نشریه پژوهش در نشخوارکنندگان
جلد اول، شماره دوم، ۱۳۹۲
http://ejrr.gau.ac.ir

بررسی سطوح مختلف جی بایند (نوعی بنتونیت سدیم فعال شده) بر فعالیت باکتریایی و پروتوزوآیی شکمبه گوسفندان عربی

*محمدجواد خلیفه[۱]، طاهره محمد آبادی[۲]، مرتضی چاجی[۲]، سمیه سالاری[۳] و خلیل میرزاده[۲]

[۱]دانش آموخته کارشناسی‌ارشد گروه علوم دامی، [۲]استادیاران گروه علوم دامی،
[۳]استادیار گروه علوم طیور دانشگاه کشاورزی و منابع‌طبیعی رامین خوزستان

تاریخ دریافت: ۹۲/۰۱/۱۸؛ تاریخ پذیرش: ۹۲/۰۳/۱۳

چکیده

هدف این مطالعه تعیین اثر سطوح مختلف جی بایند بر فعالیت باکتریایی و پروتوزوآیی در گوسفندان عربی بود. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۱۲ رأس میش عربی (۴ رأس برای هر تیمار) که با جیره‌های حاوی ۲ و ۴ درصد جی‌بایند در حد اشتها تغذیه شدند، در یک دوره ۲۸ روزه انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل جیره پایه (شاهد)، جیره پایه با ۲ درصد جی بایند و جیره پایه با ۴ درصد جی بایند بودند. مایع شکمبه حدود ۳ ساعت بعد از خوراک دهی صبح از دام‌ها گرفته شد. پس از رنگ آمیزی با محلول لوگول، برلیانت گرین و متیلن بلو، شمارش و مورفولوژی پروتوزوآها زیر لام هماسیتومتر انجام گردید. همچنین با استفاده از محیط کشت اختصاصی باکتری‌های شکمبه هضم‌پذیری نمونه‌های کاه در زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۹۶ ساعت انکوباسیون تعیین گردید. نتایج نشان داد که تعداد پروتوزوآها به‌طور معنی‌داری در تیمارحاوی جی بایند کمتر بود (به‌ترتیب $۷/۲۵\times۱۰^{-۴}$ و $۲/۸۷\times۱۰^{-۴}$ در میلی‌لیتر برای تیمارهای حاوی ۲ و ۴ درصد جی بایند) ($P<۰/۰۵$). بر طبق نتایج این آزمایش، گونه‌های مژکدار هولوتریش در جیره حاوی ۴ درصد جی بایند به طور کلی حذف شده بود. ناپدید شدن ماده خشک و الیاف نامحلول در شوینده خنثی توسط باکتری‌های شکمبه

* مسئول مکاتبه: javad.khalifeh@gmail.com

Archive of SID
www.SID.ir

در ۲۴ ساعت انکوباسیون در تیمار حاوی ۴ درصد جی‌بایند (به‌ترتیب ۸/۶۰ و ۹۲/۲۶ درصد) بالاتر بود (P<۰/۰۵). شمارش تعداد باکتری‌ها بر اساس روش MPN نشان داد که بیشترین جمعیت باکتریایی مربوط به تیمار حاوی ۴ درصد جی‌بایند می‌باشد. بنابراین نتایج پیشنهاد می‌کند که استفاده از ۴ درصد جی بایند اثر بهتری را در کاهش جمعیت پروتوزوآهای مژکدار، افزایش جمعیت باکتریایی و هضم‌پذیری الیاف نامحلول در شوینده خنثی در برابر ۲ درصد جی بایند داشته است.

واژه‌های کلیدی: جی‌بایند، باکتری‌های شکمبه، پروتوزوآ، شمارش باکتری

مقدمه

بنتونیت یک سنگ تشکیل شده از خاک رس به شدت کلوئیدی که عمدتاً از مونتموریلونیت (ماده معدنی از گروه اسمکتایت) و از بلوری شدن خاکستر آتشفشانی تولید شده است (آدامیس و همکاران، ۲۰۰۵). بنتونیت سدیم یکی از مواد معدنی با ساختمان آلومینوسیلیکاتی خاص، دارای خاصیت کلوئیدی و توانایی بالا برای افزایش جذب مواد غذایی در دستگاه گوارش و تبادلات پایه می‌باشد (صالح و همکاران، ۱۹۹۹). این کانی مقداری از آمونیاک تولید شده از منابع نیتروژن غیر پروتئینی را جذب کرده و به عنوان مخزنی از نیتروژن به‌تدریج آزاد کرده و در اختیار میکروارگانیسم‌های شکمبه قرار می‌دهد (آداموویک و همکاران، ۲۰۱۱). رها سازی آهسته آمونیوم توسط آلومینوسیلیکات‌ها در زمان نشخوار کردن دام رخ می‌دهد و این خود باعث جایگزینی یون سدیم موجود در بیکربنات توسط یون آمونیوم می‌شود و به این ترتیب pH شکمبه در حد مطلوب حفظ می‌شود و محیط شکمبه برای رشد میکروارگانیسم‌ها مناسب شده، در نتیجه هضم الیاف و سنتز پروتئین میکروبی که براحتی توسط سیستم گوارشی دام هضم شده بیشتر می‌شود (کوکاناروگلو و همکاران، ۲۰۰۶).

