

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

حمیدرضا خزانه ای کامران رضایزیدی\* علی نیکخواه

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

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

## چکیده

در دهه گذشته پروبیوتیک های متفاوتی در تغذیه نشخوارکنندگان مورد استفاده قرار گرفته اند که برخی از آنها اثر مثبتی بر تولید حیوان داشته اند. در این پژوهش به منظور مطالعه تأثیر مخمر ساکارومایسس سرویسیه به همراه لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، لاکتوباسیلوس کازای، اینتروکوکوس فاسیوم و باسیلوس سابیتیلیس بر قابلیت هضم، فراسنجه های شکمبه و خون، از چهار راس گوسفند نر ورامینی فیستوله دار با وزن  $4/2 \pm 34$  کیلوگرم استفاده گردید. حیوانات با چهار جیره در چهار دوره به روش فاکتوریل ( $2 \times 2$ ) در قالب طرح چرخشی متوازن تغذیه شدند. فاکتور اول شامل دو منبع علوفه ای (یونجه و ذرت سیلوشده) و فاکتور دوم، دوسطح از پروبیوتیک (صفر و ۵ گرم) بود. قابلیت هضم جیره ها به روش نشانگر داخلی خاکستر نامحلول در اسید اندازه گیری گردید. در زمان های صفر و ۴ ساعت پس از خوراک دهی از سیاهرگ گردنی و داج گوسفندان خونگیری به عمل آمد و مقدار دی اکسید کربن، pH، لاکتات دهیدروژناز و گلوکز خون آنها اندازه گیری گردید. همچنین مایع شکمبه گوسفندان در زمان های صفر، ۲ و چهار ساعت پس از خوراک دهی جمع آوری و مقادیر pH، نیتروژن آمونیاکی و اسیدهای چرب فرار آن (استات، پروپیونات، بوتیرات، والرات، ایزوالرات) اندازه گیری شد. نتایج به دست آمده نشان داد که قابلیت هضم دیواره سلولی بدون همی سلولز، دیواره سلولی، ماده آلی و ماده خشک جیره ها تفاوت معنی داری نداشته و تنها قابلیت هضم پروتئین خام و چربی در جیره حاوی ذرت سیلوشده به ترتیب کمتر و بیشتر از جیره حاوی علوفه یونجه بود. تفاوت معنی داری بین مقادیر فراسنجه های خون گوسفندان تغذیه شده با جیره های مختلف مشاهده نشد. کل اسیدهای چرب فرار در حیواناتی که مخلوط میکروبی را دریافت کرده بودند، بیشتر از آنها بود که پروبیوتیک را مصرف نکردند. همچنین غلظت استات و پروپیونات شکمبه ای گوسفندانی که یونجه مصرف کردند، نسبت به آنها بود که ذرت سیلوشده دریافت کرده بودند، بیشتر بود ( $p < 0/05$ ). همچنین گوسفندانی که مخلوط میکروبی دریافت کرده بودند، دارای غلظت نیتروژن آمونیاکی باین تری بودند. به طور کلی می توان نتیجه گرفت که مخلوط میکروبی استفاده شده در این پژوهش باعث بهبود تخمیر شکمبه ای گوسفندان شد، در حالی که تأثیر معنی داری در قابلیت هضم و فراسنجه های خون آنها نداشت.

واژه های کلیدی: پروبیوتیک، یونجه، ذرت سیلوشده، گوسفند، فراسنجه های خون و شکمبه.

شد (۱۸). Beauchemin و همکاران در سال ۲۰۰۳ بیان کردند که افزودن باکتری اینتروکوکوس فاسیوم (باکتری تولیدکننده اسید لاکتیک) به همراه مخمر ساکارومایسس سرویسیه در جیره گاوهای پرواری باعث بهبود هضم ماده خشک دانه ذرت نسبت به زمانی که اینتروکوکوس فاسیوم به تنهایی اضافه شده بود، گردید (۲).

