



تأثیر مخمر ساکارومایسس سرویسیه در مقایسه با مونسین بر تنش اکسیداتیو بره‌های پرواری در شرایط تنش گرمایی

افسانه نوائی^۱، سید مجتبی موسوی^{۲*}، مهرداد تقی‌زاده^۳

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی دام، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه لرستان
۲- استادیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه لرستان
۳- دانش‌آموخته دکتری تخصصی تغذیه دام، سازمان جهاد کشاورزی استان لرستان

(تاریخ دریافت: ۹۸/۰۹/۱۷ - تاریخ پذیرش: ۹۸/۱۲/۱۱)

چکیده

به منظور بررسی تأثیر افزودن مخمر در مقایسه با مونسین بر تنش اکسیداتیو بره‌های پرواری در شرایط تنش گرمایی طبیعی، از ۱۵ رأس بره نر لری، در سه گروه پنج رأسی در قالب طرح کاملاً تصادفی، استفاده شد. گروه‌های آزمایشی شامل گروه یک: جیره پایه، گروه دو: جیره پایه + پنج گرم مخمر ساکارومایسس سرویسیه و گروه سه: جیره پایه + ۳۰ میلی‌گرم مونسین بودند. در پایان دوره، خون‌گیری انجام شد و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و برخی از فراسنجه‌های خونی اندازه‌گیری شدند. افزودن مخمر ساکارومایسس سرویسیه به جیره پایه سبب افزایش معنی‌دار میزان گلوکوتایون احیاء (۴/۱۶ میکرومول در هر میلی‌گرم پلاسما) و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سوپر اکسید دیسموتاز (۱۰/۸۰ واحد بین‌المللی در هر میلی‌گرم پلاسما)، کاتالاز (۲/۱۵ نانومول در هر میلی‌گرم پلاسما)، گلوکوتایون پراکسیداز (۷۵/۳۶ واحد بین‌المللی در هر میلی‌گرم پلاسما)، پاراکسوناز (۴۲/۷۱ واحد بین‌المللی در هر میلی‌گرم پلاسما) و کاهش معنی‌دار مقدار اکسید نیتریک (۱۴/۸۵ میکرومول در هر میلی‌لیتر پلاسما) و مالون‌دی‌آلدئید (۳۳/۷۴ میکرومول در هر میلی‌لیتر پلاسما) در مقایسه با جیره شاهد و افزودن مونسین در پلاسمای خون بره‌های پرواری شد ($P < 0.05$). افزودن مخمر ساکارومایسس در مقایسه با جیره شاهد و افزودن مونسین، با افزایش معنی‌دار مقدار هورمون تیروکسین (۷۵/۲۲ نانومول در هر لیتر پلاسما) و مقدار فعالیت آنزیم‌های کبدی همراه بود ($P < 0.05$). نتایج تحقیق نشان داد که افزودن مخمر به مقدار پنج گرم در روز به جیره پایه می‌تواند سبب بهبود وضعیت آنتی‌اکسیدانی بره‌های پرواری در شرایط تنش گرمایی شود.

واژه‌های کلیدی: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، بره پرواری، تنش گرمایی، مخمر ساکارومایسس سرویسیه

* نویسنده مسئول: mousavi.sym@lu.ac.ir

مقدمه

نتایج تحقیقات محققین نشان می‌دهد که استفاده از مخمر ساکارومایسس سرویسیه در جیره دام‌های (گاوه‌های شیری) در شرایط تنش گرمایی محیط، می‌تواند تأثیر منفی ناشی از تنش گرمایی را در دام کاهش و ضمن حفظ عملکرد، سبب شود که بازده خوراک و انرژی خالص را در تعادل بالاتری نگه دارد (Bruno et al., 2009). مخمرها و مشتقات آن‌ها به عنوان منابع آنتی‌اکسیدان طبیعی محسوب شده که می‌توانند تنش اکسیداتیو ناشی از گرما را کاهش دهند (Nishino and Ishikawa, 1998; Gazi et al., 2001). تحقیقات صورت گرفته نشان می‌دهند که پروبیوتیک‌ها از راه تولید اسید بوتیریک و هیدروژن، نقش تحریک‌کننده‌ای در تولید آنتی‌اکسیدان‌ها و تخریب رادیکال‌های آزاد دارند (Truusalu et al., 2004; Martarelli et al., 2011). بعضی از محققین تأثیر مخمر ساکارومایسس سرویسیه در کاهش تنش اکسیداتیو در دام را ناشی از بتا گلوکان‌ها و مانان الیگوساکاریدهای موجود در دیواره سلولی مخمرها عنوان نموده‌اند (Sowińska et al., 2016).

سوخت قابل ترجیح بافت‌ها در نشخوارکنندگان و تک معده‌ای‌ها (خوک) در طول تنش گرمایی، گلوکز است. افزودن پیش‌ساز گلوکز در جیره نشخوارکنندگان، می‌تواند برخی شاخص‌های درجه حرارت بدن را بهبود بخشد (Baumgard and Rhoads Jr, 2013).

هدف از انجام این تحقیق، بررسی تأثیر مخمر ساکارومایسس سرویسیه در کاهش تنش اکسیداتیو بره‌های پرواری در شرایط تنش گرمایی در مقایسه با استفاده از یونوفر (مونسنین) بود. از آنجا که مونسین در نشخوارکنندگان سبب افزایش پیش‌سازهای گلوکز می‌شود، لذا از مونسین به عنوان تیمار شاهد مثبت استفاده شد.

