



تاثیر سطوح مختلف مکمل روی (اکسید روی، نانو اکسید روی و روی - متیونین) بر جمعیت پروتوزوایی و نیتروژن آمونیاکی شکمبه بره‌های نر نژاد بلوچی

مرضیه هاشم‌زایی^۱، قاسم جلیوند^{۲*}، کمال شجاعیان^۲، امیر موسایی^۲، مصطفی یوسف الهی^۲

۱- دانشجوی دکتری تخصصی، 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.

دریافت مقاله: ۲۸ مهر ۱۴۰۳، بازنگری: ۱۸ آبان ۱۴۰۳، پذیرش نهایی: ۱۹ آبان ۱۴۰۳



10.22034/nfvm.2024.486575.1262

چکیده

عنصر روی برای سلامت و تولید نشخوارکنندگان ضروری می‌باشد. این آزمایش به منظور بررسی اثر سطوح مختلف مکمل روی بر جمعیت جنس‌های مختلف پروتوزا و نیتروژن آمونیاکی شکمبه بر روی ۲۴ راس بره نر نژاد بلوچی (سن ۳-۴ ماه و میانگین وزن 20 ± 2 کیلوگرم) در قالب طرح کاملاً تصادفی (چهار تیمار و شش تکرار) به مدت ۷۰ روز (۱۰ روز عادت‌پذیری و ۶۰ روز آزمایش) انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل: (۱) جیره پایه بدون مکمل روی (۲) جیره پایه با ۱۰۰ میلی‌گرم روی به ازاء هر کیلوگرم ماده خشک خوراک به شکل اکسید روی، (۳) جیره پایه با ۲۵ میلی‌گرم روی به ازاء هر کیلوگرم ماده خشک خوراک به شکل نانو اکسید روی (۴) جیره پایه با ۵۰ میلی‌گرم روی به ازاء هر کیلوگرم ماده خشک خوراک به شکل روی-متیونین، بودند. در پایان دوره از مایع شکمبه برای اندازه‌گیری نیتروژن آمونیاکی و شمارش جمعیت پروتوزوا استفاده شد. نتایج این پژوهش نشان داد که تیمارهای آزمایشی به‌طور معنی‌داری بر جمعیت پروتوزای شکمبه اثر گذاشت ($P < 0.05$)، تعداد کل پروتوزوا و زیرگونه انتودینیوم و دیپلودینیوم در مایع شکمبه بره‌های تغذیه شده با جیره‌های حاوی مکمل‌های روی بیشتر از گروه شاهد بود. با وجود این، تعداد گونه‌های ایزوتریشا، افریواسکولکس، داسیتریشا و اپیدینیوم تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفتند. غلظت نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه به‌طور معنی‌داری ($P < 0.01$) تحت تأثیر افزودن مکمل‌های روی قرار گرفت و در همه تیمارها روند کاهشی داشت. به‌طور کلی می‌توان نتیجه‌گیری کرد که مکمل روی ممکن است سبب افزایش تعداد پروتوزوا و کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه بره‌های پرواری شود.

واژگان کلیدی: بره، پروتوزوا، مکمل روی، نیتروژن آمونیاکی

مقدمه

بهبود زیست توده میکروبی شکمبه نقش مهمی در عملکرد طبیعی و رشد و تولید در دام‌های نشخوارکننده دارد. این امر مستلزم تامین کامل مواد مغذی از جمله مواد معدنی در جیره است. عنصر روی یک ریزمغذی ضروری است که برای بهبود سلامت و تولید دام به‌ویژه برای افزایش ایمنی، متابولیسم میکروبی در شکمبه و سیستم آنتی‌اکسیدانی بدن مورد نیاز است (۳۰، ۴۴). پروتوزوآها می‌توانند تا پنجاه درصد وزنی میکروارگانیسم‌های شکمبه را به خود اختصاص داده و نقش مهمی در اسیدپتت شکمبه، هضم پروتئین‌های خوراک و تجزیه باکتری‌های شکمبه دارند (۱۴). این میکروارگانیسم‌ها همچنین بر بازدهی مصرف انرژی ناشی از تجزیه مواد در شکمبه تأثیر دارند (۳۳). جمعیت پروتوزوایی شکمبه تحت تأثیر عوامل گوناگونی مانند ترکیب شیمیایی جیره، نرخ عبور مواد هضمی از دستگاه گوارش، سطح مصرف خوراک، سن و pH شکمبه قرار دارد (۲۲، ۳۱). مواد معدنی کمیاب تأثیر زیادی بر متابولیسم، فیزیولوژی و تولید مثل حیوانات دارند و بیشتر خوراکی‌های خام و تجاری کمبود عناصر معدنی کمیاب دارند و عدم تعادل این ریزمغذی‌ها منجر به مشکلات زیادی مانند کاهش راندمان تولید مثلی دام می‌شود که در نتیجه ضرر اقتصادی به دنبال دارد (۲۵). برخی از این عناصر مانند روی، مس و آهن نقش مهمی در رشد و تولید مثل دام‌ها دارند و علائم بالینی ناشی از مسمومیت و یا کمبود آنها قابل مشاهده است (۳). عنصر روی دومین عنصر کمیاب در بدن است و از آنجایی که در بدن به میزان کافی ذخیره نمی‌شود، دریافت مداوم آن از طریق رژیم غذایی برای عملکرد فیزیولوژیکی مناسب بدن دام‌ها ضروری است (۴۵). مقدار این عنصر در خاک‌های سطحی ایران به‌طور معمول کمتر از ۰/۸ میلی‌گرم در کیلوگرم است و گیاهانی که در این خاک‌ها رشد می‌کنند و در خوراک دام مورد استفاده قرار می‌گیرند، مقادیر ناکافی از این عنصر را دارند که نیاز دام را تأمین نمی‌کند (۵). و

