Archive of SID

در
امور دام و آبزیان شماره ۷۳، زمستان ۱۳۸۵
پژوهش و سازندگی

بررسی توان مایع شکمبهٔ گوسفند تغذیه شده با جیره‌های مختلف در دو حالت حضور و عدم حضور تک‌یاخته‌ها در شکمبه بر میزان گاز تولید شده در شرایط *In vitro*

• **کاوه جعفری خورشیدی**، استادیار دانشگاه آزاد اسلامی‌واحد سوادکوه
• **محمد رضائیان**، استادیار دانشکدهٔ دامپزشکی دانشگاه تهران(استاد راهنما)
• **مجتبی زاهدی‌فر**. استادیار مؤسسهٔ تحقیقات علوم دامی-کرج
• **سیداحمد میرهادی**، استادیار مؤسسهٔ تحقیقات علوم دامی-کرج

تاریخ دریافت: مهرماه ۱۳۸۲ تاریخ پذیرش: دی ماه ۱۳۸۴

Email:kavehjk@yahoo.com

چکیده

با وجود اینکه غذای اصلی دام‌های نشخوارکننده را خوراک‌های خشبی تشکیل می‌دهد، با این‌حال خود آنها توانایی تولید آنزیم‌هایی که قادر به تجزیهٔ سلولز و همی‌سلولز باشند را ندارند. لذا دام‌های نشخوارکننده به جمعیت ساکن در دستگاه گوارش خود وابسته هستند. اکوسیستم میکروبی شکمبه عمدتاً شامل باکتری‌ها، تک‌یاخته‌ها و قارچ‌ها است که نقش مهمی‌در فرایند تخمیر در شکمبه ایفا می‌کنند. هدف از اجرای این تحقیق بررسی اثر حذف تک‌یاخته‌ها از شکمبهٔ گوسفند تغذیه شده با چهار نوع جیرهٔ غذایی بر میزان گاز تولید شده از چهار نوع خوراک شامل کاه گندم، یونجه، کنجالهٔ پنبه دانه و دانهٔ جو می‌باشد. در این آزمایش از ۴ راس گوسفند نر نژاد شال فیستول گذاری شده در شکمبه در قالب طرح آماری مربع لاتین استفاده شد و اثر چهار نوع جیرهٔ غذایی (حاوی صفر،۲۰، ۴۰ و ۶۰ درصد کنسانتره) در دو مرحلهٔ حضور و عدم حضور تک‌یاخته در شکمبه مورد بررسی قرار گرفت. حذف تک یاخته‌ها از شکمبه با استفاده از روش شستشو و تخلیه(۱۰) صورت گرفت. نتایج حاصل از آزمایشات تولید گاز بر روی خوراک‌های مورد آزمایش نشان داد حجم گاز تولید شده پس از ۲۴ ساعت انکوبه کردن کاه گندم، یونجه، کنجالهٔ پنبه دانه و دانهٔ جو در مایع شکمبهٔ گوسفند دارای تک‌یاخته به ترتیب ۴۴/۳، ۳۵/۴۶،۳/۶ و ۷۰ میلی‌لیتر و در مایع شکمبهٔ گوسفند فاقد تک‌یاخته به ترتیب ۳۳/۳، ۳۷/۴۰،۱/۷ و ۶۵/۳ میلی‌لیتر بوده است. با حذف تک یاخته‌ها از شکمبه از حجم گاز تولید شده (جز در مورد کنجالهٔ پنبه دانه) به طور چشمگیری کاسته شد و اختلاف مشاهده شده در مورد کاه گندم ازلحاظ آماری‌معنی‌دار بود($p<0/05$).

کلمات کلیدی: گوسفند، حذف تک یاخته‌ها، تولید گاز

www.SID.ir

Archive of SID

pajouhesh & Sazandegi No:73 pp: 30-35

Effect of defaunating the rumen of sheep fed various diets on gas production *invitro*

By: K. Jafari Khorshidi, Assistant Prof. Islamic Azad University. Branch of Savadkooh, Rezaean M. Assistant Prof., Veterinary College, Tehran University. Zahedifar M. Assistant Prof. Animal Science Institute, Karaj, Mirhadi S.A. Assistant Prof. Animal Science Institute, Karaj.

Although roughages are the main components of diet for ruminants,they cannot digest the lignocellulolytic feedstuffs.Thus they depend on the microbial population which exist on their alimentary tract. Rumen microbial ecosystem mainly consist of bacteria,protozoa and fungi.Their main function in the rumen is fermentative process of feeds.The objective of this experiment was to evaluate the effect of defaunating the rumen of sheep on the amount of gas produced by incubation of wheat straw,alfalfa hay,cottonseed meal and barley grain.In this experiment four rumen fistulated sheep (breed of shal) used in a latin square design. Four diets containing 0,20,40 and 60% concentrate used in two stage of faunate and defaunated. Defaunating the rumen was done using emptying and washing method (Jouany and Senaud,1979).The results of gas test on four feeds (wheat straw, alfalfa, cottonseed meal and barley grain) in rumen liquor of sheep containing protozoa was 44.3, 46.6, 35.3 and 70.0 and in rumen liquor of defaunated sheep was 33.3, 40.7, 37.1 and 65.3 mililiters respectively.By defaunating the rumen the volume of gas produced was significantly (except for cottonseed meal) and significant difference ($p<0.05$) observed for wheat straw.

