Research on Animal Production, Vol. 14, No. 40, Summer 2023 p: 61-69

"Research Paper"

Changes in the Rumen Microbial Population of Estrus and Anestrus Grey Shirazi Ewes in the Estrous Cycle of the Non-Breeding Season

Zahra Bolooki [1], Mohammad Reza Jafarzadeh Shirazi [2]

1- PhD Student of Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran
2- Associate Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran, (Corresponding author: jafarzd@shirazu.ac.ir)
Received: 22 February, 2023 Accepted: 13 March, 2023

Extended Abstract

Introduction and Objective: Changes in the microbial population of the digestive tract affect the reproductive and neoral systems. Both systems are involved in the process of estrus and ovulation. In this study, the main goal wasis to investigate the changes in the rumen microbial population in non-breeding seasons during the estrous period for animals that have signs of estrus and animals that do not show estrus signs.

Material and Methods: In order to investigate changes in rumen fluid microbial population in estrus cycle, two groups of 10 animals in estrus and non estrus status were selected. Once every four days rumen fluid samples were collected for microbial culture and other investigations from both groups. In order to cultivate and separate the colonies, general culture medium for anaerobic bacteria colonies such as Plate count agar, MRS agar (de Man-Rogosa - Sharpe) and starch agar was used. Subtraction of colonies was also done by subtractive cultures or different diagnostic tests to identify colonies. Data analysis was done using SAS software version 1/9. Means were compared with the least square procedure and adjusted for Tukey's test.

Results: The comparison between the two groups at 5 different times showed that only on the day of estrus, the population of lactic acid producing bacteria was higher than anestrous group ($P<0.05$). The comparison between two groups of estrus and anestrus at 5 different times showed that the estrus group had a higher lipolytic bacterial population than the anestrus group in days of 5, 6 and 17 of estrus cycle ($P<0.05$), but at the day of 13th bacterial population in anestrus group was higher ($P<0.05$). The comparison between estrus and anestrus groups showed that the amount of the total bacterial population in the estrus group at all the sampling times in the estrus group was higher than anestrus group ($P<0.05$).

Conclusion: In total, the cultures obtained from the rumen fluid in the estrus group showed that between amylolytic, lipolytic and total colonies of anaerobic bacterial populations in certain days of estrus cycle was different between animals with sign and no sign of estrus.

Keywords: Estrus, Ewe, Non-breeding season, Rumen

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2025-06-07]
[DOR: 20.1001.1.22518622.1402.14.40.6.9]
[DOI: 10.61186/rap.14.40.61]

دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

"مقاله پژوهشی"

بررسی تغییرات جمعیت میکروبی شکمبه میش‌های استروس و انستروس کبوده شیرازی در چرخه فحلی فصل خارج تولیدمثلی

زهرا بلوکی[۱] و محمدرضا جعفرزاده شیرازی[۲]

۱- دانشجو دکتری بخش علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران
۲- دانشیار بخش علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران، (نویسنده مسوول: jafarzd@shirazu.ac.ir)
تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۲/۳ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۲/۲۴
صفحه: ۶۱ تا ۶۹

چکیده مبسوط

مقدمه و هدف: تغییرات جمعیت میکروبی دستگاه گوارش بر سیستم تولید مثلی و عصبی اثرگذار است. هر دو سیستم نیز در فرآیند فحلی و تخمک‌ریزی دخیل هستند. در این مطالعه هدف اصلی بررسی تغییرات جمعیت میکروبی شکمبه در فصل خارج تولید مثلی در دوره‌ی فحلی برای دام‌هایی که علائم فحلی دارند و دام‌هایی که این علائم را نشان نمی‌دهند یا انستروس بود.

مواد و روش‌ها: برای بررسی تغییرات جمعیت میکروبی مایع شکمبه در چرخه فحلی دو گروه ۱۰ راسی از دام‌های در وضعیت استروس و انستروس انتخاب شدند. هر چهار روز یک بار نمونه مایع شکمبه جهت کشت میکروبی و سایر بررسی‌ها از هر دو گروه جمع‌آوری شد. برای کشت و تفریق کلنی‌ها، ابتدا از محیط کشت عمومی برای کلنی باکتریوم‌های بی‌هوازی مانند پلیت کانت آگار (Plate count agar)،MRS آگار (de Man-Rogosa - Sharpe) و نشاسته آگار (Starch agar) استفاده شد. برای تفریق کلنی‌ها نیز محیط کشت‌های تفریقی یا واکاوی‌های تشخیصی مختلف جهت شناسایی کلنی‌ها انجام گرفت. به کمک نرم افزار SAS نسخه ۹/۱، واکاوی داده‌ها انجام شد. میانگین‌ها با رویه کمینه مربعات و تصحیح برای آزمون توکی مقایسه شدند.

یافته‌ها: تفاوت جمعیت باکتریایی بررسی شده در بین دو گروه در ۵ زمان مختلف نشان داد که تنها در روز فحلی جمعیت باکتری‌های تولید کننده اسیدلاکتیک در گروه استروس بیشتر از گروه انستروس بود ($p<0.05$).جمعیت باکتری‌های لیپولایتیک در دو گروه استروس و انستروس در ۵ زمان مورد مطالعه نشان داد که گروه استروس در ۴ زمان یعنی روزهای ۵، ۶ و ۱۷ فحلی مقدار بالاتر و معنی‌داری نسبت به گروه انستروس داشت اما در روز سیزدهم مقدار جمعیت پایین‌تری در گروه استروس نسبت به انستروس مشاهده شد ($p<0.05$). مقایسه بین دو گروه استروس و انستروس نشان داد که در تمامی زمان‌ها جمعیت باکتری کل در گروه استروس بیشتر از آنستروس بود ($p<0.05$).

نتیجه‌گیری: در مجموع نتایج کشت‌های حاصل از مایع شکمبه نشان داد که بین جمعیت کلنی باکتری‌های آمیلولیتیکی، لیپولیتیکی و کل کلنی‌های حاصل از باکتری‌های بی‌هوازی در روزهای خاص از دوره فحلی بین دام های با علائم و بدون علائم استروس تفاوت معنی داری وجود داشت ($p<0.05$).