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

## مقدمه

در سال های اخیر، مواد افزودنی متعددی جهت بهبود شرایط تخمیر در شکمبه و افزایش تولید حیوانات نشخوارکننده مورد استفاده قرار گرفته است. این ترکیبات شامل بازدارنده های تولید متان، آنتی بیوتیک ها، پروبیوتیک ها، عوامل رشد و آنزیم ها می باشند (۱۵). نگرانی های موجود در استفاده از آنتی بیوتیک ها و سایر مواد شیمیایی در تغذیه دام باعث شده است که اغلب پژوهشگران به ارزیابی اثر افزودنی های دیگر از جمله پروبیوتیک ها روی عملکرد حیوانات در دهه اخیر روی آورند. مهمترین ویژگی پروبیوتیک ها آن است که ضمن کاهش میکروب های بیماریزا در دستگاه گوارش و بهبود ضریب تبدیل غذایی در حیوان، باقی مانده بافتی نداشته و برخلاف آنتی بیوتیک ها مقاومت میکروبی ایجاد نمی کند.

Nocek و Kautz در سال ۲۰۰۲ گزارش کردند که افزودن پروبیوتیک حاوی ساکارومایسس سرویسیه و اینتروکوکوس فاسیوم به جیره گاوهای شیرده باعث افزایش قابلیت هضم ماده خشک ذرت سیلوشده و یونجه



جیره‌ها همراه با دوسطح پروبیوتیک (صفر و ۵ گرم در روز) به حیوانات داده شدند (جدول ۱). جیره‌های ۱ الی ۴ به ترتیب شامل جیره حاوی علوفه یونجه، جیره حاوی یونجه به همراه پروبیوتیک، جیره حاوی ذرت سیلو شده، جیره حاوی ذرت سیلوشده به همراه پروبیوتیک بودند. علت انتخاب یونجه و ذرت سیلوشده به عنوان علوفه پایه مرسوم بودن استفاده از آنها در دامداری‌های کشور بود. جیره‌های مورد استفاده در این آزمایش با نسبت ۵۰:۵۰ علوفه به کنسانتره و در سطح دو برابر نگهداری تنظیم شده بودند تا حیوانات تمامی آن را مصرف کنند. خوراک مصرفی روزی دو بار در ساعت ۸ صبح و ساعت ۴ بعد از ظهر به صورت کاملاً مخلوط شده در اختیار گوسفندان قرار گرفت و باقیمانده خوراک روزانه آنها ثبت شد. هر گوسفند طی چهار دوره، هر چهار جیره را دریافت کرد. طول هر دوره آزمایشی ۲۴ روز بود که ۱۴ روز آن به دوره عادت دهی، یک هفته آزمایش‌های هضمی، یک روز خونگیری، یک روز استراحت به منظور برطرف شدن تنش خونگیری و روز آخر به نمونه‌گیری از مایع شکمبه اختصاص یافت.

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

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

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

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

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

## مواد و روش کار

در این تحقیق از چهار رأس گوسفند نراخته شده (توسط پنس بوردیزو) ورامینی با میانگین وزن  $34 \pm 4/2$  کیلوگرم استفاده گردید که پس از واکسیناسیون، پشم چینی و سم چینی تحت عمل جراحی فیستولا گذاری توسط دامپزشک و بر اساس روش Preston در سال ۱۹۸۶ قرار گرفتند (۲۰). بعد از عمل جراحی، حیوانات به مدت یک ماه در قفس‌های انفرادی نگهداری و تحت مراقبت قرار گرفتند تا کاملاً خوب شده و آماده انجام آزمایش شوند. جیره‌های غذایی با استفاده از نرم افزار CNCPS گوسفندی در سال ۲۰۰۷ متوازن گردیدند (۱۴). علوفه پایه جیره ۱، یونجه و علوفه پایه جیره ۲، ذرت سیلوشده بود که هر کدام از این