Key words: Sheep, Defaunation, Gas production

مقدمه

روش‌های متعددی بـرای اندازه‌گیری میزان تخمیر مواد خوراکی در مایع شکمبه وجود دارد، هر کدام از آنها دارای مزایا و معایبی هستند. از آنجایی که روش*invivo* نیاز به کار زیاد داشته ، پر هزینه بوده و استاندارد کردن روش آن دشـوار اسـت و از آنجایی که مواد خوراکی را تنها می‌توان در جیرهٔ کامل مورد آزمایـش قـرار داد ، تکنیک‌های دیگری برای برآورد میزان تجزیه شـدن مواد خوراکی در شکمبه توسعه پیدا کردند که می‌توان به روش‌های *insacco* و *invitro* اشاره کرد(۳،۲). با استفاده از روش *insacco* کینتیک تجزیهٔ مواد خوراکی در شکمبه مورد بررسی قرار گرفت. با این‌حال این روش برای خوراک‌های محلول، خوراک‌هایی که اندازهٔ ذرات آنها کوچک است و خوراک‌هایی که حاوی نسبت زیادی نشاسـته و چربی هستند و بدون تجزیه شـدن از درون کیسه‌ها ناپدید می‌گردند مناسب نیست. روش‌های مختلف *invitro* پیشنهاد شده‌اند که در آنها میزان تجزیه شدن مادهٔ آلی، دیوارهٔ سلولی و نشاسته تعیین می‌گردد. با وجود اینکه روش Tilley و Terry(۱۴) به عنوان روش مناسبی برای بیان هضم مادهٔ آلی پذیرفته شـد، با این‌حال برای مطالعات کینتیکی مناسب نیست. از اواخر سـال ۱۹۷۰ اندازه‌گیری میزان گاز تولید شـده در شرایط *invitro* برای تعیین خصوصیات هضم علوفه‌ها و کینتیک تخمیر معرفی و مورد استفاده قرار گرفت که در این روش گاز حاصل از هضم مواد خوراکی انکوبه شـده در مایع شکمبه در شرایط *invitro* مورد اندازه‌گیری قرار می‌گیرد(۴، ۱۳).

میکروارگانیسـم‌های شکمبه مواد خوراکی را به فرآورده‌های فرعی آنها یعنی گازها، دی‌اکسـیدکربن و متان و اسیدهای چرب فرار (اسید استیک، اسـید پیرووِیک و اسـید بوتیریک) تبدیل می‌کنند. سیسـتم‌های مختلفی از روش تولید گاز پیشـنهاد شده اسـت و با توجه به فراهم بودن تجهیزات اتوماتیک گاز تست، علاقمندی به استفاده از این روش رو به افزایش است. میزان تخمیر انجام شـده در مایع شـکمبه نیز به راحتی به کمک تکنیک تولید گاز قابل اندازه‌گیری است(۱۹).

تک‌یاخته‌هـای مژه‌دار قادر هسـتند اجـزای اصلی جیرهٔ غذایـی مصرف شده توسـط دام را به انواع متابولیت‌هایی که مورد استفادهٔ حیوان میزبان قرار می‌گیرد، تبدیل نماید. علاوه بر اثر مسـتقیم، حضور تک یاخته‌ها سبب تغییر محیط شـکمبه شده و اثرات غیر مسـتقیم روی میزان، وسعت و محل انجام فرایندهای هضم می‌گردد. نشان داده شده است که وجود تک‌یاخته‌ها در شکمبه بر میزان مادهٔ خشک محتویات شکمبه و زمان ابقای آن، حجم شکمبه، تعداد و نوع باکتری‌های موجود، غلظت کل و نسبت اسیدهای چرب فرار، pH محیط و غلظت آمونیاک تاثیر می‌گذارد. تک‌یاخته‌ها به طور مستقیم در فرایند هضم سهیم هستند. در دام‌های فاقد تک یاخته در شکمبه "مقدار بیشتری پروتئین برای هضم به روده می‌رسـد. تقریباً یک چهارم تا یک‌سـوم از تجزیهٔ الیاف در شکمبه به تک‌یاخته‌ها مربوط است (۱۷،۱). از طرفی تک‌یاخته‌ها سبب تحریک توان هضم سلولز توسط باکتری‌ها می‌شوند و آنزیم‌های تولید شده توسط آنها در تجزیهٔ اجزای گیاهی در شکمبه از اهمیت برخوردار می‌باشد. اسید لاکتیک (که مشخص شده است به طور غیر مستقیم و با تغییر pH مطلوب برای فعالیت باکتری‌های سلولیتیک سبب کاهش میزان هضم الیاف می‌گردد)، به طور فعال توسـط تک‌یاخته‌های مژه‌دار آنتودینیومورف جذب می‌گـردد و میزان فعالیت آنزیم‌های تجزیه کنندهٔ زایلان پس از تلقیح تک یاخته‌ها به شـکمبه افزایش می‌یابد. نتایج حاصل از بررسی اثرات تک‌یاخته‌ها با مقایسهٔ دام‌های واجد تک یاخته و فاقد تک‌یاخته در شکمبه در تحقیقات انجام شده یکسان نیست و هدف از انجام این آزمایش بررسـی اثر تک‌یاخته‌ها بر میزان هضم خوراک‌های مورد آزمایش در شرایط *invitro* بود.