واژه‌های کلیدی: استروس، شکمبه، فصل خارج تولید مثلی، میش

مقدمه

یکی از مهم‌ترین عوامل اثرگذار بر سیستم تولیدمثلی در نشخوارکنندگان وضعیت تغذیه‌ای و سلامت شکمبه است (۱۷). با بررسی متون علمی می‌توان دریافت که استفاده حداکثری از توان بالقوه موجود در شکمبه خواست تمامی پژوهشگران در این حوزه است؛ چرا که کاهش هزینه خوراک و سایر هزینه‌های جانبی افزایش کیفیت و راندمان تجزیه‌پذیری خوراک را در بر دارد (۱۷). از این رو محققین علوم دامی با استفاده از جیره فلاشینگ (۴) و با استفاده از انواع پروبیوتیک‌ها سبب افزایش بهره‌وری شکمبه در راستای بهبود صفات تولیدمثلی (۲۸) و یا سلامت شکمبه و متعاقبا دام (۲۵) می‌شوند. سلامت شکمبه سلامت دام را در پی خواهد داشت (۲۷). جمعیت میکروبی دستگاه گوارش آماده کردن بدن جهت ایجاد فحلی و آبستنی موثر است (۱۴).

تا به حال، جمعیت میکروبی واژن در چندین گونه از جمله پستانداران و بعضی از گونه‌های دامی ارزیابی شده است (۵) اما تغییرات جمعیت میکروبی شکمبه در طی دوره‌ی فحلی در گوسفندان مورد بررسی قرار نگرفته است. با توجه به مطالعه مک ایون و همکاران (۱)، که نشان دادند این تغییرات در دو فصل تولیدمثلی و خارج تولیدمثلی اتفاق می‌افتد (۱۳)؛ نشان داده شده است که دام‌های آبستن بعد از ۳۵ روز pH معنادار بالاتری را نسبت به غیرآبستن‌ها داشتند بنابراین جمعیت میکروبی سیستم گوارش عاملی موثر بر سلامت تولیدمثلی در دام‌ها محسوب می‌شود (۱). این pH به واسطه‌ی سلامت میکروبی شکمبه حاصل خواهد شد. این سوال وجود دارد که آیا ممکن است تغییرات میکروبی بر بروز فحلی اثرگذار باشد؟ بر این اساس، در ابتدا باید این تغییرات سنجیده شود تا نتیجه منطقی از آن حاصل شود. در مطالعات مختلف بررسی اثرات متفاوت جمعیت میکروبی در ایجاد (۲۴) و درمان عارضه‌های تولیدمثلی (۲۹) در چندین گونه اثبات شده استنتاج پژوهش‌ها نشان داده است که تغییرات جمعیت میکروبی دستگاه گوارش بر سیستم تولیدمثلی (۲۳،۲۲) و عصبی (۱۱) اثر گذاشته‌اند. هر دو سیستم مذکور نیز در فرآیند فحلی و تخمک‌ریزی دخیل هستند (۱۰).

بنابراین، در این مطالعه هدف اصلی بررسی تغییرات جمعیت میکروبی شکمبه در فصل خارج تولیدمثلی در دوره‌ی فحلی برای دام‌هایی است که بروز فحل دارند و دام‌هایی که این صفت را نشان نمی‌دهند یا انستروس هستند.

مواد و روش‌ها

حیوانات و بررسی فحلی

این پژوهش هم زمان با شروع فصل غیرتولیدمثلی (اواخر بهار- آغاز تیر ماه) انجام شد؛ میش‌ها نژاد کبوده شیراز (۲-۳ ساله) بود. قبل از شروع آزمایش شرایط سلامت دام ابتدا با

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2025-06-07]
[DOR: 20.1001.1.22518622.1402.14.40.6.9]
[DOI: 10.61186/rap.14.40.61]

بررسی شجره و پرسش از گله‌دار بررسی شد؛ سپس دام‌ها توسط دامپزشک نیز مورد معاینه قرار گرفتند. شرایط نگهداری گوسفندان در سیستم نیمه باز در مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی فارس بود و خوراک و آب به صورت مرتب در اختیار آن‌ها قرار گرفت. جیره خاصی جهت افزایش باروری استفاده نشد و جیره دوره نگهداری به دام‌ها داده شد (جدول ۱).

جدول ۱- ترکیبات جیره* مصرفی طی دوره آزمایش در میش‌های کبوده شیرازی با علائم استروس و انستروس
Table 1. Compositions of diet* consumed during the experiment period in Gray Shirazi ewes with estrus and anestrus signs

	اقلام جیره(Diet)	گرم/راس/ روز(gr/head/day)
1	یونجه خشک(dry hay)	200-250
2	سیلو ذرت(corn silage)	300-500
3	کنسانتره(concentrate)	50-70
4	کاه(straw)	250-300

* بر اساس NRC سال ۲۰۰۷ و برای هر راس دام در وزن ۵۰ کیلوگرم

*Based on NRC of 2007 and for each head of livestock weighing 50 kg

هدف از اجرای این آزمایش بررسی تغییرات جمعیت میکروبی مایع شکمبه در چرخه فحلی در دام‌های استروس و انستروس بود. جهت بررسی این مهم دو گروه ۱۰ راسی از دام‌های استروس و انستروس تشکیل شد و هر چهار روز یک بار نمونه مایع شکمبه جهت کشت میکروبی و سایر بررسی‌ها در هر دو گروه جمع‌آوری شد.

شرایط محیطی

در طی این آزمایش، دمای محیط و رطوبت نسبی ثبت شد. تمام حیوانات با طلوع آفتاب در ساعت ۰۶:۳۰ و غروب آفتاب در ساعت ۱۹:۰۰ در زیر نور طبیعی نگهداری شدند. جهت حذف اثر حیوان نر بر بروز فحلی، دام‌ها نر در نزدیکی دام‌های ماده نگهداری شدند؛ به شیوه‌ای که محرک‌های دیداری (Visual) و فرومونی برهم کنش داشته باشند.

