نشان داده شده است. بر پایه این نتایج، مخمر ساکارومایسس سرویسیا بر pH شکمبه تاثیر مطلوبی داشته و باعث بروز اختلاف معنی دار (P<۰/۰۵) بین میانگین ها شده است. کمترین میزان pH در تیمار کنترل دیده شد و با افزایش سطوح مخمر به ازای هر راس حیوان افزایش در میزان pH دیده می شود که این افزایش در سطح ۷/۵ گرم به ازای هر راس اختلاف معنی داری بصورت رابطه خطی با تیمار کنترل دارد.

جدول ۵- میانگین متابولیت های شکمبه ای در نمونه های ۲ ساعت بعد از مصرف غذا

	تیمار(گرم مخمر/ راس /روز)				SEM[1]	مقایسات متعامد[2] (P<)		
	صفر	۲/۵	۵	۷/۵		L	Q	C
pH	۶/۱۲۵[b]	۶/۲۱۷[ab]	۶/۲۸۲[ab]	۶/۵۲۷[a]	۰/۰۶۹	۰/۰۰۵۱	۰/۳۵۰۹	۰/۵۶۴۲
[3] MBRT	۶۴۰[a]	۶۰۰[a]	۵۷۷[a]	۴۵۲/۷[b]	۲۴/۶	۰/۰۰۱۲	۰/۱۶۹۲	۰/۳۷۲۶
[4] SFT	۴۴۴/۵[a]	۳۲۷/۸[b]	۲۹۲/۳[b]	۲۳۲/۳[b]	۳۷/۴۱	۰/۰۰۴۸	۰/۵۰۰۱	۰/۵۷۲۶

حروف انگلیسی متفاوت در هر ردیف نشان دهنده تفاوت معنی دار درسطح (p<۰/۰۵) است.

۱) Standard Error of Mean

۲) L= خطی Q = درجه دو C = درجه سه

۳)مدت زمان احیا متیلن بلو (ثانیه)

۴)مدت زمان ترسیب و شناوری (ثانیه)

بروسارد و همکاران (۲۰۰۶) گزارش نمودند که مخمر ساکارومایسس سرویسیا قادر به تثبیت pH شکمبه بوسیله پروتوزوآهای جنس انتودینومورف می باشد. این جنس پروتوزوآ می توانند به سرعت گرانول های نشاسته را بلع نمایند، بنابراین برای مصرف نشاسته با باکتری های آمیلولایتیک رقابت موثری دارند. علاوه براین پروتوزوآها نشاسته را با سرعت پایین تری نسبت به باکتری های آمیلولایتیک تخمیر می نمایند. پروتوزوآهای جنس انتودینومورف همچنین قادر به مصرف مقداری لاکتات که نتیجتا از تجمع لاکتات در شکمبه جلوگیری می نماید (نیوبلد و همکاران ۱۹۹۳).

روآ و همکاران (۱۹۹۷) با اندازه گیری pH در زمانهای صفر، ۳، ۶ و ۱۲ ساعت بعد از افزودن مخمر به جیره و محاسبه زمانهایی که pH زیر ۶/۲ بود، گزارش

نمودند که افزودن مخمر ساکارومایسس سرویسیا در جیره زمانهای افت pH به کمتر از ۶/۲ را کاهش داده و با قرار گرفتن pH در حدود ۶/۳۸ محیط شکمبه شرایط ثابت و متعادلی نشان داد.

گئودز و همکاران (۲۰۰۸) با اندازه گیری pH شکمبه و تراکم لاکتات در مایع شکمبه نشان دادند که افزایش pH مایع شکمبه در حیوانات دریافت کننده مخمر ساکارومایسس سرویسیا در ارتباط با تراکم لاکتات می باشد بطوریکه تیمار دریافت کننده مخمر تراکم لاکتات پایین تری نسبت به تیمار کنترل داشتند. کاهش تراکم لاکتات در مایع شکمبه می تواند ناشی از افزایش باکتری های مصرف کننده لاکتات نظیر سلونوموناس رومینانتیوم (نیسبت و مارتین، ۱۹۹۱) و مگاسفرا السدنی (کالوی و مارتین، ۱۹۹۷) و یا کاهش فعالیت باکتری های تولید کننده لاکتات نیز باشد (نیسبت و مارتین، ۱۹۹۱). این نتایج پتانسیل مخمر زنده را در کنترل افت pH و همچنین محدود کردن تجمع لاکتات در شکمبه را نشان می دهد.