مواد و روش‌ها

آزمایش در تابستان (ابتدای تیر ماه تا ۲۵ مردادماه)، به مدت ۵۶ روز در دانشکده کشاورزی دانشگاه لرستان انجام شد. در فاصله دو کیلومتری محل اجرای طرح، ایستگاه هواشناسی شهرستان خرم‌آباد قرار دارد که اطلاعات مربوط به دما و رطوبت از این ایستگاه اخذ شد. شاخص حرارتی-

دمای بالاتر از دامنه آسایش حرارتی با پاسخ‌های فیزیولوژیکی و رفتاری مانند افزایش میزان تنفس، افزایش جریان خون محیطی، کاهش مصرف خوراک و کاهش عملکرد همراه می‌شود و این پاسخ‌ها به منظور حفظ دمای بدن در محدوده طبیعی انجام می‌گیرد (Ungerfeld and Melo, 2019). افزایش هم‌زمان رطوبت نسبی و دما در جایگاه نگهداری دام، تنش گرمایی را تشدید و باعث افزایش تولید رادیکال‌های آزاد می‌شود. رادیکال‌های آزاد، به دلیل اینکه حاوی یک یا چند الکترون جفت نشده هستند، مولکول‌های بسیار واکنش‌پذیری می‌باشند و به‌طور مداوم در بدن در حال گردش هستند و می‌توانند آسیب‌های فراوانی به چربی‌ها و پروتئین‌های غشاءهای سلولی وارد سازند و در نتیجه با تغییر ساختار و عملکرد غشاهای زیستی سلولی، باعث از بین رفتن سلول‌ها و تغییر در ساختار DNA می‌شوند (Abdollahi et al., 2004). تنش گرمایی قابلیت هضم مواد مغذی، عملکرد سامانه ایمنی و آنتی‌اکسیدانی را مختل می‌کند که روش‌های مختلفی جهت کاهش آثار منفی تنش گرمایی پیشنهاد شده است که از آن جمله می‌توان به استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها و یا پروبیوتیک‌ها اشاره نمود که می‌توانند باعث بهبود سامانه آنتی‌اکسیدانی و افزایش فعالیت ایمنی بدن شوند (Amaretti et al., 2013).

مخمرها به عنوان پروبیوتیک محسوب می‌شوند و مصرف کافی آن‌ها سبب سلامت دستگاه گوارش حیوان میزبان می‌شود و آثار سودمندی بر نشخوارکنندگان دارند (Jouany, 2001). مهم‌ترین مخمر مورد استفاده در جیره نشخوارکنندگان، ساکارومایسس سرویسیه (*Saccharomyces cerevisiae*) است (Adesogan, 2009).

مخمرها به دلیل بهبود اکوسیستم شکمبه (حذف اکسیژن موجود در محیط شکمبه، آزاد شدن برخی آنزیم‌های ضروری، ویتامین‌ها و سایر مواد مغذی و عوامل رشد) باعث بهبود فعالیت و تکثیر میکروارگانیسم‌های شکمبه شده (Ding et al., 2008) و در نتیجه سبب افزایش هضم الیاف در شکمبه و افزایش مصرف خوراک شده (Fonty and Chaucheyras-Durand, 2006) که می‌تواند به چالش‌ها و مشکلات ناشی از تنش گرمایی کمک کند.

تیمارهای استفاده شده در این آزمایش عبارت بودند از: تیمار یک: جیره شاهد (تأمین نیازهای دام بر اساس جداول احتیاجات غذایی)، تیمار دو: جیره شاهد + پنج گرم مخمر در کیلوگرم ماده خشک خوراک مصرفی و تیمار سه: جیره شاهد + ۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم (ماده مؤثره) مونسین در کیلوگرم ماده خشک خوراک مصرفی.

ترکیب شیمیایی جیره پایه در جدول ۱ با استفاده از روش AOAC (2000)، دیواره سلولی با روش (1991) Van Soest et al. و میزان کلسیم و فسفر با اسپکتروفتومتر (مدل Milton-roy 20D ساخت آمریکا) در آزمایشگاه خوراک دام سازمان جهاد کشاورزی استان لرستان تعیین شد. در روز ۵۶ دوره پرور (سه ساعت پس از مصرف خوراک وعده صبح) با استفاده از لوله‌های خلأ دار حاوی ماده ضد انعقاد از ورید وداخ خون‌گیری انجام و پس از سانتریفیوژ (با ۵۰۰۰ دور در دقیقه به مدت پنج دقیقه) پلاسماي خون جدا شد و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز (Aebi, 1984)، سوپر اکسید دیسموتاز (Marklund and Marklund, 1974) پاراکسوناز (Baumgard and Rhoads Jr, 2013)، گلوکاتایون (Rahman et al., 2006) و گلوکاتایون پراکسیداز (Rotruck et al., 1973) سنجش شدند. همچنین، غلظت مالون‌دی‌آلدئید (شاخص پراکسیداسیون لیپیدی) و اکسید نیتریک به عنوان شاخص التهاب (Ratajczak-Wrona et al., 2013) اندازه‌گیری شدند. سایر فراسنجه‌های خون نظیر تیروکسین به روش الایزا و با استفاده از کیت مونوبایند و آنزیم‌های کبدی به روش اسپکتوفتومتری (Thomas, 1998) و با استفاده از کیت‌های پارس آزمون در آزمایشگاه اندازه‌گیری شدند.