تشخیص فحلی

با توجه به میانگین کمینه نشان دادن فحلی حدودا ۱۸ ساعت و بیشنیه ۱۹ روز برای چرخه فحلی (۱۶) از زمان شروع کار در مزرعه برای تعیین دام‌های استروس و انستروس برای هر راس نهایت نوزده روز پیگیری انجام شد. بر اساس ۱۸ ساعت، دام‌ها روزی سه نوبت هر شش ساعت از منظر نشانه‌های بروز فحلی تحت نظر قرار گرفتند. این کار تا زمانی ادامه پیدا کرد که در هر گروه ۱۰ راس دام قرار گیرد. هر ۴ روز یک بار از هر دام که بروز فحلی داشتند تا پایان چرخه بعدی نمونه شکمبه جهت کشت و بررسی جمعیت میکروبی (شمارش تعداد کل میکروارگانیسم‌ها، چهار کلاس از باکتریوم‌های موجود در شکمبه) گرفته شد.

جمع‌آوری نمونه شکمبه

هر ۴ روز یک بار مایع شکمبه از دام‌های فحل جهت کشت میکروبی گرفته شد. بلافاصله پس از جمع‌آوری، نمونه هضمی شکمبه کاملا مخلوط و از ۴ لایه پارچه توری نازک عبور داده شدند (۲۱). نمونه‌ها در ۵ نوبت (روز ۱، ۵، ۹، ۱۳ و ۱۷) از دام‌های استروس و انستروس گرفته شد. این مقدار در هر نوبت برابر ۱۰۰ میلی‌لیتر بود. تمامی نمونه‌ها بعد از بررسی pH برای سنجش‌های بعدی به صورت ذیل آماده شدند.

کشت میکروبی

ابتدا بررسی کلی باکتریوم‌ها، انجام شد؛ سپس کلاس‌بندی مختلف باکتریوم‌ها (تولیدکننده اسیدلاکتیک، پروتئولایتیک، آمیلولایتیک، لیپولایتیک) که فراوان‌ترین هستند شمارش شد. در این پژوهش میکروب‌های بی‌هوازی ارزیابی شدند.

از مایع شکمبه گوسفند، به میزان ۱۰ میلی‌لیتر نمونه برداشته شد و در شرایط سترون به همراه ۹۰ میلی‌لیتر محلول سترون محیط‌کشت پپتون واتر (Peptone water) با دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد مخلوط شد. سپس محلول رویی به‌عنوان رقت 10^{-1} برای تهیه رقت‌های بعدی به طریق رقیق‌سازی سریالی با کمک محیط پپتون واتر تهیه شد. به‌منظور شمارش مجموع ریزجانداران (Microorganisms) بی‌هوازی موجود در مایع شکمبه، یک میلی‌لیتر از رقت‌های مختلف تهیه شد و به وسیله پیپت در داخل ظروف کشت میکروب سترون ریخته شد. بعد از اضافه کردن محیط‌ها ظروف کشت میکروب به‌صورت 8 (۸ انگلیسی) حرکت داده شد تا نمونه و محیط‌کشت کاملا مخلوط شود. سپس ظروف کشت میکروب‌ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. در پایان ۴۸ ساعت، تمامی کلنی‌های رشد کرده در سطح ظروف کشت میکروب شمارش شد.

جهت کشت و تفریق کلنی‌ها، ابتدا از محیط‌کشت عمومی و دارای رشد متفاوت برای کلنی باکتریوم‌های بی‌هوازی مانند: پلیت کانت آگار (Plate count agar)، MRS آگار (de Man-Rogosa-Sharpe) و نشاسته آگار (Starch agar) استفاده شد و برای تفریق کلنی‌ها نیز محیط‌کشت‌های تفریقی یا واکاوی‌های تشخیصی مختلف جهت شناسایی کلنی‌ها انجام گرفت (۲،۳۰).

برای محاسبه جمعیت ریزجانداران بی‌هوازی، یا کلنی‌های باکتریومی سنجش شده و هر میکروب موجود در هر میلی‌لیتر مایع شکمبه از فرمول زیر استفاده شد.

$$N = (\text{Log}_{10}\ CFU) \times D$$

N = جمعیت ریزجانداران بی‌هوازی و هر میکروب موجود در هر میلی‌لیتر مایع شکمبه

CFU = شمار کلنی‌های تشکیل شده در ظرف کشت

D = عکس رقت

به کمک نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۱، واکاوی داده انجام شد. میانگین‌ها با رویه کمینه مربعات و تصحیح برای آزمون توکی مقایسه شدند.

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2025-06-07]
[DOR: 20.1001.1.22518622.1402.14.40.6.9]
[DOI: 10.61186/rap.14.40.61]

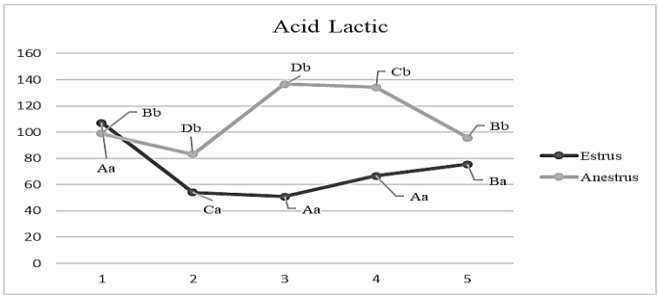
نتایج و بحث

مقایسه میانگین کشت میکروبی

بر اساس جدول شماره ۱، جمعیت کلنی‌های باکتری تولید کننده اسید لاکتیک در گروه استروس بین ۵ زمان مختلف در جمعیت باکتری‌ها تفاوت معنی‌داری وجود داشت به طوری که در زمان ۱ یا روز فحلی مقدار بالاتر و معنادارتری نسبت به سایر زمان‌ها در این گروه مشاهده شد. در زمان ۵ یا همان روز هفدهم جمعیت باکتری‌ها نسبت به زمان‌های ۲، ۳ و ۴ بالاتر و معنادار بود و سپس روز سیزدهم (زمان ۴) از دو زمان ۲ و ۳ بالاتر و این تفاوت معنادار بود. زمان‌های ۲ و ۳ متفاوتی معنی‌داری با یکدیگر نداشتند.

در گروه انستروس در ۵ زمان مختلف تفاوت‌های معنی‌داری مشاهده شد، در روزهای نهم و سیزدهم این مقدار بالاتر از سایر زمان‌ها و تفاوت معنادار بود. روز هفدهم و روز فحلی هم نسبت به روز پنجم تفاوت معنادار و مقدار بالاتری داشت.

