نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد ۵، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۲، ص. ۲۳۳-۲۲۵

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 5, No. 3, Fall 2013, p. 225-233

مقایسه جمعیت و مورفولوژی پروتوزوآی شکمبه گاو هلشتاین و گاومیش خوزستان تحت شرایط تغذیه‌ای مشابه

صفورا جباری[۱] - مرتضی چاجی[۲×]- موسی اسلامی[۳]- طاهره محمدآبادی[۴]- محمد بوجارپور[۵]

تاریخ دریافت:۱۳۹۱/۱۱/۲۹
تاریخ پذیرش:۱۳۹۲/۸/۲۵

چکیده

هدف از انجام این آزمایش مقایسه جمعیت و ریخت شناسی پروتوزوآی موجود در شکمبه جوانه هلشتاین و گاومیش خوزستان تغذیه شده با جیره یکسان بود. مایع شکمبه از گاو و گاومیش هایی (۱۲ راس) که با جیره مشابه با نسبت تقریبی ۳۰ به ۷۰ کنسانتره به علوفه تغذیه شده بودند، گرفته شد. نمونه های گرفته شده توسط فرمالدئید ۱۸/۵ درصد ثابت شدند، و کل مژکداران شمرده شده و جنس و گونه آنها تعیین شد. نتایج آزمایش نشان داد که تراکم کل پروتوزوآهای شکمبه گاومیش خوزستان بیشتر از گاو هلشتاین بود (به ترتیب $۳۶/۸\times۱۰^{۴}$ و $۲۱/۸\times۱۰^{۴}$ در هر میلی لیتر مایع شکمبه). جنس‌های دیپلودینیوم، انتودینیوم، اپیدینیوم، افریوسکولکس و هولوتریش‌های شکمبه گاو و گاومیش به ترتیب ۳۷/۶۳ ، ۴۸/۷۷ ، ۰، ۳/۷۵، ۹/۸۳ و ۴۴/۴۷، ۴۲/۳۵، ۵/۳۱، ۰/۶۸، ۷/۱۸ درصد (از کل پروتوزوا) بودند. هیچ کدام از گونه های جنس اپیدینیوم (اپیدینیوم کوداتوم و اپیدینیوم ایکوداتوم) و گونه دیپلودینیوم کریستاگالی در شکمبه گاو وجود نداشت ولی در شکمبه گاومیش خوزستان مشاهده شدند. همچنین مشخص شد که پروتوزوآی افریوسکولکس پورکینی در شکمبه گاو و گاومیش وجود داشت، ولی تعداد آن در شکمبه گاو بیشتر از شکمبه گاومیش بود. بنابراین به نظر می رسد تحت شرایط جیره یکسان، اختلاف معنی‌داری در تعداد و جنس پروتوزوآ بین گاو هلشتاین و گاومیش خوزستان وجود دارد.

واژه‌های کلیدی: پروتوزوآی شکمبه، گاومیش خوزستان، مایع شکمبه

مقدمه

میکروارگانیسم‌های شکمبه بر اساس نرخ تجزیه پذیری دیواره سلولی و فعالیت آنزیم‌های تجزیه کننده دیواره تفاوت هایی دارند و شامل باکتری ها، پروتوزوآها و قارچ بوده که نقش مهمی در تجزیه پلی ساکاریدهای دیواره سلولی دارند (۱۵). پروتوزوآها الیاف گیاهی را به روش اندوسیتوز (مشابه آنچه که باکتری‌ها عمل می کنند) مورد استفاده قرار می‌دهند و مواد گیاهی درون واکوئل‌هایی که حاوی آنزیم‌های گوارشی هستند، هضم می‌شوند، بنابراین پروتوزوآ نقش مهمی در هضم پلی ساکاریدهای گیاهی دارند (۶). پروتوزوآی شکمبه اثر تثبیت کننده‌ای بر pH شکمبه دارند، این احتمالاً به علت هضم سریع و ذخیره سازی نشاسته به وسیله پروتوزوآهای مژکدار است (۲۷). تحقیقات نشان داده که اگر چه پروتوزوآها نقش مهمی در هضم الیاف در شکمبه دارند، اما حذف آنها اجازه می دهد که باکتری ها بیشتر روی الیاف گیاهی کلونی تشکیل دهند (۲۱).

بر طبق نتایج محققان، پروتوزوآهای شکمبه حدود ۳۰ تا ۴۰ درصد کل هضم میکروبی الیاف را انجام می دهند، همچنین گزارش شده که حدود ۱۹ تا ۲۸ درصد از کل سلولاز فعال شکمبه نیز به پروتوزوآهای مژکدار تعلق دارد (۹). بر اساس مطالعات دیگر حدود ۲۵ تا ۳۰ درصد کل هضم الیاف توسط پروتوزوآها انجام می شود (۱۵). گزارشات دیگری نشان داده که پروتوزوآها مسئول حدود ۳۴ درصد هضم میکروبی الیاف می باشند و گونه‌های فعال در هضم سلولز، پلی پلاسترون مولتی وسیکولاتوم، انوپلوپلاسترون تریلوریکاتوم، ائودیپلودینیوم ها و دیپلودینیوم ها می‌باشند (۳). براساس مطالعات صورت گرفته روی دیپلودینیوم (ائودیپلودینیوم) نگلکتم مشخص شد که این نوع پروتوزوآ به طور متوالی در محیط آزمایشگاه رشد کرده و توانایی هضم سلولز را نیز دارد (۱۲). اونودورا و همکاران (۲۳)، تایید کردند که پروتوزوآهای شکمبه توسط حمله آنزیم آلفا-۱ و ۴ گلوکاناز به سطح مواد گیاهی، در هضم سلولز موثر می باشند. محققان گزارش کرده‌اند، الیگوتریش ها عموماً قندها را تخمیر می کنند، اما برعکس هولوتریش‌ها، کربوهیدرات های ساختمانی چون پکتین، همی سلولز و همچنین سلولز را مورد استفاده قرار می‌دهند (۲۴). اپیدینیوم اکواداتوم دارای اندوزایلاناز است که زایلان، آرابینوزایلان و همی سلولز را تجزیه می‌کند (۳). بنابراین شناخت انواع گونه ها و سویه های

۱، ۲، ۳، ۴ و ۵- به ترتی‌ب دانش آموخته کارشناسی ارشد، استادیار، دانشیار و استادیاران‌گروه علوم دامی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین، خوزستان
(×- نویسنده مسئول: Email:mortezachaji@yahoo.com)

جمعیت پروتوزآیی شکمبه حیوانات مفید بوده و اطلاعاتی را درباره توانایی دام نشخوارکننده برای هضم و متابولیسم مواد خوراکی، به ویژه مواد الیافی در اختیار ما قرار می دهد.