مواد و روش‌ها

دام‌های مورد آزمایش

از ۴ راس گوسفند نژاد شال ، فیستول گذاری شده در شکمبه با میانگین وزن ۵±۴۰ کیلوگرم برای انجام ازمایش استفاده شد. دام‌های آزمایشی در حد نگهداری و در دو وعدهٔ غذایی (۸ صبح و ۴ بعد از ظهر) تغذیه می‌شدند. مایع

www.SID.ir

Archive of SID

شکمبه قبل از وعدهٔ غذایی صبح دریافت شده و از میان ۴ لایه پارچهٔ کرباسی عبور داده می‌شد و به سرنگ‌های مورد نظر تزریق می‌شدند.

خوراک‌های مورد آزمایش و آماده‌سازی نمونه‌ها برای آزمون تولید گاز

در این آزمایش ۴ نوع ماده خوراکی شامل کاه‌گندم، یونجه، کنجالهٔ پنبه دانه و دانهٔ جو مورد بررسی قرار گرفت. قبل از توزین، خوراک‌های مورد نظر با آسیاب دارای سوراخ‌هایی با قطر یک میلی متر آسیاب شدند و از ۲۰۰ میلی‌گرم وزن خشک نمونه برای انجام آزمایش استفاده شد. نمونه‌های توزین شده از قسمت انتهای سرنگ وارد آن شد، سپس پیستون به داخل سیلندر وارد گردید.

مواد شیمیایی مورد نیاز

محلول عناصر اصلی ۵/۷ گرم فسفات دی هیدروژن سدیم، ۶/۲ گرم فسفات هیدروژن پتاسیم، ۰/۶ گرم سولفات منیزیم که با افزودن آب مقطر به حجم لیتر رسانده شد محلول عناصر کم‌مصرف ۱۳/۲ گرم کلریدکلسیم، ۱۰/۰ گرم کلرید منگنز، ۱/۰ گرم کلرید کبالت، ۰/۸ گرم کلرید آهن که با افزودن آب مقطر به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد ، محلول بافر ۳۵ گرم کربنات هیدروژن سدیم، ۴ گرم کربنات هیدروژن آمونیوم با افزودن آب مقطر به حجم یک لیتر رسانده شد، محلول ریزازورین ۱۰۰ میلی‌گرم ریزازورین با افزودن آب مقطر به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد و محلول احیاء کننده ۲ میلی‌لیتر NaOH یک نرمال و سپس ۲۸۵ میلی‌گرم $Na_2S,7H_2O$ با افزودن آب مقر به حجم ۴۷/۵ میلی‌لیتر رسانده شد .

محیط کشت بی هوازی

برای تهیه محیط کشت مقدار ۴۷۴ میلی‌لیتر آب مقطر، ۰/۱۲ میلی‌لیتر عناصر کم‌مصرف، ۲۳۷ میلی‌لیتر محلول بافر، ۲۳۷ میلی‌لیتر محلول عناصر اصلی، ۱/۲۲ میلی‌لیتر محلول ریزازورین، ۵۰ میلی‌لیتر محلول احیاء کننده را با هم مخلوط نموده و برای ایجاد شرایط بی هوازی گاز CO_2 به داخل محلول تزریق می‌گردید و تا برقراری کامل شرایط بی هوازی ادامه یافت. با افزودن محلول احیاء کننده رنگ محلول که آبی روشن است ابتدا قرمز رنگ شده و سپس بیرنگ می‌شود.

اندازه‌گیری گاز تولید شده

برای انجام آزمایش اندازه‌گیری گاز تولید شده از روش Menke و همکاران(۱۲) استفاده شد. ۱۰ میلی‌لیتر نمونهٔ مایع شکمبه تازه با ۲۰ میلی‌لیتر محیط کشت بی‌هوازی به داخل سرنگ‌ها وارد و پیستون روی ۳۰ میلی‌لیتر ثابت می‌گردید. سپس سرنگ‌ها را به داخل انکوباتور دستگاه مخصوص اندازه‌گیری گاز انتقال داده و میزان گاز تولید شده طی زمان‌های مختلف شامل ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۲، ۲۴، ۳۶، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت پس از انکوباسیون قرائت شد.

روش حذف تک‌یاخته از شکمبه

در این تحقیق برای حذف تک یاخته‌ها از شکمبه از روش تخلیه و شستشوی شکمبه که توسط Jouany و Senaud(۱۰) پیشنهاد گردید استفاده شد. ابتدا به دام‌های مورد نظر ۴۸ ساعت گرسنگی داده شد، سپس نیمی از محتویات شکمبهٔ هر دام با استفاده از پمپ تخلیه گردید و به مدت ۲۴ ساعت در داخل فریزر با دمای ۲۰- درجهٔ سانتیگراد نگهداری شد. گرسنگی دام‌ها ۲۴ ساعت دیگر نیز ادامه یافت. در روز سوم باقیماندهٔ محتویات شکمبه نیز تخلیه و به فریزر انتقال داده شد و شکمبه با آب ولرم شستشو داده شد. محتویات فریز شدهٔ روز قبل به داخل آون منتقل و پس از رسیدن دمای آن به ۳۹ درجهٔ سانتیگراد به داخل شکمبه برگردانده شد. ۲۴ ساعت پس از آن دومین سری از محتویات نیز برای اطمینان از حصول جمعیت میکروبی مناسب، به شکمبه انتقال داده شد و از این زمان خوراک در اختیار دام‌ها قرار داده شد. آزمایشات مرحلهٔ اول در حالت حضور تک‌یاخته‌ها در شکمبه صورت گرفت و ۴۵ روز پس از حذف تک‌یاخته‌ها از شکمبه نمونه‌برداری و آزمایشات مورد نظر در مرحلهٔ فاقد تک‌یاخته در شکمبه آغاز گردید. وضعیت تک‌یاخته‌ها در شکمبه به طور هفتگی مورد کنترل قرار می‌گرفت. به این ترتیب که از طریق فیستول نمونه‌برداری از مایع شکمبه صورت میگرفت و با مشاهدهٔ میکروسکوپی وجود یا عدم وجود تک‌یاخته‌ها در شکمبه بررسی می‌شد.

