نشریه تازه ها در میکروب‌شناسی دامپزشکی
وبگاه: nfvm.uoz.ac.ir
دو فصلنامه - شاپا چاپی: ۲۶۴۵-۴۴۹۱ شاپا الکترونیکی: ۲۶۷۶-۵۰۰۴

دوره ۷، شماره ۲، پائیز و زمستان ۱۴۰۳، صفحات ۶۳- ۷۱

تاثیر افزودن سطوح مختلف مکمل سلنیوم مخمر و نانوذرات سلنیوم بر جمعیت پروتوزوآیی و غلظت آمونیاک شکمبه بره‌های نر پرواری بلوچی (بومی سیستان)

حسین انصاری‌نیک[۱]، محمدرضا دهقانی[۲*]، مصطفی یوسف‌الهی[۲]، امیر موسائی[۳]، احمد راشکی[۴]، آرش امیدی[۵]

۱- دانشجوی دکتری تغذیه دام، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران.
۲- دانشیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران.
۳- استادیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه جیرفت، جیرفت، ایران.
۴- دانشیار، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه زابل، زابل، ایران.
۵- استاد، گروه مدیریت بهداشت دام، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران.

دریافت مقاله: ۱۵ خرداد ۱۴۰۳، بازنگری: ۱۰ تیر ۱۴۰۳، پذیرش نهایی: ۲۳ مرداد ۱۴۰۳

10.22034/nfvm.2024.460687.1245

چکیده

این پژوهش به‌منظور بررسی تأثیر مکمل نانوسلنیوم و سلنیوم- مخمر بر جمعیت جنس‌های مختلف پروتوزآ و غلظت نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه با استفاده از ۳۰ رأس بره نر بلوچی با میانگین وزن اولیه ۲۱/۵۶±۰/۳۳ کیلوگرم در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با ۵ تیمار و ۶ تکرار به مدت ۷۰ روز (۱۴ روز عادت‌پذیری و ۵۶ روز آزمایش) انجام شد. گروه‌های آزمایشی شامل ۱) شاهد (جیره فاقد مکمل سلنیوم)، ۲، ۳ و ۴) به‌ترتیب تغذیه با ۰/۴، ۰/۸ و ۱/۲ میلی‌گرم سلنیوم از منبع سلنیوم- مخمر و ۵) تغذیه با ۰/۴ میلی‌گرم سلنیوم از مکمل نانوسلنیوم بودند. نتایج نشان داد که تعداد پروتوزآ در گروه‌های دریافت کننده ۰/۸ و ۱/۲ میلی‌گرم سلنیوم از منبع سلنیوم- مخمر و ۰/۴ میلی‌گرم به شکل نانوسلنیوم، بیشتر از گروه شاهد بود (P<۰/۰۵). هر دو منبع سلنیوم مخمر و نانوسلنیوم باعث افزایش گونه افریواسکولکس شدند، در حالی که تنها تیمار نانوسلنیوم تعداد پروتوزوآی داسیتریشای بیشتری در مقایسه با شاهد داشت (P<۰/۰۵). همچنین، افزودن ۰/۸ میلی‌گرم سلنیوم از سلنیوم- مخمر و ۰/۴ میلی‌گرم از نانوسلنیوم سبب افزایش تعداد گونه دیپلودینیوم شد (P<۰/۰۵). با وجود این، گونه‌های انتودینیوم و ایزوتریشا تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفتند. میزان نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه در تیمارهای ۰/۸ و ۱/۲ میلی‌گرم سلنیوم (سلنیوم-مخمر) و ۰/۴ میلی‌گرم سلنیوم به‌صورت نانو سلنیوم کمتر از گروه شاهد بود. نتایج این پژوهش نشان داد که افزودن مکمل سلنیوم به شکل نانو سلنیوم و سلنیوم- مخمر می‌تواند سبب افزایش جمعیت پروتوزوآ و کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه بره‌های پرواری بلوچی شود.