دام‌های مصرف‌کننده با کاهش اشتها و رشد و کاهش دریافت سایر مواد مغذی مواجه می‌شوند (۴۰). استفاده از عنصر روی در جیره نشخوارکنندگان، با تغییر جمعیت میکروبی شکمبه، بر هضم مواد خوراکی در شکمبه اثر می‌گذارد (۳۶). سطوح مختلف روی اثرات متفاوتی بر جمعیت میکروبی شکمبه و فرآیند تخمیر، فعالیت آنزیم‌های میکروبی، میزان تجزیه سلولز و در نتیجه تولید اسیدهای چرب فرار دارد (۱۵، ۳۵). علاوه بر این، مکمل روی به شکل نانوذرات روی می‌تواند از طریق بهبود راندمان تولید مثلی حیوانات، خواص تعدیل‌کننده ایمنی و افزایش تولید زیست توده میکروبی، رویکرد مؤثری برای حفظ تولید و سلامت بالای نشخوارکنندگان داشته باشد و می‌تواند به کاهش انتشار متان در دام نیز کمک کند (۱). به‌طور معمول منابع اصلی روی در میان مکمل‌های روی برای تغذیه حیوانات، نمک‌های معدنی آن مانند سولفات روی ($ZnSO_4$)، اکسید روی (ZnO)، کلرید روی ($ZnCl_2$) می‌باشند. پژوهش‌ها نشان داده است که مکمل‌های روی کیلاته با پروتئین‌ها و اسیدهای آمینه، که به‌عنوان منابع آلی شناخته شده‌اند، دارای ماندگاری بالاتر (۲۶)، فراهمی زیستی بیشتر و غلظت بافتی (۱۱) بیشتری نسبت به سایر منابع معدنی هستند. اکسید روی (ZnO) را می‌توان به‌عنوان یک مکمل حاوی ماده مغذی روی در جیره استفاده کرد زیرا این عنصر کمیاب برای عملکردهای سلولی متنوعی مانند فرآیند آنزیمی، ایمنی سلولی، فاکتور رونویسی، رشد سلولی و توسعه اندام‌ها ضروری است (۲۹). برخی از محققان فراهمی زیستی بیشتری را برای منابع آلی روی گزارش کرده‌اند، که عرضه روی بافتی را افزایش می‌دهند و در نتیجه بهره‌وری و تولید در حیوان را بهبود می‌بخشد (۱۹). دریافت روی از منابع آلی باعث افزایش قابلیت هضم و جذب مواد مغذی در بره‌ها در مقایسه با مکمل‌های معدنی روی می‌شود (۴، ۱۹، ۴۲) استفاده بیش از حد از روی معدنی اثرات مضر، مانند قابلیت هضم کم و آلودگی محیط زیست از طریق مدفوع دارد (۲۸)، در حالی که روی متیونین ($Zn-Met$) که

بخش‌های صنعتی بزرگی مانند داروسازی، کشاورزی و صنایع غذایی را متحول کرده است (۳۱). نسبت به اکسید روی، نانو اکسید روی دارای فعالیت شیمیایی بیشتری می‌باشد. علاوه بر این، به دلیل نفوذپذیری بالا نانوذرات می‌توانند سبب کمک به اجتناب از واکنش‌های نامطلوب شده و بهتر جذب شوند (۲۹).

اطلاعات کافی در رابطه با تأثیر سطوح مختلف مکمل‌های روی به‌خصوص نوع آلی (روی متیونین) و نانو روی بر جمعیت پروتوزوآی شکمبه بره‌های نر پرواری نژاد بلوچی وجود ندارد. همچنین با توجه به گزارش‌های دامپزشکی محلی از کمبود روی در گوسفند و بز و با در نظر گرفتن مقادیر حساس تغذیه روی در بره‌ها، این پژوهش با هدف مقایسه اثرات شکل‌های معدنی (اکسید روی)، نانو (نانو اکسید روی) و آلی (روی - متیونین) عنصر کم‌مصرف روی بر جمعیت پروتوزوآ و غلظت نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه بره‌های در حال رشد نژاد بلوچی انجام شد.