جیره‌های غذایی مورد آزمایش

از ۴ نوع جیرهٔ غذایی(جدول ۱)، طی دو مرحلهٔ آزمایشی (در دام‌های واجد و فاقد تک‌یاخته در شکمبه) استفاده شد. برای هر جیرهٔ غذایی، دام‌های مورد آزمایش به مدت ۱۰ روز برای عادت پذیری و تطابق میکروارگانیسم‌های شکمبه با جیره غذایی مورد نظر تغذیه شده و سپس به مدت ۳ هفته عملیات آزمایشی و نمونه‌برداری صورت گرفت.

طرح آماری مورد استفاده

در این آزمایش از طرح آماری مربع لاتین استفاده شد. مدل ریاضی طرح:

$$Xijk=\mu+\delta i+\delta j+\delta k+\varepsilon ijk$$

Xijk: مقدار هر مشاهده، μ :میانگین کل جامعه، δi : اثر ردیف(مرحلهٔ انجام آزمایش) ، δj : اثر ستون(اثر دامها)، δk : اثر تیمار(چهار نوع جیرهٔ غذایی) و εijk: اثر اشتباه آزمایش

تجزیهٔ آماری اطلاعات بدست آمده با استفاده از نرم افزار آماری Minitab تحت ویندوز صورت گرفت.

نتایج

تولید گاز در اثر انکوباسیون نمونه‌های خوراکی با مایع شکمبهٔ گوسفند

نتایج حاصل از انکوباسیون نمونه‌های خوراکی با مایع شکمبهٔ گوسفند تغذیه شده با چهار نوع جیرهٔ غذایی و در دو حالت حضور و عدم حضور تک یاخته‌ها در شکمبه در جدول شماره (۲) نشان داده شده است.

کاه گندم: جیرهٔ غذایی بر میزان گاز تولید شده مؤثر بود ولی اثر آن از لحاظ آماری معنی‌دار نبود ($p<0/05$). با توجه به جدول شمارهٔ- ۲ جز در گوسفند تغذیه شده با جیرهٔ حاوی ۶۰ درصد کنسانتره که بیشترین حجم گاز تولید شده را نشان می‌دهد. در سایر موارد میزان گاز تولید شده ناشی از تغذیهٔ چهار نوع جیرهٔ غذایی در دام‌های فاقد تک‌یاخته کمتر از گوسفند واجد تک‌یاخته می باشد. میانگین گاز تولید شده از کاه گندم در حضور و عدم حضور تک‌یاخته‌ها در طی ۹۶ ساعت انکوباسیون به ترتیب برابر ۵۸/۹ و ۵۵/۱ میلی‌لیتر بود. این میزان در تمام زمان‌های مورد اندازه‌گیری در حالت حضور تک‌یاخته‌ها بیش از حالت عدم حضور تک‌یاخته‌ها بود. این تفاوت به

www.SID.ir

Archive of SID

جدول شمارهٔ -۱: اجزاء و ترکیبات شیمیایی جیره‌های غذایی مورد استفاده

اجزای جیره (درصد مادهٔ خشک)	جیرهٔ تمام علوفه‌ای(۱)	جیرهٔ حاوی ۲۰ درصد کنسانتره(۲)	جیرهٔ حاوی ۴۰ درصد کنسانتره(۳)	جیرهٔ حاوی ۶۰ درصد کنسانتره(۴)
یونجهٔ خشک	۶۰	۴۰	۲۰	۰
کاه گندم	۴۰	۴۰	۴۰	۴۰
سبوس گندم	۰	۳	۲۵	۲۵/۷۷
دانهٔ جو	۰	۱۵	۱۳	۲۱/۴۸
کنجالهٔ پنبه دانه	۰	۲	۲	۱۲/۷۵
ترکیبات شیمیایی جیره‌های غذایی (درصد مادهٔ خشک)				
پروتئین خام	۸/۸۱	۹/۲۵	۹/۹۲	۱۲/۰
مادهٔ آلی	۹۱/۲	۹۲/۴	۹۲/۷	۹۳/۸
ADF	۴۰/۳	۳۴/۷	۲۹/۲	۲۵/۲
NDF	۵۹/۷	۵۶/۱	۵۵/۱	۵۲/۷
کلسیم	۰/۹۷	۰/۷۲	۰/۴۵	۰/۱۹
فسفر	۰/۲۱	۰/۲۷	۰/۵۰	۰/۶۱