تجزیه و تحلیل آماری: داده‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی با استفاده از رویه GLM برنامه آماری SAS نسخه ۹/۱ تجزیه شدند. مقایسه میانگین تیمارها با استفاده از آزمون دانکن در سطح معنی‌داری ۵ درصد انجام شد. مدل آماری این طرح به صورت زیر بود:

$$Y_{ik} = \mu + T_i + e_{ik}$$

که، Y: متغیر وابسته، μ : میانگین کل، T_i : اثر i امین تیمار و e_{ik} : عوامل باقیمانده بود.

رطوبتی (THI) با استفاده از معادله زیر برآورد شد (Marai et al., 2007).

$$THI = T - (0.31 - 0.0031 \times RH) \times (T - 14.4)$$

در این معادله، T برابر با میانگین دما ($^{\circ}C$) و RH برابر با میانگین رطوبت نسبی (درصد) است.

شدت تنش گرمایی در زمان انجام آزمایش: در زمان انجام آزمایش، میانگین بیشینه و کمینه دما و رطوبت نسبی محیط به ترتیب ۴۰/۱۸ و ۱۹/۳۸ درجه سلسیوس و ۳۳/۴۷ و ۷/۶۵ درصد بود. با توجه به میانگین دما (۲۹/۸) درجه سلسیوس) و رطوبت نسبی محیط (۲۰/۵۶ درصد)، میانگین شاخص حرارتی-رطوبتی به میزان ۲۶/۰۱ برآورد شد. در این تحقیق، بره‌ها در طول دوره آزمایش در محدوده تنش شدید و خیلی شدید قرار داشتند. بر اساس گزارش محققین، شاخص حرارتی-رطوبتی بالاتر از ۲۵/۶ به عنوان تنش فوق‌العاده شدید شناخته می‌شود (Marai et al., 2007).

برای انجام این پژوهش از ۱۵ رأس بره نر نژاد لری با میانگین وزن زنده ۲/۵ ± ۳۰ کیلوگرم و سن چهار ماهگی با سه تیمار و پنج بره در هر تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی متعادل استفاده شد. پیش از شروع آزمایش، دو نوبت داروی ضد انگل به بره‌ها خوراندند و تزریق واکسن آنترتوکسمی و پشم‌چینی بره‌ها انجام گرفت و بره‌ها به مدت دو هفته به جیره آزمایشی و جایگاه انفرادی با ابعاد ۱/۲۵ در ۱/۸ متر سازگاری یافتند. در این آزمایش، دسترسی به آب، آزاد و توزیع جیره‌های آزمایشی به صورت دسترسی آزاد و دو نوبت در روز (ساعت ۸ صبح و ۱۶ عصر) بود.

سطح مناسب مخمر (پنج گرم به ازای هر کیلوگرم ماده خشک خوراک مصرفی) و سطح مناسب مونسین (۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک خوراک مصرفی)، به صورت آزمایشگاهی و با توجه به میزان تولید گاز، قابلیت هضم مواد آلی، میزان نیتروژن آمونیاکی و با در نظر گرفتن ضریب تفکیک‌پذیری تعیین شد (تقی‌زاده ۱۳۹۷). مخمر مورد استفاده در این تحقیق، تولید شرکت تک ژن بوده که میزان شاخص تشکیل کلنی (Colony Forming Units) آن برابر با 2×10^{12} است.

جدول ۱- اجزاء و ترکیب شیمیایی جیره پایه

Table 1. Ingredients and chemical composition of basal diets (%DM)

Feed items	Ingredient composition (%DM)
Barley grain	37.5
Corn grain	18.75
Soybean meal	4.75
Wheat bran	12
Alfalfa hay	25
Salt	0.5
Dicalcium phosphate	0.5
Vit. & Min. supplement*	1
Chemical composition, %DM	
Dry matter	93.8
Crude protein	14.6
NDF	33.3
ADF	18.7
Ca	0.58
P	0.43
Metabolizable energy (Mcal/kg)	2.59

*Each kilogram of supplement contains: 190 grams of calcium, 90 grams of phosphorus, 19 grams of magnesium, 3 grams of copper, 3 grams of iron, 2 grams of manganese, 3 grams of zinc, 100 milligrams of cobalt, 100 milligrams of iodine, 1 milligram of selenium, 500,000 units of international vitamin A, 100,000 units of vitamin D3, 100 milligrams of vitamin E.

نتایج و بحث

پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک، جلوگیری می‌کند. سنجش میزان گلوکاتایون احیاء یک معیار مفید برای سنجش میزان تنش در نشخوارکنندگان بوده و به طور مستقیم نشان‌دهنده فعالیت سامانه دفاعی و به طور غیرمستقیم نشان‌دهنده میزان رادیکال‌های فعال اکسیژن است (Gümüş *et al.*, 2017). واکنش‌های احیا در سیتوزول انجام می‌گیرد و برای پایداری وضعیت سلول‌ها ضروری است. گلوکاتایون به مقدار زیادی در سیتوزول وجود دارد و نقش مهمی در هوموستاز احیا از راه واکنش تبادل تیول-دی سولفید با پروتئین‌های حاوی سیستئین دارد. همچنین، گلوکاتایون به عنوان ناقل الکترون در بسیاری از واکنش‌های در برگیرنده احیا رادیکال‌های آزاد اکسیژن عمل می‌کند (Gümüş *et al.*, 2017).