مواد و روش‌ها

دام‌ها و محل آزمایش: این پژوهش در ایستگاه تحقیقاتی مزرعه سد سیستان دانشگاه زابل در تابستان ۱۴۰۲ انجام شد. بدین منظور از تعداد ۲۴ رأس بره نر نژاد بلوچی با سن ۴ - ۳ ماه (متوسط وزن $20 \pm$ کیلوگرم) با چهار تیمار و شش تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی به مدت ۷۰ روز (۱۰ روز سازگاری و ۶۰ روز آزمایش) استفاده شد. جایگاه در ابتدای آزمایش تمیز و سپس با شعله افکن ضد عفونی شد. در ابتدای ورود بره‌ها به ایستگاه تحقیقاتی، عمل شستشو، پشم‌چینی و خوراندن قرص ضد انگل به بره‌ها انجام شد. بره‌ها با شروع دوره اصلی توزین شدند تا وزن اولیه آنها به دست آید. سپس به‌طور تصادفی به چهار گروه (هر تیمار شامل شش بره) تقسیم شدند. تیمارها شامل: (۱) جیره پایه بدون مکمل روی (شاهد)، (۲) جیره پایه با ۱۰۰ میلی‌گرم مکمل روی به ازاء هر کیلوگرم ماده خشک خوراک به شکل اکسید

نوعی کیلات با ساختار حلقه‌ای منحصر به فرد است و در شرایط واکنش خاص (۱۰، ۴۱) تولید شده است، دارای زیست‌فراهمی بالاتری می‌باشد. علاوه بر این، پژوهش‌های انجام شده، اهمیت حیاتی متیونین را در تغییرات وزن بدن، کاهش سطح چربی کبدی و تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)، افزایش مقاومت به تنش اکسیداتیو و پیشگیری از بیماری‌های مرتبط با افزایش سن را تأیید می‌کنند (۲۰، ۲۷).

تکنولوژی نانو، دستکاری در طرز قرار گرفتن اتم‌ها و به‌وجود آوردن ترکیب جدید با خصوصیات جدید است (۱۷). ایده‌ی اصلی در این رویکردها (تبدیل مواد به نانوذرات) القای تغییرات در ماهیت شیمیایی و فیزیکی ماده اصلی است. این ذرات نانوی معدنی پتانسیل بالاتری نسبت به منابع معمولی خود دارند و بنابراین مقدار مورد نیاز را کاهش می‌دهند (۳۸). نانوذرات با جذب بیشتر از طریق دستگاه گوارش به جریان خون و سپس به بسیاری از اندام‌های بدن مانند مغز، کبد، کلیه، قلب، معده، روده و طحال منتقل و زیست‌فراهمی مواد مغذی مصرف شده را چند برابر می‌کند (۱۲، ۲۱). از نانوذرات می‌توان به‌عنوان محرک رشد جایگزین آنتی‌بیوتیک‌ها استفاده کرد که استفاده از این نانوذرات باعث حذف باقیمانده‌های آنتی‌بیوتیک در محصولات نهایی، کاهش آلودگی محیط زیست و تولید محصولات حیوانی بدون آلودگی می‌شود (۲). سطوح بالای روی دفع شده از حیوانات، نگرانی‌هایی را در رابطه با آلودگی محیطی ایجاد کرده است (۱۶). بنابراین، این مشکل دربرچه‌ای را برای منابع روی با زیست‌فراهمی بهتر و در دوزهای مصرفی کمتر به غذای حیوانی باز می‌کند. در میان تمام رویکردهای احتمالی، استفاده از فناوری نانو برای تولید روی در اندازه نانو به نام نانو روی (nZn) یک جایگزین بالقوه برای منابع روی آلی و معدنی است. استفاده از نانو اکسید روی نشان داده است که نتایج بهتری را در مقایسه با منابع روی معمولی ایجاد می‌کند و همچنین سمیت کمتری دارد (۳۴، ۴۳). نانوذرات اکسید روی یکی از مواد ارزان قیمت هستند. این نانوذرات

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 اسیدکلریدریک 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 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 به‌مدت پنج دقیقه قرار داده شد و پس از خنک شدن، جذب در طول موج ۶۳۰ نانومتر به‌وسیله اسپکتروفتومتر (HALO, model XB10) قرائت شد و در پایان با استفاده از خط استاندارد، مقدار نیتروژن آمونیاکی برحسب میلی‌مول اندازه‌گیری شد.

شمارش پروتوزوا: شناسایی و تعیین گونه‌های مختلف پروتوزوا و تعداد کل پروتوزوا بر اساس روش Dehority در سال ۲۰۰۳ (۱۳) انجام شد. بدین منظور، یک نمونه ۵ میلی‌لیتری از شیرابه شکمبه با ۵ میلی‌لیتر محلول فرمالین ۵۰ درصد به آرامی مخلوط گردید و در یخچال در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد تا روز شمارش نگهداری شد. برای شمارش از میکروسکوپ نوری و لام هموسیتومتر (Neubauer improved, Marienfeld, Germany) استفاده شد. از هر نمونه یک قطره روی لام ریخته و پس از قرار دادن لام شمارش انجام شد. تعداد پروتوزوا در ۹ مربع بزرگ شمارش گردید. بالاترین فراوانی دیده شده در نظر گرفته شد و محاسبات مربوطه انجام شد.

تجزیه و تحلیل آماری: تجزیه و تحلیل آماری داده‌های به‌دست آمده از اندازه‌گیری غلظت نیتروژن آمونیاکی شکمبه و جمعیت زیر خانواده‌های پروتوزوا در

روی، ۳) جیره پایه با ۲۵ میلی‌گرم مکمل روی به ازاء هر کیلوگرم ماده خشک خوراک به شکل نانو اکسید روی و ۴) جیره پایه با ۵۰ میلی‌گرم مکمل روی به ازاء هر کیلوگرم ماده خشک خوراک به شکل روی-متیونین، بودند.