گزارش شده است که میکروارگانیسم‌های شکمبه گاومیش نسبت به گاو از لحاظ تعداد و تنوع گسترده ترند (۲۹). محققان در بررسی مقایسه ای اکولوژی شکمبه گاومیش و گاو با مطالعه روی گونه ها و جمعیت میکروبی دریافتند، تعداد میکروارگانیسم های تجزیه کننده سلولز در شکمبه گاومیش از گاو بیشتر بوده و اختلاف معنی داری در تعداد باکتری، قارچ و پروتوزوآی شکمبه وجود داشت (۱۴). ناگا و ال شازلی (۱۸)، گزارش کردند تحت شرایط تغذیه ای مشابه تعداد پروتوزوآ در گاومیش بیشتر از گاو می باشد. در صورتی که طی مطالعه انجام شده توسط واناپت و همکاران (۳۰)، تعداد پروتوزوآ در گاو بیشتر از گاومیش بود. با مطالعات دهوریتی (۵)، روی گاو و گاومیش‌های برزیلی مشخص شد که تعداد کل پروتوزوآهای شکمبه گاو بیشتر از گاومیش است. بنابراین، تعداد گونه و تراکم پروتوزوآها می تواند بین حیوانات یک گونه از نشخوارکنندگان و همچنین بین گونه های مختلف متفاوت باشد. یک عامل مؤثر در این مورد می تواند موقعیت جغرافیایی باشد که احتمالاً انعکاسی از جیره حیوان، منشأ حیوان و ایزوله بودن احتمالی آن از دیگر نشخوارکنندگان است. خصوصیات ویژه پروتوزوآهای شکمبه و همچنین تضاد بین گونه های پروتوزوآها نیز ممکن است در این تنوع نقش داشته باشد (۱۱). مطالعه تعداد و نوع پروتوزوا در نشخوارکنندگان مناطق مختلف، اطلاعات زیادی در مورد نزدیک بودن حیوانات نشخوارکننده به هم نشان می‌دهد. اگر چه اطلاعات زیادی در مورد پروتوزوای نشخوارکنندگان مختلف وجود دارد، اما اطلاعات درباره پروتوزوای شکمبه گاومیش خوزستان محدود است، بنابراین هدف از انجام این تحقیق مقایسه جمعیت و ریخت شناسی پروتوزوآی موجود در شکمبه گاو هلشتاین و گاومیش خوزستان تحت شرایط تغذیه ای یکسان بود. جنس و گونه‌های پروتوزوای شکمبه گاومیش خوزستان اولین بار است که گزارش می شود.

مواد و روش‌ها

در این آزمایش، تعداد ۱۲ رأس جوانه گاومیش خوزستان (میانگین وزنی ۴۲۰ کیلوگرم) و ۱۲ رأس جوانه هلشتاین (میانگین وزنی ۴۳۰ کیلوگرم) انتخاب شدند. دام‌ها درون سالن مسقف داخل جایگاه های انفرادی قرار گرفتند. آب و خوراک دو بار در روز (۸:۰۰ و ۱۶:۰۰) و به طور انفرادی در اختیار دام ها قرار گرفت. جیره غذایی دام‌های مورد مطالعه در این آزمایش بر اساس وزن دام‌ها و بر طبق جداول احتیاجات غذایی انجمن ملی تحقیقات آمریکا (۲۰) NRC تنظیم شدند (جدول ۱). قبل از شروع آزمایش، نمونه ای از اجزاء تشکیل دهنده جیره ها تهیه و جهت تعیین ترکیبات شیمیایی و تنظیم جیره به آزمایشگاه منتقل گردید.

پس از ۴۵ روز عادت پذیری دام ها با خوراک مورد نظر، قبل از تغذیه صبحگاهی، به طور تصادفی شش گاو و شش گاومیش انتخاب و از آنها مایع شکمبه با روش لوله مری جمع آوری گردید. به منظور تثبیت پروتوزوآها در نمونه های گرفته شده، از محلول فرمآلدهید ۱۸/۵ درصد (فرمآلدئید ۳۷ درصد رقیق شده به نسبت ۵۰:۵۰ با آب مقطر) به نسبت ۵۰:۵۰ (فرمآلدئید: مایع شکمبه) استفاده شد (۶ و ۱۶). شمارش پروتوزوآها با استفاده از لام مخصوص انجام گرفت. یک میلی لیتر از مایع شکمبه فرم آلدئیدی با چند قطره محلول رنگ آمیزی مخلوط گردید، لام را در زیر میکروسکوپ با بزرگنمایی ۱۰ قرار داده لامل روی آن گذارده شد. متوسط تعداد پروتوزوآ در ۵ مربع متوسط (N) شمارش گردید، تعداد در ۲۵ مربع (یعنی در حجم ۰/۱ میلی متر مکعب) محاسبه شد (N×۲۵). سپس غلظت در ۱ میلی متر مکعب (N×۲۵×۱۰) محاسبه شد. غلظت پروتوزآ در هر میلی لیتر از رابطه زیر محاسبه شد (۶):