مخمرها و مشتقات آن‌ها به عنوان منابع آنتی‌اکسیدان طبیعی محسوب شده (Nishino and Ishikawa, 1998; Gazi *et al.*, 2001) که می‌توانند تنش اکسیداتیو ناشی از گرما را کاهش دهند. مطابق با نتایج این تحقیق، استفاده از مخمر در جیره بزهای شیری نژاد سانن در شرایط تنش گرمایی، سبب افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی پلاسما خون

تأثیر تیمارهای آزمایش بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی پلاسما خون بره‌ها؛ نتایج مربوط به تأثیر تیمارهای آزمایش بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی پلاسما خون بره‌ها در جدول ۲ نشان داده شده است. نتایج نشان می‌دهد که افزودن مخمر به جیره پایه بره‌ها نسبت به جیره شاهد و افزودن مونسین (تیمار شاهد مثبت) سبب افزایش معنی‌دار میزان گلوکاتایون احیاء و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سوپر اکسید دیسموتاز، گلوکاتایون پراکسیداز و پاراکسوناز پلاسما خون بره‌ها شده است ($P < 0.05$).

افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان بیانگر تطابق سلول یا بافت با تنش ایجاد شده و فعال شدن سامانه دفاعی سلول جهت خنثی‌سازی رادیکال‌ها است و کاهش میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌تواند در نتیجه انباشت رادیکال‌های آزاد و پراکسید هیدروژن (H_2O_2) باشد (Abdollahi *et al.*, 2004). آنتی‌اکسیدان‌ها، برخی آنزیم‌ها از جمله گلوکاتایون پراکسیداز و گلوکاتایون احیاء را در بدن، فعال می‌کنند. آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز در کنترل واکنش‌های پراکسیداسیون نقش دارد و از آسیب لیپیدها،

جدول ۲- اثر تیمارهای آزمایشی بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی پلاسما خون بره‌ها

Table 2. Effect of experimental treatments on antioxidant enzymes activity of lambs' blood Plasma

Parameter	Treatments			SEM	P-value
	1	2	3		
Reduced glutathione ($\mu\text{Mol/mg plasma}$)	3.02 ^b	4.16 ^a	3.38 ^{ab}	0.29	0.05
Superoxide dismutase (IU/mg plasma)	4.54 ^b	10.80 ^a	4.6 ^b	0.57	0.001
Catalase (nMol/mg plasma)	0.46 ^b	2.15 ^a	0.61 ^b	0.1	0.001
Glutathione peroxidase (IU/mg plasma)	65.84 ^b	75.36 ^a	61.78 ^b	1.47	0.001
Paraoxonase (IU/mg plasma)	19.41 ^c	42.71 ^a	26.57 ^b	1.17	0.001

Treatment 1: Control diet, Treatment 2: Basal diet + 5 g yeast, Treatment 3: Basal diet + 30 mg monensin. ^{a, b} Means with different superscripts within the same row differ significantly ($P < 0.05$).

میزان گلوتاتیون احیاء (GSH) نسبت به فرم اکسید شده (GSSG) کاهش می‌یابد (Salami *et al.*, 2016). مطابق با نتایج تحقیق حاضر، استفاده از مخمر به مدت ۴۲ روز به جیره پایه گوسفندان پرورش‌یافته در شرایط تنش گرمایی، با افزایش معنی‌دار ($P < 0.05$) فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز پلاسما خون گوسفندان (۳۵ درصد) همراه شد و میزان فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز خون گوسفندان گروه شاهد (پرورش‌یافته در شرایط تنش گرمایی و بدون مصرف مخمر) در پایان دوره نسبت به ابتدای دوره، ۱۰ درصد کاهش یافت (Sahoo *et al.*, 2010). نتایج جدول ۲ بیانگر افزایش معنی‌دار ($P < 0.05$) فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و سوپر اکسید دیسموتاز پلاسما خون بره‌ها در نتیجه افزودن مخمر به جیره پایه در مقایسه با گروه شاهد است. فعالیت هماهنگ دو آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز و کاتالاز مانع از بروز تنش اکسیداتیو و آسیب بافتی می‌شود. مجموعه آنزیمی سوپر اکسید دیسموتاز و کاتالاز اولین خط دفاعی سلول در برابر سمیت ناشی از رادیکال‌های آزاد هستند. نتایج تحقیقات صورت گرفته نشان می‌دهد که استفاده از مخمر ساکارومایسس سرویسیه در جیره خرگوش‌ها در شرایط تنش گرمایی با افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز در پلاسما خون خرگوش‌ها همراه بود (Shehu *et al.*, 2015). این محققین اعلام نمودند که استفاده از مخمر ساکارومایسس در شرایط تنش گرمایی به میزان 8×10^9 واحد در کیلوگرم خوراک مصرفی خرگوش‌های ماده، با افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم کاتالاز به میزان ۲۰ درصد و افزایش ۱۰ درصدی فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز همراه است. این محققین دلیل احتمالی این افزایش را خواص آنتی‌اکسیدانی مخمر عنوان نمودند.