تحقیقات نشان داده که اگر چه پروتوزوآها نقش مهمی در هضم الیاف در شکمبه دارند، اما حذف آن‌ها اجازه می‌دهد که باکتری‌ها بیشتر روی الیاف گیاهی کلونی تشکیل دهند (نیوبولد و هیلمن، ۱۱۹۰). بنتونیت سبب تغییر فعالیت‌های متابولیکی میکرواورگانیزم‌های شکمبه و عرضه بهتر غذا و پروتئین باکتریایی با حذف و یا کاهش جمعیت پروتوزوآها، می‌شود (آیتچیسون و همکاران، ۱۹۸۶). به طوری که آزمایش میکروسکوپی از مایع شکمبه با افزودن بنتونیت به آن نشان داد که مقداری از بنتونیت توسط پروتوزوآها بلعیده شده، اما اثرات سمی آن در سطح سلول باعث تداخلی در حرکت

Archive of SID

www.SID.ir

مژک‌ها، قدرت تحرک و در نتیجه جلوگیری از جابجایی آن‌ها به خصوص هولوتریش‌ها می‌باشد (والاس و نیوبولد، ۱۹۹۱).

باکتری‌های شکمبه که نقش مهمی در هضم الیاف دارند، به اجزا خوراک در شیرابه هضمی متصل شده و مواد هضمی را به دیواره سلولی خود هضم و سپس جذب می‌کنند (کراوز و کمبز، ۲۰۰۳). در آزمایش هلال و عبدالرحمان (۲۰۱۰) اثر افزودن ۴ درصد بنتونیت با و بدون مخمر روی تولید و عملکرد میش‌های شیرده بررسی و نتایج آن‌ها نشان داد که تیمار حاوی بنتونیت به طور معنی‌داری سبب افزایش هضم‌پذیری ماده‌آلی و ماده‌خشک گردید. متوسط رشد وزن روزانه بره‌های شیری نیز در مقایسه با شاهد به طور معنی‌داری بالاتر بود که این می‌تواند به علت افزودن بنتونیت یا مخمر در جیره که سبب افزایش مصرف ماده خشک، تولید شیر بیشتر و با کیفیت، فعالیت شکمبه، توازن نیتروژن، بهبود هضم‌پذیری ماده مغذی، پارامترهای خونی و نهایتاً افزایش وزن بره‌ها شود. گزارش سایر محققین نیز در تایید افزایش هضم‌پذیری معنی‌دار پروتئین و فیبر خام با مکمل بنتونیت می‌باشد اگر چه باکتری‌ها همیشه نمی توانند بزرگترین توده‌ی میکروبی را تشکیل دهند، ولی مهمترین نقش را در هضم و تجزیه مواد فیبری و سایر پلی‌ساکاریدهای موجود در دیواره سلولی گیاهی، مواد نشاسته‌ای و پروتئینی دارند (دهوریتی، ۲۰۰۳). در گزارشات دیگر افزودن بنتونیت سدیم سبب افزایش فعالیت سلولازی باکتری‌ها گردیده است که این به اثرات بافری بنتونیت، بهبود وضعیت شکمبه و افزایش فعالیت باکتری‌های سلولتیک برمی‌گردد. افزایش هضم فیبر توسط بنتونیت‌ها باعث افزایش تولید اسید استیک در شکمبه می‌شود، که این باعث افزایش نسبت استات به پروپیونات در شکمبه خواهد شد (سوینی و همکاران، ۱۹۸۳).

جی بایند یک آلومینوسیلیکات سدیمی- کلسیمی فعال شده است که جزء بنتونیت‌ها محسوب می‌شود. با توجه به تنوع زیاد خاک‌های رس کلوئیدی و موادی که تحت عنوان بنتونیت فروخته می‌شوند، این مواد دارای درصد ناخالصی بیشتر از استاندارد تعیین شده برای بنتونیت بوده که عمدتا از نظر عناصر آهن و سیلیس بالا و سبب بروز مشکلاتی در استفاده از آنها در جیره دام و طیور می‌شود، توجه به این نکته در بکارگیری بنتونیت‌های فرآوری شده حائز اهمیت می‌باشد. در کشور ما نیز ذخایر عظیمی از این کانی‌ها وجود دارد که با نام تجاری سدیم اسمکتیت شناخته شده‌اند. با توجه به این که اطلاعات در مورد بنتونیت‌های فرآوری شده بر روی فلور میکروبی شکمبه وجود ندارد و یا محدود

Archive of SID

www.SID.ir

است بنابراین این آزمایش برای مطالعه سطوح مختلف جی بایند (نوعی بنتونیت سدیم فعال شده) بر فعالیت باکتریایی و پروتوزوآیی شکمبه گوسفندان عربی صورت پذیرفت.

مواد و روش‌ها

جیره‌ها و دام‌ها: این آزمایش به‌مدت ۲۸ روز و با استفاده از ۱۲ راس گوسفند نژاد عربی با میانگین وزنی ۱/۵±۲۸ کیلوگرم و میانگین سنی ۲۴۰ روز در قالب طرح کاملا تصادفی با ۳ تیمار (۴ راس میش در هر تیمار) انجام شد. جیره‌ی غذایی دام‌های مورد مطالعه براساس وزن دام‌ها و بر طبق جداول احتیاجات غذایی (۱۹۹۶، انجمن ملی تحقیقات) تنظیم شدند. اجزاء شامل یونجه، کاه گندم، سبوس، سویا، جو، آهک، نمک و موادمعدنی و مواد ویتامینی بودند. جیره‌های مصرفی حاوی ۵۰ درصد علوفه و ۵۰ درصد کنسانتره در ماده خشک بودند که جی بایند به نسبت صفر درصد (شاهد)، دو درصد و چهار درصد از کل جیره، و در بخش متراکم استفاده شد. جی بایند مورد استفاده در این آزمایش از شرکت پایا فرآیند هزاره نوین تهیه شد. در طول آزمایش، جیره‌ها به صورت کاملاً مخلوط شده و درحد اشتها در اختیار گوسفندان قرار گرفت. در روز آخر، مایع شکمبه سه ساعت بعد از تغذیه صبحگاهی از دام‌ها بوسیله لوله مری گرفته شد.