غلظت پروتوزآ در هر میلی لیتر= رقت×۱۰×۲۵×N

جدول۱- اجزای خوراکی و مواد مغذی جیره آزمایشی

اجزای خوراکی	درصد
سیلاژ نیشکر	۳۴/۳۲
سیلاژ ذرت	۱۶/۸۸
یونجه خشک	۱۵/۱۸
کاه گندم	۱/۶۹
دانه ذرت	۱۶/۳۱
دانه جو	۵/۶۲
سبوس گندم	۹
مکمل معدنی- ویتامینی	۰/۵
نمک	۰/۵
مواد مغذی	
الیاف نامحلول در شوینده خنثی (درصد)	۵۰/۳۴
الیاف نامحلول در شوینده اسیدی (درصد)	۳۳/۵۳
انرژی قابل متابولیسم (مگاکالری بر کیلوگرم)	۲/۱۰
پروتئین (درصد)	۱۰/۸۰
کلسیم (درصد)	۰/۶۰
فسفر (درصد)	۰/۳۵

جهت رنگ آمیزی پروتوزوآ از محلول های رنگ آمیزی لوگول (صفحات اسکلتی نارنجی پررنگ تا قهوه ای می شوند)، بریلیانت گرین و متیلن بلو (هسته آبی پررنگ می شود) استفاده شد (۲۲). اسلایدهای تهیه شده زیر میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی۱۰ و ۲۰ مشاهده شدند و بر اساس مشخصات ریخت شناسی تدوین شده توسط اگیموتو و ایمای (۲۲) و هانگیت (۱۳)، جنس و گونه پروتوزوآ

مشخص شد. داده های بدست آمده به وسیله نرم افزار SAS در قالب طرح کاملا تصادفی آنالیز شدند و مقایسه میانگین‌ها به وسیله آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح ۰/۰۵انجام شد.

نتایج و بحث

بر اساس نتایج بدست آمده از این آزمایش، تعداد پروتوزوآهای راسته انتودینیومورفیدا شامل ایزوتریش (*Isotricha*) و افریوسکولیسیدا (به استثنای انتودینیومها که فعالیت سلولازی ناچیزی دارند) در گاومیش خوزستان بیشتر از گاو هلشتاین می باشد، اما تعداد پروتوزوآهای هولوتریش در گاو بیشتر از گاومیش بود (جدول ۲). در مطالعاتی که توسط دهوریتی (۶) در برزیل و پرو انجام شد، افریوسکولکس در محتویات شکمبه گوسفند، بز و گاومیش آبی مشاهده نشد. ایدی (۷) دریافت که استقرار افریوسکولکس در بز و گوسفند جوان مشکل است. این گونه به طور ناپایدار در نشخوارکنندگان پیر می‌توانند استقرار یابد که مرتبط با رابطه آنتاگونیستی افریوسکولکس و اپیدینیوم است. زمانی که هر دو جنس در شکمبه حضور دارند، افریوسکولکس به تدریج حذف می شود. همچنین پژوهش دیگری نشان داد که در گوسفندان ژاپن افریوسکولکس پورکینی (*Ophryoscolex purkynei*) دیده نشد (۱۹). در مطالعه ای دیگر ناگا و همکاران (۱۸)، همین گونه های پروتوزوآ را در گوساله های گاو و گاومیش بررسی کردند و دریافتند که جنس اپیدینیوم در هیچ یک از نشخوارکنندگان در کشور مصر وجود ندارد.

با توجه به نتایج این آزمایش (جدول ۲)، تعداد پروتوزوآهای جنس دیپلودینیوم و اپیدینیوم شکمبه گاومیش بیشتر از گاو بود ولی تعداد انتودینیوم و افریوسکولکس در گاو بیشتر از گاومیش بود (P<۰/۰۵). گونزالس و همکاران (۱۰)، گزارش کردند که درصد زیر خانواده دیپلودینیا در مایع شکمبه گاومیش بیشتر از گاوهای زیبو بود و همچنین جنس انتودینیوم در گاوهای زیبو تقریباً دو برابر زیر خانواده دیپلودینیا است. این نتایج مطابق با مطالعات فرانزلین و فرانزلین (۸)، بود که گزارش کردند با جیره های متفاوت، انتودینیوم ها پروتوزوآی غالب در شکمبه گاو هستند. حضور مژکدار انتودینیومورف بزرگ جثه، به دلیل وجود سلولاز فعال، هضم اجزای دیواره سلولی در شکمبه را بهبود می‌دهد که به فعالیت سلولیتیک اختصاصی این مژکداران مربوط می‌شود.

بر اساس نتایج جدول۳، اپیدینیوم اکواداتوم (شکل ۱۳)، اپیدینیوم کواداتوم (*Epidinium caudatum*) و دیپلودینیوم کریستاگالی (*Diplodinium cristagalli*) (شکل ۱۰) در شکمبه گاو هلشتاین دیده نشدند، در حالی که اپیدینیوم ایکواداتوم (*Epidinium ecaudatum*) و اپیدینیوم کواداتوم در شکمبه گاومیش خوزستان مشاهده شدند. طبق مطالعات سینگ و همکاران (۲۶) و بهاتیا و همکاران (۲)، اپیدینوم ایکواداتوم در شکمبه گاو وجود داشت ولی در شکمبه گاومیش مشاهده نشد. همچنین تعداد پروتوزوآهای پلی‌پلاسترون مولتی وسیکولاتوم (*Polplastron multtivesiculatum*) (شکل۱۶) و ائودیپلودینیوم مگی (*Eudiplodinium maggii*) (شکل۱۴) در شکمبه گاومیش خوزستان بیشتر از گاو بود، از آن جا که این پروتوزوآها از پروتوزوآهای مهم سلولیتیک هستند (۳) ممکن است باعث بیشتر شدن قابلیت هضم مواد غذایی توسط گاومیش شوند. کولمن (۴) نشان داد که اپیدینیوم ایکواداتوم، میکروکریستال‌های سلولز را بیشتر از ائودیپلودینیوم مگی تجزیه می‌کند. همچنین ویلیام و کولمن (۳۱) بیان کردند که فعالیت زایلانولیتیک اپیدینیوم ایکواداتوم قابل مقایسه با پلی پلاسترون مولتی وسیکولاتوم و ائودیپلودینیوم مگی است. اپیدینیوم ایکواداتوم دارای اندوزایلاناز است که زایلان، آرابینوزایلان و همی سلولز را تجزیه می‌کند (۳). در گاومیش‌های وحشی و دورگ‌های گاومیش وحشی و گاو تغذیه شده با ذرت و یونجه به ترتیب با مقادیر ۱۰۰:۰، ۷۵:۲۵ و ۵۰:۵۰ تعداد کل پروتوزوآی سلولیتیک در بین گروه‌ها تفاوتی نداشت، ولی درصد گونه انتودینیوم در گاومیش وحشی کمتر و گونه دیپلودینیوم در گاومیش وحشی بیشتر از دورگ‌های گاومیش وحشی و گاو بود (۳۰).