واژگان کلیدی: *بره پرواری، پروتوزوآ، سلنیوم، مخمر*

* پست الکترونیک نویسنده مسئول مکاتبه: mr.dehghani@uoz.ac.ir

مقدمه

مواد معدنی نقش مهمی در فعال‌سازی آنزیم‌ها، حفظ تعادل یونی، تنظیم واکنش‌های شیمیایی درون سلولی و کمک به حفظ ساختار اسکلتی دارند، بنابراین هرگونه کمبود مواد معدنی باعث اختلال در رشد، تولید مثل و سلامت حیوانات می شود (۱۸). در میان عناصر کمیاب، عنصر سلنیوم از اهمیت خاصی برخوردار است که برای سلامتی، ایمنی و عملکرد تولیدی بهینه حیوانات ضروری است (۲، ۲۳). در نشخوارکنندگان، جوامع میکروبی پیچیده و متنوعی در دستگاه گوارش به‌ویژه شکمبه وجود دارد. شکمبه محیطی مناسب برای جمعیت متراکم و متنوعی از میکروارگانیسم‌ها از جمله باکتری‌ها، پروتوزوا، قارچ‌ها و باکتریوفاژها است. اکوسیستم میکروبی شکمبه نقش اساسی در سلامت و تغذیه حیوانات میزبان دارد (۱۲). جمعیت میکروبی توسط عوامل غیر زیستی و زیستی تعیین می‌شود که توسط شرایط محیطی و شبکه پیچیده‌ای از فعل و انفعالات میکروبی بین میکروارگانیسم‌های مختلف هدایت می‌شوند. میکروارگانیسم‌های یوکاریوت مانند پروتوزوا از گونه‌های مختلف، نقشی محوری در تنظیم جمعیت و عملکرد اکوسیستم میکروبی شکمبه و خصوصیات فیزیکوشیمیایی آن دارند (۲۰). پروتوزوا حدود ۵۰ درصد از زیست توده میکروبی شکمبه را تشکیل می‌دهند (۵، ۲۵) و این موجودات متحرک در ابتدای تاریخ میکروبیولوژی شکمبه شناسایی شدند (۱۱). با وجود این واقعیت که پروتوزوا بخش بزرگی از زیست توده شکمبه را تشکیل می دهند، نقش آنها در تخمیر شکمبه و سهم آنها در متابولیسم و تغذیه میزبان هنوز موضوع بحث قابل توجهی است (۲۴). کاربردهای نانوذرات در زمینه‌های مختلف، به‌دلیل خواص منحصر به فردشان در مقایسه با مواد حجیم، چندین دهه است که یکی از موضوعات اصلی برای تحقیق و بررسی توسط پژوهشگران است. خواص فیزیکوشیمیایی نانوذرات عناصری مانند سلنیوم به خوبی شناخته شده و به‌عنوان عوامل ضد سرطان و ضد میکروبی یا حامل‌ها غیر فعال‌سازی و ریشه‌کن کردن باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی ممکن است عمدتاً ناشی از آسیب‌های اکسیداتیو در محیط باکتریایی باشد (۲۹).

سلنیوم آلی و نانوسلنیوم از طریق انتقال فعال، سلنیت از طریق انتقال غیرفعال و سلنات به‌واسطه ناقل‌های سدیم به‌صورت انتقال فعال جذب می‌شوند. سلنیوم دارای اثر حفاظتی بر پروتوزوآی شکمبه است و موجب افزایش بقا و فعالیت آنها می‌شود (۹). Wilsdorf و همکاران در سال ۱۹۸۴ گزارش کردند که سلنیوم مقاومت و فعالیت پروتوزوای شکمبه را افزایش می‌دهد. علاوه بر این، پروتوزوآ می‌توانند بر وضعیت سلنیوم حیوانات اثر بگذارند (۱۲، ۴، ۸). در پژوهشی مشاهده شد که افزودن سلنیوم به جیره باعث افزایش جمعیت پروتوزوای مژک‌دار موجود در شکمبه می‌شود (۱۶، ۱۷). Wang و همکاران در سال ۲۰۰۹ کاهش نیتروژن آمونیاکی را با استفاده از مخمر سلنیوم در گاوهای شیری گزارش کردند. همچنین، ایشان بهینه رشد میکروبی در گاوهای شیری را با افزودن مقدار ۰/۳ میلی‌گرم سلنیوم به هر کیلوگرم جیره مشاهده کردند.

در پژوهشی گزارش شد که افزودن مکمل سلنیوم آلی تولید پروتئین میکروبی را در شکمبه دام افزایش داد (۲۷). به نظر می‌رسد چون سلنیوم می‌تواند اثرات مثبتی بر جمعیت میکروبی شکمبه و فعالیت آنها بگذارد (۲۲، ۷)، می‌تواند منجر به افزایش بازدهی نیتروژن آمونیاکی شود (۲۲).

بسته به عواملی مانند نوع و مقدار سلنیوم خاک، گونه گیاهی و غیره، غلظت سلنیوم در منابع خوراکی گیاهی مورد استفاده در جیره نشخوارکنندگان، به شدت متغیر است. بنابراین، غلظت سلنیوم جیره ممکن است ناکافی باشد و از آن جایی که جذب سلنیوم به‌ویژه از منابع معدنی در نشخوارکنندگان (۳۴ درصد) کمتر از حیوانات تک معده‌ای (۸۵ درصد) است (۲۷)، کمبود سلنیوم می‌تواند تولید را کاهش داده و سلامت دام را به خطر بیندازد (۲۱). با توجه به جذب پایین سلنیوم در دستگاه