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

مواد خوراکی	جیره ۱	جیره ۲	انرژی و مواد مغذی	جیره ۱	جیره ۲
یونجه %	۳۶/۵۰	۰/۰۰	پروتئین خام (درصد)	۱۱/۴۰	۱۱/۶۰
ذرت سیلوشده %	۰/۰۰	۳۶/۵۰	دیواره سلولی (درصد)	۴۱/۸۰	۴۲/۲۰
کاه گندم %	۱۵/۰۰	۱۵/۰۰	چربی (درصد)	۲/۳۰	۲/۶۰
جو %	۴۵/۷۰	۳۷/۶۰	کلسیم (درصد)	۰/۶۰	۰/۵۰
کنجاله منداب %	۲/۰۰	۹/۵۰	فسفر (درصد)	۰/۳۰	۰/۳۰
مکمل ویتامینه %	۰/۰۵	۰/۰۴	انرژی قابل متابولیسم (مگا کالری در کیلوگرم)	۲/۳۴	۲/۲۵
کربنات کلسیم %	۰/۰۱	۰/۰۸			
نمک %	۰/۰۲	۰/۰۲			

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

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

$b(BW) =$  اثر کوواریانس مربوط به وزن اولیه و  $e_{ijkl} =$  اثر تصادفی اشتباه آزمایشی، می باشد.

$$Y_{ijk} = \mu + T_j + A_i T_j + P_k + t_i + T_j t_i + b(BW) + e_{ijkl}$$

## نتایج

### قابلیت هضم ظاهری کل خوراک به روش نشانگر داخلی خاکستر نا

**محلول در اسید:** میانگین قابلیت هضم ماده خشک، ماده آلی، چربی، پروتئین خام، دیواره سلولی (NDF) و دیواره سلولی بدون همی سلولز (ADF) جیره هادر جدول ۲ ارائه شده است. تجزیه واریانس داده های مربوط به این صفات نشان داد که تفاوت معنی داری بین میانگین آنها در جیره های مختلف وجود نداشت. تنها بین جیره های حاوی علوفه یونجه و جیره های حاوی ذرت سیلوشده برای قابلیت هضم پروتئین خام و چربی تفاوت معنی دار مشاهده شد ( $p < 0.05$ ). میزان قابلیت هضم پروتئین خام در جیره حاوی ذرت سیلوشده کمتر از جیره های حاوی علوفه یونجه بود و میزان قابلیت هضم چربی در جیره های حاوی ذرت سیلوشده نسبت به جیره های حاوی علوفه یونجه بیشتر بود. همچنین بین جیره های حاوی پروبیوتیک و بدون پروبیوتیک تفاوت معنی دار مشاهده نشد.

### فراسنجه های خون: میانگین غلظت فراسنجه های پلاسما

گوسفندان تغذیه شده با جیره های آزمایشی در دو زمان صفر و ۴ ساعت پس از خوراک دهی در جدول ۳ گزارش شده است. تجزیه واریانس داده های مربوط به این صفات نشان داد که افزودن پروبیوتیک به خوراک در این آزمایش، اثر معنی داری بر روی این فراسنجه ها نداشت.

### فراسنجه های شکمبه: میانگین pH مایع شکمبه در زمان های صفر،

۲ و ۴ ساعت پس از خوراک دهی و عده صبح در جدول ۴ آمده است. تفاوت

زمان های صفر، ۲ و ۴ ساعت بعد از خوراک دهی صبح بر اساس بررسی منابع به عمل آمده، انجام گرفت (۲۰۶،۷). اندازه گیری pH مایع شکمبه بلافاصله پس از گرفتن نمونه و صاف کردن آن با پارچه کتان، تعیین شد (۲). اندازه گیری اسیدهای چرب فرار با استفاده از روش Bartely و Ottenstein در سال ۱۹۷۱ برای ساعت های صفر و ۴ با استفاده از دستگاه گاز کروماتوگرافی با ستون شیشه ای (۱/۶۵ × m ۴/۶ mm) صورت گرفت. نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه با استفاده از تیتراسیون به روش Conway در سال ۱۹۵۰ انجام گرفت (۳).