جدول ۲- مقایسه پروتوزوآهای شکمبه گاو هلشتاین و گاومیش خوزستان (درصدی از کل پروتوزوآ و تعداد در میلی لیتر مایع شکمبه)

پروتوزوآ	گاومیش خوزستان	گاو هلشتاین	تعداد در گاومیش	تعداد در گاو	SEM
دیپلودینیوم	۴۴/۴۷ a	۳۷/۶۳ b	۱۶۳۶۴۹a	۸۲۰۳۴b	۱/۸
انتودینیوم	۴۲/۳۵ b	۴۸/۷۷ a	۱۵۵۸۴۸b	۱۰۶۳۱۸a	۰/۹
اپیدینیوم	۵/۳۱ a	۰ b	۱۹۵۴۲a	۰b	۱/۵
افریوسکولکس	۰/۶۸۷ b	۳/۷۵ a	۲۵۲۹b	۸۱۷۵a	۱/۱
هولوتریش	۷/۱۸ b	۹/۸۳ a	۲۶۴۲۲b	۲۱۴۳۰a	۰/۷

SEM:خطای استاندارد میانگین ها، میانگین های هر ردیف با حروف غیرمشترک دارای اختلاف معنی دار می باشند (P <۰/۰۵)

جدول ۳- مقایسه تراکم گونه‌های مختلف پروتوزوآ در گاو هلشتاین و گاومیش خوزستان (درصدی از کل پروتوزوآ)

گونه	پروتوزوآ	گاومیش خوزستان	گاو هلشتاین	SEM
هولوتریش	ایزوتریش	۳/۷۰^{b}	۶/۸۸^{a}	۰/۶
	داستریکا	۳/۴۷	۳/۰۴	۱/۵
انتودینیومورفیدا (الیگوتریش)				
انتودینیدا	انتودینیوم اگزیگم	۱۰/۸۸^{a}	۷/۵۶^{b}	۰/۸
	انتودینیوم بورسا	۵/۷۰^{b}	۸/۲۴^{a}	۱/۱
	انتودینیوم رکتا نوگلیتوم	۸/۶۹	۸/۱۵	۰/۹
	انتودینیوم مینیموم	۶/۱۴	۷/۲۷	۱/۲
	انتودینیوم سیمپلکس	۶/۷۷^{b}	۱۴/۳۵^{a}	۰/۸
	انتودینیوم لانگی نوکلیتوم	۲/۹۹^{b}	۶/۸۳^{a}	۱/۴
دیپلودینیدا	دیپلودینیوم انیساکانتم	۱۴/۲۶^{a}	۱۰/۲۰^{b}	۰/۷
	دیپلودینیوم کریستاگالی	۱/۹۷^{a}	۰^{b}	۰/۲
	دیپلوپلاسترون آفینی	۴/۹۵^{b}	۱۰/۱۲^{a}	۰/۵
	ائودیپلودینیوم ماگی	۱۱/۹۷^{a}	۱۰/۲۰^{b}	۰/۳
	متادینیوم مدیوم	۷/۲۸^{b}	۱۲/۲۴^{a}	۱/۷
	پلی‌پلاسترون مولتی ویسکولاتوم	۱۳/۳۵^{a}	۶/۲۱^{b}	۱/۳
اپیدینیدا	اپیدینیوم کوداتوم	۱/۹۹^{a}	۰^{b}	۰/۵
	اپیدینیوم ایکوداتوم	۳/۳۲^{a}	۰^{b}	۰/۴
افریوسکولیسینا	افریوسکولکس پورکینی	۰/۶۹^{b}	۳/۷۵^{a}	۰/۶

SEM :خطای استاندارد میانگین ها، میانگین های هر ردیف با حروف غیرمشترک دارای اختلاف معنی دار می باشند ($P<۰/۰۵$)

در این آزمایش پروتوزوآی افریوسکولکس پورکینی (شکل ۱۵) در شکمبه هر دو دام مشاهده شد ولی تعداد آن در شکمبه گاو بیشتر از گاومیش خوزستانی بود ($P<۰/۰۵$). بر اساس نتایج آزمایشات سینگ و همکاران (۲۶) و بهاتیا و همکاران (۲) گاو فاقد دیپلودینیوم کریستاگالی و گاومیش فاقد اپیدینیوم ایکواداتوم و افریوسکولکس پورکینی می باشد. بنابراین وجود اپیدینیوم اکواداتوم و افریوسکولکس پورکینی در شکمبه گاومیش خوزستانی مورد مطالعه در این آزمایش مخالف و عدم حضور دیپلودینیوم کریستاگالی در شکمبه گاو هلشتاین موافق با گزارش سینگ و همکاران (۲۶) بود. علیپور (۱)، اپیدینیوم ایکواداتوم، اپیدینیوم کواداتوم و دیپلودینیوم دنتاتوم (*Diplodinium dentatume*) را در شترهای بلوچی و سندی، و ائودیپلودینیوم مگی را فقط در شترهای سندی مشاهده کرد. تفاوت در گونه های مختلف پروتوزوا به نوع میزبان و شرایط تغذیه ای بستگی دارد.