با توجه به نتایج حاصل از آزمایش پارامترهای مدت زمان احیاء متیلن بلو و زمان ترسیب و شناوری تحت تاثیر مصرف مخمر قرار گرفت و بین تیمارها اختلاف معنی داری ($P<۰/۰۵$) مشاهده گردید بطوریکه تیمارهای حاوی مخمر مدت زمان ترسیب و شناوری و مدت زمان احیا متیلن بلو کمتری نسبت به تیمار کنترل داشتند (جدول ۵).

زمان لازم برای کامل شدن ترسیب و شناوری در شکمبه بر حسب نوع جیره از ۴ تا ۸ دقیقه متغیر می باشد، مایع شکمبه در حالت گرسنگی و مصرف غذای فقیر از مواد مغذی یا بی اشتهایی غیر فعال و به سرعت رسوب کرده و شناوری انجام نمی گیرد و یا به تعویق می افتد (مقدم و تقی زاده ۱۳۷۹) همانطور که نتایج جدول (۵) نشان می دهد مصرف مخمر تاثیر معنی داری ($P<۰/۰۵$) بر زمان ترسیب و شناوری داشته با این حال این تاثیر خارج از محدوده زمان طبیعی برای ترسیب و شناوری نیست.

میکروفلور فعال شکمبه در حالت تغذیه با جیره علوفه خشک و کنسانتره در عرض ۳ دقیقه متیلن بلو را احیا می کند با افزایش میزان علوفه در جیره این زمان افزایش می یابد بطوریکه در جیره فقیر ازمواد مغذی و یا بی اشتهایی زمان احیا متیلن بلو تا ۱۵ دقیقه نیز می رسد (مقدم و تقی زاده ۱۳۷۹). در این مطالعه نیز مصرف مخمر منجر به کاهش معنی دار ($P<۰/۰۵$) مدت زمان احیا متیلن بلو گردید که می تواند بیانگر فعال بودن میکروفلور شکمبه در مقایسه با تیمار کنترل باشد.

مخمر ساکارومایسس سرویسیا با افزایش pH شکمبه و کاهش مدت زمان احیاء متیلن بلو و زمان ترسیب و شناوری باعث بهبود شرایط شکمبه ای و همچنین تخمیر در شکمبه می گردد، چرا که مدت زمان احیا متیلن بلو یک شاخص غیر مستقیم برای اندازه گیری پتانسیل اکسیداسیون – احیا شکمبه و همچنین فعالیت باکتری های مایع شکمبه می باشد.

تاثیر مثبت مخمر بر تثبیت pH شکمبه ای ناشی از تحریک پروتوزوآ های انتودینومورف می باشد ، که این پروتوزوآ ها گرانول های نشاسته را با سرعت بیشتری بلع نموده و در مصرف این سوبسترا با باکتری های آمیلولایتیک رقابت دارند. این نکته نیز قابل ذکر است که، نشاسته با سرعت کمتری نسبت به باکتری ها توسط پروتوزوآ ها تخمیر می شود و محصول نهایی تخمیر توسط پروتوزوآ عمدتا اسیدهای چرب فرار می باشد تا اسید لاکتیک. این نکته بیانگر چگونگی تاثیر پروتوزوآ در تثبیت شرایط شکمبه ای بوسیله ایجاد تاخیر در تخمیر می باشد(ویلیام و کوله من ۱۹۹۷).

بطور خلاصه، نتیجه گیری می شود که مخمر ساکارومایسس سرویسیا جمعیت پروتوزوآهای مژکدار شکمبه را افزایش داده که می تواند به عنوان عاملی در بهبود هضم سلولز مطرح گرد. بنابراین، نتایج پیشنهاد می دهد که مخمر ساکارومایسس سرویسیا با ایجاد تغییر در مکانیسم تخمیر شکمبه ای، پتانسیل ایجاد تغییر و دستکاری اکوسیستم شکمبه را نیز داراست.

منابع مورد استفاده

مقدم غ و تقی زاده ا. ۱۳۷۹. بررسی اکوسیستم شکمبه و التراسونوگرافی حرکات پیش معده در گاوهای شیری در تغذیه با زئولیت.دانش کشاورزی. جلد دهم، شماره ۱صفحه های ۱۷ تا ۲۳.

Arakaki LC, Stahringer RC, Garrett JE and Dehority BA, 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.

Ayala OJ, Gonzalez SS, Herrera R and Mendoza GD, 1992. Effect of a probiotic and a molasses-urea supplement on fiber digestibility of sesame straw. J Anim Sci 70(Suppl.1):307.

Brossard L, Chaucheyras-Durand F, the late Michalet-Doreau B and 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.

Callaway ES and Martin SA, 1997. Effects of a Saccharomyces cerevisiae culture on ruminal bacteria that utilize lactate and digest cellulose. J Dairy Sci 80: 2035–2044.

