نشریه پژوهش در نشخوارکنندگان
جلد سوم، شماره سوم، ۱۳۹۴
http://ejrr.gau.ac.ir

اثر اسانس آویشن شیرازی (*Zataria multiflora*) بر فرآسنجه‌های تخمیر شکمبه‌ای در جیره‌های حاوی منابع مختلف نشاسته و چربی با روش تولید گاز

طاهر محمدی‌زاد[۱]، *فرشید فتاح‌نیا[۲]، آرش آذرفر[۳]، علی خطیب جو[۲] و گلنار تاسلی[۲]

[۱]دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد و [۲]استادیار گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه ایلام،
[۳]دانشیار گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه لرستان

تاریخ دریافت: ۹۴/۴/۲۳؛ تاریخ پذیرش: ۹۴/۹/۲۳

چکیده

سابقه و هدف: اثر اسانس‌های گیاهی بر کینتیک تولید گاز و هضم در آزمایش‌های متعدد بررسی شده است اما پژوهش‌های کمتری در مورد اثر متقابل اسانس‌های گیاهی و نوع سوبسترا در جیره پایه انجام شده است. بنابراین مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر اسانس آویشن شیرازی در جیره‌های حاوی منابع مختلف نشاسته (با سرعت تجزیه متفاوت) و جیره‌های حاوی منابع مختلف چربی برکینتیک تولید گاز و فراسنجه‌های هضم و تخمیر شکمبه در شرایط آزمایشگاهی صورت گرفت.

مواد و روش‌ها: تیمارهای آزمایشی در آزمایش اول شامل: ۱- جیره حاوی دانه ذرت، ۲- جیره حاوی دانه گندم و جو، ۳- تیمار اول با مونسین، ۴- تیمار دوم با مونسین، ۵- تیمار اول با اسانس آویشن شیرازی و ۶- تیمار دوم با اسانس آویشن شیرازی و در آزمایش دوم شامل: ۱- جیره حاوی نمک‌های کلسیمی اسیدهای چرب، ۲- جیره حاوی روغن سویا، ۳- تیمار اول با مونسین، ۴- تیمار دوم با مونسین، ۵- تیمار اول با اسانس آویشن شیرازی و ۶- تیمار دوم با اسانس آویشن شیرازی بودند. تولید گاز جیره‌ها، مقادیر pH، نیتروژن آمونیاکی و گوارش‌پذیری ظاهری ماده خشک و گوارش‌پذیری حقیقی ماده آلی اندازه‌گیری گردید. فراسنجه‌های تولید گاز و تخمیر و انرژی قابل متابولیسم برآورد شد.

*نویسنده مسئول: ffatahnia@yahoo.com

یافته‌ها: در هر دو آزمایش اسانس آویشن شیرازی و مونسین باعث کاهش تولید گاز ۲۴ ساعت، پتانسیل تولید گاز، غلظت اسیدهای چرب فرار، نیتروژن آمونیاکی و انرژی قابل متابولیسم جیره‌های آزمایشی در مقایسه با جیره‌های پایه (بدون افزودنی) شدند (P<۰/۰۵). نتایج آزمایش اول نشان داد که اسانس آویشن شیرازی و مونسین باعث کاهش نرخ تولید گاز در ساعت، تولید توده میکروبی، گوارش‌پذیری ظاهری ماده خشک و حقیقی ماده آلی در مقایسه با جیره‌های پایه (بدون افزودنی) شدند (P<۰/۰۵). افزودن اسانس آویشن شیرازی در مقایسه با مونسین تولید گاز ۲۴ ساعت، گوارش‌پذیری ظاهری ماده خشک و حقیقی ماده آلی، غلظت کل اسیدهای چرب فرار، پتانسیل تولید گاز، حداکثر میزان تولید گاز در ساعت را کاهش (P<۰/۰۵) و نیمه عمر تولید گاز و pH مایع شکمبه را افزایش داد (P<۰/۰۵). افزودن اسانس آویشن شیرازی به جیره دارای نشاسته گندم و جو در مقایسه با نشاسته ذرت سبب افزایش تولید گاز، حداکثر میزان تولید گاز، گوارش‌پذیری ماده خشک و ماده آلی و تولید توده میکروبی و کاهش بازده تولید توده میکروبی و pH شد (P<۰/۰۵). نتایج آزمایش دوم نشان داد که اسانس آویشن شیرازی و مونسین باعث کاهش نیمه عمر تولید گاز، حداکثر میزان تولید گاز در ساعت نسبت به جیره‌های پایه (بدون افزودنی) شدند (P<۰/۰۵). افزودن اسانس آویشن شیرازی و مونسین باعث افزایش زمان حداکثر سرعت گاز تولیدی و سرعت تجزیه‌پذیری گردید(P<۰/۰۵). افزودن اسانس آویشن شیرازی در مقایسه با مونسین باعث افزایش تولید گاز ۲۴ ساعت، گوارش‌پذیری ظاهری ماده خشک، غلظت کل اسیدهای چرب فرار، سرعت تجزیه‌پذیری، حداکثر میزان تولید گاز در ساعت و افزایش زمان حداکثر سرعت تجزیه‌پذیری ماده آلی شد (P<۰/۰۵). افزودن اسانس آویشن شیرازی به جیره دارای نمک‌های کلسیمی اسیدهای چرب در مقایسه با روغن سویا بر فراسنجه‌های تولید گاز و تخمیر شکمبه‌ای اثری نداشت (P>۰/۰۵).

نتیجه‌گیری: در کل اسانس آویشن شیرازی فراسنجه های تخمیر و هضم را تغییر داد و اثرآن با توجه به منبع نشاسته در جیره متفاوت بود.

واژه‌های کلیدی: آویشن شیرازی، منبع نشاسته، نوع چربی، کینتیک تولید گاز.