بر اساس نتایج به دست آمده در جدول ۴، مقایسه تراکم پروتوزوآها با مصرف جیره های مشابه نشان داد که تراکم پروتوزوآ در هر میلی لیتر مایع شکمبه گاومیش و گاوهای تغذیه شده با جیره آزمایشی مورد نظر به ترتیب $۳۶/۸\times۱۰^{۴}$ و $۲۱/۸\times۱۰^{۴}$ بود، بنابراین تراکم کل پروتوزوآهای شکمبه گاومیش خوزستان تفاوت قابل توجهی با تراکم آنها در شکمبه گاو هلشتاین داشت ($P<۰/۰۵$). این نتایج موافق با یافته های ناگا و ال شازلی (۱۷) بود، که گزارش کردند تحت شرایط تغذیه ای مشابه تعداد پروتوزوآ در گاومیش بیشتر از گاو می باشد. در صورتی که در آزمایش واناپت و همکاران (۳۰) تعداد پروتوزوآ در گاو بیشتر از گاومیش به دست آمد. همچنین طی مطالعات دهوریتی (۵) روی گاو و گاومیش‌های برزیلی مشخص شد که تعداد کل پروتوزوآهای شکمبه گاو بیشتر از گاومیش است ($۲۶/۴\times۱۰^{۴}$ و $۲۲/۹\times۱۰^{۴}$). دهوریتی (۶) تعداد کل پروتوزوآها را در گوسفند $۱۰^{۴}\times$ ۵۳/۴، در بز $۱۰^{۴}\times$ ۲۱–۴۷ و در گاو، $۱۰^{۴}\times$ ۵۹/۲ گزارش کرد. واناپت و همکاران (۳۰) نیز پروتوزوآی شکمبه گاومیش را $۱۰^{۴}\times$ ۲۱/۵ بیان کردند، که بسته به شرایط تغذیه آنها متفاوت است. علیپور (۱) نیز تعداد کل پروتوزوا را در شترهای بلوچی ($۱۰^{۴}\times$ ۲۹/۴) و شترهای سندی ($۱۰^{۴}\times$ ۳۵/۶) گزارش کرد.

تعداد گونه و تراکم پروتوزوآها می تواند بین حیوانات یک گونه از نشخوارکنندگان و همچنین بین گونه های مختلف، متفاوت باشد. یک عامل مؤثر در این مورد، موقعیت جغرافیایی می باشد که احتمالاً انعکاسی از جیره حیوان، منشأ حیوان و ایزوله بودن احتمالی آن از دیگر نشخوارکنندگان است.

خصوصیات ویژه پروتوزوآهای شکمبه و همچنین تضاد بین گونه‌های پروتوزوآها نیز ممکن است در این تنوع نقش داشته باشد (۱۱). دام، بوسیله فاکتورهای فیزیولوژیکی ناشناخته‌ای می‌تواند روی جنس و گونه های پروتوزوآهایی که در شکمبه استقرار پیدا می کنند، اثر بگذارد.

جدول ۴- مقایسه جمعیت پروتوزوآی شکمبه گاو هلشتاین وگاومیش خوزستان

	نوع دام		
	گاو هلشتاین	گاومیش خوزستانی	SEM
تعداد پروتوزوآ (در میلی لیتر مایع شکمبه)	$۲۱/۸\times۱۰^{۴b}$	$۳۶/۸\times۱۰^{۴a}$	۰/۲۵

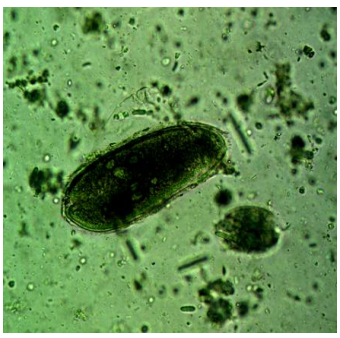
SEM:خطای استاندارد میانگین ها

از جمله این فاکتورها می توان مقدار و نوع خوراک مصرفی، سرعت خوردن خوراک، میزان تولید بزاق (که میتواند pH شکمبه را تحت تاثیر قراردهد)، سرعت تخمیر، فشار اسمزی و اندازه ذرات در شکمبه را نام برد (۱۱).

در زیر تصاویری از پروتوزوآهای مشاهده شده در مایع شکمبه گاو هلشتاین و گاومیش خوزستان مورد مطالعه در این آزمایش آورده شده است. پروتوزوآها با رنگ‌های متیلن بلو، بریلیانت گرین و لوگول رنگ آمیزی و سپس عکس برداری شده است. اکثر پروتوزوآهای مورد بررسی در شکمبه گاو و گاومیش‌های مورد مطالعه مشاهده شدند ولی تعدادی از پروتوزوآها فقط در شکمبه گاومیش خوزستان وجود داشتند.

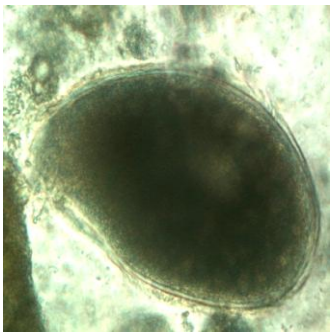
ایزوتریکا اینتستینالیس (*intestinalis*) و ایزوتریکا پروستوما (*prostoma*) دو گونه‌ای هستند که اندازه بزرگ آنها باعث شده که از ساده ترین گونه‌های قابل رویت شکمبه باشند. ایزوتریکاها نشاسته، ساکارز، گلوکز و پکتین را تخمیر می‌کنند. داسیتریکا، نشاسته، مالتوز، سلوبیوز و گلوکز را تخمیر می‌کنند. داسیتریکا رومینانتیوم (*Dasytricha ruminantium*) تنها گونه یافت شده در شکمبه است که می‌تواند آمیلوپکتین (نشاسته پروتوزوآیی) را ذخیره کند (۲۲). انتودینیوم ها نشاسته، همی سلولز، مالتوز و ساکارز را تخمیر می‌کنند، و کوچکترین اندازه را در بین پروتوزوآهای شکمبه دارند (۳).