جدول شمارهٔ -۲: میزان گاز تولید شده(میلی‌لیتر) پس از ۲۴ و ۹۶ انکوباسیون ساعت انکوباسیون کاه گندم، یونجه، کنجالهٔ پنبه دانه و دانهٔ جو با مایع شکمبهٔ گوسفند تغذیه شده با چهار نوع جیرهٔ غذایی و در دو حالت حضور و عدم حضور تک‌یاخته‌ها در شکمبه

		نام خوراک							
		کاه‌گندم		یونجه		کنجالهٔ پنبه دانه		دانهٔ جو	
وضعیت دام	جیره/زمان	۲۴	۹۶	۲۴	۹۶	۲۴	۹۶	۲۴	۹۶
واجد تک‌یاخته	۱ (۰)	۴۳/۵	۵۹/۳	۴۶/۳	۵۶/۳	۳۸/۵	۵۳/۳	۶۶/۳	۸۹/۵
	۲ (۲۰)	۴۴/۰	۵۹/۰	۴۶/۵	۵۵/۰	۳۲/۸	۵۰/۵	۶۵/۰	۹۰/۵
	۳ (۴۰)	۴۴/۷	۵۹/۵	۴۷/۳	۵۵/۵	۳۵/۰	۵۳/۸	۷۱/۸	۸۹/۵
	۴ (۶۰)	۴۴/۳	۵۸/۰	۴۶/۳	۵۵/۵	۳۴/۸	۵۲/۳	۷۷/۰	۹۰/۳
میانگین ± انحراف معیار		a۳/۴۴ ۲/۶۸	۵۸/۹ ۱/۴۷	۴۶/۶ ۲/۳۹	۵۵/۵۶ ۱/۹۷	۳۵/۳ ۳/۶۸	۵۲/۳ ۴/۵۸	۷۰/۰ ۹/۰۴	۸۹/۹ ۳/۴۴
فاقد تک‌یاخته	۱ (۰)	۳۰/۷	۵۱/۵	۴۰/۰	۵۰/۰	۳۴/۸	۵۴/۵	۶۵/۳	۸۴/۳
	۲ (۲۰)	۳۲/۰	۵۳/۳	۳۷/۸	۴۷/۰	۳۶/۵	۵۳/۳	۶۴/۵	۸۷/۸
	۳ (۴۰)	۳۴/۰	۵۳/۵	۴۱/۳	۴۹/۸	۳۲/۵	۴۸/۵	۶۴/۵	۹۳/۵
	۴ (۶۰)	۳۶/۷	۵۵/۱	۶۲/۰	۴۴/۰	۵۴/۸	۴۴/۸	۶۲/۵	۶۶/۸
میانگین ± انحراف معیار		b۳/۳۳ ۵/۷	۵۵/۱ ۵/۵۷	۴۰/۷۵ ۴/۵۸	۵۰/۵ ۵/۴۲	۳۷/۱ ۱۱/۱۸	۵۴/۷ ۱۰/۷	۶۵/۳ ۱/۰۸	۹۰/۸ ۱۰/۵

درج حروف غیر مشابه در هر ستون بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار در سطح($p > ۰/۰۵$) می‌باشد.

www.SID.ir

Archive of SID

خصوص در ساعات اولیهٔ انکوباسیون قابل توجه می‌باشد.

یونجه: مقدار گاز حاصل از انکوباسیون یونجه در حالت حضور تک‌یاخته‌ها با استفاده از جیره‌های غذایی شمارهٔ یک الی ۴ به ترتیب ۵۶/۳، ۵۵/۰، ۵۵/۵ و ۵۵/۵ میلی‌لیتر و در حالت عدم حضور تک‌یاخته در شکمبه به ترتیب برابر ۵۰/۰، ۴۷/۰، ۴۹/۸ و ۵۴/۸ میلی‌لیتر بود. مشاهده شد که جیره‌های غذایی در حضور تک‌یاخته در شکمبه با تولید گاز بیشتری همراه بوده‌اند(جدول شمارهٔ ۲). میانگین گاز تولید شده با تخمیر یونجه طی ۹۶ ساعت انکوباسیون در حضور تک‌یاخته‌ها برابر ۵۵/۵۶ میلی‌لیتر و عدم حضور تک‌یاخته‌ها برابر ۵۰/۵ میلی‌لیتر بود. به طور کلی این میزان گاز تولید شده طی تمام زمان‌های مختلف در حالت واجد تک یاخته بیش از حالت فاقد تک‌یاخته در شکمبه بود ولی اختلاف آماری معنی‌داری مشاهده نشد($p < ۰/۰۵$).