گوارش گوسفند، در تحقیقات دامی مقدار عنصر مذکور را بیش از حد نیاز در نظر می‌گیرند تا آثار مثبت احتمالی آن را شناسایی کنند. با وجود این، عواملی مانند تنوع در منابع مکمل‌های مصرفی، نژاد دام و مرحله تولید آن و شرایط مختلف آب و هوایی و تغذیه‌ای سبب تفاوت در نتایج پژوهش‌های مختلف در رابطه با نیاز گوسفند به سلنیوم و گوناگونی اثرات گزارش شده مکمل‌های مختلف سلنیوم بر سلامت و عملکرد بره‌ها شده است. همچنین اطلاعات کافی در مورد تأثیر سطوح مختلف مکمل آلی سلنیوم مخمر و نانوسلنیوم بر جمعیت پروتوزوآی شکمبه بره‌های نر بلوچی بومی سیستان وجود ندارد. از این رو، با توجه به مشاهدات و گزارشات اداره دامپزشکی در رابطه با کمبود سلنیوم در گوسفندان منطقه سیستان و با در نظر گرفتن حساسیت‌های تغذیه‌ای سلنیوم در گوسفند، پژوهش حاضر به‌منظور بررسی اثرات افزودن سطوح مختلف مکمل سلنیوم مخمر و نانوذرات سلنیوم بر جمعیت پروتوزوآیی و غلظت نیتروژن آمونیاکی شکمبه بره‌های نر پرواری بلوچی انجام شد.

مواد و روش‌ها

دام‌ها و شرایط انجام آزمایش: این پژوهش در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه زابل و با استفاده از ۳۰ رأس بره نر بلوچی با دامنه سنی ۶-۵ ماه و میانگین وزن اولیه ۰/۳۳ ± ۲۱/۵۶ کیلوگرم در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با ۵ تیمار و ۶ تکرار به مدت ۷۰ روز (۱۴ روز عادت‌پذیری و ۵۶ روز آزمایش) انجام شد. بره‌ها در قفس‌های انفرادی قرارگرفتند و عمل سازگاری بره‌ها با شرایط محیطی و جیره آزمایشی انجام شد. پس از اتمام دوره سازگاری، بره‌ها به شکل تصادفی به یکی از ۵ گروه آزمایشی ذیل اختصاص داده شدند: ۱) گروه شاهد (تغذیه با جیره فاقد مکمل سلنیوم)، ۲) تغذیه با جیره حاوی ۰/۴میلی‌گرم سلنیوم در کیلوگرم از مکمل آلی سلنیوم- مخمر، ۳) تغذیه با جیره حاوی ۰/۸ میلی‌گرم سلنیوم در کیلوگرم از مکمل آلی سلنیوم- مخمر، ۴) تغذیه با جیره حاوی ۱/۲ میلی‌گرم سلنیوم در کیلوگرم از مکمل آلی سلنیوم- مخمر و ۵) تغذیه با جیره حاوی ۰/۴ میلی‌گرم سلنیوم در کیلوگرم از مکمل نانوسلنیوم. غلظت سلنیوم افزودنی با در نظرگرفتن درصد خلوص مکمل محاسبه شد. جیره‌های آزمایشی (جدول ۱) با استفاده از نرم‌افزار سیستم تغذیه‌ای نشخوارکنندگان کوچک (SRNS* نسخه ۱/۹/۵۱۰۵) تنظیم شدند. جیره پایه حاوی ۷۵ درصد کنسانتره و ۲۵ درصد علوفه بود و به‌صورت جیره کاملا مخلوط (TMR†) در اختیار بره‌ها قرار گرفت.

شمارش پروتوزوآ: نمونه‌های مایع شکمبه به‌وسیله لوله مری تقریباً ۳ تا ۴ ساعت پس از خوراک صبحگاهی از شکمبه دام گرفته شد. مایع شکمبه به‌وسیله پارچه متقال دو لایه صاف شد، میزان ۱۰ میلی‌لیتر از مایع شکمبه صاف شده با محلول متیل‌گرین‡ (۱۹) مخلوط شد و برای شمارش پروتوزوآ در فضای تاریک نگهداری شد. برای تهیه محلول متیل گرین، ابتدا ۱۰۰ میلی‌لیتر محلول فرمالدئید ۳۵ درصد فراهم شد، سپس مقدار ۸ گرم نمک و ۰/۶ گرم متیل سبز به آن اضافه گردید و با ۹۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر به حجم رسانده شد. محلول تهیه شده در یک مکان تاریک نگه‌داری شد. بعد از ثابت شدن تک‌یاخته‌ها با استفاده از پیپت پاستور از هر لوله یک قطره مایع شکمبه روی لام نئوبار (DQ) که قسمت وسط آن به ابعاد ۱۰×۱۰ میلی‌متر و به عمق ۰/۱ میلی‌متر مدرج گردیده بود، قرار داده و با گذاشتن لامل بر روی آن در زیر میکروسکوپ نوری (Olympus CH-2) و با درشت نمایی ۱۰× تک‌یاخته‌ها شمارش گردید. تعداد کل تک‌یاخته‌ها یعنی مجموع تک‌یاخته‌های هولوتریش و انتودینومورف در چهار سلول در چهار گوشه قسمت مدرج و چهار سلول در قسمت وسط آن شمارش گردید. هر نمونه سه بار شمارش شد. جمعیت کل پروتوزوآ و گونه‌های مختلف پس از شمارش با لام نئوبار به‌صورت زیر تخمین زده شد:

---

* Small ruminant nutrition system

† Total mixed ration

‡ Methylgreen-formalin-Salin

(رابطه ۱)

$$A=\frac{B\times10000\times C}{۵}$$

(رابطه ۲)

$$C=\frac{RF+MFS}{RF}$$

در این معادلات: A= جمعیت پروتوزوآ در هر میلی‌لیتر مایع شکمبه، B= مجموع کل پروتوزوآی مشاهده شده در مربعات لام نئوبار، C= نرخ رقت، RF= میزان مایع شکمبه (میلی‌لیتر)، MFS= میزان محلول نگهدارنده (میلی‌لیتر) است.