مقدمه

تخمیر مواد خوراکی در شکمبه حیوانات نشخوارکننده به وسیله باکتری‌ها، پروتوزوئرها و قارچ‌های بی‌هوازی انجام می‌شود. فرآورده‌های اصلی تخمیر شامل اسیدهای چرب فرار و پروتئین میکروبی هستند که به ترتیب حدود ۸۰ درصد انرژی (۱۴) و ۶۰ تا ۸۵ درصد پروتئین (۳۱) مورد نیاز حیوانات را تامین می‌کنند. متان و نیتروژن آمونیاکی نیز از دیگر فرآورده‌های تخمیر می‌باشند که باعث اتلاف انرژی و پروتئین، افزایش گازهای گل‌خانه‌ای و آلودگی محیط زیست می‌شوند (۴)، بنابراین متخصصین تغذیه دام به دنبال روش‌هایی برای دستکاری فرآیندهای تخمیری شکمبه به منظور کاهش تولید متان و نیتروژن آمونیاکی، افزایش سنتز پروتئین میکروبی و افزایش هضم الیاف در شکمبه بوده‌اند. برای این منظور از افزودنی‌های متعددی مانند اسیدهای آلی، مخمرها، آنزیم‌ها، بافرها و آنتی‌بیوتیک‌ها استفاده شده است (۱۰). با وجود این‌که سودمندی آنتی‌بیوتیک‌ها در تغذیه نشخوارکنندگان به طور گسترده مشخص شده است اما به دلیل احتمال انتقال باقی‌مانده آنتی‌بیوتیک‌ها به شیر و گوشت و ایجاد مقاومت آنتی‌بیوتیکی در انسان، استفاده از آنها در جیره را با مشکل مواجه کرده است. تلاش‌های زیادی برای شناسایی ترکیبات جایگزین آنتی‌بیوتیک‌ها برای استفاده در جیره دام‌ها شده است (۳۲). گیاهان تعداد زیادی از ترکیبات ثانویه را برای محافظت در برابر میکروب‌ها و حمله حشرات تولید می‌کنند. بعضی از این ترکیبات سمی هستند اما از بعضی از آنها مانند اسانس‌ها، ساپونین‌ها و تانن‌ها می‌توان برای دستکاری هضم و تخمیر در دستگاه گوارش نشخوارکنندگان استفاده کرد. این ترکیبات می‌توانند تخمیر شکمبه را در جهت بهبود استفاده از مواد غذایی تعدیل کنند (۳۳). اسانس‌ها دارای فعالیت ضدمیکروبی علیه دامنه گسترده‌ای از میکروارگانیسم‌ها شامل باکتری‌ها، پروتوزوئرها و قارچ‌ها هستند. معمولاً اسانس‌ها خواص ضدمیکروبی خود را با اثر بر غشاء میکروب‌ها اعمال می‌کنند. این ترکیبات با داشتن خاصیت آب‌گریز و میل ترکیبی بالا با آسیب زدن به پروتئین‌ها باعث افزایش نفوذپذیری غشاء و خروج مواد درون سلولی می‌شوند (۵). تحقیقات زیادی در ارتباط با اثر اسانس‌های گیاهی به عنوان مواد افزودنی طبیعی برای بهبود تخمیر شکمبه مانند افزایش تولید اسیدهای چرب فرار، کاهش تولید متان، بهبود متابولیسم پروتئین و افزایش بازده استفاده از خوراک انجام شده است (۵) و عوامل متعددی از قبیل نوع اسانس، غلظت ماده موثره، نوع جیره تغذیه شده به حیوان نشخوارکننده و pH مایع شکمبه اثر اسانس‌های گیاهی برای تغییر فرآیندهای تخمیری شکمبه را

تحت تاثیر قرار می‌دهند (۳۲ و۳۷). آویشن شیرازی[1] گیاهی از خانواده لابیاته[2] است که در بیشتر مناطق ایران وجود دارد و عمدتا به عنوان گیاه دارویی و ادویه استفاده می‌شود (۱۹). اسانس آویشن شیرازی دارای اثرات مهاری قوی علیه بعضی از باکتری‌ها و قارچ‌های بیماری‌زا است (۱). از مهم‌ترین ترکیبات فعال آویشن شیرازی می‌توان پاراسیمن[3]، کارواکرول[4] و تیمول[5] را نام برد (۳۹) که بر تخمیر شکمبه اثر دارند. استفاده از کارواکرول و تیمول در آزمایش‌های برون‌تنی باعث کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی شد (۸،۱۲) که نشان از اثر بازدارندگی بر فعالیت آمین‌زدایی باکتری‌های شکمبه می‌باشد. هم‌چنین پژوهش‌های برون‌تنی نشان داد که تیمول غلظت کل اسیدهای چرب فرار را کاهش و از طریق افزایش استات و کاهش پروپیونات باعث تغییر نسبت اسیدهای چرب فرار شد (۱۲). نشاسته دانه‌های غلات بخش اصلی کربوهیدرات‌های غیرالیافی و مهم‌ترین منبع انرژی در جیره نشخوارکنندگان را تشکیل می‌دهد (۳۴) و میزان تجزیه‌پذیری نشاسته در منابع مختلف با هم متفاوت می‌باشد (۳۰). با توجه به این که سرعت و میزان تخمیر کربوهیدرات‌های جیره (به ویژه نشاسته) در شکمبه از مهم‌ترین عواملی است که تأمین مواد مغذی برای حیوان را تحت تأثیر قرار می‌دهد (۱۷). از طرفی چربی‌ها نیز یکی از منابع مهم انرژی در جیره گاوهای شیرده و دام‌های پرواری هستند، اما استفاده از مکمل چربی در جیره نشخوارکنندگان معمولا بر فرآیندهای تخمیری شکمبه اثر منفی دارد. شدت اثرات منفی مکمل‌های چربی بر تخمیر شکمبه به عواملی از قبیل غلظت اسیدهای چرب غیراشباع، شکل یا نوع مکمل چربی (دانه‌های کامل روغنی، روغن آزاد، نمک‌های کلسیمی اسیدهای چرب و...) درجه غیراشباع بودن اسیدهای چرب، آنتی‌بیوتیک‌های یونوفری، نسبت کنسانتره به علوفه و pH شکمبه بستگی دارد (۲۱). لذا هدف اول از انجام این مطالعه بررسی اثر اسانس آویشن شیرازی در جیره‌های با سرعت متفاوت تجزیه نشاسته (دانه ذرت یا دانه گندم و جو) و منابع مختلف چربی (نمک‌های کلسیمی اسیدهای چرب یا روغن سویا) برکینتیک تولید گاز و فراسنجه‌های تخمیر شکمبه بود. چون پژوهش‌های محدودی اثر متقابل اسانس‌ها با نوع مواد خوراکی جیره را بررسی کرده‌اند. همچنین از آنجا که مونسین یکی از مهم‌ترین آنتی‌بیوتیک‌های یونوفوری است که اغلب به منظور

1. *Zataria multiflora*
2. Labiatai
3. *p*-cymene
4. Carvacrol
5. Thymol

دستکاری تخمیر در جیره نشخوارکنندگان استفاده می‌شود، بنابراین هدف دوم پژوهش حاضر مقایسه اثر اسانس آویشن شیرازی با مونسین بود.