بره‌ها (افزایش ۸ درصدی) شد (Wang *et al.*, 2016)، اگر چه این افزایش به صورت معنی‌دار نبود ($P > 0.05$). این محققین دلیل احتمالی معنی‌دار نشدن افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی را تأثیر مخمر در کاهش میزان جذب سم در مقایسه با گروه شاهد و در نتیجه صرف بخشی از ظرفیت آنتی‌اکسیدانی برای حذف سم اعلام نمودند. محققین تأثیر دو نوع مخمر ساکارومایسس سرویسیه و باسیلوس لیچنیفورمیس (*Bacillus Licheniformis*) را بر سامانه ایمنی و آنتی‌اکسیدانی بره‌های پرواری در مقایسه با مونسین مورد بررسی قرار دادند (Jia *et al.*, 2018). نتایج این محققین نشان داد که استفاده از مخمر ساکارومایسس سرویسیه و باسیلوس لیچنیفورمیس در جیره بره‌های پرواری با افزایش میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بره‌ها همراه شد، ولی این افزایش از نظر آماری معنی‌دار نبود ($P > 0.05$). اما افزودن این دو مخمر به همراه هم در جیره بره‌ها، سبب افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز و فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز پلاسما خون بره‌ها شد ($P < 0.05$). نتایج جدول ۲ نشان می‌دهد که افزودن مخمر ساکارومایسس سرویسیه در مقایسه با گروه شاهد و مونسین، باعث افزایش معنی‌دار میزان فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز خون بره‌ها شده است ($P < 0.05$). گلوتاتیون پراکسیداز آنزیمی با فعالیت آنتی‌اکسیدانی است که با استفاده از گلوتاتیون سلولی، سبب احیای هیدرو پراکسیدهای مختلف (H_2O_2 و ROOH) و در نتیجه محافظت بدن در برابر آسیب‌های اکسیداتیو می‌شود و در سامانه زیستی یک حیوان، به عنوان یک شاخص مهم برای تنش اکسیداتیو و برای نشان دادن وضعیت سامانه آنتی‌اکسیدانی حیوان است. در شرایط تنش اکسیداتیو،

مخمر ساکارومایسس سرویسیه و باسیلوس لیچنیفورمیس به صورت جداگانه و یا ترکیبی، به جیره پایه بره‌های پرواری، اگر چه با افزایش معنی‌دار ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز پلاسما خون بره‌ها شد، اما تأثیر معنی‌داری بر میزان مالون‌دی‌آلدئید پلاسما خون بره‌ها نداشت ($P > 0.05$).

التهاب یک شاخص مهم از آسیب بافت حیوانی و سامانه دفاع میزبان در برابر تنش گرما است. فعالیت آنزیم سنتتاز اکسید نیتریک باعث افزایش تولید اکسید نیتریک در بافت‌ها طی مراحل التهابی می‌شود. تنش (بیماری، گرما و غیره) بیان ژن آنزیم نیتریک اکسید سنتتاز را در سلول‌های بدن افزایش می‌دهد. تنش با افزایش رادیکال‌های آزاد همراه است و باعث تبدیل اکسید نیتریک به پراکسی نیتريت شده که واکنش‌پذیری بالایی با لیپیدها، پروتئین‌ها و ساختمان DNA دارد که باعث التهاب می‌شود (Li et al., 2012).

تأثیر تیمارهای آزمایش بر فراسنجه‌های پلاسما خون بره‌ها: نتایج مربوط به تأثیر تیمارهای آزمایش بر فراسنجه‌های پلاسما خون بره‌ها در جدول ۴ نشان داده شده است.

نتایج جدول ۴ بیانگر این است که افزودن مخمر در شرایط تنش گرمایی باعث افزایش معنی‌دار هورمون تیروکسین خون بره‌ها شد. تحقیقات نشان می‌دهد که تنش گرمایی اثر منفی بر فعالیت غدد تیروئید دام دارد و باعث کاهش سطح هورمون‌های تیروئید (T_3 و T_4) پلاسما می‌شود که کاهش هورمون‌های تیروئید، ممکن است به منظور کاهش تولید گرما با منشأ داخلی و کاهش مصرف خوراک برای اجتناب از تولید گرمای حاصل از سوخت‌وساز خوراک (گرمای متابولیک) جهت افزایش مقاومت دام همراه باشد (El-Masry, 2018). افزودن مخمر و همچنین مونسین به جیره بره‌ها با افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌های کبدی همراه شد، ولی میزان فعالیت آنزیم کبدی تقریباً در محدوده طبیعی قرار داشت. میزان فعالیت آنزیم‌های کبدی نظیر آلکالین فسفاتاز (ALP) و یا آنزیم آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST) در شرایط تنش گرمایی افزایش می‌یابد و سنجش سطوح این آنزیم‌ها برای بررسی آسیب و نکرز کبدی مورد استفاده قرار می‌گیرد. وقوع نکرز و یا آسیب به غشای سلول به

افزودن مونسین به جیره پایه بره‌ها (جدول ۲)، اگر چه با افزایش میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در پلاسما خون بره‌های پرواری همراه بود، ولی این افزایش، معنی‌دار نبود. افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان بیانگر تطابق سلول با تنش ایجاد شده، است (Oruç and Usta, 2007). سوخت قابل ترجیح بافت‌ها در دام در طول تنش گرمایی گلوکز است و مونسین به عنوان پیش‌ساز گلوکوئوتونیک غالب در نشخوارکنندگان محسوب می‌شود (Baumgard and Rhoads Jr, 2013). لذا این امکان وجود دارد که افزودن مونسین به عنوان پیش‌ساز گلوکز، تنش ناشی از گرمای محیط را کاهش دهد. نتایج تحقیقات صورت گرفته در خصوص تأثیر خوراندن پیش‌سازهای گلوکز به صورت سرک بر عملکرد و شاخص‌های دمایی بدنی در گوساله‌های نر هلشتاین در شرایط تنش حرارتی، نشان می‌دهد که پیش‌سازهای گلوکوئوتونیک، برخی شاخص‌های درجه حرارت بدن گوساله‌ها (سرعت تنفس و درجه حرارت راست‌روده) را بهبود داده است (یزدی و همکاران، ۱۳۸۵).