نیتروژن آمونیاکی: به‌منظور بررسی اثر جیره‌های آزمایشی بر غلظت نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه، از هر حیوان یک نمونه ۱۰ میلی‌لیتری مایع شکمبه برداشته شده و به هر یک از آنها ۰/۲ میلی‌لیتر اسید سولفوریک ۵۰ درصد شرکت Merck برای تعیین نیتروژن آمونیاکی اضافه گردید (۳). نمونه‌ها تا زمان انجام آزمایش در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد منجمد شدند. اندازگیری غلظت نیتروژن آمونیاکی شکمبه با استفاده از روش فنول-هیپوکلریت (۳) انجام شد. مواد و محلول‌های این روش شامل محلول فنول (از حل شدن ۰/۱۵ گرم نیتروفری‌سیانید سدیم در ۱/۵ لیتر آب مقطر و سپس اضافه نمودن ۳۳ میلی‌لیتر فنول ۹۰ درصد و رساندن حجم محلول به ۳ لیتر با آب مقطر)، محلول هیپوکلریت (از حل شدن ۰/۱۵ گرم هیدروکسید سدیم در ۲ لیتر آب مقطر و اضافه نمودن ۱۱۳/۶ گرم دی‌سدیم فسفات هفت آبه با گرم کردن ملایم در حمام آب گرم و افزودن ۱۵۰ میلی‌لیتر هیپوکلریت سدیم ۵/۲۵ درصد به آن پس از خنک شدن و رساندن به حجم سه لیتر با آب مقطر) و محلول استوک ۱۰۰ میلی‌مولاری آمونیاک (با حل کردن ۰/۶۶۰۷ گرم سولفات آمونیوم در اسید کلریدریک ۰/۱ نرمال و رساندن آن به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر) بود. محلول استاندارد آمونیاک با رقیق شدن محلول استوک به غلظت‌های یک، دو، چهار، شش و هشت میلی‌مولاری آمونیاک حاصل گردید. ابتدا ۰/۰۰۵ میلی‌لیتر (۵۰ میکرولیتر) نمونه و استانداردهای تهیه شده به لوله آزمایش منتقل و ۵۰ میکرولیتر آب مقطر به‌عنوان بلانک برداشته شد. سپس ۲/۵ میلی‌لیتر محلول فنول به آنها اضافه و مواد مخلوط شدند. پس از آن ۲ میلی‌لیتر از محلول هیپوکلریت به لوله‌ها اضافه و مجدداً مخلوط شد. محلول در حمام آب گرم در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت پنج دقیقه قرار داده شد و پس از خنک شدن، جذب در طول موج ۶۳۰ نانومتر به‌وسیله اسپکتروفتومتر (HALO, model XB10) خوانده شد و در نهایت با استفاده از منحنی استاندارد، مقدار آمونیاک برحسب میلی‌مول محاسبه شد.

آنالیز آماری: داده‌های حاصل از اندازه‌گیری غلظت نیتروژن آمونیاکی و و جمعیت زیر خانواده‌های پروتوزوآ در مایع شکمبه با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS (ویرایش۹/۲) در قالب طرح کاملاً تصادفی مورد تجزیه آماری قرار گرفتند. مقایسه میانگین تیمارها با آزمون توکی در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

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

در این معادله: Y_{ij}= صفت مورد مطالعه (متغیر وابسته)، μ= میانگین برای صفت مورد مطالعه، T_i= اثر تیمار و e_{ij}= اشتباه آزمایشی بود.

جدول ۱- مواد خوراکی و ترکیب مواد مغذی جیره پایه

جیره پایه	مقدار (درصد)
کاه گندم	۲۵
جو	۵۰
کنجاله سویا	۱۲
سبوس گندم	۷
روغن آفتابگردان	۴
کربنات کلسیم	۰/۵
بی‌کربنات سدیم	۰/۵
مکمل مواد معدنی- ویتامینی۱	۱
ترکیب شیمیایی جیره پایه	**مقدار (درصد)**
انرژی قابل سوخت و ساز (مگاکالری در کیلوگرم)	۲/۴۸
پروتئین خام	۱۵/۲
دیواره سلولی نامحلول در شوینده خنثی (NDF)	۳۵
خاکستر	۸
کلسیم	۰/۷
فسفر	۰/۴
سلنیوم (میلی‌گرم در کیلوگرم)	۰/۰۶

غلظت مواد معدنی و ویتامین‌ها در هرکیلوگرم مکمل: کلسیم ۱۹۶، فسفر ۳۰، سدیم ۵۰، منیزیم ۱۸، روی۳، آهن ۳ و منگنز ۲ گرم؛ مس ۳۰۰، کبالت ۱۰۰، ید ۱۰۰ و آنتی‌اکسیدان ۴۰۰ میلی‌گرم؛ ویتامین A ۵۰۰۰۰۰ واحد، ویتامین D ۱۰۰۰۰۰ واحد و ویتامین E ۱۰۰ میلی‌گرم. ۲ . انرژی قابل سوخت و ساز (مگاکالری در کیلوگرم جیره) توسط نرم‌افزار جیره‌نویسی نشخوارکنندگان کوچک (SRNS) محاسبه شده است.