Dawson KA, Newman KE and Boiling JE, 1990. Effects of microbial supplements containing yeast and lactobacilli on roughage-fed ruminal microbial activities. J Anim Sci 68:3392-3398.

Dehority BA, 1979. Ciliate protozoa in the rumen of Brazilian water buffalo, Bubalus bubalis Linnaeus. J. Protozool 26:536-544.

Dehority BA, 1986. Protozoa of the digestive tract of herbivorous mammals. Insect Sci Applic 7:279-296.

Ding J, Zhou ZM, Ren LP, Meng QX, 2008. Effect of Monensin and live yeast supplementation on growth performance, Nutrient digestibility, carcass characteristics and ruminal fermentation parameters in lambs fed steam-flaked corn-based diets. Asian-Aust. J. Anim. Sci. 21:547-554.

Guedes CM, Goncalves D, Rodrigues MAM and Dias-da-Silva A, 2008. Effects of a Saccharomyces cerevisiae yeast on ruminal fermentation and fibre degradation of maize silages in cows. Anim. Feed Sci Technol 145:27-40.

Imai S, Abdullah N, Ho HW, Jalaludin S H, Hussain Y, Onodera R and Kudo H, 1995. Comparative study on the rumen ciliate populations in small experimental herds of water buffalo and Kedah Kelantan cattle in Malaysia. Anim Feed Sci Technol 52:345–351.

Ivan M, Neill L, Forster R, Alimon R, Rode LM and Entz T, 2000. Effects of *Isotricha*, *Dasytricha*, *Entodinium*, and total fauna on ruminal fermentation and duodenal flow in wethers fed different diets. J Dairy Sci 83:776–787.

Ivan M, Mir PS, Mir Z, Entz T, He ML and McAllister TA, 2004. Effects of dietary sunflower seeds on rumen protozoa and growth of lambs. Br J Nutr 92:303–310.

Jouany JP and Ushida K, 1999. The role of protozoa in feed digestion. Asian-Aust J Anim Sci 12(1):113-128.

Mathieu F, Jouany JP, Senaud J, Bohatier J, Bertin G and Mercier M, 1996. The effect of *Saccharomyces cerevisiae* and *Aspergillus oryzae* on fermentations in the rumen of faunated and defaunated sheep; protozoal and probiotic interactions. Reprod Nutr Dev 36:271-287.

Miranda RLA, Mendoza MGD, Barcena-Gama JR, Gonzalez MSS, Ferrara R, Ortega CME and Cobos PMA, 1996. Effect of *Saccharomyces cerevisiae* and Aspergillus oryzae cultures and NDF level on parameters of ruminal fermentation. Anim Feed Sci Technol 63:289-296.

Newbold CJ, Wallace RJ and McIntosh FM, 1993. The stimulation of rumen bacteria by *Saccharomyces cerevisiae* is dependent on the respiratory activity of the yeast. J Anim Sci 71(Suppl.1):280.

Newbold CJ, Wallace RJ, Chen XB and McIntosh FM, 1995. Different strains of Saccharomyces cerevisiae differ in their effects on ruminal bacterial numbers in vitro and in sheep. J Anim Sci 73:1811.

Nisbet DJ and Martin SA, 1991. Effects of a Saccharomyces cerevesiae culture on lactate utilization by the ruminal bacterium Selenomonas ruminantium. J Anim Sci 69:4628–4633.

Ogimoto K and Imai S, 1981. Atlas of Rumen Microbiology. Japan Scientific Societies Press, Tokyo.

Plata FP, Mendoza GD, Blrcena-Gama JR and 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 4:203-210.

Roa ML, Blrcena-Gama JR, Gonzllez MS, Mendoza MGD, Ortega CME and Garcla BC, 1997. Effect of fiber source and yeast culture (*Saccharomyces Cerevisiae*1026) on digestion and the environment in the rumen of cattle. Anim Feed Sci Technol 64:327–336.

Santra A, Chaturvedi OH, Tripathi MK, Kumar R and Karim SA, 2003. Effect of dietary sodium bicarbonate supplementation on fermentation characteristics and ciliate protozal population in rumen of lambs. Small Rumin Res 47:203-212.

SAS Inc, 2002. Sas user’s Guide: statistics. Statistical Analysis Systems Institute Inc. Cary NC.

Williams AG and Coleman GS, 1997. The rumen protozoa. In: Hobson, P.N., Stewart, C.S. (Eds.), The Rumen Microbial Ecosystem, second ed. Chapman & Hall, London, UK, pp. 73–139.