شمارش پروتوزوآ: جهت بررسی جمعیت پروتوزوآها، محتویات شکمبه (۲۰ میلی لیتر) با لوله مری از گوسفند گرفته شد و از طریق پارچه یک لایه صاف و با حجم مساوی از فرمالین ۱۰ درصد مخلوط گردید و پس از رنگ آمیزی با رنگ متیلن بلو، بریلیانت گرین و لوگول در تاریکی و در دمای اتاق قرار داده شد (ایوان و همکاران، ۲۰۰۱). شمارش مژکداران با استفاده از میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی ۴۰X (مدل NIS-Elements F 3.0) انجام شد. هر نمونه دو بار با لام هماسیتومتر مورد شمارش قرار گرفت و در صورتی که ضریب تغییر از ۱۰ درصد بیشتر بود، تکرار شد. در طی شمارش، جنس‌های مختلف نیز تعیین شدند (اگیموتو و ایمای، ۱۹۸۱). نتایج شمارش به صورت غلظت (تعداد در هر میلی‌لیتر از پروتوزوآهای مایع شکمبه) یا درصدی از گروه‌های مختلف پروتوزوآ در کل جمعیت پروتوزوآی مژکدار گزارش شدند.

تعیین فعالیت هضم‌پذیری باکتری‌های شکمبه: به‌منظور بررسی تاثیر جی بایند بر رشد و هضم‌پذیری توسط باکتری‌های شکمبه گوسفندان عربی، بعد از گرفتن مایع شکمبه، برای جدا نمودن پروتوزوآها،

Archive of SID

www.SID.ir

مایع شکمبه در ۱۰۰۰ دور برای ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس با استفاده از قارچ کش‌ها (بنومیل به میزان ۵۰۰ قسمت در میلیون در هر لیتر و متالاکسیل به میزان ۱۰ میلی‌گرم در هر لیتر)، قارچ‌های بی‌هوازی از مایع بدست آمده شسته شدند (ژنگ و همکاران، ۲۰۰۶). محصول بدست آمده به عنوان باکتری‌های شکمبه بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون در انکوباتور ۳۹ درجه سانتی‌گراد، با اضافه کردن محلول قندی ۱/۵ درصد، به محیط کشت اختصاصی باکتری‌های شکمبه به نامBM10 که حاوی ۱ گرم کاه بود، اضافه شد. بعد از سه مرحله کشت مجدد و خالص کردن محیط کشت‌ها در ۳۹ درجه سانتی‌گراد برای زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۹۶ ساعت (برای هر زمان، ۴ تکرار در نظر گرفته شد) کشت داده شدند (گالدول و برایانت، ۱۹۶۶). نیتروژن آمونیاکی نمونه‌ها نیز مطابق روش فنل هیپوکلرایت (برودریک و کانگ، ۱۹۸۰) با استفاده از دستگاه اسپکتو فتومتر اندازه‌گیری شد. پس از هر زمان کشت محتوای موجود در شیشه‌های حاوی نمونه و محیط کشت، صاف شد و نمونه باقی مانده در آون خشک گردید. الیاف نامحلول در شوینده خنثی در هر نمونه بعد از خشک کردن اندازه گیری شد (ون سوست، ۱۹۶۳) و از تفاوت مقدار اولیه و نهایی، ناپدید شدن ماده خشک و الیاف نامحلول در شوینده خنثی کاه گندم در محیط کشت‌ها محاسبه شد.

شمارش باکتری: جهت شمارش باکتری از روش محتمل ترین تعداد[1] (MPN) استفاده شد. در تیمارهای آزمایشی، مایع شکمبه تازه همراه با محتویات هضمی از دام‌ها جمع‌آوری شد و بلافاصله در فلاسک آب گرم به آزمایشگاه منتقل گردید. در آزمایشگاه ابتدا محیط کشت با pH=۷/۵۸ تهیه گردید. سپس مقداری از محتویات شکمبه با محلول رقیق سازی مخلوط و رقت‌های 10^{-1}، 10^{-2}و 10^{-3} تهیه گردید. سپس از هر رقت سه تکرار (سه لوله) با تلقیح ۰/۵ سی‌سی از محلول رقیق شده در محیط کشت، تهیه نموده و با گازدهی CO_2 به‌مدت ۳۰ ثانیه، درب لوله‌های کشت محکم بسته شدند. لوله‌ها در انکوباتور با دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند و پس از ۱۴ روز بررسی شدند. pH نمونه‌ها با استفاده از pH متر (مدل متروم ساخت آلمان) قرائت گردید و با تغییر pH و مشاهده رنگ کدر و خاکستری در ته هر لوله، رشد باکتری تعیین شد. در نهایت با استفاده از جداول MPN (دهوریتی، ۲۰۰۳) شمارش باکتری‌ها صورت پذیرفت.