طرح آماری مورد استفاده در این آزمایش از نوع چرخشی متوازن با چهار جیره، چهار دوره و چهار حیوان بود. برای تجزیه و تحلیل آماری داده های قابلیت هضم ظاهری، از نرم افزار SAS در سال ۱۹۹۹ و رویه GLM استفاده شد. مقایسه میانگین ها توسط آزمون حداقل مربعات انجام شد. مدل آماری استفاده شده به صورت زیر بود که  $Y_{ijk} =$  متغیر وابسته،  $\mu =$  میانگین کلی هر یک از مشاهدات،  $T_j =$  اثر جیره (۴، ۳، ۲، ۱)،  $b(BW) =$  اثر کوواریانس مربوط به وزن اولیه،  $P_k =$  اثر دوره (۴، ۳، ۲، ۱)،  $A_k =$  اثر حیوان (۴، ۳، ۲، ۱)،  $A_k T_j =$  اثر متقابل جیره و حیوان و  $e_{ijkl} =$  اثر تصادفی اشتباه آزمایشی، می باشد.

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

تجزیه و تحلیل فراسنجه های خون و شکمبه که به صورت تکرار شده در زمان بودند، بر اساس طرح اندازه گیری های مکرر و با رویه Mixed این نرم افزار با استفاده از مدل زیر انجام گرفت که  $Y_{ijk} =$  متغیر وابسته،  $\mu =$  میانگین کلی هر یک از مشاهدات،  $T_j =$  اثر ثابت جیره (۴، ۳، ۲، ۱)،  $A_i T_j =$  اثر تصادفی آمین حیوان درون زامین جیره،  $P_k =$  اثر دوره (۴، ۳، ۲، ۱)،  $t_i =$  اثر ثابت آمین زمان اندازه گیری،  $T_j t_i =$  اثر ثابت بین جیره و زمان،



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

فراسنجه		جیره ۱		جیره ۲		جیره ۳		جیره ۴	
زمان صفر	زمان ۴	زمان صفر	زمان ۴	زمان صفر	زمان ۴	زمان صفر	زمان ۴	زمان صفر	زمان ۴
۳۹/۵۶	۴۳/۸	۳۸/۷۱	۴۴/۱۵	۳۹/۸۳	۴۴/۲۳	۴۰/۲۶	۴۵/۱۸	۰/۵۵	۰/۲۹
pH	۷/۳۲	۷/۳	۷/۲۵	۷/۲۶	۷/۳۲	۷/۲۸	۷/۳۴	۰/۰۲	۰/۰۲
لاکتات دهیدروژناز units/lit	۳۵۴/۹۱	۳۷۸/۴۴	۳۸۶/۵۷	۳۹۵/۲۹	۳۶۹/۶۸	۳۸۱/۱۶	۳۷۱/۵۹	۳۹/۶۷	۳۹/۶
گلوکز mg/dlit	۷۳/۵۹	۸۱/۴۱	۷۴/۱۶	۸۲/۸۱	۷۱/۸۱	۸۰/۱۳	۷۲/۹۳	۳/۱	۳/۱

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

زمان (ساعت)	جیره			
	۱	۲	۳	۴
صفر	۷/۵۹ <sup>a</sup>	۷/۲۳ <sup>a</sup>	۷/۳۸ <sup>a</sup>	۵/۹۳ <sup>b</sup>
۲	۸/۵۱ <sup>c</sup>	۹/۲۱ <sup>bc</sup>	۱۰/۶۳ <sup>a</sup>	۹/۶ <sup>b</sup>
۴	۱۳/۰۱ <sup>a</sup>	۱۰/۱۸	۹/۱۵ <sup>c</sup>	۹/۱۳ <sup>c</sup>

کاهش غلظت نیترژن آمونیاکی مایع شکمبه گردید ( $p < 0/05$ ). همچنین بین جیره‌های حاوی پروبیوتیک تفاوت معنی داری مشاهده شد ( $p < 0/05$ )، به طوری که جیره حاوی یونجه به همراه پروبیوتیک نیترژن آمونیاکی بیشتری نسبت به جیره حاوی ذرت سیلو شده به همراه پروبیوتیک داشت.