مواد و روش‌ها

تیمارهای آزمایشی و مشخصات اسانس آویشن شیرازی: این پژوهش در آزمایشگاه تغذیه دام گروه علوم دامی دانشگاه ایلام و در قالب دو آزمایش انجام شد. در آزمایش اول اثر اسانس آویشن شیرازی در جیره‌های حاوی دانه ذرت (نشاسته با سرعت تخمیر کند) یا دانه گندم و جو (نشاسته با سرعت تخمیرسریع) و در آزمایش دوم اثر اسانس آویشن شیرازی در جیره‌های حاوی نمک‌های کلسیمی اسیدهای چرب (مکمل چربی خنثی در شکمبه) یا روغن سویا (مکمل چربی فعال در شکمبه) بررسی شد. لازم به ذکر است که در هر دو آزمایش از مونسین به عنوان کنترل مثبت استفاده شد. تیمارهای آزمایشی در آزمایش اول شامل: ۱- جیره حاوی دانه ذرت، ۲- جیره حاوی دانه گندم و جو، ۳- جیره حاوی دانه ذرت و ۲۴ میلی‌گرم مونسین در هر کیلوگرم ماده‌خشک، ۴- جیره حاوی دانه گندم و جو و ۲۴ میلی‌گرم مونسین در هر کیلوگرم ماده‌خشک، ۵- جیره حاوی دانه ذرت و ۱۰۰ میلی‌گرم اسانس آویشن شیرازی و ۶- جیره حاوی دانه گندم و جو و ۱۰۰ میلی‌گرم اسانس آویشن شیرازی و در آزمایش دوم شامل: ۱- جیره حاوی نمک‌های کلسیمی اسیدهای چرب، ۲- جیره حاوی روغن سویا، ۳- جیره حاوی نمک‌های کلسیمی اسیدهای چرب و ۲۴ میلی‌گرم مونسین در هر کیلوگرم ماده‌خشک جیره، ۴- جیره حاوی روغن سویا و ۲۴ میلی‌گرم مونسین در هر کیلوگرم ماده‌خشک جیره، ۵- جیره حاوی نمک‌های کلسیمی اسیدهای چرب و ۱۰۰ میلی‌گرم اسانس آویشن شیرازی و ۶- جیره حاوی روغن سویا و ۱۰۰ میلی‌گرم اسانس آویشن شیرازی بودند. جدول ۱ مواد خوراکی و ترکیبات شیمیایی جیره‌های پایه هر دو آزمایش را نشان می‌دهد. این جیره‌ها برای بره‌های پرواری و بر اساس جداول پژوهش‌های ملی کشور آمریکا (۱۹۸۵) متعادل شدند. نسبت علوفه به کنسانتره در تمام جیره‌ها ۳۰ به ۷۰ بود. برای افزودن مونسین به جیره از مکمل رومنسین ۱۰ درصد استفاده شد. اسانس آویشن شیرازی از شرکت گیاه اسانس گلستان تهیه شد و بر اساس آنالیز انجام شده توسط شرکت، ترکیبات فعال اصلی آن شامل کارواکرول، گاما ترپینن، آلفا پینن، کافور، تیمول و سینئول بودند که به ترتیب ۲۵/۲۸، ۳۲/۰۴، ۷/۷۶، ۷/۱۴، ۳/۵۸ و ۲/۵۶ درصد از کل ترکیبات فعال آن را تشکیل دادند.

تجزیه شیمیایی مواد خوراکی و بقایای انکوباسیون شکمبه: برای تجزیه شیمیایی ابتدا نمونه‌های مواد خوراکی به قطعات ۲ میلی‌متری آسیاب شدند. خاکستر، ماده خشک، ماده آلی، پروتئین خام، چربی خام و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی با استفاده از روش‌های متداول (۲) اندازه‌گیری شد. الیاف نا محلول در شوینده خنثی با روش ون‌سوست و همکاران (۱۹۹۱) اندازه‌گیری شد. مقدار کربوهیدرات‌های غیرالیافی نمونه‌ها بر اساس فرمول پیشنهاد شده پژوهش‌های ملی کشور آمریکا (۲۰۰۱) محاسبه شد (۲۸):

(درصد الیاف نا محلول در شوینده خنثی+ درصد پروتئین خام+ درصد چربی خام+ درصد خاکستر)- ۱۰۰