مکمل روی نانو از شرکت دانش‌بنیان نانو مواد گستران پارس (تهران، ایران) تهیه شد. جیره‌های آزمایشی با استفاده از نرم‌افزار سیستم تغذیه نشخوارکنندگان کوچک (SRNS* نسخه ۱/۹/۵۱۰۵) فرموله و موازنه شدند. جیره پایه به‌صورت جیره کاملاً مخلوط (TMR[‡]) در اختیار بره‌ها قرار گرفت (جدول ۱).

اندازه‌گیری نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه:

به‌منظور بررسی اثر جیره‌های آزمایشی بر فراسنجه‌های تخمیری شکمبه، در آخر دوره آزمایشی، نمونه مایع شکمبه توسط لوله مری از بره‌ها گرفته شد. مایع شکمبه به‌دست آمده توسط پارچه توری صاف گردید و به ازای هر حیوان یک نمونه ۱۰ میلی‌لیتری برداشته شده و به هر یک از آنها ۰/۲ میلی‌لیتر اسید سولفوریک ۵۰ درصد شرکت Merck برای تعیین نیتروژن آمونیاکی اضافه شد. نمونه‌ها تا زمان انجام آزمایش در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد منجمد شدند. برای اندازه‌گیری نیتروژن آمونیاکی از روش فتل هیپوکلریت استفاده شد (۹). پس از یخ‌گشایی کامل نمونه‌ها با سرعت ۱۵۰۰ دور در دقیقه به‌مدت ده دقیقه سانتریفیوژ شدند. 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

* Small ruminant's nutrition system

‡ Total mixed ration

تأثیر سطوح مختلف مکمل روی (اکسید روی، نانو اکسید روی و روی - متیونین) بر جمعیت پروتوزوآ...

در این رابطه $Y_{ij} = \text{مقدار تیمار } i \text{ ام در تکرار } j \text{ ام}$ ، μ = اثر میانگین، $T_i = \text{اثر تیمار } i \text{ ام}$ ، e_{ij} = اثر خطای آزمایش مربوط به تیمار i ام در تکرار j ام می‌باشند.

قالب طرح کاملاً تصادفی با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۱ و رویه GLM انجام شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون توکی در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

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

جدول ۱- مواد خوراکی و ترکیب مواد مغذی جیره پایه

مقدار (درصد)	ماده خوراکی
۴	کاه گندم
۲۶	علوفه یونجه
۵۳	دانه جو
۱۰	کنجاله سویا
۵	سیوس گندم
۰/۵	بی کرینات سدیم
۱	مکمل مواد معدنی- ویتامینی ۱
۰/۵	کرینات کلسیم
مقدار	مواد مغذی جیره
۲/۴	انرژی قابل سوخت و ساز (مگا کالری در کیلوگرم)
۱۵/۵	پروتئین خام (درصد)
۸	خاکستر (درصد)
۹۲	ماده آلی (درصد)
۳۵	الیاف نامحلول در شوینده خنثی (درصد)
۳۹	روی (میلی‌گرم در کیلوگرم خوراک)

مکمل معدنی- ویتامینی شامل: ویتامین A (۲۰۰۰۰ IU/kg)، ویتامین D₃ (۱۰۰۰۰ IU/kg)، ویتامین E (۱۵۰ IU/kg)، کلسیم (۱۴۲۳۵۳ mg/kg)، فسفر (۳۰۰۰ mg/kg)، منیزیم (۱۲۰۰ mg/kg)، سدیم (۱۰۰۰ mg/kg)، منگنز (۲۰۰ mg/kg)، سلنیوم (۱۰ mg/kg)، ید (۱۰۰ mg/kg)، آهن (۳۰۰ mg/kg)، کبالت (۱۰ mg/kg)، گوگرد (۲۰۰ mg/kg)، آنتی‌اکسیدان (۱۰۰ mg/kg). انرژی متابولیسمی (مگا کالری در کیلوگرم جیره) توسط نرم‌افزار جیره نویسی نشخوارکنندگان کوچک (SRNS) محاسبه شده است.

نتایج

($P < 0/05$). شمار پروتوزوای دیپلودینیوم نیز تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت ($P < 0/01$). اگرچه به لحاظ عددی تعداد دیپلودینیوم در مایع شکمبه بره‌های دریافت کننده مکمل‌های مختلف روی بیشتر از گروه شاهد بود، اما تنها تفاوت گروه روی- متیونین با شاهد معنی‌دار بود. با وجود این، تعداد گونه‌های ایزوتریشا، افریواسکولکس، داسیتریشا و اپیدینیوم تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفتند. مکمل کردن جیره با روی باعث کاهش میزان نیتروژن آمونیاکی شکمبه در همه تیمارها شد و اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای روی با شاهد مشاهده شد ($P < 0/01$). بیشترین کاهش نیتروژن آمونیاکی در تیمار روی متیونین به میزان ۵۰ میلی‌گرم، مشاهده شد.