بیشترین میزان تخمیر سلولز، گلوکز و نشاسته را دیپلودینیوم‌ها انجام می‌دهند (۶). جنس اپیدینیوم اکثراً چسبیده به دیواره سلول‌های گیاهی یافت می‌شود، فرایند چسبیدن مسئول نگهداری یا حبس پروتوزوآهای شکمبه است (۳).



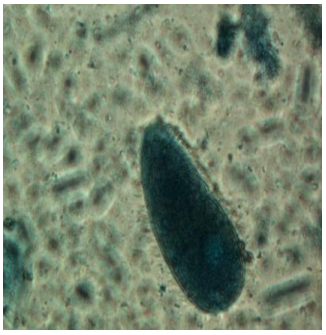
شکل ۱- داسیتریکا رومینانتیوم مشاهده شده در گاو هلشتاین و گاومیش خوزستان

رنگ آمیزی: بریلیانت گرین



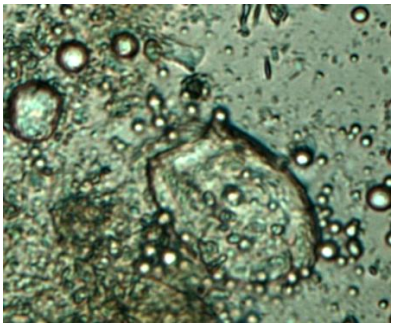
شکل۲ - ایزوتریکا اینتستینالیس مشاهده شده در گاو هلشتاین و گاومیش خوزستان

رنگ آمیزی: لوگول



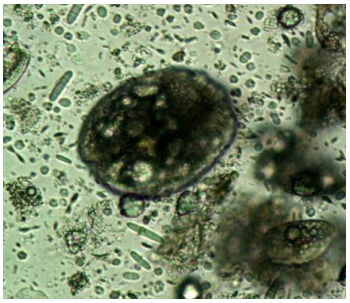
شکل۳- ایزوتریکاپروستوما مشاهده شده در گاو هلشتاین و گاومیش خوزستان

رنگ آمیزی: متیلن بلو



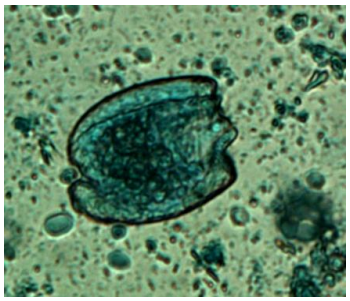
شکل ٤ - انتودینیوم مینیموم مشاهده شده در گاو هلشتاین و گاومیش خوزستان

رنگ آمیزی: لوگول



شکل ۵- انتودینیوم بورسا مشاهده شده در گاو هلشتاین و گاومیش خوزستان

رنگ آمیزی: لوگول

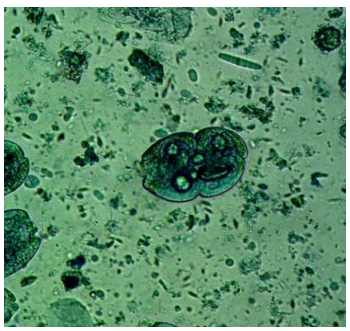


شکل ٦ - انتودینیوم لانگی نوکلیتوم مشاهده شده در گاو هلشتاین و گاومیش خوزستان

رنگ آمیزی: متیلن بلو

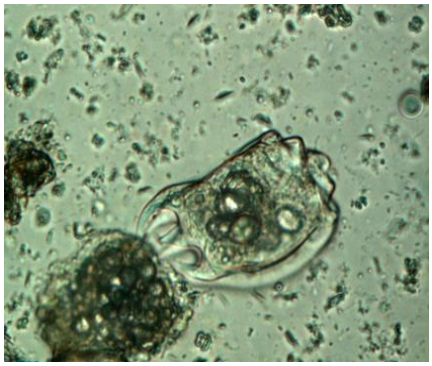
شکل۷- انتودینیوم رکتانگولاتوم مشاهده شده در گاو هلشتاین و گاومیش خوزستان

رنگ آمیزی: لوگول



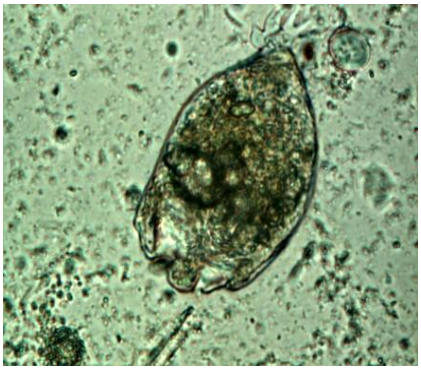
شکل ۸- انتودینیوم اگزیگم مشاهده شده در گاو هلشتاین و گاومیش خوزستان

رنگ آمیزی: متیلن بلو



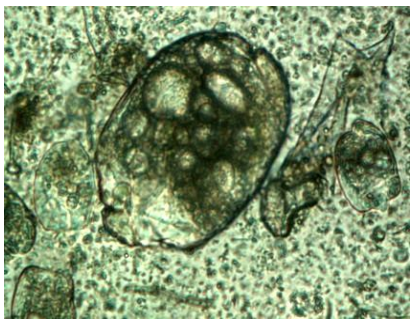
شکل۹- دیپلودنیوم دنتاتوم مشاهده شده در گاو هلشتاین و گاومیش خوزستان

رنگ آمیزی: لوگول



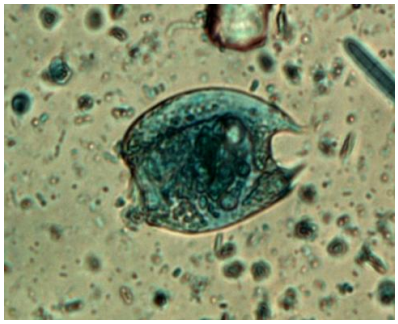
شکل ۱۰- دیپلودینیوم کریستاگالی(فقط در گاومیش خوزستانی مشاهده شد)