آزمایش تولید گاز: از۳ رأس بره نر کردی دارای فیستولای شکمبه با متوسط وزن زنده ۳± ۴۵ کیلوگرم برای جمع‌آوری شیرابه شکمبه استفاده شد. بره‌ها در ساعت ۸ صبح و ۶ عصر با جیره حاوی۴۰ درصد علوفه خشک یونجه، ۱۰ درصد کاه گندم، ۲۵ درصد دانه جو، ۱۲ درصد کنجاله سویا، ۱۰ درصد سبوس گندم و ۳ درصد مکمل مواد معدنی و ویتامین به صورت کاملا مخلوط شده تغذیه شدند. قبل از خوراک نوبت صبح شیرابه شکمبه از هر سه بره جمع‌آوری و با هم مخلوط شدند. سپس با ۴ لایه پارچه از جنس کتان صاف شدند و درون یک فلاسک که از قبل با آب ۳۹ درجه سانتی‌گراد پر شده بود، ریخته شدند و بلافاصله به آزمایشگاه منتقل شدند. آزمون تولید گاز بر اساس روش منک و استینگاس (۱۹۸۷) انجام شد. مقدار ۲۰۰ میلی‌گرم از هر کدام از جیره‌های آزمایشی (به ابعاد یک میلی‌متری آسیاب شدند) و ۳۰ میلی‌لیتر محلول مایع شکمبه-بافر به درون ویال‌های ۱۲۰ میلی‌لیتری ریخته شد. مایع شکمبه و محلول بافر به نسبت یک به ۳ با هم مخلوط شدند. محلول بافر بر اساس توصیه‌های منک و استینگاس (۱۹۸۷) تهیه شد. اسانس آویشن شیرازی ابتدا در اتانول حل و سپس مقدار ۰/۳ میلی‌لیتر از آن اضافه شد. مقدار ۰/۳ میلی‌لیتر اتانول نیز به ویال‌های مربوط به سایر تیمارها افزوده شد. ویال‌ها در درون حمام آب گرم با دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند و فشار گاز در ساعت‌های ۱، ۴، ۷، ۱۰، ۱۳، ۱۶، ۱۹/۵، ۲۳، ۲۶، ۲۹، ۳۲، ۳۶، ۴۰، ۴۵، ۵۰، ۵۵، ۶۱، ۶۹/۵، ۸۰، ۹۶، ۱۲۰ و ۱۴۴ پس از شروع انکوباسیون ثبت شد. داده‌های تولید گاز با توجه به مدل تعمیم یافته گروت و همکاران (۱۹۹۶) و نرم‌افزار آماری SAS (۲۰۰۰) برازش شد:

$$\mathrm{OMCV}=\sum_{i=1}^{n}\frac{A_i}{1+(C_i/t)^{B_i}}$$

در این معادله، OMCV (میلی‌لیتر بر گرم ماده آلی) نشان دهنده تولید گاز تجمعی در زمانt، A مجانب تولید گاز (میلی‌لیتر گاز تولیدی به ازای هر میلی‌گرم ماده آلی انکوباسیون شده)، B فاکتور تعیین کننده شکل منحنی تولیدگاز و C نیمه عمر مجانب تولید گاز (ساعت) می‌باشد.

$$TR_{\max}G = C\left[\frac{B-1}{B+1}\right]^{1/B} + T$$

$$R_{\max}G = \frac{AC^{B}B\left[(TR_{\max}G-T)^{(-B-1)}\right]}{\left[1+CB(TR_{\max}G-T)^{-B}\right]^{2}}$$

$$TR_{max}S = C(B-1)1/c + T$$

$$R_{\max}S = \frac{B(TR_{\max}S-T)^{B-1}}{CB+(TR_{\max}S-T)^{B}}$$

در روابط بالا، $R_{max}G$ حداکثر میزان تولید گاز (میلی‌لیتر در ساعت)، $TR_{max}G$ زمانی که سرعت تولید گاز به بیشترین مقدار می‌رسد (ساعت) $R_{max}S$ بیشترین میزان سرعت تجزیه‌پذیری نسبی ماده آلی (در هر ساعت)، $TR_{max}S$ زمانی که سرعت تجزیه‌پذیری نسبی ماده آلی به بیشترین مقدار خود می‌رسد (ساعت).

فراسنجه‌های تخمیر شکمبه: برای این منظور آزمون تولید گاز به‌مدت ۲۴ ساعت و مشابه با شرایط انجام شده برای کینتیک تولید گاز انجام شد اما در این حالت از ۵۰۰ میلی‌گرم نمونه جیره‌های آزمایشی استفاده شد (۲۳). پس از ۲۴ ساعت مقدار گاز تولید شده ثبت و محتوی درون بطری‌ها به لوله‌های سانتریفیوژ جداگانه منتقل شدند. نمونه‌ها به‌مدت ۲۰ دقیقه با سرعت ۲۰۰۰۰ دور در دقیقه و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شدند. سپس pH آن با pH متر سیار ثبت گردید و مایع رویی برای اندازه‌گیری نیتروژن آمونیاکی با روش فنل-هیپوکلریت (۹) تا زمان اندازه‌گیری در ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. برای تعیین گوارش‌پذیری ظاهری ماده خشک، باقیمانده نمونه‌های درون لوله سانتریفیوژ به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد خشک شدند. برای تعیین گوارش پذیری حقیقی ماده آلی، محتویات خشک درون لوله‌ها به درون کیسه‌های پلی‌استری (با قطر منافذ ۴۰ میکرومتر) از قبل وزن‌کشی شده منتقل و به مدت یک ساعت در محلول شوینده خنثی جوشانده شد (۲۳). با انجام این کار فرض بر این بود که تمام بقایای میکروبی همراه باقیمانده نمونه به وسیله شوینده خنثی برداشت می‌شود (۴۱). بقایا برای اندازه‌گیری ماده آلی ناپدید شده به کوره ۶۰۰ درجه

سانتی‌گراد منتقل و نسبت ماده آلی تجزیه شده به ماده آلی خوراک به عنوان گوارش‌پذیری حقیقی ماده آلی در نظر گرفته شد (۲۳). غلظت کل اسیدهای چرب فرار و مقدار انرژی قابل متابولیسم جیره‌ها با استفاده از معادلات زیر برآورد شد (۶ و ۲۶).

۰/۰۰۴۲۵- (تولید گاز) ۰/۰۲۲۲= (میلی مول) اسیدهای چرب کوتاه زنجیر

(درصد خاکستر) ۰/۰۰۸۱ + (درصد چربی خام) ۰/۰۰۲۲ + (درصد پروتئین خام) ۰/۰۰۸ +

(تولید گاز) ۰/۱۵۷ + ۱/۰۶ = (مگاژول بر کیلوگرم) انرژی قابل متابولیسم

جدول ۱- مواد خوراکی و ترکیبات شیمیایی جیره‌های آزمایشی پایه

Table 1. Feed ingredient and chemical composition of experimental diets

آزمایش دوم Second Experiment		آزمایش اول First Experiment		
جیره با روغن سویا Diet with Soybean oil	جیره با نمک-های کلسیمی اسیدهای چرب Diet with Calcium salts of fatty acids	جیره حاوی گندم و جو Wheat and barley based diet	جیره حاوی ذرت Corn based diet	ماده خوراکی (درصد از ماده خشک) Feed ingredient (%DM)
10.0	10.0	10.0	10.0	علوفه خشک یونجه Alfalfa hay
10.0	10.0	10.0	10.0	ذرت سیلو شده Corn silage
10.0	10.0	10.0	10.0	کاه گندم Wheat straw
23.0	23.0	-	49.5	دانه ذرت Corn grain
23.5	23.5	10.0	-	دانه جو Barley grain
-	-	47.0	-	دانه گندم Wheat
6.7	7.0	4.2	5.0	سبوس گندم Wheat bran
12.0	12.0	6.0	13.0	کنجاله سویا Soybean meal
2.3	-	0.3	-	روغن سویا Soybean oil
-	2.5	-	-	نمک‌های کلسیمی اسیدهای چرب Calcium salts of fatty acids
0.5	0.5	0.5	0.5	نمک Salt