تفاوت جمعیت بررسی شده در بین دو گروه در ۵ زمان مختلف نشان داد که جمعیت باکتری‌های تولیدکننده اسیدلاکتیک فقط در روز فحلی مقدار بالاتر و تفاوت معنی‌داری را با سایر زمان‌ها در مقایسه با گروه انستروس نشان دادند (شکل ۱).



شکل ۱- جمعیت باکتری‌های تولیدکننده اسیدلاکتیک در بین دو گروه در ۵ زمان مختلف

* A-C: مقادیر با حروف مشترک در هر نقطه نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی داری در ۰/۰۵ در پنج زمان است.

a-c: مقادیر با حروف مشترک در هر نقطه نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی داری در ۰/۰۵ در دو فصل است.

Figure 1. Population of lactic acid producing bacteria between the two groups at 5 different times

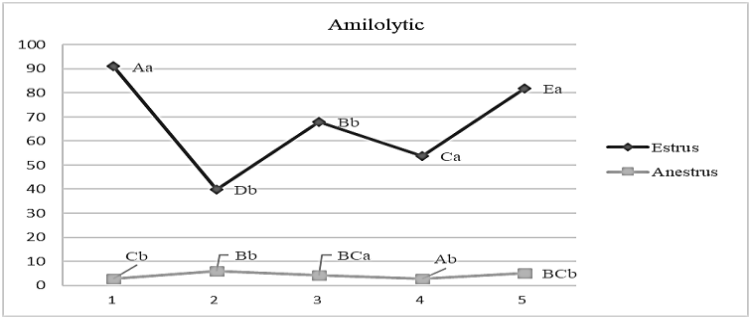
* A-C: Values with common letters in each point indicate no significant difference at 0.05 in the five times.

a-c: Values with common letters in each point indicate no significant difference at 0.05 in the two seasons.

مقایسه جمعیت کلنی‌های آمیلولایتیک در گروه استروس نشان داد روز فحلی دارای مقادیر بالاتری از این نوع باکتری است و این تفاوت نسبت به سایر گروه‌ها معنادار بود. در روز نهم از چرخه فحلی این جمعیت نسبت به روزهای ۵، ۱۳ و ۱۷ بالاتر و معنادار نیز بود. همچنین روز سیزدهم نسبت به روزهای ۵ و۱۷ بالاتر و معنادار بود و در نهایت روز ۵ نسبت به روز ۱۷ دارای جمعیت بالاتری از باکتری‌های آمیلولایتیک بود و این تفاوت در سطح ۵ درصد معنادار بود. در بین ۵ زمان موورد مطالعه بالاترین مقدار جمعیت در گروه استروس مربوط به روز فحلی و پایین‌ترین مقدار جمعیت مربوط به روز ۱۷ از چرخه فحلی بود.

جمعیت باکتری‌های آمیلولایتیک در گروه انستروس در روز ۱۳ بالاترین مقدار نسبت به سایر روزهای چرخه بود و این تفاوت معنی‌داری بود. روز ۵ تفاوت معنادار و مقدار بالاتری نسبت به روز فحلی داشت، اما در ارتباط با روزهای ۱۳ و ۱۷ تفاوت معنی‌داری نداشت؛ و روز فحلی نیز تفاوت معنی‌داری با این روز (۱۳ و ۱۷) نداشت.

مقایسه دو گروه استروس و انستروس در دو گروه نشان داد که روزهای فحلی، سیزدهم و هفدهم دارای مقادیر بالاتری نسبت به سایر زمان‌ها هستند (شکل ۲).



شکل ۲- جمعیت باکتری‌های آمیلولایتیک در بین دو گروه در ۵ زمان مختلف

* A-C: مقادیر با حروف مشترک در هر نقطه نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی داری در ۰/۰۵ در پنج زمان است.

a-c: مقادیر با حروف مشترک در هر نقطه نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی داری در ۰/۰۵ در دو فصل است.

Figure 2. Population of the amylolytic bacteria between the two groups at 5 different times

* A-C: Values with common letters in each point indicate no significant difference at 0.05 in the five times.

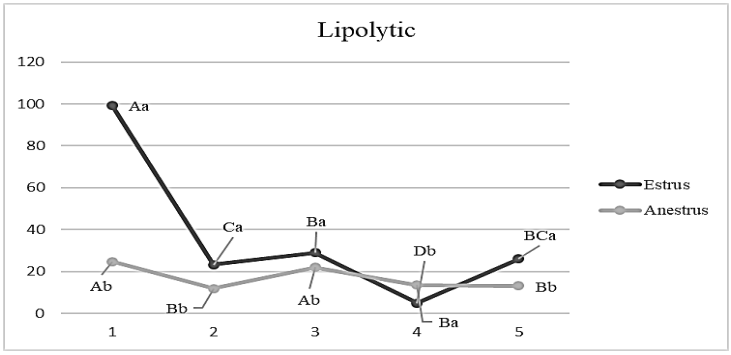
a-c: Values with common letters in each point indicate no significant difference at 0.05 in the two seasons.

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2025-06-07]
[DOR: 20.1001.1.22518622.1402.14.40.6.9]
[DOI: 10.61186/rap.14.40.61]

باکتری‌های لیپولایتیک در زمان‌های مختلف چرخه فحلی در گروه استروس روز فحلی جمعیت بالاتر و معنی‌داری نسبت به سایر روزها نشان داد. روز نهم از این چرخه نسبت به روزهای ۵ و ۱۳ جمعیت باکتری لیپولایتیک بالاتری نشان داد و این تفاوت نیز معنادار بود. روز ۱۷ نسبتت به روز ۱۳ تفاوت معنادار و مقدار بالاتری داشت، اما در ارتباط با روزهای ۵ و ۹ تفاوت معنی‌داری نداشت. روز ۱۳ نسبت به سایر روزها تفاوت معنی‌داری داشت.

در گروه انستروس، جمعیت باکتری‌های لیپولایتیک روزهای فحلی و روز نهم مقدار بالاتری نسبت به سایر گروه‌ها داشتند و این تفاوت معنادار بود. سایر روزها نسبت به یکدیگر تفاوت معنی‌داری نداشتند.

جمعیت باکتری‌های لیپولایتیک در دو گروه استروس و انستروس در ۵ زمان مورد مطالعه نشان داد گروه استروس در ۴ زمان یعنی روزهای فحلی، ۵، ۶ و ۱۷ مقدار بالاتر و معنی‌داری نسبت به گروه انستروس دارد. روز سیزدهم مقدار جمعیت پایین‌تری در گروه استروس نسبت به انستروس داشت و تفاوت آن‌ها نیز معنی‌داری بود (شکل ۳).