رنگ آمیزی: لوگول



شکل ۱۱ - دیپلودینیوم افینی مشاهده شده در گاو هلشتاین و گاومیش خوزستان

رنگ آمیزی: لوگول



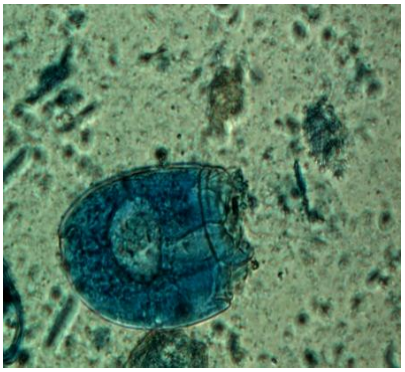
شکل ۱۲- دیپلودینیوم انیساکانتم مشاهده شده در گاو هلشتاین و گاومیش خوزستان

رنگ آمیزی: متیلن بلو

شکل ۱۳- اپیدینیوم اکاداتوم

رنگ آمیزی: لوگول

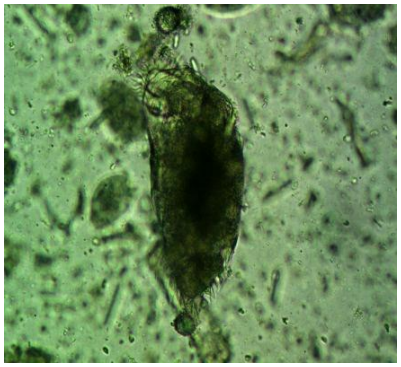
(فقط در گاومیش خوزستانی مشاهده شد)



شکل ۱٤- ائودیپلودینیوم ماگی مشاهده شده در گاو هلشتاین و گاومیش خوزستان

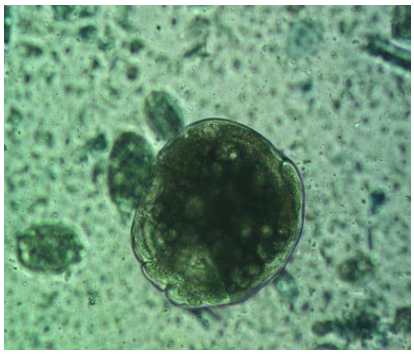
رنگ آمیزی: متیلن بلو

پروتوزوآهای پلی پلاسترون مولتی وسیکولاتوم، کلروپلاست را خورده و هضم می‌کنند. این پروتوزوآ دارای فعالیت اندو بتا-۱ و۴ گلوکوناز است که اجازه هضم مشتقات سلولز را به این پروتوزوآ می‌دهد، همچنین دارای یک بتا- گلوکوزیداز می باشد که قادر است سلوبیوز را به گلوکز هیدرولیز نماید (۳).



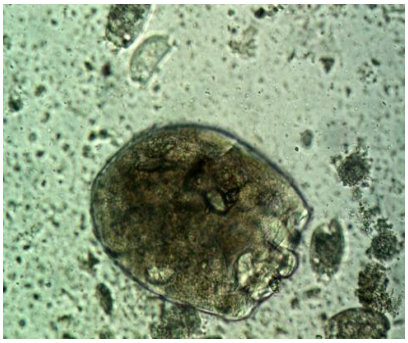
شکل ۱۵ - افریوسکولکس پورکینی مشاهده شده در گاو هلشتاین و گاومیش خوزستان

رنگ آمیزی: بریلیانت گرین



شکل ۱٦- پلی پلاسترون مولتی وسیکولاتوم مشاهده شده در گاو هلشتاین و گاومیش خوزستان

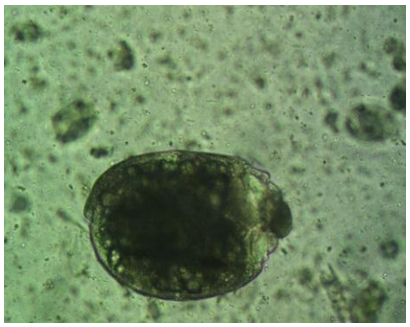
رنگ آمیزی: بریلیانت گرین



شکل ۱۷- متادینیوم مدیوم مشاهده شده در گاو هلشتاین و گاومیش خوزستان

رنگ آمیزی: لوگول

نتایج به دست آمده از این آزمایش نشان داد که تعداد کل پروتوزوآهای شکمبه گاومیش خوزستان در شرایط تغذیه ای مشابه بالاتر از گاو هلشتاین است. همچنین بر خلاف نظر سایر محققین، با توجه به مشاهده اپیدینیوم اکواداتوم، دیپلودینیوم کریستاگالی و افریوسکولکس پورکینی در شکمبه گاومیش خوزستان، این نتیجه نیاز به بررسی های بیشتر و استفاده از تکنیک های ملکولی دارد.



شکل ۱۸- دیپلوپلاسترون افینی مشاهده شده در گاو هلشتاین و گاومیش خوزستان،
رنگ آمیزی: بریلیانت گرین

از طرف دیگر با توجه به نقش مهم سلولازی و زایلانازی بعضی گونه های پروتوزوا در شکمبه (نظیر دیپلودینیوم‌ها، پلی پلاستررون، اپیدینیوم ایکوداتوم و غیره)، بیشتر بودن جمعیت دسته هاضم سلولز و الیاف را شاید بتوان تا حدودی مسئول قابلیت هضم بهتر مواد الیافی در گاو میش ها دانست که البته مطالعات بیشتر تحت دیگر شرایط تغذیه ای در گاومیش خوزستان نیاز می باشد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مراتب سپاس خود را از دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان به سبب فراهم آوردن زمینه انجام این پژوهش اعلام می‌دارند. از مدیریت واحد دامپروری مرکز تحقیقات صفی آباد دزفول برای همکاری صمیمانه در انجام این تحقیق قدردانی می گردد.