نتایج

نتایج مربوط به تأثیر مقادیر مختلف سلنیوم بر جمعیت پروتوزوآ و غلظت نیتروژن آمونیاکی شکمبه در جدول ۲ ارائه شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود جمعیت پروتوزوآی کل تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفته است و تیمارهای ۰/۸ و ۱/۲ میلی‌گرم سلنیوم در کیلوگرم خوراک به شکل مخمر سلنیوم و ۰/۴ میلی‌گرم سلنیوم به شکل نانو، افزایش معنی‌داری را نسبت به دیگر تیمارها نشان دادند (P<۰/۰۵). افزودن مقادیر مختلف سلنیوم به جیره از دو منبع سلنیوم مخمر و نانوسلنیوم، به‌طور معنی‌داری باعث افزایش گونه افریواسکولکس نسبت به تیمار شاهد شد در حالی که تعداد داسیتریشا در مایع شکمبه بره‌های تغذیه شده با جیره حاوی ۰/۴ میلی‌گرم سلنیوم از منبع نانوسلنیوم بالاتر از گروه شاهد بود. شمار پروتوزوا دیپلودینیوم نیز در گروه ۰/۸ میلی‌گرم سلنیوم به شکل مخمر سلنیوم و گروه نانوسلنیوم بیشتر از گروه شاهد و ۰/۴ میلی‌گرم مخمر سلنیوم بود (P<۰/۰۵). تعداد گونه‌های انتودینیوم و ایزوتریشا تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفتند. نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه نیز تحت تأثیر افزودن مکمل سلنیوم به جیره قرار گرفت (P<۰/۰۵). مقدار نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه بره‌های تغذیه شده با ۰/۸ و ۱/۲ میلی‌گرم سلنیوم از منبع سلنیوم مخمر و ۰/۴ میلی‌گرم سلنیوم به شکل نانوسلنیوم در هر کیلوگرم جیره کمتر از مقدار آن در گروه شاهد و گروه تغذیه شده با ۰/۴ میلی‌گرم سلنیوم بود (P<۰/۰۵).

جدول ۲- تأثیر اشکال مختلف سلنیوم بر جمعیت پروتوزوآ (میلی‌لیتر/$۱۰^۵$×) و نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه

نوع پروتوزوآ	جیره‌های آزمایشی						
	شاهد	۰/۴	۰/۸	۱/۲	۰/۴ نانو	SEM	P-value
انتودینیوم	۵/۱۵	۴/۸۹	۵/۰۸	۵/۱	۴/۹۸	۰/۳۴۱	۰/۲۴
افریواسکولکس	۰/۸۴۵^b	۲/۵۳^a	۲/۲۸^a	۲/۶۴^a	۲/۳۱^a	۰/۵۱۲	۰/۰۲۴
داسیتریشا	۲/۳۱^b	۲/۴۷^b	۳/۳۵^{ab}	۳/۴۸^{ab}	۴/۱۲^a	۰/۰۱۸	۰/۰۳۲
ایزوتریشا	۱/۸۷	۱/۷۸	۲/۰۵	۱/۹۳	۲/۱	۰/۴۲۶	۰/۱۷۵
دیپلودینیوم	۰/۶۶۳^b	۰/۶۷۰^b	۱/۸۴^a	۱/۴۴^{ab}	۱/۷۲^a	۰/۵۷۴	۰/۰۴۵
پروتوزوآی کل	۱۰/۹۳^b	۱۱/۳۴^b	۱۴/۶۰^a	۱۴/۵۵^a	۱۵/۰۹^a	۰/۶۳۲	۰/۰۴۱
نیتروژن آمونیاکی (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	۱۳/۷۶^a	۱۴/۲۵^a	۱۲/۲۷^b	۱۲/۰۹^b	۱۲/۱۳^b	۰/۶۸۳	۰/۰۵

a-b-c : حروف غیر مشابه در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌هاست (P<۰/۰۵).