کربنات کلسیم Calcium Carbonate	1.0	1.0	0.5	1.0
مکمل مواد معدنی Mineral premix	0.5	0.5	0.5	0.5
مکمل ویتامین Vitamins premix	0.5	0.5	0.5	0.5
ترکیب شیمیایی (درصد) Chemical Compositions (%)				
ماده خشک DM	90.33	92.33	92.33	92.66
ماده آلی OM	93.02	92.78	92.78	92.47
خاکستر Ash	6.97	7.21	7.21	7.52
پروتئین خام CP	15.19	14.89	15.63	14.83
چربی خام EE	2.21	2.08	5.41	6.47
الیاف غیرقابل حل در شوینده خنثی NDF	33.21	36.82	37.05	35.48
الیاف غیرقابل حل در شوینده اسیدی ADF	22.14	23.82	24.06	23.01
کربوهیدرات‌های غیرالیافی NFC	42.40	43.77	34.67	35.68

در هر کیلوگرم ماده خشک مکمل مواد معدنی ۱۸۰ گرم کلسیم، ۷۰ گرم فسفر، ۳۵ گرم پتاسیم، ۵۰ گرم سدیم، ۵۸ گرم کلر، ۳۰ گرم منیزیم، ۳۲ گرم گوگرد، ۵ گرم منگنز، ۴ گرم آهن، ۳ گرم روی، ۳۰۰ میلی‌گرم مس، ۱۰۰ میلی‌گرم ید، ۱۰۰ میلی‌گرم کبالت و ۲۰ میلی-گرم سلنیوم و در هر کیلوگرم ماده خشک مکمل ویتامینی ۵۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین A، ۱۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین D_3، ۱۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین E و ۳ گرم آنتی اکسیدان بود.

مدل آماری طرح: داده‌های حاصل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی و بر اساس رویه مدل خطی نرم افزار آماری SAS (۲۰۰۰) و با استفاده از مدل آماری $Y_{ijk} = \mu + T_i + R_j + e_{ijK}$ تجزیه واریانس شدند که در آن Y_{ijk} = متغیر وابسته، μ = میانگین مشاهدات، T_i = اثر تیمار (جیره آزمایشی)، R_j = اثر بلوک (هفته انجام آزمایش) و e_{ijk}=خطای آزمایش می‌باشد. لازم به ذکر است چون همه آزمایش‌ها در ۲ هفته متوالی تکرار شدند، لذا تکرار آزمایش به عنوان بلوک در نظر گرفته شد. مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن و در سطح پنج درصد انجام شد. مقایسات مستقل در هر دو آزمایش بین جیره‌های پایه (بدون افزودنی) هم صورت گرفت.

نتایج و بحث

آزمایش اول: مقایسه اثر اسانس آویشن شیرازی و مونسین بر جیره‌های حاوی منابع مختلف

نشاسته: اثر منبع نشاسته، مونسین و اسانس آویشن شیرازی بر فراسنجه‌های تولید گاز، گوارش‌پذیری ظاهری ماده خشک و حقیقی ماده آلی، عامل تفکیک کننده، تولید توده میکروبی در جدول ۲ نشان داده شده است. اسانس آویشن شیرازی و مونسین هر یک باعث کاهش تولید گاز ۲۴ ساعت، پتانسیل تولید گاز، حداکثر میزان تولید گاز در ساعت، تولید توده میکروبی، گوارش‌پذیری ظاهری ماده خشک و حقیقی ماده آلی، غلظت کل اسیدهای چرب فرار، غلظت نیتروژن آمونیاکیو انرژی قابل متابولیسم جیره‌های آزمایشی نسبت به جیره‌های پایه (بدون افزودنی) شدند (P<۰/۰۵). عامل تفکیک کننده تحت تأثیر نوع افزودنی قرار نگرفت. افزودن اسانس آویشن شیرازی در مقایسه با مونسین تولید گاز در ۲۴ ساعت، گوارش‌پذیری ظاهری ماده خشک و حقیقی ماده آلی، غلظت کل اسیدهای چرب فرار، پتانسیل تولید گاز، حداکثر میزان تولید گاز در ساعت را کاهش (P<۰/۰۵) و نیمه عمر تولید گاز و pH مایع شکمبه را افزایش داد (P<۰/۰۵). همچنین با توجه به مقایسه‌های مستقل، جیره حاوی دانه گندم و جو در مقایسه با جیره حاوی دانه ذرت، تولید گاز ۲۴ ساعت و گوارش‌پذیری ظاهری ماده خشک و حقیقی ماده آلی، غلظت کل اسیدهای چرب فرار، انرژی قابل متابولیسم، پتانسیل تولید گاز، نیمه عمر تولید گاز و حداکثر میزان تولید گاز را افزایش و بازده تولید توده میکروبی و بیشترین سرعت تجزیه سوبسترا و pH مایع شکمبه را کاهش داد (P<۰/۰۵) که با توجه به بالا بودن غلظت کل اسیدهای چرب فرار در جیره بر پایه دانه جو و گندم در مقایسه با دانه ذرت بدیهی است که pH مایع شکمبه در جیره حاوی دانه گندم و جوکمتر از جیره حاوی دانه ذرت باشد. همچنین قابلیت تخمیر بالاتر دانه گندم و جو در مقایسه با دانه ذرت می‌تواند یکی از دلایل کاهش pH مایع شکمبه در مطالعه حاضر باشد. افزایش نیمه عمر تولید گاز در جیره حاوی دانه گندم و جو و اسانس آویشن شیرازی را می‌توان به زمان مورد نیاز برای تکثیر و تشکیل کلنی جمعیت میکروبی روی ذرات خوراک ارتباط داد. که این مرحله برای هضم ترکیبات غیر قابل حل خوراک لازم است (۳۸). اسانس‌ها چسبیدن باکتری‌ها به مواد جامد شکمبه را کاهش می‌دهند یا مهار می‌کنند و از این طریق تشکیل کلنی باکتری‌ها روی مواد مغذی را تحت تاثیر قرار می‌دهند (۳۹) که این می‌تواند با افزایش نیمه عمر تولید گاز در جیره حاوی دانه گندم و جو و اسانس آویشن شیرازی ارتباط داشته باشد.