1- Most Probable Number

Archive of SID

www.SID.ir

آنالیز آماری: داده‌های مربوط به شمارش پروتوزوآ و باکتری در قالب طرح کاملاً تصادفی $Yij = \mu + Ti + \varepsilon ij$ و داده‌های فعالیت باکتری و ناپدید شدن ماده خشک و الیاف نامحلول در شوینده خنثی توسط باکتری‌های شکمبه در محیط کشت حاوی تیمارهای مختلف آزمایشی با روش تکرار در زمان با نرم افزار SAS ویرایش ۹/۱ آنالیز شد. مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن انجام شد ($P<۰/۰۵$).

$$Yijk= \mu+Pi+Tj+(PT)ij+\varepsilon ijk$$

Yijk: متغیر وابسته (مقدار مشاهده مورد نظر)

μ : میانگین کل جامعه

Pi: اثر تیمار

Tj: اثر زمان

(PT)ij: اثر متقابل تیمار در زمان

εijk: خطای آزمایش

نتایج و بحث

نتایج شمارش پروتوزوآ (جدول ۱) نشان می‌دهد که تیمارهای حاوی جی بایند تمایل به کاهش تعداد کل پروتوزوآها در مایع شکمبه گوسفند را داشتند و این تعداد برای تیمار حاوی ۴ درصد جی بایند کمترین مقدار در هر میلی‌لیتر مایع شکمبه بود. همچنین جمعیت هولوتریش و سلولیتیک (به‌ترتیب ۷/۷ و ۱۱ تعداد در 10^{-4}) در تیمار شاهد بالاتر بود در حالی که جنس انتودینیوم تفاوتی با تیمار جی بایند نداشت. تقریباً حذف کامل جنس هولوتریش در تیمار ۴ درصد بنتونیت دیده شد و جنس انتودینیوم در تیمار حاوی ۲ درصد بیشتر بود. بر اساس محاسبه درصدی از کل جمعیت پروتوزوآهای مژکدار، تیمارهای حاوی ۲ و ۴ درصد جی بایند بیشترین درصد جمعیت انتودنیوم را دارا بودند (به‌ترتیب ۶۰/۶۹ و ۸۰/۱۴ درصد).

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۱- اثر سطوح مختلف جی بایند بر جمعیت پروتوزوآهای (تعداد* 10^{-4} در مایع شکمبه)گوسفندان عربی

جنس	شاهد	۲ درصد جی بایند	۴ درصد جی بایند	SEM	احتمال معنی‌داری
کل پروتوزوآ	۲۱/۷^{a}	۷/۲۵^{b}	۲/۸۷^{b}	۲/۲۶	۰/۰۰۲
انتودینیوم	۳	۴/۴	۲/۳	۰/۷۸۵	۰/۲۹۸
هولوتریش	۷/۷^{a}	۱/۵^{b}	۰^{b}	۱/۱۲۵	۰/۰۳۲
سلولتیک	۱۱^{a}	۱/۳۵^{b}	۰/۵۷^{b}	۲/۹۱	۰/۰۱۴
درصدی از کل جمعیت پروتوزوآهای مژکدار					
انتودینیوم	۱۳/۸۲^{c}	۶۰/۶۹^{b}	۸۰/۱۴^{a}	۳/۰۸۸	۰/۰۱۷
هولوتریش	۳۵/۴۸^{a}	۲۰/۶۹^{b}	۰^{c}	۲/۷۲۳	۰/۰۱۴
سلولتیک	۵۰/۷^{a}	۱۸/۶۲^{b}	۱۹/۸۶^{b}	۲/۳۷۲	۰/۰۰۸

SEM: میانگین خطای‌استاندارد، ردیف‌هایی که دارای حرف مشابه نیستند برای هر مورد، دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشد ($P<0/05$).

مطالعه حاضر نشان داد که جی بایند در کاهش تعداد پروتوزوآی شکمبه موثر می‌باشد و این برای تیمار حاوی ۴ درصد جی بایند بیشتر بود. محققان گزارش کردند با افزایش غلظت افزودنی‌های ضدپروتوزوآیی کاهش جمعیت پروتوزوآها ایجاد می‌شود (عبدا.. و همکاران، ۱۹۹۵؛ باهه و همکاران، ۲۰۰۷). به نظر می‌رسد که افزایش سطوح جی بایند می‌تواند به عنوان یک افزودنی ضد پروتوزوآیی در کاهش جمعیت پروتوزوآها در گوسفند مفید باشد. بنتونیت به دلیل لایه‌های چند وجهی و بار الکتریکی در سطح آن با تداخل از حرکت پروتوزوآی مژکدار، فعالیت آن‌ها را کاهش داده و این عمل سبب کاهش بلعیده شدن میکروب‌ها توسط پروتوزوآها و اجازه باقیماندن جمعیت باکتریایی و قارچی بیشتری را در مایع شکمبه می‌گردد (هیجن و همکاران، ۱۹۹۱). مطالعات والاس و نیوبولد (۱۹۹۱) نشان داد بنتونیت سدیم با توجه به خاصیت چسبندگی و ماندگاری طولانی در شکمبه، از طریق مهار حرکت مژکداران سبب کاهش حرکت و مرگ آن‌ها به خصوص هولوتریش‌ها می‌شود.

ناپدید شدن ماده خشک و الیاف نامحلول در شوینده خنثی (گرم در کیلوگرم) در ساعات مختلف انکوباسیون در جدول ۲ نشان داده شده است. به طور کلی جی بایند باعث افزایش ناپدید شدن ماده خشک توسط باکتری گردید و در طی ۲۴ ساعت انکوباسیون معنی‌دار شد ($P<0/05$). در این زمان سطح ۴ درصد جی بایند بالاترین ناپدید شدن ماده خشک (۸/۶۰ درصد) و تیمار شاهد (۶/۱۰ درصد) کمترین مقدار را داشت. با افزایش زمان انکوباسیون این روند خطی ادامه یافته و سطح ۴ درصد در پایان ۹۶ ساعت بیشترین ناپدید شدن ماده خشک را داشته است. همچنین قابلیت هضم الیاف نامحلول

Archive of SID

www.SID.ir

در شوینده خنثی در ۲۴ ساعت انکوباسیون بین تیمارها متفاوت نبود (P>۰/۰۵). اما در ساعات بعدی بین تیمار شاهد با سطح ۴ درصد جی بایند تفاوت معنی‌داری مشاهده گردید (P<۰/۰۵). به‌طوری‌که در طی زمان‌های پایان انکوباسیون، بالاترین قابلیت هضم الیاف نامحلول در شوینده خنثی مربوط به ۴ درصد جی بایند بود (۹۲/۲۶ درصد)، که این افزایش هضم را می‌توان به تاثیر معنی‌دار باکتری‌ها در جدول ۴ مرتبط دانست.