منابع

۱- علیپور، د. ۱۳۹۱. تک یاخته های مژکدار شکمبه در شترهای نژاد بلوچی و سندی. مجله تحقیقات دامپزشکی.شماره ۳. صفحه ۲۵۷-۲۶۳.
2- Bhatia, S. K., S. Kumar, and D. C. Sangwan. 2004. Advances in buffalo-cattle nutrition and rumen ecosystem. CCS HAU, Hisar.
3- Bonhomme, A. 1990. Rumen ciliates: their metabolism and relationship whit bacteria and their hosts. Anim. Feed Sci.Tech. 30:203-266
4- Coleman, G. S. 1985. The cellulase content of 15 species of entodiniomorphid protozoa, mixed bacteria and plant bedris isolated from the ovine rumen. J. Agric. Sci.104: 349-360.
5- Dehority, B. A. 1986. Protozoa of the digestive tract of herbivorous mammals. Insect Sci. Applic. 7: 279-296.
6- Dehority, B. A. 2003. Rumen microbiology. Academic Press, Nottingham University, London. UK.
7- Eadie, J. M. 1967. Studies on the ecology of certain rumen ciliate protozoa. J. Gen. Microbiol. 49:175-194.
8- Franzolin, R., and M. H. T. Franzolin, 2000. Rumen ciliate protozoa and degradability in buffalo and zebu cattle fed a sugar cane based diet. Rev. Brasileira Zootec. 29:1853.
9- Gijzen, H. J., H.J. Lubberding M. J.T. Gerdardus, and G. D. Vogels. 1988. Contribution of rumen protozoa to fiber degradation and cellulose activity in vitro. FEMS Microbiol. Lett. 55:3039-3045.
10- Gonzȧlez, N., J. Galindo A. I. Aldana, and Y. Marrero. 2007. Identification and comparison of protozoa genera in rumen liquor of river buffaloes and Zebu cattle fed fodders. Technical note. Cuban J. Agric. Sci. 41: (4) 331-333.
11- Hobson, P. N., and C. S. Stewart.1997. The rumen microbial ecosystem, Elsevier Sience Publishers Ltd, London and New York.
12- Hungate, R. E. 1943. Further experiments on cellulose digestion by the protozoa in the rumen of cattle. Biol. Bull. 84:157–163.
13- Hungate, R. E. 1966. The rumen and its microbes, Academic press, New York
14- Langar, P. N., G. S. Sidhu, and I. S. Bhatia. 1968. A study of the microbial population in the ruminal of buffalo Bos Bubalis and Zebu (Bos indicus) on a feeding regimen deficient in carbohydrates. Indian. J. Vet. Sci. 38: 333-338.
15- Lee, S. S., J. K. Ha, and K. J. Cheng. 2000. Relative contributions of bacteria, protozoa, and fungi to in vitro degradation of orchard grass cell walls and their interactions. Appl. Environ. Microbiol. 66:3807-3813.
16- Moir, R. J. 1951. The seasonal variation in the ruminal microorganisms of grazing sheep. Australian J. Agri Res. 2: 322-330.
17- Naga, M. A, A. R. Abou Akkada, and K.El Shazly. 1969. Establishment of rumen ciliate protozoa in cow and water buffalo (Bos bubalus L) calves under late and early weaning system. J. Dairy Sci. 52: 110-112.
18- Naga, M. A., and K. El-Shazly, 1968. The metabolic characterization of the ciliate protozoon Eudiplodinium medium from the rumen of buffalo. J. Gen. Microbiol. 53:305-315.

19- Nakamura, K., and S. Kanegasaki. 1969. Densities of ruminal protozoa of sheep established under different dietary conditions. J. Dairy Sci. 52: 250-255.
20- National Research Council (NRC). 1996. National Academy Press, Washington, DC.
21- Newbold, C. J., P.W. Griffin, and R. J. Wallace. 1989. Interaction between rumen bacteria and ciliate protozoa in their attachment to barley straw. Lett. Appl. Microbiol. 8: 63- 66. 253.
22- Ogimoto, K., and S. Imai. 1981. Atlas of rumen microbiology. Japan Sientific Societies Press, Tokyo.
23- Onodera, H., K. Itabashi H. Ushida Yano, and Y. Sasaki. Japan Scientific Societies Press, Tokyo, 11-24.
24- Russell, R. E., and D. B. Wilson. 1996. Why are ruminal cellulolytic bacteria unable to digest cellulose at law Ph?. J. Dairy Sci. 79: 1503-1909.
25- SAS .2005 .User's Guide .Release 6.08 .SAS Institute Inc., Cary, NC.
26- Singh, S., K. Pradhan S. K. Bhatia D. C. Sangwan, and V. Sagar. 1992. Relative rumen microbial profile of cattle and buffalo fed wheat straw concentrate diet. Indian J. Anim. Sci. 62: 1197.
27- Veira. D. M., and M. Ivan. 1983. Rumen ciliate protozoa: effects on digestion in the stomach of sheep. J. Dairy Sci. 66:1015-1022.
28- Vincent. H. V., and B. Dehority. 1988. Ruminal Cellulolytic Bacteria and Protozoa from Bison, Cattle-Bison Hybrids, and Cattle Fed Three Alfalfa-Corn Diets. Appl. Environ. Microbiol. 15: 148-154.
29- Wanapat, M. 2001. Swamp buffalo rumen ecology and its manipulation. Nationol workshop on swamp buffalo development. Asian –Austr. Anim. Sci. 13:126-131
30- Wanapat, M., R. Pilagun, and P. Kongmun. 2009. Ruminal ecology of swamp buffalo as influenced by dietary sources. Anim. Feed Sci.Tech. 151: 205-214.
31- Williams, A. G., and G. S. Coleman. 1985. Hemicellulose-degrading enzymes in rumen ciliate protozoa. Cur. Microbiology. 12: 85-90.