نتایج مربوط به تأثیر مقادیر مختلف مکمل روی بر جمعیت پروتوزوآ و غلظت نیتروژن آمونیاکی شکمبه در جدول ۲ ارائه شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود افزودن مکمل‌های روی به جیره پایه باعث افزایش تعداد پروتوزوآی کل در مایع شکمبه بره‌ها شد به طوری که اختلاف معنی‌داری بین تعداد پروتوزوای کل مایع شکمبه این بره‌ها در مقایسه با گروه شاهد وجود داشت ($P < 0/05$). همچنین مصرف مکمل‌های روی باعث افزایش تعداد انتودینیوم شد به نحوی که تعداد این زیرگونه در مایع شکمبه بره‌های تغذیه شده با جیره‌های حاوی مکمل‌های مختلف روی بیشتر از گروه شاهد بود

جدول ۲- تأثیر اشکال مختلف مکمل روی بر جمعیت پروتوزوا ($10^6 \times$ در هر میلی‌لیتر) و نیتروژن آمونیاکی شکمبه‌ای

P-value	SEM	جیره‌های آزمایشی			شاهد	نوع پروتوزوا
		رومی- متیونین (۵۰ میلی‌گرم)	نانواکسیدروی (۲۵ میلی‌گرم)	اکسیدروی (۱۰۰ میلی‌گرم)		
۰/۱۰۶	۰/۳۲۵	۰/۷۰	۰/۷۲	۰/۶۵	۰/۶۸	ایزوتریشا Isotricha spp
۰/۲۱۴	۰/۲۷۲	۰/۷۲	۰/۷۱	۰/۷۳	۰/۷۱	افریواسکولکس Ophryoscolex spp
۰/۰۲۴	۰/۴۸۱	۵/۲۵ ^a	۵/۳۳ ^a	۵/۱۸ ^a	۳/۰۸ ^b	انتودینیوم Entodinium spp
۰/۸۸۶	۰/۵۸۷	۰/۱۶	۰/۱۸	۰/۲۱	۰/۲۸	داسی تریشا Dasytricha spp
۰/۶۲۷	۰/۴۶۳	۱/۲۸	۱/۳۸	۱/۲۴	۱/۳۷	اپی‌دینیوم Epidinium spp
۰/۰۰۱	۰/۲۸۱	۰/۶۷ ^a	۰/۵۳ ^{ab}	۰/۵۶ ^{ab}	۰/۴۱ ^b	دیپلودینیوم Diplodinium spp
۰/۰۲۳	۱/۵۶	۸/۷۸ ^a	۸/۸۵ ^a	۸/۵۷ ^a	۶/۵۳ ^b	پروتوزوای کل Total protozoa
۰/۰۰۷	۰/۲۴۵	۸/۸۵ ^c	۸/۹۱ ^c	۹/۵۴ ^b	۱۰/۵۱ ^a	نیتروژن آمونیاکی (mg/dL)

a-b-c حروف غیر مشابه در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار است ($P < 0.05$). SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها، P-value: سطح معنی‌داری

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که سطوح مختلف مکمل روی باعث افزایش کل پروتوزوا در مایع شکمبه بره‌های پرواری شد. بررسی‌های پژوهشگران نشان می‌دهد که گونه‌های مختلف پروتوزوایی نیازهای متفاوتی به مواد مغذی برای رشد دارند و پاسخ گونه‌های مختلف به سوبستراهای مختلف یکسان نیست. همچنین جمعیت پروتوزوا تحت تأثیر مقدار روی مصرفی قرار می‌گیرد و مقادیر مناسب آن اثرات مثبتی بر تعداد آنها دارد در حالی که غلظت‌های بالای روی برای این میکروارگانیسم‌ها مضر است (۱۳). بنابراین افزودن مکمل روی در تحقیق حاضر به جیره پایه موجب بهبود شرایط رشد زیر خانواده‌های انتودینیوم و دیپلودینیوم در مقایسه با سایر گونه‌ها (اپی‌دینیوم، داسی تریشا، افریواسکولکس و ایزوتریشا) شده است. با وجود این، نتایج پژوهش‌های انجام شده گاهی متفاوت بوده است که دلیل آن تنوع در شکل و مقدار مکمل روی مصرفی و دام مورد آزمایش و جیره آن بوده است. در مطالعه‌ای که Froetschel و همکاران در سال ۱۹۹۰ (۱۸) انجام دادند مشاهده کردند که استفاده از مکمل روی به میزان ۱۱۴۲ میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک جیره به شکل سولفات روی در جیره گاوهای نر