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها

بحث و نتیجه‌گیری

یافته‌های برخی از پژوهش‌ها حاکی از این است که ماده معدنی سلنیوم دارای اثر حفاظتی بر پروتوزوآ شکمبه است و ممکن است سبب بهبود فعالیت آنها شود. از سوی دیگر، پروتوزوآی شکمبه نیز می‌توانند توازن سلنیوم حیوان را تحت تأثیر قرار دهند (۸، ۱۲). نتایج پژوهش حاضر نشان داد که سطوح ۰/۸ و ۱/۲ میلی‌گرم سلنیوم در کیلوگرم خوراک به شکل مخمر سلنیوم و ۰/۴ میلی‌گرم از منبع نانوسلنیوم باعث افزایش پروتوزوآ در مایع شکمبه بره‌های پرواری می‌شود. علت این امر را می‌توان به ارتقای توان آنتی‌اکسیدانی محیط شکمبه با افزودن سلنیوم آلی و نانو، و به تبع آن افزایش گونه‌های میکروبی موجود در محیط شکمبه از جمله پروتوزوآ نسبت داد (۱۷). همچنین نشان داده شده است که سلنیوم تأثیرات فیزیولوژیک خود را از طریق سلنوپروتئین‌ها اعمال نموده و کمبود آن می‌تواند بیان mRNA را کاهش دهد (۱۴). در نتیجه گروه‌های دریافت کننده سلنیوم ممکن است فعالیت سلنو آنزیم بیشتری برای پروتوزوآ داشته باشند (۱۵) و به نظر می‌رسد چنین شرایطی سبب افزایش تعداد پروتوزوآ شده باشد. همسو با نتایج حاضر که جنس افریواسکولکس تحت تأثیر افزودن مکمل سلنیوم به جیره پایه قرار گرفته و تفاوت آماری معنی‌داری نسبت به گروه شاهد (بدون مکمل سلنیوم) داشت، Mihalikova و همکاران در سال ۲۰۰۵ نشان دادند که جنس افریواسکولکس فقط در محتویات شکمبه گوسفندهای گروه تغذیه شده با مکمل سلنیوم مشاهده شد اما در تیمار فاقد مکمل این جنس وجود نداشت، که دلیل آن را می‌توان به اثرات آنتی‌اکسیدانی سلنیوم برای حفظ فعالیت افریواسکولکس نسبت داد و این بدان معنی است که سلنیوم با ارتقای توان آنتی‌اکسیدانی محیط شکمبه و به تبع آن گونه‌های میکروبی موجود در آن، از جمله افریواسکولکس، باعث بقای آن در محیط شکمبه شده است.

در پژوهش حاضر، مشاهده شد که مکمل کردن ۰/۴ میلی‌گرم در کیلوگرم سلنیوم به شکل نانو سلنیوم موجب افزایش داسیتریشیا و ۰/۸ میلی‌گرم سلنیوم از منبع مخمر سلنیوم و ۰/۴ میلی‌گرم به‌صورت نانو سلنیوم موجب افزایش دیپلودینیوم شد. همسو با این نتایج، در پژوهشی گزارش شد که تیمار سلنیوم آلی موجب افزایش معنی‌دار تعداد کل پروتوزوآ نسبت به تیمارهای معدنی سلنیوم شد. همچنین، تیمار نانو و سلنیوم آلی به‌طور قابل توجهی موجب افزایش گونه‌های داسیتریشا، دیپلودینیوم و افریواسکولکس نسبت به تیمار معدنی شدند (۶). در پژوهشی دیگر مشاهده شد که سلنیوم معدنی به تنهایی (۳۱۰ میکروگرم در کیلوگرم ماده خشک) و به همراه ویتامین E نیز جمعیت زیرگونه‌های دیپلودینیوم،

افریواسکولکس و پروتوزوآی کل را افزایش داد (۱۷). قربانی و همکاران در سال ۱۳۹۵، در پژوهشی که به‌منظور بررسی تأثیر مکمل روی- متیونین و سلنومتیونین بر جمعیت پروتوزوآ بر روی گوسفند انجام شد، گزارش کردند که جمعیت کل پروتوزوآ در حضور روی- متیونین، سلنومتیونین و روی- سلنیوم نسبت به گروه شاهد افزایش داشت و بیشترین افزایش را جمعیت زیرخانواده انتودینینه‌ها نشان دادند. همچنین، جمعیت زیرخانواده ایزوتریشیدا، افریواسکولسینه و دیپلودینینه تحت تأثیر سلنیوم قرار نگرفتند که با نتایج به دست آمده در این مطالعه مغایرت دارد.

همسو با نتایج این پژوهش، در برخی پژوهش‌های انجام شده بر روی دام‌های نشخوارکننده (۱۰، ۲۴، ۲۸)، غلظت نیتروژن آمونیاکی با استفاده از سطوح مازاد سلنیوم کاهش یافت که این پژوهشگران افزایش فعالیت میکروبی و بهبود استفاده از نیتروژن خوراک و نیتروژن آمونیاکی جهت ساخت پروتئین میکروبی را از جمله دلایل این کاهش بیان کردند. کاهش نیتروژن آمونیاکی می‌تواند به‌دلیل اثر مثبت سلنیوم بر رشد میکروارگانیسم‌ها به‌ویژه باکتری‌های سلولایتیک که منحصرا از نیتروژن آمونیاکی استفاده می‌کنند، باشد (۱۶، ۱۷). همچنین، آل‌سعدی و همکاران در سال ۱۳۹۷ نشان دادند که pH و نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه تحت تأثیر مکمل کردن سطوح ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم سلنیوم در کیلوگرم ماده خشک از منبع سلنیوم- متیونین به جیره بره‌های نر کرمانی قرار نگرفت. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که استفاده از منابع مختلف سلنیوم در جیره احتمالاً می‌تواند با بهبود عملکرد شکمبه موجب افزایش تعداد پروتوزوآ و کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی شکمبه شود که در این زمینه میزان ۰/۴ میلی‌گرم سلنیوم در کیلوگرم جیره به شکل نانو سلنیوم و ۱/۲ میلی‌گرم در کیلوگرم از منبع مخمر سلنیوم عملکرد بهتری نسبت به شاهد و سطوح ۰/۴و ۰/۸ میلی‌گرم در کیلوگرم مخمر سلنیوم داشت. به‌طور کلی با توجه به یافته‌های پژوهش حاضر و مقایسه آنها با تحقیقات انجام شده می‌توان نتیجه گرفت که عواملی مانند مقدار و منبع سلنیوم، نژاد دام، جیره پایه، شرایط فیزیولوژیک دام و عوامل محیطی می‌تواند بر پاسخ دام به مکمل سلنیوم اثر بگذارد و گاها سبب تفاوت در نتایج شود. انجام پژوهش‌های بیشتر بر روی نژادهای بومی به‌ویژه گوسفند بلوچی می‌تواند به درک بهتر از اثرات سلنیوم بر جمعیت میکروبی شکمبه به‌خصوص پروتوزوا کمک شایانی نماید.