کنجالهٔ پنبه دانه: بیشترین میزان گاز تولید شده(۶۲/۵ میلی‌لیتر طی ۹۶ ساعت انکوباسیون) به گوسفند تغذیه شده با جیرهٔ حاوی ۶۰ درصد کنسانتره و در حالت عدم حضور تک‌یاخته در شکمبه تعلق دارد. میزان گاز تولید شده با تغذیهٔ جیره‌های غذایی شمارهٔ یک الی ۴ در حالت حضور تک‌یاخته‌ها در شکمبه به ترتیب برابر ۵۳/۳، ۵۰/۵، ۵۳/۸ و ۵۲/۳ میلی‌لیتر و در حالت عدم حضور تک‌یاخته‌ها در شکمبه برابر ۵۴/۵، ۵۳/۳، ۴۸/۵ و ۶۲/۵ میلی‌لیتر بود ولی اختلاف آماری معنی‌داری مشاهده نشد($p < ۰/۰۵$)(جدول شمارهٔ ۲). با حذف تک‌یاخته‌ها فرآیند تخمیر تا ۸ ساعت ابتدای انکوباسیون آرامتر از زمان حضور تک‌یاخته‌ها در شکمبه صورت گرفت، پس از آن سیر تخمیر کنجالهٔ پنبه دانه در هر دو حالت حضور و عدم حضور تک‌یاخته‌ها تقریباً مشابه بود ولی پس از ۹۶ ساعت میزان گاز تولید شده در حالت عدم حضور تک‌یاخته‌ها بیش از میزان گاز تولید شده در حالت حضور تک‌یاخته‌ها بود.

دانهٔ جو: بیشترین میزان گاز تولید شده در اثر انکوباسیون دانهٔ جو برابر ۹۷/۵ میلی‌لیتر پس از ۹۶ ساعت انکوباسیون بود که به گوسفند فاقد تک‌یاخته و تغذیه شده با جیرهٔ حاوی ۶۰ درصد کنسانتره و کمترین میزان (۸۴/۳ میلی‌لیتر) به گوسفند فاقد تک‌یاخته و تغذیه شده با جیرهٔ تمام علوفه‌ای تعلق داشت.گاز حاصل از انکوباسیون دانهٔ جو با مایع شکمبهٔ گوسفند تغذیه شده با جیره‌های غذایی شمارهٔ یک الی چهار در حالت حضور تک‌یاخته‌ها در شکمبه به ترتیب برابر ۸۹/۵، ۹۰/۵، ۸۹/۵ و ۹۰/۳ میلی‌لیتر و در عدم حضور تک‌یاخته برابر ۸۴/۳، ۸۷/۸، ۹۳/۵ و ۹۷/۵ میلی‌لیتر بود. با مشاهدهٔ جدول شمارهٔ ۲- مشاهده می‌گردد که سرعت تخمیر طی ۲۴ ساعت ابتدای انکوباسیون دانهٔ جو در گوسفند واجد تک‌یاخته در مقایسه با گوسفند فاقد تک‌یاخته در شکمبه بالاتر بود ولی پس از این زمان روند تولید گاز در اثر انکوباسیون دانهٔ جو با مایع شکمبهٔ گوسفند در دو حالت حضور و عدم حضور تک یاخته مشابه بوده و در پایان ۹۶ ساعت انکوباسیون در حضور و عدم حضور تک‌یاخته‌ها به ترتیب برابر ۸۹/۹ و ۹۰/۸ میلی‌لیتر بود.

بحث

میانگین حجم گاز تولید شده (حاصل از تخمیر ۲۰۰ میلی‌گرم مادهٔ خشک) در ۲۴ ساعت اول انکوباسیون کاه گندم، یونجه، کنجالهٔ پنبه دانه و دانهٔ جو با مایع شکمبهٔ گوسفند در دو حالت حضور و عدم حضور تک‌یاخته‌ها در شکمبه به ترتیب ۴۴/۳، ۴۶/۳، ۳۵/۳ و ۷۰/۰ میلی‌لیتر و ۳۳/۳، ۴۰/۷، ۳۷/۱ و ۶۵/۳ میلی‌لیتر بود. اختلاف مشاهده شده در حجم گاز تولید شده در مورد کاه‌گندم در حالت حضور و عدم حضور تک یاخته از نظر آماری معنی‌دار بود ($p > ۰/۰۵$) ولی در مورد یونجه و دانهٔ جو با وجود کاهش حجم گاز تولید شده، اختلاف موجود از نظر آماری معنی‌دار نبود. در مورد کنجاله پنبه دانه نه تنها از حجم گاز تولید شده کاسته نشد بلکه افزایش حجم گاز تولیدی مشاهده گردید (از ۳۵/۳ به ۳۷/۱ میلی لیتر) که به نظر می‌رسد علت آن افزایش جمعیت و فعالیت باکتری‌های پروتئولتیک در حالت عدم حضور تک یاخته ها در شکمبه و تولید مقدار بیشتری گاز آمونیاک باشد. این اختلاف در دام های تغذیه شده با جیره غذایی حاوی ۶۰ درصد کنسانتره و در حالت عدم حضور تک یاخته در شکمبه به وضوح مشاهده شد(حجم گاز تولید شده پس از حذف تک‌یاخته‌ها از ۵۲/۳ به ۶۲/۵ میلی لیتر افزایش پیدا کرد). بالا بودن حجم گاز تولید شده در حالت حضور تک یاخته در شکمبهٔ گوسفند با میزان تولید اسیدهای چرب فرار (VFA) توسط دام‌های واجد تک‌یاخته در آزمایش حاضر مطابقت دارد، به خصوص در ساعات اولیهٔ پس از تغذیه میزان VFA تولید شده در دام‌های واجد تک‌یاخته در شکمبه نسبت به حالت عدم حضور تک یاخته بالاتر بود. وضعیت مشابهی از لحاظ میزان گاز تولید شده توسط خوراک‌های دیگر مورد آزمایش (یونجه، کنجالهٔ پنبه دانه و دانهٔ جو) مشاهده شد.