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

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

زمان (ساعت)	جیره			
	۱	۲	۳	۴
صفر	۷/۱۲	۷/۰۶	۷/۰۵	۶/۹۸
۲	۵/۹۳ <sup>b</sup>	۶/۱۰ <sup>a</sup>	۵/۸۵ <sup>b</sup>	۶/۰۴ <sup>a</sup>
۴	۶/۱۴	۶/۱۸	۶/۱۰	۶/۰۸

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

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



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

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

میکروبی سیلو افزایش یابد (۱۴)، افزایش در قابلیت هضم چربی در پژوهش حاضر احتمالاً به دلیل افزایش قابلیت هضم چربی دیواره سلولی میکروبی می‌باشد. از طرفی کاهش در قابلیت هضم پروتئین خام ذرت سیلو شده احتمالاً به دلیل افزایش حرارت به هنگام سیلو کردن و افزایش در پروتئین باند شده به فیبر می‌باشد.

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

به نظر می‌رسد که وجود باکتری‌های تولید کننده اسید لاکتیک به

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

## بحث

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



استات پس از خوراک دهی و غلظت پروپیونات قبل از خوراک دهی در گوسفندانی که علوفه یونجه را به عنوان منبع اصلی علوفه دریافت کرده بودند، بیشتر بود. استفاده از پروبیوتیک تأثیر معنی داری بر متابولیت های خون و همچنین قابلیت هضم ظاهری ماده خشک، ماده آلی، دیواره سلولی و دیواره سلولی بدون همی سلولز جیره ها نداشت. اگرچه قابلیت هضم پروتئین خام و چربی در گوسفندانی که ذرت سیلوشده دریافت کرده بودند، نسبت به یونجه به ترتیب کمتر و بیشتر بود.

## References

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

دلیل تولید تونیک لاکتات در شکمبه باعث رشد باکتری های مصرف کننده لاکتات و فعال نگه داشتن آنها می گردد (۷). همچنین مشخص شده است که ساکارومایسس سرویسیه از طریق حذف اکسیژن و تولید اسیدهای آلی (مالیک)، اسیدهای آمینه و ویتامین ها باعث تحریک باکتری های مصرف کننده لاکتات (سلنوموناس رومینانتیوم و مگسفراسیدینی) و همچنین باکتری های تجزیه کننده سلولز می شود. همچنین خود ساکارومایسس سرویسیه از طریق رقابت با استرپتوکوکوس بوویس برای جذب گلوکز باعث کاهش لاکتات می شود (۸). در مجموع، این ویژگی ها باعث می شوند تا غلظت لاکتات شکمبه کاهش یابد. همان طور که در جدول ۶ مشخص است، در حیواناتی که پروبیوتیک دریافت کرده اند به دلیل فعال بودن متابولیسمی باکتری های مصرف کننده لاکتات در زمان اوج تخمیر افت pH کمتری نسبت به شاهد اتفاق افتاده است (۱۱،۱۸). در حالی که در سایر زمان های نمونه گیری بین جیره ها تفاوت معنی داری مشاهده نشد که با مطالعات Miller-webster و همکاران در سال ۲۰۰۲، Enjalbert و همکاران در سال ۱۹۹۹ و Doerue و Jouani در سال ۱۹۹۸ مطابقت دارد (۴،۵،۱۶).