تأثیر تیمارهای آزمایش بر مقدار مالون‌دی‌آلدئید (شاخص پراکسیداسیون لیپید) و اکسید نیتریک (شاخص التهاب) پلاسما خون بره‌ها: نتایج جدول ۳ نشان می‌دهد که افزودن مخمر در جیره پایه بره‌های پروار شده در شرایط تنش گرمایی، به صورت معنی‌داری سبب کاهش مقدار اکسید نیتریک و مالون‌دی‌آلدئید پلاسما خون بره‌ها شد ($P < 0.05$).

کاهش مالون‌دی‌آلدئید پلاسما خون بره‌ها در نتیجه افزودن مخمر به جیره پایه بره‌ها (جدول ۳)، بیانگر خصوصیات آنتی‌اکسیدانی مخمر در جلوگیری از انباشت رادیکال آزاد در بدن است (Shehu et al., 2015). مطابق با نتایج این تحقیق، استفاده از مخمر در جیره بزهای شیری پرورش یافته تحت تنش گرمایی، با کاهش معنی‌دار مالون‌دی‌آلدئید خون بزها همراه شد (Wang et al., 2016). خاصیت آنتی‌اکسیدانی مخمر (Gazi et al., 2001)، دلیل احتمالی کاهش میزان مالون‌دی‌آلدئید و در نتیجه توقف پیشروی واکنش زنجیری در طی فرآیند اکسیداسیون چربی است. بر خلاف نتایج این تحقیق، محققین (Jia et al., 2018) اعلام نمودند افزودن دو نوع

جدول ۳- اثر تیمارهای آزمایشی بر میزان مالون دی آلدئید و اکسید نیتریک پلاسمای خون بره‌ها

Table 3. Effect of experimental treatments on malondialdehyde and nitric oxide content of lamb's blood plasma

Parameter	Treatments			SEM	P-value
	1	2	3		
Malondialdehyde ($\mu\text{Mol/mL}$)	90.87 ^a	33.74 ^c	61.89 ^b	1.96	0.001
Nitric oxide ($\mu\text{Mol/mL}$)	21.78 ^a	14.85 ^b	19.96 ^a	1.19	0.001

Treatment 1: Control diet, Treatment 2: Basal diet + 5 g yeast, Treatment 3: Basal diet + 30 mg monensin. ^{a, b} Means with different superscripts within the same row differ significantly ($P < 0.05$).

جدول ۴- اثر تیمارهای آزمایشی بر فراسنجه‌های پلاسمای خون بره‌ها

Table 4. Effect of experimental treatments on lambs' blood plasma parameters

Parameter	Treatments			SEM	P-value
	1	2	3		
Thyroxine (nMol/L)	60.12 ^b	75.22 ^a	58.62 ^b	2.35	0.04
Aspartate aminotransferase (u/L)	72.42 ^b	101.33 ^a	100.43 ^a	6.71	0.001
Alkaline phosphatase (u/L)	161.3 ^b	194.6 ^a	208.6 ^a	5.57	0.001

Treatment 1: Control diet, Treatment 2: Basal diet + 5 g yeast, Treatment 3: Basal diet + 30 mg monensin. ^{a, b} Means with different superscripts within the same row differ significantly ($P < 0.05$).

نتیجه‌گیری کلی

بر اساس یافته‌های این تحقیق، افزودن مخمر به میزان پنج گرم در روز به جیره پایه بره‌های پرواری در شرایط تنش گرمایی در مقایسه با افزودن مونسین، می‌تواند بروز آسیب‌های ناشی از تنش اکسیداتیو را کاهش و باعث بهبود وضعیت آنتی‌اکسیدانی و در نتیجه کاهش تنش اکسیداتیو دام در شرایط تنش گرمایی شود.

دلایل مختلفی از جمله تنش گرمایی، باعث رها شدن این آنزیم‌ها به گردش خون می‌شود و چون افزایش میزان آنزیم‌های کبدی در محدوده طبیعی قرار داشته است، لذا نشانگر عدم آسیب کبدی در شرایط تنش گرمایی در اثر مصرف مخمر و یا مونسین است. محققین دلیل احتمالی آن را افزایش فعالیت کورتیکوئیدها در کبد به منظور افزایش گلوکوکورتیکوئید می‌دانند (Abdalla *et al.*, 2015). همچنین، افزایش میزان فعالیت آنزیم‌های کبدی ممکن است به دلیل رشد عضلات در دوره پروار باشد (Avallone *et al.*, 1993).