گاز تولید شده در روش تولید گاز یا به طور مستقیم از تخمیر ماده خوراکی و تولید متان و دی اکسید کربن و یا به‌طور غیرمستقیم از بافری شدن اسیدهای چرب کوتاه زنجیر می‌باشد (۲۳). از آنجایی که جیره‌های آزمایشی تقریبا دارای مقدار مشابهی پروتئین، چربی و کربوهیدرات هستند و تفاوت اصلی آنها در نوع نشاسته می‌باشد، بنابراین به نظر می‌رسد بخش عمده تولید گاز در جیره حاوی دانه گندم و جو به تخمیر نشاسته قابل دسترس در آنها ارتباط داشته باشد زیرا نشاسته دانه گندم و جو در مقایسه با دانه ذرت با سرعت و مقدار بیشتری در شکمبه تجزیه می‌شود (۳۰). کاهش حداکثر میزان تولید گاز در جیره‌های حاوی اسانس آویشن شیرازی می‌تواند با فعالیت ضدمیکروبی اسانس آویشن شیرازی، کاهش تخمیر و کاهش گوارش‌پذیری ظاهری ماده خشک ارتباط داشته باشد که ممکن است به علت تاثیر مواد موثر موجود در این اسانس بر فعالیت جمعیت میکروبی شکمبه باشد که از برخی فعالیت‌های هضمی آنها می‌کاهد یا آنها را متوقف می‌کند (۳۸). نرخ تخمیر سوبسترا همبستگی بالایی با نرخ رشد میکروارگانیسم‌ها دارد به گونه‌ای که تخمیر سریع سوبسترا باعث تولید توده میکروبی بیشتری می‌شود (۲۹) به‌طوری که در آزمایش حاضر بیشترین مقدار تولید توده میکروبی مربوط به جیره حاوی دانه گندم و جو بود. تولید توده میکروبی کمتر در جیره‌های حاوی اسانس آویشن‌شیرازی می‌تواند نشان دهنده کاهش مواد مغذی در دسترس برای میکروب‌ها باشد.

طالب‌زاده و همکاران (۲۰۱۲) گزارش کردند که افزودن اسانس آویشن شیرازی به جیره بره‌های پرواری در آزمایشگاه، تولید گاز، سرعت تولید گاز، نیتروژن آمونیاکی، تولید توده میکروبی و گوارش‌پذیری حقیقی ماده آلی و گوارش‌پذیری ماده خشک را کاهش داد (۳۸) که همسو با نتایج آزمایش حاضر است، اما زمان تاخیر تولید گاز و متوسط زمان حداکثر تولید گاز را افزایش داد، در صورتی که عامل تفکیک کننده با افزایش دوز اسانس افزایش یافت و با نتایج آزمایش حاضر مطابقت نداشت که متوسط زمان حداکثر تولید گاز و عامل تفکیک کننده تحت تأثیر اثر اسانس قرار نگرفت.

تقوی‌نژاد و همکاران (۲۰۱۴) اثر اسانس آویشن شیرازی را بر فراسنجه‌های تولید گاز و غلظت نیتروژن آمونیاکی در جیره بره‌های پرواری در آزمایشگاه بررسی کردند. نتایج آزمایش آنها نشان داد که افزودن اسانس آویشن شیرازی باعث کاهش تولید گاز و غلظت نیتروژن آمونیاکی شد (۳۹) که همسو با نتایج پژوهش حاضر است. کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی به دلیل اثر مهارکننده اسانس آویشن شیرازی بر فعالیت پروتئولایتیک میکروب‌های شکمبه است (۳۹). مک اینتاش و همکاران (۲۰۰۳) بیان کردند که اسانس‌ها بر فعالیت آمین‌زدایی میکروب‌های شکمبه اثر بازدارنده دارند (۲۵).

جدول ۲- اثر منبع نشاسته، مونسین و اسانس آویشن شیرازی بر فرآسنجه‌های تولید گاز و تخمیر شکمبه و گوارش‌پذیری ظاهری ماده خشک و حقیقی ماده آلی.

Table 2. The effect of starch source, monensin and *Zataria multiflora* essential oil (ZMEO) on *in vitro* gas production parameters, rumen fermentation, *in vitro* apparent dry matter digestibility and truly organic matter digestibility.