References

1- **Al-Saadi H, Mousaie A, Esmaeilipour O A, Ziaei N.** Effect of organic selenium supplement on growth performance, nutrient digestibility and some blood metabolites of Kermani fattening lambs. *J Res Rum*. 2017; 6(2): 17-30. [In Persian]

2- **Barceloux DG.** Selenium. *J Clin Toxicol.* 1999; 37: 145-172.

3- **Broderick GA. Kang JH.** Automated simultaneous determination of ammonia and total amino acids in ruminal fluid and in vitro media. *J Dairy Sci.* 1980; 63(1): 64-75.

4- **Dayrell MD, Ivan M, Hidiroglou M.** The effects of ruminal protozoa on selenium status in sheep. *Can.J.Anim.Sci*. 1991; 71: 1269–1270.

5- **Dehority B.** Laboratory Manual for Classification and Morphology of Rumen Ciliate Protozoa; CRC Press: *Boca Raton, FL*, USA, 1993.

6- **Dehghani S, Taghizadeh A, Mohammadzadeh H.** The effect of different forms of selenium on parameters of gas production, rumen fermentation and rumen protozoa population. *J anim sci res I*. 2018; 11(3): 307-317 [In Persian]

7- **Faixova Z, Faix S, Leng L, Vaczi P, Makova Z, Szaboova R.** Hematological, blood and rumen chemistry changes in lambs following supplementation with Se-yeast. *Acta Vet Bru*. 2007; 76: 3-8.

8- **Fujihara T, Imamura T, Orden EA.** Utilization of protozoal selenium in young Goats. *J Ani Feed Sci*. 2004; 13: 265-268.

9- **Getachew G, Makkar HPS, Becker K.** Tropical browses: content of phenolic compounds,

in vitro gas production and stoichiometric relationship between short chain fatty acids and *in vitro* gas production. *J Agri Sci*. 2002. 139: 341-352.

10- Ghorbani A, Noorian Sarwar M A, Moini MM. The effect of zinc and selenium organic supplements on feed consumption, digestibility and parameters of ruminal fermentation in sheep. *J Anim Scie*. 2016; 30(115): 17-36. [In Persian]

11- Gruby D, Delafond HMO. Recherches sur des animalcules se développant en grand nombre dans l'estomac et dans les intestins, pendant la digestion des animaux herbivores et carnivores. *Comptes Rendus Acad. Des Sci*. 1843; 17: 1304–1308.

12- Hidiroglou M, Jenkins KJ. Influence of defaunation on the utilization of selenomethionine in the sheep. *Ann Biol Anim Biochim Biophys*. 1974; 14: 157–165.

13- Hungate RE. *The Rumen and Its Microbes*; Academic Press: New York, NY, USA, 1966.

14- Juszczuk-Kubiak E, Bujko K, Cymer M, Wicińska K, Gabryszuk M, Pierzchała M. Effect of inorganic dietary selenium supplementation on selenoprotein and lipid metabolism gene expression patterns in liver and loin muscle of growing lambs. *Biol Trace Elem Res*. 2016; 172: 336–345.

15- Mihalikova K, Gresakova L, Boldizarova K, Faix S, Leng L, Kisidayova S. The effects of organic selenium supplementation on the rumen ciliate population in sheep. *Folia Microbiol*. 2005; 50: 353-356.

16- Naziroglu M, Aksakal M, Cay S, Celik S. Effects of vitamin E and selenium on some rumen parameters in lambs. *Acta Vet Hung*. 1997; 45: 447–456.

17- Naziroglu M, Aksakal M, Cay M, Celik S. Effects of vitamin E and selenium on rumen protozoa in lambs. *Tur J Vet Ani Sci*. 1997; 21: 81–90.

18- NRC. *Mineral Tolerance of Animals*. National Academies Press, Washington, DC. USA. 2005; 493 pp.

19- Ogimoto K, Imai S. *Atlas of Rumen Microbiology*. Japan Scientific Society Press, Tokyo. 1981.