پرواری، تعداد پروتوزوای شکمبه تحت تأثیر مصرف روی قرار گرفتند. در آزمایشی استفاده از ۴۰ میلی‌گرم از مکمل روی به شکل روی آلی (روی متیونین) یا روی معدنی (سولفات روی) در دو روش برون‌تنی و درون‌تنی در گوسفندان سنجابی مقدار کل جمعیت پروتوزوایی شکمبه را کاهش داده است (۲۴). در رابطه با تأثیر مکمل روی بر جمعیت پروتوزوایی شکمبه گوسفند بلوچی اطلاعات کافی وجود ندارد و نیازمند انجام پژوهش‌های بیشتر است. در پژوهش حاضر، تأثیر مکمل روی بر غلظت نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه نیز بررسی شد که یافته‌ها حاکی از کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی در پاسخ به تغذیه با جیره‌های حاوی شکل‌های مختلف مکمل روی بود. افزودن مکمل روی به جیره، با ممانعت از تجزیه شدن پروتئین در شکمبه، از تجمع آمونیاک در شکمبه جلوگیری می‌کند (۲۳). در پژوهشی، سطوح صفر، ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ میلی‌گرم روی به هر کیلوگرم جیره‌ای بر پایه کاه برنج اضافه شد و مشاهده شد که pH و غلظت آمونیاک شکمبه تحت تأثیر مصرف روی قرار نگرفت. در حالی که همسو با نتایج پژوهش حاضر، استفاده از سطوح بالای مکمل روی باعث کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه از طریق کاهش تجزیه اوره شد (۶). عوامل

متابولیت‌های شکمبه (نیتروژن آمونیاکی و اسیدهای چرب فرار) به‌طور قابل توجهی تحت تأثیر مکمل روی قرار گرفتند. نتایج حاضر نشان می‌دهد که گنجاندن منابع روی در رژیم غذایی می‌تواند فرآیند تخمیر شکمبه را تغییر دهد و بر جمعیت میکروارگانیزم‌ها و متابولیسم آنها به‌ویژه بهبود متابولیسم نیتروژن اثر بگذارد که با گزارش محققین (۳۲) مطابقت دارد. در برخی تحقیقات در گاوهای شیری نیز افزودن سطوح مختلف روی - متیونین به جیره باعث کاهش نیتروژن آمونیاکی شکمبه شده است (۳۶، ۳۷). با وجود این، برای درک بهتر اثرات مکمل‌های مختلف روی و مقدار مؤثر آنها بر تخمیر میکروبی در شکمبه گوسفندان بلوچی، نیاز به انجام پژوهش‌های بیشتر است.

گوناگونی مانند نوع منبع روی، غلظت روی در جیره، ترکیب شیمیایی جیره، شکل تغذیه، وجود سایر مواد معدنی، نوع میکروارگانیزم‌های شکمبه و سایر عوامل در تأثیر روی بر تخمیر و جمعیت میکروارگانیزم‌های شکمبه اثرگذار است (۶، ۷). غلظت نیتروژن آمونیاکی شکمبه همه بره‌ها بیش از حداقل غلظت (۵ میلی‌گرم در دسی‌لیتر مایع شکمبه) مورد نیاز برای رشد مناسب باکتری‌های شکمبه بود (۴۴). کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی شکمبه با مکمل نانو روی و روی متیونین ممکن است از طریق افزایش استفاده از نیتروژن آمونیاکی برای تولید پروتئین میکروبی و افزایش راندمان استفاده از اسیدهای آمینه برای ساخت پروتئین میکروبی ایجاد شده باشد (۱۵). همسو با نتایج به‌دست آمده در این پژوهش، در آزمایش Atia و همکاران در سال ۲۰۱۸ (۸) pH و

References

- 1- Abdelnour SA, Alagawany M, Hashe NM, Farag MR, Alghamdi ES, Hassan FU, *et al.* Nanominerals: fabrication methods, benefits and hazards, and their applications in ruminants with special reference to selenium and zinc nanoparticles. *Anim.* 2021; 11: 1916.
- 2- Al-Beitawi NA, Shaker MM, El-Shuraydeh KN, Bláha J. Effect of nanoclay minerals on growth performance, internal organs and blood biochemistry of broiler chickens compared to vaccines and antibiotics. *J Appl Animal Res.* 2017; 45: 543-549.
- 3- Aliarabi H. Technology refinement for the preparation of chelated zinc and effect of its supplementation on growth and vitamin A utilization in cross bred calves. Thesis submitted to the national dairy research institute. *Karnal.* 2005; 132001.
- 4- Alimohamady R, Aliarabi H, Bruckmaier RM, Christensen RG. Effect of different sources of supplemental zinc on performance, nutrient digestibility, and antioxidant enzyme activities in lambs. *Bio Trace Elem Res.* 2019; 189: 75-84.
- 5- Alloway BJ. Zinc in soils and crop nutrition. IZA Publications, International Zinc Association, Brussels. 2004; 1-116.
- 6- Arelovich HM, Owens FN, Horn GW, Vizcarra JA. Effects of supplemental zinc and manganese on ruminal fermentation, forage intake, and digestion by cattle fed prairie hay and urea. *Anim Sci J.* 2000; 78: 2972-2979.
- 7- Arelovich HM, Amela MI, Martinez MF, Torrea MB, Laborde HE. Diferentes fuentes de zinc en el suplemento proteico de ovinos alimentados con un forraje de baja calidad. 2. Parámetros ruminales. *Rev Argent Prod Anim.* 2003; 23(1): 88-95.
- 8- Atia SE, El-Hais AE, Gabr SA, Yacout MH, Hassan AA, Khalel MS. Influence of supplemental sheep Ration with zinc source (inorganic vs. organic) on their digestibility and ruminal fermentation. *Egypt J Nutr Feed.* 2018; 21(3): 625-633.
- 9- Broderick GA, Kang JH. Automated simultaneous determination of ammonia and total amino acids in ruminal fluid and in vitro media. *Dairy Sci J.* 1980; 63: 64-75.
- 10- Burrell AL, Dozier WA, Davis AJ, Compton MM, Freeman ME, Vendrell PF, *et al.* Responses of broilers to dietary zinc concentrations and sources in relation to environmental implications. *Br Poult Sci.* 2004; 45: 255-263.
- 11- Cao J, Henry P, Guo R, Holwerda R, Toth J, Littell R, *et al.* Chemical characteristics

and relative bioavailability of supplemental organic zinc sources for poultry and ruminants. *Anim Sci J.* 2000; 78(8): 2039-2054.