کاهش میزان نیترژن آمونیاکی در این پژوهش با بررسی منابع صورت گرفته احتمالاً به دلیل وجود مخمر ساکارومایسس سرویسیه و باکتری های تولید کننده لاکتات و همچنین آنزیم های تولیدی باسیلوس سابتیلیس می باشد که موجب افزایش تعداد باکتری های سلولولایتیک و مصرف کننده لاکتات و افزایش پروتئین میکروبی می شوند (۲۵). مقایسه نتایج این پژوهش با سایرین به دلیل تفاوت در ترکیب پروبیوتیک و جیره مشکل می باشد. انتظار می رفت که در جیره های حاوی پروبیوتیک غلظت پروپیونات افزایش پیدا کند. زیرا افزودن باکتری های تولید کننده اسید لاکتیک باعث تحریک باکتری های مصرف کننده آن می شود که اسید لاکتیک را به پروپیونات تبدیل می کنند، ولی احتمالاً به دلیل پائین تر بودن سطح کنسانتره در این مطالعه چنین نتیجه ای حاصل نشد. Beauchemin و همکاران در سال ۲۰۰۳ گزارش کردند که افزودن باکتری اینتروکوکوس فاسیوم (باکتری تولید کننده اسید لاکتیک) به جیره گوساله های پرواری باعث افزایش غلظت پروپیونات می شود (۲). افزایش غلظت استات در جیره های حاوی علوفه یونجه احتمالاً به دلیل افزایش در تعداد باکتری های سلولولایتیک می باشد (۹).

## نتایج

استفاده از پروبیوتیک در جیره گوسفندان در این آزمایش مانع از افت pH مایع شکمبه در ۲ ساعت پس از خوراک دهی شد. نیترژن آمونیاکی مایع شکمبه حیواناتی که پروبیوتیک دریافت کردند، کمتر بود. کل اسیدهای چرب فرار در جیره های حاوی پروبیوتیک افزایش یافت، اگرچه تأثیر معنی داری در نسبت های بوتیرات، والرات، ایزوالرات و نسبت استات به پروپیونات در قبل و بعد از خوراک دهی مشاهده نشد. غلظت