شکل ۳- جمعیت باکتری‌های لیپولایتیک در بین دو گروه در ۵ زمان مختلف

* A-C: مقادیر با حروف مشترک در هر نقطه نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌داری در ۰/۰۵ در پنج زمان است.

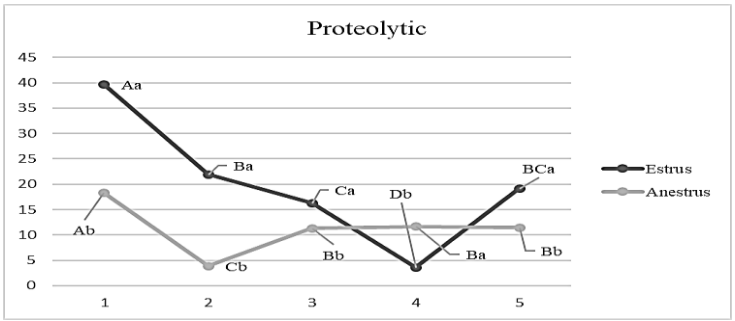
a-c: مقادیر با حروف مشترک در هر نقطه نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌داری در ۰/۰۵ در دو فصل است.

Figure 3. Population of the lipolytic bacteria between the two groups at 5 different times

* A-C: Values with common letters in each point indicate no significant difference at 0.05 in the five times.

a-c: Values with common letters in each point indicate no significant difference at 0.05 in the two seasons.

مقایسه جمعیت باکتری‌های پروتیولاتیک در گروه استروس در ۵ زمان مورد مطالعه نشان داد، روز فحلی داری بالاترین مقدار نسبت به سایر گروه‌ها بود و این تفاوت معنادار نیز بود. روز ۱۷ از چرخه نشان داد نسبت به روز ۱۳ دارای جمعیت بالاتر و معنی‌داری است. همچنین روز ۵ نسبت به روزهای ۹ و ۱۳، و روز ۹ نسبت به روز ۱۳ جمعیت بالاتر و تفاوت معنی داری داشتند. روز ۱۳ کم‌ترین مقدار را نسبت به سایر روزها داشت. در گروه انستروس در جمعیت باکتری‌های پروتیولایتیک روز فحلی مقدار بالا و معنی‌داری داشت و روزهای ۹، ۱۳ و ۱۷ نسبت به روز ۵ مقدار بالاتر و معنی‌داری در سطح ۵ درصد داشتند. روز ۵ کم‌ترین جمعیت را نسبت به سایر روزها داشت. در مقایسه دو گروه استروس و انستروس؛ گروه استروس در ۴ زمان یعنی روزهای فحلی، ۵، ۶ و ۱۷ مقدار بالاتر و معنی‌داری نسبت به گروه انستروس داشت. روز سیزدهم مقدار جمعیت پایین‌تری در گروه استروس نسبت به انستروس داشت و تفاوت آن‌ها نیز معنی‌داری بود (شکل ۴).



شکل ۴- جمعیت باکتری‌های پروتئولایتیک در بین دو گروه در ۵ زمان مختلف

* A-C: مقادیر با حروف مشترک در هر نقطه نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌داری در ۰/۰۵ در پنج زمان است.

a-c: مقادیر با حروف مشترک در هر نقطه نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌داری در ۰/۰۵ در دو فصل است.

Figure 4. Population of Proteolytic bacteria between the two groups at 5 different times

* A-C: Values with common letters in each point indicate no significant difference at 0.05 in the five times.

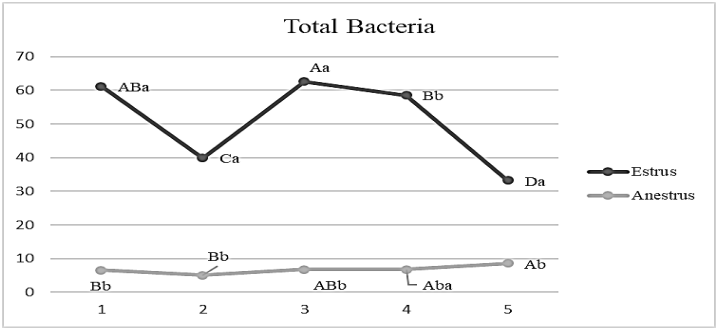
a-c: Values with common letters in each point indicate no significant difference at 0.05 in the two seasons.

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2025-06-07]
[DOR: 20.1001.1.22518622.1402.14.40.6.9]
[DOI: 10.61186/rap.14.40.61]

جمعیت باکتری کل در ۵ زمان مختلف چرخه فحلی مورد مقایسه قرار گرفت. در گروه استروس در این ۵ زمان نشان داده شد که روز ۹ با روزهای ۵، ۱۳ و ۱۷ مقدار جمعیت باکتری کل بالاتر و معنی‌داری دارند، اما روزهای ۹ و ۱۷ تفاوت معنی‌داری را با یکدیگر نداشتند. روز فحلی با روز ۱۳ تفاوت معنی‌داری نداشت و روزهای ۵ و ۱۷ نیز با بگدیگر در مقدار جمعیت باکتری کل تفاوت معنی‌داری نداشتند.

در گروه انستروس در جمعیت باکتری کل روز ۱۷ مقدار بالاتری از روزهای فحلی و ۵ نشان داد و این تفاوت در سطح ۵ درصد معنادار بود. روزهای فحلی و ۵ نیز تفاوت معنی‌داری با روزهای روزهای ۹ و ۱۳ نداشتند.

جمعیت باکتری کل در دو گروه استروس و انستروس مقایسه شد، این مقایسه نشان داد در تمامی زمان‌ها مقدار جمعیت باکتری کل در گروه استروس بالاتر و معنادار نیز بود (شکل ۵).



شکل ۵- جمعیت باکتری کل در بین دو گروه در ۵ زمان مختلف

* A-C: مقادیر با حروف مشترک در هر نقطه نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌داری در ۰/۰۵ در پنج زمان است.

a-c: مقادیر با حروف مشترک در هر نقطه نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌داری در ۰/۰۵ در دو فصل است.