20- Pernthaler J. Predation on prokaryotes in the water column and its ecological implications. *Nat Rev Microbiol*. 2005; 3: 537-46.

21- Ramirez BJE, J L. TortoraHernandez, and M. Huerta. Main causes of mortalities in dairy goat kids from the Mexican plateau. *S Rum Res*. 2001; 41: 77-80.

22- Shi L, Xun W, Yue W, Zhang C, Ren Y, Liu Q, *et al.* Effect of elemental nano-selenium on feed digestibility, rumen fermentation, and purine derivatives in sheep. *Ani Feed Sci Tec*. 2011; 163: 136–142.

23- Underwood EJ, Suttle NF. The mineral nutrition of livestock. CAB international, Wallingford, U.K. 1999.

24- Wang C, Liu Q, Yang WZ, Dong Q, Yang XM, He DC, *et al.* Effects of selenium yeast on rumen fermentation, lactation performance and feed digestibilities in lactating dairy cows. *Liv Sci.* 2009; 126: 239-244.

25- Williams AG, Coleman GS. The Rumen Protozoa; Brock/Springer Series in Contemporary Bioscience; Springer: New York, NY, USA, 1992.

26- Wilsdorf VG, Heinze W, Krengel B. Studies into the action of sulfamerazine, sulfur, selenium, and/or vitamin E on rumen infusoria of cattle. *Mh.Vet.Med.* 1984; 39: 700–703.

27- Wright PL, Bell MC. Comparative metabolism of selenium and tellurium in sheep and swine. *Am J phys.* 1966; 211: 6-10.

28- Xun **W, Shi L, Yue W, Zhang CH, Ren Y, Liu Q.** Effect of High-Dose Nano-selenium and Selenium-Yeast on Feed Digestibility, Rumen Fermentation, and Purine Derivatives in Sheep. *Biol Trace Elem Res.* 2012; 150: 130-136.

29- Alavi M, Rai M, Martinez F, Kahrizi D, Khan H, Rose Alencar de Menezes I, *et al.* The efficiency of metal, metal oxide, and metalloid nanoparticles against cancer cells and bacterial pathogens: different mechanisms of action. *Cell Mol Biomed Rep*. 2022; 2(1): 10-21.

New Findings in Veterinary Medicine
Homepage: nfvm.uoz.ac.ir
Semiannual - Print ISSN: 2645-4491 Online ISSN: 2676-5004

Volume 7, Issue 2, Autumn & Winter 2024, pages: 63-71

The effect of adding different levels of selenium-yeast supplement and selenium nanoparticles on the population of protozoa and rumen ammonia concentration of Baluchi fattening male lambs (native of Sistan)

Hossein Ansari Nik[1], Mohammad Reza Dehghani[2*], Mostafa Yousef-Elahi[2], Amir Mousaie[3], Ahmad Rashki[4], Arash Omidi[5]

1- Ph.D. student, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Zabol, Zabol, Iran.
2- Associate Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Zabol, Zabol, Iran.
3- Assistant Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Jiroft, Jiroft, Iran.
4- Associate Professor, Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Zabol, Zabol, Iran.
5- Professor, Department of Animal Health Management, Faculty of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz, Iran.

Receive: June 4, 2024; Revise: June 30, 2024; Accept: August 13, 2024

10.22034/nfvm.2024.460687.1245

Summary

This study was conducted to investigate the effect of dietary supplementation of selenium nanoparticles (SeNP) and selenium yeast (SY) on ruminal protozoan population and ammonia nitrogen of Baluchi male lambs. Thirty Baluchi lambs with an average initial body weight of 21.56±0.33 kg were used in a completely randomized design with 5 treatments and 6 repetitions for 70 days (14 days of adaptation and 56 days of data collection). The experimental groups were 1) control (without selenium supplement), 2), 3) and 4) were feeding with 0.4, 0.8 and 1.2 mg Se/kg of diet as SY respectively, and 5) feeding with 0.4 mg Se/kg of diet as SeNP. The results showed that the number of protozoa in the ruminal fluid of lambs receiving 0.8 and 1.2 mg of Se/kg of diet as SY and 0.4 mg of Se/kg of diet as SeNP was higher than that of the control group ($P<0.05$). In addition, both SY and SeNP sources significantly increased the number of *Ophryoscolex* species, while 0.4 mg of Se as SeNP resulted in a significant increase in *Dasytricha* species ($P<0.05$). Furthermore, dietary supplementation of 0.8 mg of Se as SY and 0.4 mg of Se as SeNP increased the number of *Diplodinium* species ($P<0.05$). However, the populations of *Entodinium* and *Isotricha* species were not affected by the experimental treatments. Feeding with 0.8 and 1.2 mg of Se as SY/kg of diet and 0.4 mg of Se as SeNP/kg of diet led to decreased ruminal ammonia nitrogen quantity ($P<0.05$). The results of this research indicated that dietary selenium supplementation as Nano selenium and selenium yeast, can increase the protozoa population and decrease the concentration of ammonia nitrogen in the ruminal fluid of Baluchi fattening lambs.

Keywords: *Fattening lamb, Protozoa count, Selenium, Yeast*