- Leedle, J. A. Z. (2002) Effects of bacterial direct-fed microbials on ruminal fermentation, blood variables, and the microbial populations of feedlot cattle. *J. Anim. Sci.* 2002. 80:1977-1986.
8. Girard, I. D., Jones, C. R., Dawson, K. A. (1993) Lactic acid utilization in rumen stimulating cultures receiving a yeast culture supplement. *J. Anim. Sci.* 71:288-295.
9. Harrison, G. A., Hemken, R. W., Dawson, K. A., Harmon, R. J., Barker, K. B. (1988) Influence of addition of yeast culture supplement to diets of lactating cows on ruminal fermentation and microbial populations. *J. Dairy Sci.* 71:2967-2975.
10. Hovell, F. D., Deb, J. W., Ngambi, W. P., Kyle, D. J. (1986) The voluntary intake of hay by sheep in relation to its degradability in the rumen as measured in nylon bags. *Anim. Prod.* 42: 111- 118.
11. Huffman, R. P., Karges, K. K., Klopfenstein, T. J., Stock, R. A., Britton, R. A., Roth, L. D. (1992) The effect of *Lactobacillus acidophilus* on subacute ruminal acidosis. *J. Anim. Sci.* 70:87.
12. Krehbiel, C. R., Rust, S. R., Zhang, G., Gillilan, S. E. (2003) Bacterial direct fed microbials in ruminant diets: performance response and mode of action. *J. Anim. Sci.* 81:120-132.
13. Kumar, U., Sareen, V. K. (1994) Effect of *saccharomyces cerevisiae* yeast culture supplement on ruminal metabolism in buffalo calves given a high concentrate diet. *Anim. Prod.* 59:209-215.
14. Lanzas, C., Sniffen, C. J., Seo, S., Tedeschi, L. O., Fox, D. G. (2007) A revised CNCPS feed carbohydrate fractionation scheme for formulating rations for ruminants. *Anim. Feed Sci. Tech.* 136: 167-190.
15. Limin, K. J. (2001) Direct fed microbials for dairy cows and enzymes for lactating dairy cows: new theories and applications. Newark, Delaware, USA.
16. Miller-webster, T., Hoover, W. H., Ho, M., Nocek, J. E. (2002) Influence of yeast culture on ruminal microbial metabolism in continuous culture. *J. Dairy Sci.* 85:2014-2019.
17. Nikkhah, A., Dehghan-banadaki, M., Zali, A. (2004) Effects of feeding yeast (*Saccharomyces Cerevisiae*) on productive performance of lactating Holstein dairy cows. *Iranian J. Agric.* 35: 53-60.
18. Nocek, J. E., Kautz, W. P. (2002) Ruminal supplementation of direct fed microbials on diurnal pH and in situ digestion in dairy cattle. *J. Anim. Sci.* 85: 429-433.
19. Nocek, J. E., Kautz, W. P. (2006) Direct fed microbial supplementation on ruminal digestion, health, and performance of pre and postpartum dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 89:260-266.
20. Preston, T. R. (1986) Better utilization of crop residue and by-products in animal feeding: A Practical manual for research workers. FAO Animal Production and Health. No. 50/2.
21. Rezaee, M., Rezaeian, M., Mirhadi, S. A., Moradi, M. (2008) Effects of yeast supplementation on rumen fermentation, microbial population and the performance of male fattening calves. *J. Vet. Res.* 62: 403-409.
22. Van Keulen, J., Young, B. A. (1977) Evaluation of acid insoluble ash as a natural marker in ruminant digestibility studies. *J. Anim. Sci.* 2:282-287.
23. Van Soest, P. J., Robertson, J. B., Lewis, B. A. (1991) Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and non-starch polysaccharide in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.* 74:3583- 3597.
24. Williams, P. E. V., Tait, C. A. G., Innes, G. M., Newbold, C. J. (1991) Effects of the inclusion of yeast culture (*saccharomyces cerevisiae* plus growth medium) in the diet of cows on milk yield and forage degradation and fermentation patterns in the rumen of sheep and steers. *J. Anim. Sci.* 69: 3016-3026.
25. Williams, P. E. V., Newbold, C. J. (1990) Rumen probiosis: the effects of novel microorganisms on rumen fermentation and ruminant productivity. In: Recent Advances in Animal Nutrition. Haresign, W., Cole, D. J. A. (eds.). Butterworths. London, UK. p.211-227.



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

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

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

(Received 22 July 2009 , Accepted 12 September 2010)

## Abstract:

Various probiotic products have been used in ruminant nutrition over the past decade. Some of them had positive effects on animal production. Present study was conducted to investigate the effects of *Saccharomyces cerevisiae*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Enterococcus faecium*, *Bacillus subtilis* mixture on digestibility, rumen and blood parameters of 4 fistulated varamini sheeps . Animals fed with 4 diets during 4 periods using a 2×2 factorial arrangement in a change-over design. First factor included two sources of forages (alfalfa hay and corn silage) and second factor included two levels of above probiotic mixture (0 and 5 gr/day/head). Digestibility of diets were measured by acid insoluble ash as marker. Blood samples were taken at 0 and 4 hours after feeding via jugular vein to determine concentration of CO<sub>2</sub>, pH, LDH and Glucose. Also ruminal liquor samples were taken at 0 and 4 hours after feeding to determine rumen pH and concentration of N-NH<sub>3</sub> and volatile fatty acids. The results showed that digestibility of acid detergent fiber, neutral detergent fiber, organic matter and dry matter of diets were not significantly different among diets. However, digestibility of crude protein and ether extract in diets containing corn silage were lower and higher than alfalfa hay, respectively. There was no significant difference on blood metabolites of sheep fed various diets. Total volatile fatty acids in sheep fed microbial mixture were more than control group. Diets containing alfalfa hay had higher propionate and acetate concentrations than diets containing corn silage. Ruminal ammonia concentration decreased in sheep fed diets containing microbial mixture (P<0.05). We concluded that present microbial mixture improved ruminal fermentation but could not significantly affect digestibility and blood metabolites of sheep.

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

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