فهرست منابع

- تقی‌زاده م. ۱۳۹۷. اثر پودر زیره، رازیانه و مخمر بر عملکرد، خصوصیات لاشه، فراسنجه‌های خون و اکوسیستم شکمبه بره‌های تغذیه شده با کنسانتره بالا. پایان‌نامه دکتری، دانشگاه زابل.
- یزدی م. ح، امانلو ح، میرزایی الموتی ح. ر، هرکی نژاد م. ط، نبی‌پور ا، و محجوبی ا. ۱۳۹۵. اثر خوراندن پیش‌سازهای گلوکز به صورت سرک بر عملکرد و شاخص‌های دمایی بدنی در گوساله‌های نر هلشتاین تحت تنش حرارتی. پژوهش‌های تولیدات دامی، ۱۳: ۱۰۸-۱۱۵.
- AOAC. 2000. Official Methods of Analysis. 17thed. Association of Official Analytical Chemists, Gaithersburg, MD.
- Abdalla E. B., El-Masry K. A., Khalil F. A., Teama F. E. and Emara S. S. 2015. Alleviation of oxidative stress by using olive pomace in crossbred (Brown Swiss X Baladi) calves under hot environmental conditions. Arab Journal of Nuclear Science and Applications, 48(4): 88-99.
- Abdollahi M., Ranjbar A., Shadnia S., Nikfar S. and Rezaie A. 2004. Pesticides and oxidative stress: A review. Medical Science Monitor, 10(6): 141-147.
- Adesogan A. T. 2009. Using dietary additives to manipulate rumen fermentation and improve nutrient utilization and animal performance. Proceedings: 20th Florida Ruminant Nutrition Symposium. Gainesville, pp. 13-37.
- Aebi H. 1984. Catalase *in vitro*. Methods In Enzymology, 121-126.

- Amaretti A., di Nunzio M., Pompei A., Raimondi S., Rossi M. and Bordoni A. 2013. Antioxidant properties of potentially probiotic bacteria: *in vitro* and *in vivo* activities. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 97(2): 809-817.
- Avallone L., Lombardi P. and D'Angelo A. 1993. Levels of CK and behaviour of its isoenzymes in water buffalo calves with natural breast breeding. *Acta MedicalVeterinary*, 39: 27-31.
- Baumgard L. H. and Rhoads R. P. Jr. 2013. Effects of heat stress on postabsorptive metabolism and energetics. *Annual Reviews of Animal Bioscience*, 1(1): 311-337.
- Bruno R. G. S., Rutigliano H. M., Cerri R. L., Robinson P. H. and Santos J. E. 2009. Effect of feeding *Saccharomyces cerevisiae* on performance of dairy cows during summer heat stress. *Animal Feed Science and Technology*, 150(3): 175-186.
- Ding J., Zhou Z. M., Ren L. P. and Meng Q. 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-Australasian Journal of Animal Sciences*, 21(4): 547-554.
- El-Masry K. A., Abdalla E. B., Emara S. E. and Hussein A. F. 2018. Effect of dried rosemary supplement as antioxidant agent on blood biochemical changes in relation to growth performance of heat-stressed crossbred (Brown Swiss × Baladi) calves. *World's Veterinary Journal*, 8(8): 95-105.
- Fonty G. and Chaucheyras-Durand F. 2006. Effects and modes of action of live yeasts in the rumen. *Biologia*, 61(6): 741-750.
- Gazi M. R., Hoshikuma A., Kanda K., Murata A. and Kato F. 2001. Detection of free radical scavenging activity in yeast culture. *Bulletin of the Faculty of Agriculture-Saga University*, 86: 67-74.
- Gümüş R., Erol H. S., Imik H. and Halıcı M. 2017. The effects of the supplementation of lamb rations with oregano essential oil on the performance, some blood parameters and antioxidant metabolism in meat and liver tissues. *Kafkas Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi*, 23(3): 395-401.
- Jia P., Cui K., Ma T., Wan F., Wang W., Yang D., Wang Y., Guo B., Zhao L. and Diao Q. 2018. Influence of dietary supplementation with *Bacillus licheniformis* and *Saccharomyces cerevisiae* as alternatives to monensin on growth performance, antioxidant, immunity, ruminal fermentation and microbial diversity of fattening lambs. *Scientific Reports*, 8(1): 16712.
- Jouany J. 2001. A new look at yeast cultures as probiotics for ruminants. *Feed Mix*, 9(6): 17-19.
- Li M., Dai F. R., Du X. P., Yang Q. D. and Chen Y. 2012. Neuroprotection by silencing iNOS expression in a 6-OHDA model of Parkinson's disease. *Journal of Molecular Neuroscience*, 48(1): 225-233.
- Marai I., El-Darawany A., Fadiel A. and Abdel-Hafez M. 2007. Physiological traits as affected by heat stress in sheep—A review. *Small Ruminant Research*, 71(1-3): 1-12.
- Marklund S. and Marklund G. 1974. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *European Journal of Biochemistry*, 47(3): 469-474.
- Martarelli D., Verdenelli M. C., Scuri S., Cocchioni M., Silvi S., Cecchini C. and Pompei P. 2011. Effect of a probiotic intake on oxidant and antioxidant parameters in plasma of athletes during intense exercise training. *Current Microbiology*, 62(6): 1689-1696.
- Nishino T. and Ishikawa F. 1998. Pharmaceutical, cosmetic and food antioxidants containing yeasts and a method for evaluation of antioxidant activity of microorganisms. *Japan Patent*, 10287872: A2.
- Oruç E. Ö. and Usta D. 2007. Evaluation of oxidative stress responses and neurotoxicity potential of diazinon in different tissues of *Cyprinus carpio*. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 23(1): 48-55.
- Rahman I., Kode A. and Biswas S. K. 2006. Assay for quantitative determination of glutathione and glutathione disulfide levels using enzymatic recycling method. *Nature Protocols*, 1(6): 3159.
- Ratajczak-Wrona W., Jablonska E., Antonowicz B., Dziemianczyk D. and Grabowska S. Z. 2013. Levels of biological markers of nitric oxide in serum of patients with squamous cell carcinoma of the oral cavity. *International Journal of Oral Science*, 5(3): 141-145.
- Rotruck J. T., Pope A. L., Ganther H. E., Swanson A. B., Hafeman D. G. and Hoekstra W. G. 1973. Selenium: Biochemical role as a component of glutathione peroxidase. *Science*, 179(4073): 588-590.
- Sahoo K. C., Tamhankar A. J., Johansson E. and Lundborg C. S. 2010. Antibiotic use, resistance development and environmental factors: A qualitative study among healthcare professionals in Orissa, India. *BMC Public Health*, 10(1): 629.
- Salami S., Guinguina A., Agboola J., Omede A., Agbonlahor E. and Tayyab U. 2016. *In vivo* and postmortem effects of feed antioxidants in livestock: A review of the implications on authorization of antioxidant feed additives. *Animal*, 10(8): 1375-1390.