P-value	SEM	نشاسته گندم و جو Wheat and barley starch			نشاسته ذرت Corn starch			فراسنجه Parameter
		اسانس آویشن ZMEO	مونسین Monensin	بدون افزودنی No additive	اسانس آویشن ZMEO	مونسین Monensin	بدون افزودنی No additive	
<0.01	3.87	174.64^{cd}	182.33^{b}	194.72^{a}	166.65^{e}	170.53^{de}	177.83^{bc}	تولیدگاز ۲۴ساعت (میلی‌لیتر/گرم‌ماده‌آلی) Gas Production 24 h (ml/mg OM)
<0.01	24.7	619.32^{c}	709.99^{b}	864.06^{a}	550.82^{d}	615.57^{c}	720.15^{b}	پتانسیل‌تولیدگاز (میلی‌لیتر) Asymptotic gas production (ml)
<0.01	2.74	33.06^{a}	25.29^{cd}	30.66^{bc}	31.94^{ab}	27.49^{d}	27.78^{cd}	نیمه‌عمرتولیدگاز (ساعت) Half life (h)
<0.01	0.003	0.026^{bc}	0.026^{bc}	0.023^{c}	0.027^{ab}	0.029^{a}	0.027^{ab}	سرعت‌تولیدگاز (درساعت) Gas production rate (/h)
<0.01	2.12	13.8^{cd}	16.9^{b}	19.60^{a}	13.3^{d}	14.9^{c}	16.9^{b}	حداکثرمیزان‌تولیدگاز (میلی‌لیتربر ساعت) Maximum GP (ml/h)
0.06	0.95	4.2	4.1	4.2	3.3	4.8	4.6	زمان‌رسیدن‌به‌حداکثرتولیدگاز (ساعت) Time to reach maximum GP (h)
<0.01	2.86	57.88^{b}	60.63^{b}	67.51^{a}	51.29^{c}	56.93^{b}	58.42^{b}	گوارش‌پذیری‌ماده‌خشک (درصد) In vitro DM digestibility (%)
<0.01	2.99	60.03^{b}	62.75^{b}	69.49^{a}	54.71^{c}	59.60^{b}	61.85^{b}	گوارش‌پذیری‌ماده‌آلی (درصد) In vitro OM digestibility (%)
0.18	0.22	3.45	3.46	3.59	3.28	3.49	3.49	عامل تفکیک کننده Partitioning factor
0.02	16.16	100.22^{b}	104.83^{ab}	123.62^{a}	88.11^{b}	102.85^{b}	105.70^{ab}	تولیدتوده‌میکروبی (میلی‌گرم) Microbial biomass production (mg)
0.05	0.84	12.63^{ab}	12.37^{ab}	11.47^{b}	13.55^{a}	12.99^{a}	12.45^{ab}	بازده‌تولیدتوده‌میکروبی (درصد) Efficiency of MBP (%)
<0.01	0.51	8.46^{b}	9.28^{b}	12.35^{a}	8.06^{b}	9.13^{b}	12^{a}	نیتروژن آمونیاکی (میلی‌مول) Ammonia (Mm)
<0.01	0.07	3.87^{cd}	4.04^{b}	4.31^{a}	3.60^{d}	3.78^{dc}	3.94^{bc}	اسیدهای‌چرب فرار (میلی‌مول) VFA (Mm)
<0.01	0.63	27.23^{bc}	28.46^{ab}	30.18^{a}	25.83^{c}	26.91^{bc}	26.79^{bc}	انرژی‌متابولیسمی (مگاژول‌برکیلوگرم) ME (MJ/Kg)
<0.01	0.02	6.37^{bc}	6.35^{c}	6.38^{bc}	6.45^{a}	6.43^{ab}	6.40^{abc}	pH

در هر ردیف میانگین‌هایی که دارای حرف مشترک نیستند در سطح آماری ۵ درصد با هم اختلاف دارند.

اثر اسانس بر تولید گاز به ساختار شیمیایی، دوز اسانس و اثر متقابل اسانس با جیره بستگی دارد (۱۸). کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی در جیره‌های حاوی اسانس آویشن شیرازی می‌تواند نتیجه اثر ضد پروتوزوآیی آویشن شیرازی باشد (۳۹) چرا که پروتوزوئرها مهم‌ترین تولیدکننده نیتروژن آمونیاکی شکمبه هستند.

پروتوزوئرها همراه با دو گروه از باکتری‌های پروتئولایتیک یعنی باکترهای با تولید بالای آمونیاک و تعداد کم و باکترهای با تولید کم آمونیاک و تعداد زیاد، تولیدکنندگان عمده آمونیاک در شکمبه هستند که اسانس‌های گیاهی اثر بازدارندگی بر آنها دارند و در نتیجه تولید آمونیاک کاهش می‌یابد (۲۵ و ۴۰). در آزمایش حاضر افزودن اسانس باعث کاهش گوارش‌پذیری ماده آلی شد. با توجه به این که ترکیباتی مانند تیمول و کارواکرول اثرات ضد میکروبی غیر اختصاصی دارند و علیه طیف وسیعی از میکروارگانیسم‌ها عمل می‌کنند (۱۵) احتمالاً باعث کاهش فعالیت گروه‌هایی از باکتری‌ها شده‌اند که در هضم خوراک دخیل هستند.

آزمایش دوم: اثر اسانس آویشن شیرازی در جیره‌های حاوی انواع مختلف چربی: اثر نوع مکمل چربی، مونسین و اسانس آویشن شیرازی بر تولید گاز، عامل تفکیک کننده، تولید توده میکروبی، گوارش‌پذیری ظاهری ماده خشک و حقیقی ماده آلی در جدول ۳ نشان داده شده است. اسانس آویشن شیرازی و مونسین هر یک باعث کاهش تولید گاز ۲۴ ساعت، غلظت نیتروژن آمونیاکی، غلظت کل اسیدهای چرب فرار، انرژی قابل متابولیسم جیره‌های آزمایشی، پتانسیل تولید گاز، نیمه عمر تولید گاز و حداکثر میزان تولید گاز در ساعت نسبت به جیره‌های پایه (بدون افزودنی) شدند ($P<۰/۰۵$). افزودن اسانس آویشن شیرازی و مونسین هر یک باعث افزایش زمان حداکثر سرعت گاز تولیدی و سرعت تجزیه‌پذیری شدند ($P<۰/۰۵$). تولید توده میکروبی و گوارش‌پذیری حقیقی ماده آلی تحت تأثیر نوع افزودنی قرار نگرفت. افزودن اسانس آویشن شیرازی در مقایسه با مونسین باعث افزایش تولید گاز ۲۴ ساعت، گوارش‌پذیری ظاهری ماده خشک، غلظت کل اسیدهای چرب فرار، سرعت تجزیه‌پذیری، حداکثر میزان تولید گاز در ساعت و افزایش زمان حداکثر سرعت تجزیه‌پذیری ماده آلی شد ($P<۰/۰۵$). افزایش پتانسیل تولید گاز در جیره حاوی روغن سویا می‌تواند به عدم وجود مواد افزودنی (مونسین و اسانس) ارتباط داشته باشد که احتمالا با افزایش غلظت استات و نسبت استات به پروپیونات در زمان تخمیر این جیره همراه بوده است که باعث افزایش میزان تولید گاز در آن شده است. کاهش تولید گاز در جیره‌های حاوی مکمل مونسین و اسانس آویشن شیرازی را می‌توان به اثر