12- **Champion JA, Katare YK, Mitragotri S.** Making polymeric micro and nanoparticles of complex shapes. *Proc. Natl. Acad. Sciences USA.* 2007; 104, 11901-11904.

13- **Dehority BA.** Rumen Microbiology. Nottingham University Press, Nottingham.UK. 2003.

14- **Dehority BA.** Effect of pH on viability of *Entodinium caudatum*, *Entodinium exiguum*, *Epidinium caudatum* and *Ophryoscolex purkynjei* in vitro. *J Eukaryot Microbiol.* 2005; 52: 339-342.

15- **Eryavuz A, Dehority BA.** Effects of supplemental zinc concentration on cellulose digestion and cellulolytic and total bacterial numbers in vitro. *Anim Feed Sci Technol.* 2009; 151: 175-183.

16- **Feng M, Wang ZS, Zhou AG, Ai DW.** The effects of different sizes of nanometer zinc oxide on the proliferation and cell integrity of mice duodenum-epithelial cells in primary culture. *Pak J Nutr.* 2009; 8: 1164-1166.

17- **Frederickson CJ, Suh SW, Silva D, Thompson RB.** Importance of zinc in the central nervous system: the zinc-containing neuron. *Nutr J.* 2000; 130(5): 1471-1483.

18- **Froetschel MA, Martin AC, Amos HE, Evans JJ.** Effects of zinc sulfate concentration and feeding frequency on ruminal protozoal numbers, fermentation patterns and amino acid passage in steers. *Anim Sci J.* 1990; 68(9): 2874-2884.

19- **Garg AK, Mudgal V, Dass RS.** Effect of organic zinc supplementation on growth, nutrient utilization and mineral profile in lambs. *Anim Feed Sci Technol.* 2008; 144: 82-96.

20- **Guerra BA, Brando BB, Pinto SS, Salgueiro WG, De-Souza EA, Reis FC, et al.** Dietary sulfur amino acid restriction upregulates DICER to confer beneficial effects. *Mol Metab.* 2019; 29: 124-135.

21- **Iravani S, Korbekandi H, Mirmohammadi SV, Zolfaghari, B.** Synthesis of silver nanoparticles: Chemical, physical and biological methods. *Res Pharm Sci.* 2014; 9: 385-406.

22- **Ivan MPS, Mir KM, Koenig LM, Rode L, Neill T, Entz and Mir, Z.** Effects of dietary sunflower seed oil on rumen protozoa population and tissue concentration of conjugated linoleic acid in sheep. *Small Rumin Res.* 2001; 41: 215-227.

23- **Kathirvelan C, Balakrishnan V.** Effect of zinc supplemental on urea hydrolysis in an in vitro fermentation using rumen liquor. *Mal J Nutr.* 2006;

12: 93-99.

24- **Kazemi, S.** Studying the effect of organic and mineral sources of zinc on the nutritional value of carcass and economic traits of Sanjabi sheep. Professional PhD thesis. Faculty of Veterinary Medicine, Razi University.

25- **Kumar S, Pandey AK, Abdel_Razzaque WA, Dwivdi DK.** Importance of micro minerals in reproductive performance of livestock. *Vet World.* 2011; 4(5): 230-233.

26- **Lardy GP, Kerley MS, Paterson JA.** Retention of chelated metal proteinates by lambs. *Anim Sci J.* 1992; 70: 314.

27- **Li H, Cai L, Liang M, Wang Z.** Methionine augments endogenous antioxidant capacity of rice protein through stimulating MSR antioxidant system and activating Nrf2 -ARE pathway in growing and adult rats. *Eur Food Res Technol.* 2020; 246: 1051-1063.

28- **Lin PH, Sermersheim M, Li H, Lee PHU, Steinberg SM, Ma J.** Zinc in wound healing modulation. *Nutr.* 2017; 10: 1-20.

29- **Lucas J.** Microarrays: Molecular allergology and nanotechnology for personalised medicine (II). *Allergol immunopathol.* 2010; 38(4): 217-223.

30- **McDonald RS.** The role of zinc in growth and cell proliferation. *J Nutr.* 2000; 130: 1500-1508.

31- **Mir SH, Mani V, Pal RP, Malik TA, Sharma H.** Zinc in ruminants: metabolism and homeostasis. Proceedings of the National Academy of Sciences of India Section. *Biol Sci.* 2018; 1(1): 1-11.

32- **Mirzaei H, Darroudi M.** Zinc Oxide Nanoparticles: Biological Synthesis and Biomedical Applications. *Ceramics Inter.* 2017; 43: 907-914.