جدول ۲- اثر مقادیر مختلف جی بایند بر ناپدید شدن ماده خشک و الیاف نامحلول در شوینده خنثی در ساعات مختلف انکوباسیون توسط باکتری‌های شکمبه (گرم در کیلوگرم).

زمان	شاهد	۲ درصد جی بایند	۴ درصد جی بایند	SEM	احتمال معنی‌داری
ماده خشک					
۲۴	۶/۱۰ ^{b}	۸/۲۰ ^{ab}	۸/۶۰ ^{a}	۰/۵۰۶	۰/۰۳۲
۴۸	۱۳/۹۰	۱۵/۷۵	۱۷/۷۵	۱/۴۹	۰/۳۲۰
۹۶	۱۹/۸۵	۱۹/۴۵	۲۲/۳۵	۰/۸۵۳	۰/۱۷۷
الیاف نامحلول در شوینده خنثی					
۲۴	۲۹/۴۳	۲۹/۷۶	۲۹/۶۳	۰/۲۴	۰/۶۵۶
۴۸	۷۴/۲۷ ^{b}	۷۴/۷۷ ^{b}	۷۹/۳۴ ^{a}	۰/۴۸۲	۰/۰۱۲
۹۶	۸۸/۳۰ ^{b}	۸۸/۳۸ ^{b}	۹۲/۲۶ ^{a}	۰/۱۷۴	۰/۰۰۱

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها، در هر ردیف اعداد دارای حروف غیر مشابه از نظر آماری اختلاف معنی‌داری دارند (P<۰/۰۵).

مطابق با نتایج این آزمایش حاضر، دسچاک و همکاران (۲۰۱۰) با آزمایش روی گاوهای شیری مشاهده کردند که افزودن بافرهای کلینوپتیولیت و بی‌کربنات سدیم هیچ تاثیر معنی‌داری بر بهبود قابلیت هضم ماده خشک نداشت. گالیندو و همکاران (۱۹۹۰a) گزارش نمودند که استفاده از کلینوپتیلولیت در جیره موجب افزایش قابلیت هضم ماده خشک و برعکس کاهش معنی‌دار جمعیت کل باکتری‌های شکمبه می‌شود. با توجه به این که در آزمایش این محققین دام‌ها دسترسی آزاد به خوراک داشتند افزایش خوراک مصرفی که در اثر کلینوپتیلولیت حاصل می‌گردد، دلیل احتمالی کاهش کل جمعیت باکتری‌ها بوده است چون در اثر مصرف بیشتر خوراک محتویات شکمبه رقیق‌تر شده و

Archive of SID

www.SID.ir

تراکم باکتری‌ها کاهش می‌یابد. یکی از دلایل افزایش ناپدید شدن ماده خشک توسط باکتریای‌ها در آزمایش حاضر را می‌توان به کاهش جمعیت پروتوزوآ به عنوان شکارچیان باکتری‌ها نسبت داد، که با کاهش بلعیده شدن باکتری‌ها توسط پروتوزوآها زمینه فعالیت بیشتر برای باکتری‌ها را فراهم می‌نمایند (باهه و همکاران ۲۰۰۷). به دلیل تحت تاثیر قرار نگرفتن مصرف خوراک در آزمایش حاضر، و شمارش MPN باکتری (جدول۴)، به‌نظر می‌رسد جی بایند سبب افزایش جمعیت باکتری محیط کشت و در نتیجه فعالیت بیشتر و تجزیه پذیری بالاتر ماده خشک گردیده است.

در جدول ۳ داده‌های مربوط به pH محیط کشت باکتری در ساعات مختلف انکوباسیون آورده شده است. pH محیط کشت با افزایش زمان انکوباسیون در دو سطح جی بایند افزایش یافته است و اختلاف آن با تیمار شاهد بیشتر گردیده است. اگر چه بین جیره‌های آزمایشی و همچنین بین ساعات مختلف از نظر میزان pH تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (P>۰/۰۵)، اما بالاتر بودن pH در تیمارهای جی بایند علیرغم افزایش هضم، می‌تواند بدلایل استفاده از بنتونیت به عنوان بافر حقیقی که سبب ثبات طولانی‌تر pH و از کاهش آن از حد معینی جلوگیری می‌کند (ایوان و همکاران، ۲۰۰۱) و همچنین یکسان بودن نمونه ماده هضمی (کاه) در شیشه‌های آزمایش ما باشد. مطابق با نتایج، در گزارشات اکرامی و همکاران (۲۰۰۹) نمونه‌برداری pH از جیره‌های حاوی بنتونیت در طی ساعات مختلف از شکمبه، نمایانگر بالاتر بودن pH شکمبه نسبت به جیره شاهد و عدم افت pH به زیر ۶ در طی همه ساعات بود. جیره‌های آزمایشی باعث کاهش نیتروژن آمونیاکی در ساعات مختلف انکوباسیون شده است. این روند کاهشی با افزایش زمان، باعث اختلاف معنی‌داری بین تیمارها شد (P<۰/۰۵). در طی ۹۶ ساعت پس از انکوباسیون تیمار شاهد و ۴ درصد جی بایند به‌ترتیب با غلظت‌های ۱۲/۹۵ و ۱۰/۴۵ میلی‌لیتر در ۱۰۰ میلی‌گرم نسبت به تیمار ۲ درصد جی بایند (۷/۲۴) معنی‌دار بود (P<۰/۰۵). در هنگام استفاده از بنتونیت کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی به دو شکل ممکن است صورت گیرد. ۱- به دلیل وجود بارهای سطحی در پروتئین‌ها (دیکسون و همکاران ۲۰۰۸) و همین طور بار مخالف در سطح بنتونیت، پروتئین و اسیدهای آمینه به واسطه جذب سطحی که تا حدودی از تخمیر میکروبی، محافظت می‌شوند (بریگاتی و همکاران، ۲۰۰۶). ۲- وجود خاصیت تعویض کاتیونی نیز در بنتونیت، سبب می‌شود تا یون آمونیوم با کاتیون‌های موجود در ساختمان بنتونیت (تنوریوآرودی و همکاران، ۲۰۰۸) مبادله شود و از این طریق بین جیره شاهد و سطوح جی بایند تفاوت مشاهده می‌شود. که