بالا بودن میانگین حجم گاز تولید شده بعد از انکوباسیون خوراک‌های مورد آزمایش با مایع شکمبهٔ گوسفند واجد تک‌یاخته در شکمبه می‌تواند با بالا بودن میزان تخمیر و تجزیهٔ خوراک‌ها توسط جمعیت میکروبی موجود در شکمبه ارتباط داشته باشد. در این بین حضور تک‌یاخته‌ها از اهمیت خاصی برخوردار است. از طرفی به نظر می‌رسد با وجود کاهش احتمالی جمعیت باکتری‌های سلولولیتیک در شکمبهٔ واجد تک‌یاخته، همکوشی بین تک‌یاخته‌ها و باکتری‌های سلولولیتیک سبب افزایش میزان تجزیه‌پذیری خوراک‌ها شده است(۱). تمام تک یاخته‌های آنتودینیومورف بزرگ قادر به تجزیهٔ سلولز هستند و توانایی استفاده از مواد خشبی را به عنوان منبع انرژی دارند (۶). فعالیت سلولاز در مایع شکمبهٔ گوسفندی که تنها تک‌یاختهٔ موجود در آن را *Eudiplodinium maggi* تشکیل می‌دهد ۴-۳ برابر گوسفندی است که تک‌یاخته‌ها از شکمبهٔ آن حذف شده باشند(۷). برخی از مطالعات نشان می‌دهد که سهم تک‌یاخته‌ها در تجزیهٔ الیاف در حدود ۳۳-۲۵ درصد می‌باشد(۳) در حالی که سهم آنها در حدود ۴۰-۳۵ درصد نیز گزارش شده است(۱).گزارش‌هایی وجود دارد که نشان می‌دهد حذف تک‌یاخته‌ها از شکمبه اثر منفی بر تجزیهٔ الیاف دارد(۱۱). تک‌یاخته‌ها قادر به تجزیهٔ همی‌سلولز، زایلان، آرابینوزایلان و آرابان نیز هستند و تجزیهٔ همی‌سلولز تا حد زیادی به تجزیهٔ سلولز بستگی دارد و اکثر تک یاخته‌هایی که سلولز را تجزیه می‌کنند، می‌توانند همی سلولز را نیز تجزیه کنند(۱۶،۵). بین غلظت آمونیاک در مایع شکمبه و رشد باکتری‌های سلولولیتیک ارتباط مثبتی وجود دارد، زیرا بسیاری از باکتری‌های سلولولیتیک برای تامین ازت مورد نیاز خود از آمونیاک استفاده می‌کنند. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد در حالت حضور تک‌یاخته‌ها در شکمبه، غلظت ازت آمونیاکی در مقایسه با حالت عدم حضور تک‌یاخته‌ها در شکمبه بالاتر است زیرا تک یاخته‌های آنتودینیومورف عمدتاً پروتئولیتیک هستند (۸) و لذا می‌توان انتظار داشت در حالت حضور تک‌یاخته‌ها در شکمبه شرایط مناسبی برای حضور باکتری‌های سلولولیتیک فراهم می‌گردد. اتصال تک‌یاخته‌ها به دیوارهٔ سلولی و تخریب آن و اتصال باکتری‌های سلولولیتیک به این بافت‌های تخریب شده با افزایش میزان تخمیر الیاف همراه خواهد بود. از طرفی Williams و Withers (۱۸) سهم

www.SID.ir

Archive of SID

تک‌یاخته‌ها را در فعالیت آنزیم‌های فیبرولیتیک مهم دانسته و اظهار داشتند با وجـود اینکه پس از تلقیح تک‌یاخته‌ها به شـکمبه از تعـداد باکتری‌های سلولولیتیک کاسته می‌شود، ولی نه تنها تغییری در آنزیم‌های تجزیه کنندهٔ الیاف (مثل پلی‌ساکاریداز) ایجاد نشده بلکه در مواردی مقدار آن افزایش نشان می‌دهد (مثل گلوکوزیداز هیدرولاز). آنها مشاهده کردند با تلقیح تک‌یاخته‌ها به شکمبهٔ دام فاقد تک یاخته، با وجود اینکه از تعداد باکتری‌های فیبرولیتیک کاسته شـد ولی هضم گیاه لولیوپرن افزایش یافت که نظریهٔ وجود همکاری مثبت بین تک‌یاخته‌های فیبرولیتیک را در شـکمبه تائید می‌کند. اثر جیرهٔ غذایی بر حجم گاز تولید شده از خوراک‌های انکوباسیون شده با مایع شکمبهٔ گوسـفند در دو حالت حضور و عدم حضور تک یاخته‌ها در شـکمبه از نظر آماری اختلاف معنی‌داری به همراه نداشـت ($p < ۰/۰۵$). یافته‌های حاصل از ایـن تحقیق با یافته‌های Huntington و همـکاران (۹) مطابقت دارد. آنها در مطالعهٔ اثر جیرهٔ غذایی حیوان دهندهٔ مایع شکمبه روی میزان تولید گاز ناشی از انکوباسیون مواد خوراکی، اظهار داشتند که وقتی جیرهٔ حیوان دهندهٔ مایع شـکمبه را فقط کاه تشکیل می‌دهد فعالیت میکروبی کمتر از هنگامی است که جیرهٔ حاوی ۸۰ درصد خوراک سیلو شده و ۲۰ درصد جو استفاده می‌کند. امـا به دلیل اینکه برای انجام آزمایش تولید گاز، نمونهٔ مایع شـکمبه قبل از خوراک دادن وعدهٔ صبح برداشت می‌شود، تفاوت در فعالیت میکروبی بین دو جیرهٔ غذایی به حداقل میرسد و استوکیومتری تخمیر تحت تاثیر جیرهٔ حیوان دهندهٔ مایع شـکمبه قرار نمی‌گیرد و در نتیجه جیرهٔ غذایـی حیوان دهندهٔ شکمبه اثر معنی‌داری روی میزان تولید گاز ندارد. بین حجم گاز تولید شده و قابلیت هضم مادهٔ خشـک ارتباط مثبت وجود دارد و با افزایش قابلیت هضم مادهٔ خشک بر حجم گاز تولید شده افزوده می‌شود و این موضوع بیان می‌دارد که تولید گاز بخش لاینفک تخمیر شدن مواد خوراکی است.