33- **Oldrick BS, Firkins JL.** Effects of degree of fat saturation on fiber digestion and microbial protein synthesis when diets are fed twelve times daily. *Anim Sci J.* 2000; 78: 2412-2420.

34- **Russel JB.** Rumen microbiology and its role in ruminant nutrition. 1st ed. Ithaca, NY. 2002.

35- **Sahoo A, Swain RK, Mishra SK, Jena B.** Serum biochemical indices of broiler birds fed on inorganic, organic and nano zinc supplemented diets. *Int J Sci Res.* 2014; 5(11): 2078-2081.

36- **Salem AZM, Ammar H, Lopez S, Gohar YM, González JS.** Sensitivity of ruminal bacteria isolates of sheep, cattle and buffalo to some heavy metals. *Anim Feed Sci Technol.* 2011; 163:143-149.

37- **Shakweer IME, EL-Mekass AAM, EL-**

Nahas HM. Effect of different levels of supplemented organic zinc source on performance of Friesian dairy cows. *J Agric Sci.* 2005; 30(6): 3025-3035.

38- Shakweer IME, EL-Mekass AAM, EL-Nahas HM. Effect of supplemental zinc methionine concentrations on digestibility, feed efficiency and some ruminal and blood parameters and performance of Friesian calves. *J Agric Sci.* 2006; 31(8): 4935-4935.

39- Sri Sindhura K, Selvam PP, Prasad TNV, Hussain OM. Synthesis, characterization and evaluation of effect of phytogenic zinc nanoparticles on soil exo-enzymes. *Appl Nano sci.* 2014; 4: 819-827.

40- Suttle NF. Mineral nutrition of livestock, 4th Edition. Honorary Research Fellow Moredun Foundation Pentland Science Park Bush Loan Penicuik Midlothian EH26 0PZ, UK, CAB International. 2010.

41- Torres CA. Influence of maternal flock

age, maternal trace mineral nutrition. Thesis of University of Alberta, Edmonton, *Alberta, Canada.* 2013.

42- VanValin KR, Genter-Schroeder ON, Carmichael RN, Blank CP, Deters EL, Hartman SJ, et al. Influence of dietary zinc concentration and supplemental zinc source on nutrient digestibility, zinc absorption, and retention in sheep. *Anim Sci J.* 2018; 96(12): 5336-5344.

43- Wang ZL, Song J. Piezoelectric nanogenerators based on zinc oxide nanowire arrays. *Sci.* 2006; 312(5771): 242-246.

44- Wu G. Principles of Animal Nutrition. 1th ed., Taylor and Francis Group, LLC. Boca Raton, FL, USA. 2018.

45- Zalewski PD, Ai QT, Dion G, Lata J, Chiara M, Richard ER. Zinc metabolism in airway epithelium and airway inflammation: basic mechanisms and clinical targets: A review. *Pharmacol Ther.* 2005; 105: 127-49.



The effect of different levels of zinc supplementation (zinc oxide, nanozinc oxide, and zinc-methionine) on the ruminal protozoan population and ammonia nitrogen of Baluchi male lambs


Marzieh Hashemzaei¹, Ghasem Jalilvand^{*2}, kamal Shojaeian³, Amir Moosaei⁴, Mostafa Yousef Elahi⁵

1- Ph.D. Student, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Zabol University, Zabol, Iran.

2- Associate Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Zabol University, Zabol, Iran.

3- Assistant professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Jiroft University, Jiroft, Iran.

Receive: October 19, 2024; Revise: November 8, 2024; Accept: November 9, 2024

 10.22034/nfvm.2024.486575.1262

Summary

The zinc (Zn) element is essential for the health and production of ruminants. This experiment was conducted to investigate the effect of different levels of zinc supplementation on the population of different species of protozoa and rumen ammonia nitrogen (NH₃-N) in 24 Baluchi male lambs (age of 3-4 months and average body weight of 20±2 kg) as a completely randomized design (four treatments and six replications each) for 70 days (10 days of adaptation and 60 days of data collection). The experimental treatments were 1) basal diet without Zn supplement (control), 2) basal diet supplemented with 100 mg of Zn/kg of feed's dry matter as zinc oxide (ZnO), 3) basal diet supplemented with 25 mg of Zn/kg of dry matter as nano ZnO, and 4) basal diet supplemented with 50 mg of Zn/ kg of feed as zinc-methionine (ZnMet). At the end of the experiment, the ruminal fluid was used to measure the NH₃-N and protozoan count. The results of this study indicated that the experimental treatments had a significant affected on the rumen protozoa population (P<0.05), the total number of protozoa and subspecies of *Entodinium* and *Diplodinium* count in the ruminal fluid of lambs fed diets containing zinc supplements was greater than that of the control group. However, the population of *Isotricha*, *ophryoscolex*, *Dacytricha* and *Epidinium* species were not affected by the experimental treatments. The NH₃-N concentration of the ruminal fluid was significantly (P<0.01) affected by the dietary Zn supplementation and had a decreasing trend in all treatments. It can be concluded that Zn supplementation may increase the number of protozoa and decrease ammonia nitrogen concentration in the ruminal fluid of fattening lambs.

Keywords: Ammonia nitrogen, Lamb, Protozoa, Zinc supplement