Archive of SID

www.SID.ir

به‌نظر می‌رسد غلظت آمونیاک در داخل محیط کشت به‌دلیل این که برای باکتری‌ها اسکلت کربنی و ATP فراهم شده، کاهش یافته و در نتیجه آمونیاک کمتری در محیط در دسترس می‌باشد.

جدول۳- اثر سطوح مختلف جی‌باید بر pH و نیتروژن آمونیاکی محیط کشت باکتری در ساعات مختلف انکوباسیون

زمان	شاهد	۲ درصد جی باید	۴ درصد جی باید	SEM	احتمال‌معنی‌داری
۲۴	۶/۶۵	۶/۸۴	۶/۷۱	۰/۰۶۳	۰/۲۳۵
۴۸	۶/۷۳	۷/۰۳	۶/۹۵	۰/۱۶۸	۰/۴۰۴
۹۶	۶/۸۳	۷/۱۳	۷/۳۲	۰/۱۸۴	۰/۲۲۰
نیتروژن آمونیاکی (میلی‌گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر)					
۲۴	۱۹/۵۲ [a]	۱۳/۸۵ [b]	۱۳/۳۹ [b]	۰/۸۱۴	۰/۰۰۱
۴۸	۱۶/۱۱ [b]	۱۰/۴۱ [b]	۱۱/۵۸ [a]	۰/۷۸۲	۰/۰۱۴
۹۶	۱۲/۹۵ [a]	۷/۲۴ [b]	۱۰/۴۵ [a]	۰/۹۶۶	۰/۰۰۸

جدول ۴- تأثیر سطوح مختلف جی باید بر شمارش باکتری‌های شکمبه

	شاهد	۲ درصد جی باید	۴ درصد جی باید	SEM
تعداد باکتری (در هر میلی لیتر مایع شکمبه)	۲×۱۰^{۳}	$۲/۱\times۱۰^{۳}$	$۲/۸\times۱۰^{۳}$	۳۵۰

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها، در هر ستون اعداد دارای حروف غیر مشابه از نظر آماری اختلاف معنی‌داری دارند ($P<۰/۰۵$).

بر طبق نتایج بدست آمده از آزمایش، تعداد باکتری‌ها با افزایش سطوح جی باید بین جیره‌های آزمایشی بیشتر گردید (جدول ۴). همچنین تعداد باکتری‌ها در تیمار حاوی ۴ درصد جی باید بالاترین تعداد بود ($۲/۸\times۱۰^{۳}$)، که به نظر می‌رسد جی باید سبب افزایش تعداد باکتری‌ها می‌شود. محققان گزارش کردند بافرهایی مانند زئولیت محیط مناسبی را برای فعالیت باکتری‌های سلولتیک فراهم می‌کند، که این باکتری‌ها توانائی تجزیه و هضم فیبر را دارا می‌باشند و موجب افزایش نسبت استات به پروپیونات می‌شوند (بلندی و اصغری، ۱۳۸۳). به نظر می‌رسد افزایش در تعداد باکتری‌ها به دلیل کاهش جمعیت پروتوزوآ و بهبود شرایط تخمیری مناسب در شکمبه بوده باشد (باهه و همکاران، ۲۰۰۷؛ ایوان و همکاران، ۲۰۰۱). تحقیقات نشان داده که اگر چه پروتوزوآها نقش مهمی در هضم

Archive of SID

www.SID.ir

الیاف در شکمبه دارند، اما حذف آنها اجازه می‌دهد که باکتری‌ها بیشتر روی الیاف گیاهی کلونی تشکیل دهند (کراوز و کمبز ۲۰۰۳). در آزمایش عبدالرحیم (۲۰۱۰) با افزودن بنتونیت در شرایط آزمایشگاهی، فعالیت سلولازی باکتری‌ها افزایش غیرمعنی‌داری داشت که این می‌تواند به اعمال آنتاگونیستی که بنتونیت روی پروتوزوآها، متانوژنزها و باکتری‌های آمیلولتیک دارد مرتبط باشد. استفاده از افزودنی‌های مختلف سبب افزایش pH شکمبه می‌گردد و به‌طورکلی بنتونیت سدیم می‌تواند به عنوان بافر حقیقی سبب بهبود pH محیط شود (ایوان و همکاران، ۲۰۰۱). می‌توان پیشنهاد نمود که رشد مطلوب میکروارگانیسم‌های سلولتیک در pH حدود ۶/۷ صورت می‌گیرد (گالیندو و همکاران، ۱۹۹۰) و تغییرات زیاد pH بالاتر یا پایین تر از حد، مانع رشد آنها می‌شود.