- Shehu B., Ayanwale B., Ayo J. and Uchendu C. 2015. Effect of *Saccharomyces cerevisiae* supplementation on some biomarkers of oxidative stress in weaned rabbits during the hot-dry season. *World Rabbit Sciences*, 24: 67-70.
- Sowińska J., Tański Z., Milewski S., Ząbek K., Wójcik A., Sobiech P. and Illek J. 2016. Effect of diet supplementation with the addition of *Saccharomyces cerevisiae* upon stress response in slaughter lambs. *Acta Veterinaria Brno*, 85(2): 177-184.
- Thomas L. 1998. Alanine aminotransferase (ALT), Aspartate aminotransferase (AST). In: Thomas L, editor. *Clinical Laboratory Diagnostics*. 1st ed. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft, pp. 55-65.
- Truusalu K., Naaber P., Kullisaar T., Tamm H., Mikelsaar R. H., Zilmer K., Rehema A., Zilmer M. and Mikelsaar M. 2004. The influence of antibacterial and antioxidative probiotic lactobacilli on gut mucosa in a mouse model of *Salmonella* infection. *Microbial Ecology In Health and Disease*, 16(4): 180-187.
- Ungerfeld R. and Melo A. F. 2019. Stress and behavioural responses to winter shearing differ between pregnant and non-pregnant ewes. *Physiology and Behavior*, 210(15): 112653.
- Van Soest P. J., Robertson J. B. and Lewis B. A. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, 74(10): 3583-3597.
- Wang L., Wang Z., Zou H. and Peng Q. 2016. Yeast culture and vitamin E supplementation alleviates heat stress in dairy goats. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 29(6): 814-822.



Research paper

Effect of *Saccharomyces cerevisiae* compared with monensin on oxidative stress in fattening lambs under thermal stress conditions

A. Navaei¹, S.M. Mousavi^{2*}, M. Taghizadeh³

1. MSc. Student of Animal Physiology, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Lorestan University, Khorramabad, Iran
2. Assistant Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Lorestan University, Khorramabad, Iran
3. Graguated Ph.D in Animal Nutrition, Lorestan Agricultural Jihad Organization, Khorramabad, Iran

(Received: 08-12-2019 – Accepted: 01-03-2020)

Abstract

Heat stress hurts the oxidative status of the body. To investigate the effect of yeast compared with monensin on oxidative stress of lambs in heat stress conditions, 15 male lambs were used in a completely randomized design in three groups with five replications. Experimental groups included group one: basal diet, group two: basal diet + five grams of yeast, and group three: basal diet + 30 mg monensin. Blood samples were collected from lambs' veins on day 56 and antioxidant enzymes and blood parameters were measured. The results revealed that supplementation of the basal diet with yeast significantly increased the level of glutathione reduction (4.16 μ Mol/mg plasma) and antioxidant enzymes activity superoxide dismutase (10.8 IU/mg plasma), catalase (2.15 nMol (per minute)/mg plasma), glutathione peroxidase (75.36 IU/mg plasma) and paraoxonase (42.71 IU/mg plasma). Also, the results showed that the amount of nitric oxide as an inflammation index (14.85 IU/mg plasma) and malondialdehyde as a lipid peroxidation index (33.74 IU/mg plasma) in the blood plasma of lambs were significantly decreased. Finally, the results of the current project demonstrated the diets contained yeast and the diet contained monensin compared to the control diet, were able to significantly increase thyroxin hormone (75.22 nMol/l) and liver enzyme concentration. Based on the findings of this study, adding yeast to 5 g/kg DM in the diet of lambs not only reduced the damage caused by oxidative stress but also improved the antioxidant status of lambs in heat stress conditions.

Keywords: Antioxidant enzymes, Fattening lamb, Heat stress, *Saccharomyces cerevisiae* yeast

*Corresponding author: mousavi.sym@lu.ac.ir

doi: 10.22124/ar.2021.15144.1477