Figure 5. Population of total bacteria between the two groups at 5 different times

* A-C: Values with common letters in each point indicate no significant difference at 0.05 in the five times.

a-c: Values with common letters in each point indicate no significant difference at 0.05 in the two seasons.

با توجه به نتایج حاصل از مطالعه حاضر، نشان داده شد در روز فحلی فعالیت باکتری‌های آمیلولایتیک افزایش معنی‌داری دارد. این افزایش مطابق با افزایش فعالیت آنزیم آمیلاز در این روز در سایر بافت‌ها است. در مطالعه کاسپرچیک و همکاران (۹)، غلظت سرمی و بافتی آنزیم آمیلاز در ارتباط با چرخه جنسی در رت انجام شده است، محققین مطالعه این گونه می‌پندارند که مقدار این آنزیم در بافت‌ها وابسته به دوره جنسی است. در مطالعه اسکود و همکاران (۱۸)، که بررسی فعالیت آنزیمی آمیلاز را در مجاری تولیدمثلی سنجیده‌اند نیز بیان شد که هیچ فعالیت از آنزیم آمیلاز مطابق با آنچه در بافت دستگاه تناسلی وجود دارد نمی‌تواند در سرم انسان تشخیص داده شود. فعالیت‌های آمیلازی در طول چرخه قاعدگی در انسان در اواسط دوره فحلی به اوج خود می‌رسد (۹). فرآیند بیوشیمیایی درگیر در تولید این آنزیم توسط انسولین تنظیم می‌شود و توسط کلر یا Ca_2 فعال می‌شود. متابولیسم یون کلسیم توسط استروژن‌ها و تنظیم‌کننده‌های ثانویه پروژسترون آلفا هیدروکسیلاز افزایش می‌یابد (۷). این امر حاکی از ارتباط احتمالی و غیرمستقیم بین تغییرات هورمونی، متابولیسم کلسیم و تغییرات احتمالی فعالیت‌های آمیلاز در طول چرخه جنسی است. در نتیجه می‌توان گفت نیاز به این آنزیم در روز فحلی جهت افزایش انرژی مورد نیاز در راستای همیورسیز انرژی به سمت افزایش متابولیت‌های درگیر در فعالیت استروس و تخمک‌گذاری رو به افزایش است. افزایش این باکتری منجر به کاهش تعداد پروتوزآ و ابقای نیتروژن شکمبه و تسهیل تولید پروتیین میکروبی شده و منجر به بهبود شرایط متابولیکی در پاسخ به نیازهای این روز خاص خواهد شد (۱۵). از این رو می‌توان گفت با توجه به مطالعات انجام شده بالاخص مطالعه کاسپرچیک و همکاران (۹)، که میزان آنزیم آمیلاز را در بافت‌های مختلف در مقایسه با سرم سنجیده‌اند افزایش این آنزیم در این دوره یکی از نیازهای فیزیولوژیک بوده و بدن در محیط شکمبه نیز شرایط را به سمتی سوق می‌دهد که در این روز افزایش معنادار آن در میش‌ها نیز دیده شد. یکی از دلایل احتمالی افزایش این آنزیم افزایش غلظت استروژن است که در روز فحلی به بالاترین مقدار خود می‌رسد (۹).

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2025-06-07]
[DOR: 20.1001.1.22518622.1402.14.40.6.9]
[DOI: 10.61186/rap.14.40.61]

جدول ۲- مقایسه جمعیت کلنی‌های مورد مطالعه در فصل خارج تولید مثلی در دو گروه با علائم استروس و انستروس در ۵ زمان مختلف در میش‌های کبوده شیرازی

Table 2. Comparison of the population of the studied colonies in non-breeding season in two groups with estrus and anestrus signs in 5 different times in Grey Shirazi ewes

		استروس(Estrus)	انستروس(Anestrus)
تولیدکننده اسیدلاکتیک Lactic acid producer	1	107.0 ^{Aa*}	99.0 ^{Bb}
	2	54.05 ^{Db}	83.15 ^{Ca}
	3	50.95 ^{Db}	136.70 ^{Aa}
	4	66.80 ^{Cb}	134.25 ^{Aa}
	5	75.65 ^{Bb}	95.75 ^{Ba}
SEM		4.37	8.53
p-value		0.00	0.00
آمیلولایتیک Amylolytic			
	1	91.05 ^{Aa}	2.85 ^{Cb}
	2	39.80 ^{Db}	5.95 ^{Ba}
	3	67.90 ^{Bb}	4.20 ^{BCa}
	4	53.75 ^{Ca}	2.67 ^{Ab}
	5	18.8 ^{Ea}	5.20 ^{BCb}
SEM		3.74	2.61
p-value		0.00	0.00
لیپولایتیک Lipolytic			
	1	99.35 ^{Aa}	24.80 ^{Ab}
	2	23.25 ^{Ca}	11.95 ^{Bb}
	3	28.95 ^{Ba}	22.05 ^{Ab}
	4	4.85 ^{Db}	13.60 ^{Ba}
	5	26.05 ^{BCa}	13.15 ^{Bb}
SEM		3.32	3.07
p-value		0.00	0.00
پروتیولایتیک Proteolytic			
	1	39.65 ^{Aa}	18.25 ^{Ab}
	2	21.95 ^{Ba}	3.90 ^{Cb}
	3	16.30 ^{Ca}	11.30 ^{Bb}
	4	3.60 ^{Db}	11.65 ^{Ba}
	5	19.20 ^{BCa}	11.44 ^{Bb}
SEM		3.30	2.98
p-value		0.00	0.00
باکتری کل Total bacteria			
	1	61.25 ^{ABa}	6.50 ^{Bb}
	2	39.9 ^{Ca}	5.0 ^{Bb}
	3	62.60 ^{Aa}	6.75 ^{ABb}
	4	58.55 ^{Ba}	6.75 ^{ABb}
	5	32.20 ^{Da}	8.55 ^{Ab}
SEM		3.84	1.90
p-value		0.00	0.00

*حروف مشترک در هر ستون نشان دهنده عدم تفاوت معنی داری است.

* Common letters in each column indicate no significant difference.