نتیجه‌گیری کلی و پیشنهاد

تک یاخته‌ها به عنوان یکی از جمعیت‌های میکروبی سـاکن در شکمبه، بـر میزان هضم مـواد غذایی تاثیر گذار هسـتند و به دلیل نوپا بـودن علم میکروبیولوژی شکمبه، لازم است نسبت به انجام آزمایشات دیگری در جهت شناخت جمعیت تک‌یاخته‌ها و سـایر میکروارگانیسم‌های ساکن در شکمبهٔ دام‌های نشخوارکنندهٔ بومی اقدام شود تا پتانسیل هضمی آنها تعیین گردد.

منابع مورد استفاده

1-Agrawal,N.,Kewalramani, Kamra,D.N.1991; Hydrolytic enzymes of buffali rumen:Comparison of cell free rumen fluid,bacterial and protozoal ftaction.Buffalo J.7:203-207.

2-Agriculture and food research council . 1992 ; Nutrient requirements of ruminant animals:Technical Committee on Responces to Nutrients: reports No.9.nutrition Abstracts and Reviews series B.62:787-835.

3-Amos,H,E. and Akin,D.E.1978; Rumen protozoal degradation of structurally intact forage tissues.App.Environ.Microbiol.,36: 513-522.

4-Blummel,M and E.R.Orscov.1993; Comparsion of *invitro* gas production and nylon bag degradability of roughages in predicting feed intake in cattle.Anim.Feed Sci & Tech.40:109-119.

5-Coleman,G.S.1980; Rumen ciliate protozoa.Adv.parasitol.,18: 121-123.

6- Coleman, G. S. 1985; The cellulase content of 15 species of entodiniomorphid protozoa, mixed bacteria and plant bedris isolated from the ovine rumen. J.Agric, Sci.,104: 349-360.

7-Coleman,G.S.1986; The metabolism of rumen ciliate protozoa. FEMS Microbial.Rev.,39:321-344.

8- Fosberg, C.W, Lovelock, L.K. A., Krumholz, L. and Buchnan-Smith, J. G. 1984; Protease activiry of rumen protozoa. Appl.Environ.Micribiol., 47:101-110.

9-Huntington, G. B, and D. I. Given .1997; Studies on *in situ* degradation of feeds in the rumen, 1- Effect of species, bag mobility and incubation sequence on dry matter disappearance. Anim.Feed sci. and Technol. 64:227-241.

10-Jouany,J.P.and J. Senaud. 1979; Defaunation du rumen du moutom. Annal.Biologie.Anim.Biochem.Biophy.19:619-624.

11- Kurrihara,Y., Takechi, T. and Slubata, F. 1978; Relationship between bacteria and ciliate protozoa in rumen of sheep fed on a purified diet. J.Agric.Sci.(Camb.) 90:373-382.

12-Menke,K.H. and H.Steingass.1988; Estimation of energetic feed value obtained from chemical analysis and invitro gas production using rumen fluid.Anim.Res. & Develop.28:7-55.

13-Theodorou,M.K .,B.A. Williams,M.S .Dhanoa,A.B.D. McAllan and. France.A.1994 ; Simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds.Anim.Feed Sci. and Tech.48:185-197.

14-Tilley,J.M.A. and R.A.Terry.1963; A two stage technique for *invitro* digestion of forage crops.J. British grassland Society.18:104-111.

15- Williams,A.G.1982; The metabolism and significance of ciliate protozoa in the rumen ecosystem,pp.93-110 in: Annual report of the Hannah Research Institute.Ayr.

16- Williams, A. G. and Coleman, G. S. 1985; Hemicellulose degrading enzymes in the rumen ciliate protozoa. Current Microbiol., 12:85-90.

17-Williams,A.G. and Coleman,G.S.1988; The rumen protozoa, pp 77-128. In P.N.Hobson,The rumen micribial ecosystem, Elsevier Appl.Sci.,London.

18-Williams,A.G. and S.E.Withers .1993 ; Changes in rumen microbial population and its activities during refaunation period after the reintroduction of ciliate protozoa into the rumen of defaunated sheep. Can.J.Microbiol.31:61-69.

19-Williams,B.A., S.K.Bhatia, H.Boer and S.Tamminga.1995a; A preliminary study using the cumulative gas production techniqe to compare the kinetics of different fermentation by use of standard substrates. Annales de zootech.44(Suppl.1):35.

www.SID.ir