نتیجه‌گیری

به‌طورکلی بر طبق نتایج حاضر، استفاده از جی بایند (نوعی بنتونیت سدیم فعال شده) سبب تغییر در جمعیت میکروبی شکمبه از طریق شرایط تخمیری شکمبه می‌گردد. جمعیت کل پروتوزوآیی در شکمبه کاهش چشمگیری را داشت، از طرفی تعداد باکتری، رشد باکتری و ناپدید شدن ماده خشک و الیاف نامحلول در شوینده خنثی در محیط کشت تیمارهای حاوی جی بایند بیشتر بود و تیمار حاوی ۴ درصد تاثیر بهتری را ایجاد کرد. بنابراین استفاده از جی بایند ممکن است روشی کاربردی برای بهبود هضم پذیری در دام باشد.

سپاسگزاری

بدینوسیله نویسندگان مراتب سپاس خود را از دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان به سبب فرآهم آوردن زمینه انجام این تحقیق و پژوهش اعلام می دارند.

منابع

1. Abdl-Rahim, M.A. 2010. In vitro manipulation of rumen fermentation efficiency by fumaric acid –bentonitecoupled addition as an alternative to antibiotics. Journal of Agricultural Science. 2(2): 174-180.
2. Abdullah, N., Hanita, H., Ho, Y.W. Kudo, H., Jalaludin, S. and Ivan, M. 1995. The effects of bentonite on rumen protozoa population and rumen fluid

Archive of SID

www.SID.ir

characteristics of sheep fed palm kernel cake. Asian Australian Journal of Animal Science. 8(3): 249-254.
3. Adamis, Z., Williams, R. B. and Fodor, J. 2005. Bentonite, Kaolin and Selected Clay Minerals. International Programme on Chemical Safety (IPCS)-World Health Organization (WHO), Geneva. 24-38.
4. Adamovic, M., Lemik, J.J., ovikin, M., Tomasevia, A., Joviaia, M. and Mira, K. 2004. Uticaj pufera na produkciju I sastav mleka I metabolical profil krava, biotehnologia u stoaarstvu, 5-6, 195-202.
5. Adamovic, M., Stojanovic, M. Grubisic, M. Iles, D. and Milojkovic, J. 2011. Importance of aluminosilicate minerls in safe food production. Macedonian Journal of Animal Macedonian Journal of Animal Science. 1: 175–180.
6. Aitchison, E. M., Rowe, J. B. and Rix, G. S. 1986. Effect of bentonite clays on rumen fermentation and diet digestibility. Proceeding of the Nutrition Society of Australia. 11: 111-114.
7. Baah, J. M., Ivan, A. N., Hristov, K.M., Koenig, L.M., Rode, T. and McAllister, A. 2007. Effects of potential dietary antiprotozoal supplements on rumen fermentation and digestibility in heifers. Animal Feed Science and Technology. 137: 126–137.
8. Brigatti, M.F., Galan, E. and Theng, B.K.J. 2006. Strauctures and mineralogy of clay minerals. Handbook of Clay Science. Elsevier Ltd.
9. Broderick, G.A. and Kang, J.H. 1980. Automated simultaneous determination of ammonia and total amino acids in ruminal fluid and in vitro media. Journal of Dairy Science, 63, 64–75.
10. Bolandi, S. and Asghari, M.R. 2004. Application of zeolites in animal nutrition (ruminants, poultry and fish) 3th Conference of Agricultral Sciences. Birjand.
11. Dehority, B.A., Tirabasso, P.A. and Grifo, A.P.J. 1989. Most probable- number procedures for enumerating ruminal bacteria, including simultaneous estimation of total and cellulolytic numbers in one medium. Applied Environ Microbiol Journal. 55: 2789–2792.
12. Dehority, B.A. 2003. RUMEN MICROBIOLOGY. Academic Press, London.
13. Dixon, J.B., Kannewischer, I., TenorioArvide, M.G. and Barrientos Velazquez, A.L. 2008. Aflatoxin sequestration in animal feeds by quality-labelledsmectite clays: an introductory plan. Applied Clay Science. 40: 201–208.
14. Dschaak, C.M., Eun, J.S., Young, A.J., Stott, R.D. and Petersont, S. 2010. Effects of supplementation of natural zeolite on intake, digestion, ruminal fermentation, and locational performance of dairy cows. The Professional Animal Scientist. 26: 647-654.
15. Ekrami, S. H. S. 2009. Utilization of Growth promoters and bentonite in sheep rations. phd. Thesis, University of Al-Azhar, Egypt.