در ادامه نتایج نشان داد که باکتری‌ها لیپولاتیک در روز فحلی نسبت به تمامی روزها در هر دو گروه بالاتر بوده و دارای تفاوت معنی‌داری نیز هست. جمعیت این نوع باکتری در راستای هر چه بیشتر آزاد کردن ذخایر چربی در این روز رو به افزایش است. در روز فحلی نیاز به انرژی رو افزایش است؛ همچنین نیاز به تمامی منابع خوراکی مهم در این دوره بالا است (۲۶). نشان داده شده است که مقدار آنزیم لیپاز در شیر و خون گاوهای شیری در دوره استروس تنها در روز فحلی بالا بوده و در سایر روزها مقدار بالایی به نسبت روز فحلی نداشته است (۶) که نشان از نقش و اهمیت سوخت و ساز چربی‌ها در این دوره دارد. احتمالا افزایش این آنزیم در گرو افزایش کلنی‌های باکتریایی حاصل از شکمبه است که نیاز به برررسی‌های آتی دارد.

جمعیت میکروبی شکمبه از اهمیت زیادی برای تخمیر شکمبه و تولید انرژی در راستای تحریک و القای تخمک‌ریزی برخوردار است (۲۰). افزایش تعداد گروه‌های خاصی از باکتری‌ها، مانند تعداد باکتری‌های آمیلولیتیک و پروتئولیتیک و ممکن است سبب تسریع در بازیافت نیتروژن باکتریایی شکمبه شود (۱۵) و در نتیجه منجر به افزایش غلظت NH_3 شکمبه‌ای شود. بنابراین، تخریب پروتیین و کربوهیدرات‌های غذایی تسهیل می‌شود و در نتیجه غلظت‌های بالاتر آمونیاک و زنجیره کربن افزایش یافته و سنتز پروتیین میکروبی، که مسئول تکثیر باکتری‌های آمیلولیتیکی، پروتئولیتیکی و در نهایت کل باکتری‌های در شکمبه است را تسریع می‌کند (۸).

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2025-06-07]
[DOR: 20.1001.1.22518622.1402.14.40.6.9]
[DOI: 10.61186/rap.14.40.61]

به طور کلی باکتری‌های بی هوازی در روزهای خاصی از فحلی دارای افزایش شایان توجهی نسبت به گروه انستروس داشتند. ثابت شده است افزایش کارآرایی میکروبی سیستم گوراش توان اثرگذاری بر سیستم تولیدمثلی با افزایش انرژی در دسترس و حتی افزایش در میزان تخمک‌گذاری را مخصوصا در نشخوارکنندگان کوچک (گوسفندان) دارد (۱۹).

شناخت میکروبیوم شکمبه و ارتباط آن با خود نشخوارکننده برای تولید محصولات با کیفیت، افزایش سودآوری و کاهش اثرات زیست محیطی مهم است (۱۲). شناسایی مسیرهای متابولیکی خاص و تحقیقات بیشتر در مورد این مسیرها ممکن است بهترین جیره را برای نشخوارکنندگان به منظور به حداقل رساندن اتلاف انرژی، کاهش تولید متان و افزایش کارایی استفاده از نیتروژن تعیین کند. بررسی میکروبیوم شکمبه می‌تواند اثرات رژیم غذایی بر میکروبیوم و به نوبه خود اثرات آن بر تولیدات دامی و تولیدمثل را شناسایی کند. ترکیب پروتیین‌های موجود در شیر می‌تواند تأثیر عمیقی بر فرآیند رشد بره داشته باشد. بنابراین، شناسایی مسیرهایی که ممکن است بر ترکیب جمعیت میکروبی تأثیر بگذارد و فرآیندپذیری را بهبود بخشد، مهم است (۳). از این رو لازم است ابتدا به خوبی تغییراتی که در چرخه فحلی در میش‌ها اتفاق می‌افتد به خوبی شناسایی شود.

نتیجه‌گیری کلی

این پژوهش نشان داد کلنی باکتری‌های آمیلولیتیکی، لیپولیتیکی و کل کلنی‌های حاصل از باکتری‌های بی‌هوازی در گروه استروس تفاوت معنی‌داری نسبت به گروه انستروس داشتند.

در مطالعات پیش‌رو بهتر است تا پارامترهای بیشتری مانند تغییرات هورمونی همراه با کشت میکروبی در دوره فحلی سنجیده شوند، تا شاید بتوان راه‌کار مناسبی را برای نوع درمان و یا هم‌زمان سازی فحلی در دام ا ارائه داد.