Archive of SID

www.SID.ir

16. Galdwell, D.R. and Bryant, M.P. 1966. Medium without rumen fluid for non-selective enumeration and isolation of rumen bacteria. Applied Microbiology. 14: 794-801.
17. Galindo, J., Elias, A., Michelena, J.B. and Morffi, N. 1990a. The effect of zeolite on various physiological groups of ruminal bacteria of cows consuming silage under controlled grazing conditions. Cuban Journal of Agricultural Science. 24: 177-182.
18. Galindo, J., Elias, A., Piedra, R. and Lezcano, O. 1990b. The effect of some zeolite components on the rumen microbial activity of silage diets. Cuban. Journal Agriculture Science. 24:187-195.
19. Heijnen, C.E., Hok-A-Hin, C.H. and VanVeen, J.A. 1991. Protection of rhizobium by bentonite clay against predation by flagellates in liquid cultures. FEMS Microbiology Ecology, 85, 65-72.
20. Helal, F.I.S. and Abdel-Rahim, K.A. 2010. Productive Performance of Lactation ewes fed diets supplementing with dry yeast and/or bentonite as feed additives. World Journal of Agricultural Sciences. 6(5): 489-498.
21. Ivan, M., Mir, P.S., Koenig, K.M., Rode, L.M., Neill, L., Entz, T. and Mir, Z. 2001. Effects of dietary sunflower seed oil on rumen protozoa population and tissue concentration of conjugated linoleic acid in sheep. Small Ruminant Research .41, 215–227.
22. Ivan, M., Neill, L., Alimon, R. and Jalaludin, S. 2001. Effects of bentonite on rumen fermentation and duodenal flow of dietary components in sheep fed palm kernel cake by-product. Animal Feed Science and Technology. 92 (1/2): 127-135.
23. Krause, K.M. and Combs, D. K. 2003. Effects of forage particle size, forage source and grain fermentability on performance and ruminal pH in midlactation cows. Journal of Dairy Science. 86: 1382–1397.
24. Koknarroglu, H., Toker, M. T. and Bozkurt, Y. 2006. Effect of zeolite and initial weight on feedlot performance of Brown Swiss vattel. Journal of Animal and Veterinary Advances. 1: 49-54.
25. Newbold, C. J. and Hillman, K. 1990. The effect of ciliate protozoa on the turnover of bacterial and fungal protien in the rumen of sheep. Letters in Applied Microbiology, 11: 100–102.
26. Ogimoto, K. and Imai, S. 1981. Atlas of rumen microbiology. Japan Scientific Societies Press, Tokyo, Japan.
27. Saleh, M.S., Abdel-Raouf, E.M., Mohsen, M.K. and Salem, A.Y. 1999. Bentonite supplementation to concentrate ratio for lactating buffaloes. Egypt. Journal of Nutrition and Feeds. 2: 67-78.
28. Sweeny, T.F., Cervantes, A., Bull, l. S. and Hemken, R.W. 1983. Effect of dietary clinoptilolite on digestion and rumen fermentation in steers. In pond, W.

Archive of SID

www.SID.ir

G and Mumpton, F.A. (Eds) Zeolite Agriculture: Use of Natural Zeolite in Agricalture and Aquaculture. P 177. West Press, Boulder, CO.
29. TenorioArvide, M. G., Mulder, I., Barrientos Velazquez, A.L. and Dixon, J.B. 2008. Smectite clay adsorption of aflatoxin vs. octahedral composition as indicated by FTIR. Clays Clay Minerals. 56: 571–578.
30. Theodorou, M.K., Gill, M., King-Spooner, C. and Beever, D.E. 1990. Enumeration of anaerobic chytridiomycetes as thallus forming units: Novel method of quantification of fibrolytic fungal populations from the digestive tract ecosystem. Applied and Environmental Microbiology. 56: 1073-1078.
31. Van Soest, P.J. 1963. Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. 11. A rapid method for the determination of fibre and lignin. Journal of the Association of Official Analytical Chemists. 46: 829-835.
32. Wallace, R.J. and Newbold, C.J. 1991. Effect of bentonite on fermentation in the rumen simulation technique (Rusitec) and rumen ciliate protozoa. Journal of Agriculture Science Cambridge, 116, 163-168.
33. Zhang, Y., Gao, W. and Meng, Q. 2006. Fermentation of plant cell walls by ruminal bacteria, protozoa and fungi and their interaction with fibre particle size. Archives of Animal Nutrition. 61(2):114-125.

Archive of SID

www.SID.ir

Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources
J. of Ruminant Research, Vol. 1 (2), 2013
http://ejrr.gau.ac.ir

Effect of different levels of G-bind (activated sodium bentonite) on rumen bacteria activity and protozoa population in Arabi sheep

***M.J. Khalifeh[1], T. Mohammadabadi[2], M. Chaji[3], S. Salari[3] and K. Mirzadeh[2]**
[1]M.Sc. Graduated, Dept. of Animal Sciences, [2]Assistant Prof., Dept. of Animal Sciences and [3]Assistant Prof., Dept. of Poultry Sciences of Khuzestan Ramin Agricultural and Natural Resources University
Received: 04/07/2013; Accepted: 06/03/2013

Abstract

The aim of this study was to determine the effect of different levels of G-bind on rumen bacteria activity and protozoa population of Arabi sheep. Experiment was conducted using completely randomized design with twelve Sheep (4 head per each treatment) that fed with diets containing 2 and 4% G-bind, ad libitum for 28 days. Treatments were including a basal diet (control), basal diet with 2% and basal diet with 4% of G-bind. Rumen fluid was taken after 3 hours after the morning feeding by vacuum pump. After staining with logol solution, methylene blue and brilliant green, morphology and protozoa population was counted by hemocytometer lam. Also digestibility of straw for 24, 48 and 96 hours incubation determined with using culture medium of rumen bacteria. The result showed that, protozoa numbers in the treatment containing G-bind were lower, (7.25×10^{-4}, and 2.87×10^{-4} per ml for 2 and 4% respectively) ($P<0.05$). Species of Holotricha, in the diet containing 4% G-bind had generally omitted. Disappearance of dry matter and natural detergent fiber (NDF) by rumen bacteria at 24 hour incubation was the highest for 4% G-bind (92.26 and 8.60 % respectively). Counting bacteria by MPN method showed that the greatest bacterial population was for 4% G-bind treatment. Therefore, the results suggests that using of 4% G-bind had the appropriate effect on reduction of ciliate protozoa population, increase rumen bacteria populations and NDF digestibility in compared with 2% G-bind.

Keywords: G-bind; Culture bacteria; Protozoa; Counting bacteria.

*Corresponding Author;Email: javad.khalifeh@gmail.com

Archive of SID
www.SID.ir