منابع

1. Antanaitis, R., V. Juozaitienė, D. Malašauskienė and M. Televičius. 2020. Inline reticulorumen pH as an indicator of cows reproduction and health status. Sensors, 20(4): 10-22.
2. Carrazco-Palafox, J.B., E. Rivera-Chavira, N. Ramírez-Baca, L. I. Manzanares-Papayanopoulos and G. V. Nevárez-Moorillón. 2018. Improved method for qualitative screening of lipolytic bacterial strains. MethodsX, 5(1): 68-74.
3. Clemmons, B.A., B.H. Voy and P.R. Myer. 2019. Altering the gut microbiome of cattle: considerations of host-microbiome interactions for persistent microbiome manipulation. Microbial ecology, 77: 523-536.
4. Daghigh Kia H. and B. Rehbar. 2013. The effect of different sources of fat in the flushing ration on reproductive performance, metabolites and blood hormones of goat sheep, Animal Science Research (Agricultural Knowledge), 22(2): 160-147 (In persian)
5. Deng, F., M. McClure, R. Rorie, X. Wang, J. Chai, X. Wei and J. Zhao. 2019. The vaginal and fecal microbiomes are related to pregnancy status in beef heifers. Journal of Animal Science and Biotechnology, 10(1): 1-13.
6. Ghorbani, G.R., D.P. Morgavi, K.A. Beauchemin and J.A.Z. Leedle. 2002. Effects of bacterial direct-fed microbials on ruminal fermentation, blood variables, and the microbial populations of feedlot cattle. Journal of Animal Science, 80: 1977-1985.
7. Granner, D. Hormones of the pancreas and gastrointestinal tract. 1993. In: Murray R, Granner D, Mayes P, Rodwell V (eds). HarperÕs Biochemistry, 558-568 pp, Appleton & Lange, Norwalk.
8. Hess, B.W., S.L. Lake, E.J. Scholljegerdes, T.R. Weston, V. Nayigihugu, J.D.C. Molle and G.E. Moss. 2005. Nutritional controls of beef cow reproduction. Journal of Animal cience, 83(suppl_13): E90-E106.
9. Kasperczyk, J. 2001. NMR investigation of biodegradable polyesters for medical applications. In Macromolecular Symposia, Vol. 175, No. 1, pp. 19-32., Weinheim, WILEY-VCH Verlag GmbH.
10. Laserna-Mendieta, E.J., A.G. Clooney, J.F. Carretero-Gomez, C. Moran, D. Sheehan, J. A. Nolan and F. Shanahan. 2018. Determinants of reduced genetic capacity for butyrate synthesis by the gut microbiome in Crohn's disease and ulcerative colitis. Journal of Crohn's and Colitis, 12(2): 204-216.
11. Magalhães, L.C., E.S. Lopes Júnior, A.D.S. Leite Guimarães, M.D.S. Miranda, T.T.D.S. Souza, A.P. O. do Monte, and M.F. Cordeiro. 2019. Comparison between day 0 and traditional protocols for estrus synchronization and multiple ovulation in crossbred hair sheep. Journal of Applied Animal Research, 47(1): 560-564.
12. Matthews, C., F. Crispie, E. Lewis, M. Reid, P. W. O'Toole and P.D. Cotter. 2019. The rumen microbiome: a crucial consideration when optimising milk and meat production and nitrogen utilisation efficiency. Gut microbes, 10(2): 115-132.
13. McEwan, N.R., L. Abecia, M. Regensbogenova, C.L. Adam, P. Findlay and C.J. Newbold. 2005. Rumen microbial population dynamics in response to photoperiod. Letters in Applied Microbiology, 41(1): 97-101.
14. Nottle, M.B., P.I. Hynd, R.F. Seamark and B.P. Setchell. 1988. Increases in ovulation rate in lupin-fed ewes are initiated by increases in protein digested post-ruminally. Journal of Reproduction and Fertility, 84, 563-566.
15. Omar, A., H. Gharib and E. Said. 2019. Effect of feeding different concentrate roughage ratio on growth, reproductive performance and behavior of sheep. Slovenian Veterinary Research, 56(22-Suppl).
16. Senger, P. 2005. Pathways to Pregnancy and Parturition. (2nd ed). Pullman, Washington 99164-6332 USA. Current Conception, Inc.

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2025-06-07]
[DOR: 20.1001.1.22518622.1402.14.40.6.9]
[DOI: 10.61186/rap.14.40.61]

17. Seo, J.K., S.W. Kim, M.H. Kim, S.D. Upadhaya, D.K. Kam and J.K. Ha. 2010. Direct-fed microbials for ruminant animals. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences, 23(12): 1657-1667.
18. Skude, A., P. Mardh and L. Westrorn. 1976. Amylases of the genital tract. I. Isoamylases of genital tract tissue homogenates and peritoneal fluid. American Journal of Obstetrics & Gynecology 126: 652-656
19. Stewart R. 1986. Feeding lupins to ewes for four days during the luteal phase can increase ovulation rate. Animal production in Australia, 16:367-9.
20. Sun, P., J.Q. Wang and L.F. Deng. 2013. Effects of Bacillus subtilis natto on milk roduction, rumen fermentation and ruminal microbiome of dairy cows. Animal: an International Journal of Animal Bioscience, 7(2): 216.
21. Tapio, I., K.J. Shingfield, N. McKain, A. Bonin, D. Fischer, A.R. Bayat and R.J. Wallace. 2016. Oral samples as non-invasive proxies for assessing the composition of the rumen microbial community. PloS One, 11(3): 1-15.
22. Tilbrook, A.J., A.I. Turner and I.J. Clarke. 2000. Effects of stress on reproduction in non-rodent mammals: The role of glucocorticoids and sex differences. Reviews of Reproduction, 5(2): 105–113.
23. Viau, V. 2002. Functional cross-talk between the hypothalamic-pituitary-gonadal and adrenal–axes. Journal of neuroendocrinology, 14(6): 506-513.
24. Vrieze, A., E. Van Nood, F. Holleman, J. Salojärvi, R. S. Kootte, J. F. Bartelsman and R. Oozeer. 2012. Transfer of intestinal microbiota from lean donors increases insulin sensitivity in individuals with metabolic syndrome. Gastroenterology, 143(4): 913-916.
25. Wanapat, M., N. Nontaso, C. Yuangklang, S. Wora-Anu, A. Ngarmsang, C. Wachirapakorn and P. Rowlinson. 2003. Comparative study between swamp buffalo and native cattle in feed digestibility and potential transfer of buffalo rumen digesta into cattle. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences, 16(4): 504-510.
26. Wells, M.E., O.P. Pryor, D.M. Haggerty, H.C. Pickett and J.B. Mickle. 1969. Effect of estrous cycle and lactation on lipase activity in bovine milk and blood. Journal of dairy science, 52(7): 1110-1113.
27. Williams, S.A., D. Blache, G.B. Martin, R. Foot, M.A. Blackberry and R.J. Scaramuzzi. 2001. Effect of nutritional supplementation on quantities of glucose transporters 1 and 4 in sheep granulosa and theca cells. Reproduction, 122(6): 947-956.
28. Yaro, M., K.E. Banson and E.K. Dagbui. 2012. Reproductive performance of pregnant Sahelian-Djallonke crossbreed gimmers on grazing condition strategic supplementation laced with probiotic. Conference: Ghana Animal Science Association (GASA) Biennial Conference 2012: Enhancing National Food Security: Progress and Challenges of Sustainable Animal Agriculture. At:CSIR-Animal Research Institute, Katamanso station (off Adenta-Dodowa road), Accra.
29. Yatsunenko, T., F.E. Rey, M.J. Manary, I. Trehan and M.G. Dominguez-Bello, M. Contreras and A. P. Anokhin. 2012. Human gut microbiome viewed across age and geography. Nature, 486(7402): 222-227.
30. Yazdanpanah, G., A. Gulshan Tafti, H. Prophetedoost and M. Fuladi. 2016. Investigating the technological characteristics of lactobacillus isolates isolated from traditional sourdoughs for bread production. Food Industry Research, 27(3): 13-22 (In persian).

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2025-06-07]
[DOR: 20.1001.1.22518622.1402.14.40.6.9]
[DOI: 10.61186/rap.14.40.61]