مهاری آنها بر میکروارگانیسم‌های شکمبه ارتباط داد (۴،۲۰). مونسین با مهار باکتری‌های گرم مثبت، تولید هیدروژن و متان در شکمبه را کاهش می‌دهد (۲۴). افزایش زمانی که سرعت تولید گاز به بیشترین مقدار خود می‌رسد در جیره‌های حاوی اسانس می‌تواند به خاصیت ضدمیکروبی اسانس‌ها و کاهش رشد میکروارگانیسم‌ها و آبگریز بودن آنها ارتباط داشته باشد که با تشکیل پوششی اطراف خوراک دسترسی میکروب‌ها به مواد خوراکی را محدود کنند و درنتیجه باعث افزایش زمان لازم برای حداکثر میزان گاز تولیدی شوند (۴).

مقایسه‌های مستقل بین جیره حاوی نمک‌های کلسیمی اسیدهای چرب در مقایسه با جیره حاوی روغن سویا نشان داد که جیره حاوی نمک‌های کلسیمی اسیدهای چرب باعث کاهش پتانسیل تولید گاز، نیمه عمر تولید گاز، حداکثر میزان تولید گاز و زمانی که سرعت تجزیه‌پذیری نسبی ماده آلی به بیشترین مقدار خود می‌رسد، گردید ($P<۰/۰۵$) اما زمانی که سرعت تولید گاز به بیشترین مقدار می‌رسد و زمانی که سرعت تجزیه‌پذیری نسبی ماده آلی به بیشترین مقدار خود می‌رسد را افزایش داد ($P <۰/۰۵$) و برتولید گاز ۲۴ ساعت، گوارش‌پذیری ظاهری ماده خشک و عامل تفکیک کننده اثری نداشت ($P>۰/۰۵$). افزایش مقدار تولید گاز در جیره‌های پایه (بدون افزودنی) را می‌توان به عدم مهار میکروارگانیسم‌ها و بالاتر بودن گوارش‌پذیری ظاهری ماده خشک در این جیره‌ها ارتباط داد که با افزایش غلظت اسیدهای چرب فرار در محیط کشت حاوی این جیره‌ها نیز هماهنگ می‌باشد. علاوه بر این اگرچه در آزمایش حاضر غلظت مولی تک تک اسیدهای چرب فرار در مایع شکمبه اندازه‌گیری نشد اما عدم وجود مواد افزودنی (مونسین و اسانس) احتمالا با افزایش غلظت استات و نسبت استات به پروپیونات در زمان تخمیر این جیره‌ها همراه بوده است که باعث افزایش میزان تولید گاز در آنها شده است. پژوهش‌های برون‌تنی نشان داده که تیمول غلظت کل اسیدهای چرب فرار را کاهش می‌دهد (۱۲). لذا در جیره‌های بدون اسانس میزان تولید گاز بیشتر بود. مونسین هم با کاهش نسبت استات به پروپیونات باعث کاهش تولید گاز می‌شود. پس در جیره‌های بدون افزودنی میزان تولید گاز بیشتر بود. اثر مکمل چربی بر فرانسجه‌های شکمبه‌ای به عوامل گوناگونی مانند مقدار و ویژگی‌های آن و نرخ آزاد شدن اسیدهای چرب غیراشباع از ترکیبات خوراک وابسته است. اگر توانایی میکروارگانیسم‌ها برای هیدروژنه کردن اسیدهای چرب غیراشباع پایین باشد، اسیدهای چرب غیراشباع موجب کاهش تخمیر خوراک در شکمبه می‌شوند (۲۱).

جدول۳- اثر نوع مکمل چربی، مونسین و اسانس آویشن شیرازی بر فرآسنجه‌های تولید گاز و تخمیر شکمبه وگوارش‌پذیری ظاهری ماده خشک و حقیقی ماده آلی.

Table 3. The effect of oil source, monensin and *Zataria multiflora* essential oil (ZMEO) on *in vitro* gas production parameters, rumen fermentation, *in vitro* apparent dry matter digestibility and truly organic matter digestibility.

P-value	SEM	روغن سویا Soybean oil			نمک‌های کلسیمی اسیدهای چرب Calcium salts of fatty acids			فراسنجه Parameter
		اسانس آویشن ZMEO	مونسین Monensin	بدون افزودنی No additive	اسانس آویشن ZMEO	مونسین Monensin	بدون افزودنی No additive	
<0.01	8.60	157.15^{b}	146.75^{c}	165.30^{a}	160.64 ab	147.91 ^{c}	167.08 ^{a}	تولیدگاز۲٤ساعت (میلی‌لیتر/گرم‌ماده‌آلی) Gas Production 24 h (ml/mg OM)
<0.01	31.82	534.09^{d}	651.10^{c}	751.94^{a}	542.32^{d}	667.20^{c}	695.05^{b}	پتانسیل‌تولیدگاز (میلی‌لیتر) Asymptotic gas production (ml)
<0.01	2.35	20.89^{e}	25.20^{d}	31.83^{a}	21.30^{e}	27.11^{c}	29.26^{b}	نیمه‌عمرتولیدگاز (ساعت) Half life (h)
<0.01	0.003	0.037^{a}	0.032^{b}	0.028^{c}	0.037^{a}	0.028^{c}	0.027^{c}	سرعت‌تولیدگاز (درساعت) Gas production rate (/h)
<0.01	1.21	15.82^{c}	18.05^{a}	18.77^{a}	15.88^{c}	16.05^{bc}	16.99^{b}	حداکثرمیزان‌تولیدگاز (میلی‌لیتربر ساعت) Maximum GP (ml/h)
0.01	1.11	5.82^{a}	3.24^{c}	2.49^{c}	6.03^{a}	5.15^{b}	3.24^{c}	زمان‌رسیدن‌به‌حداکثرتولیدگاز (ساعت) Time to reach maximum GP (h)
0.01	2.51	54.67^{a}	49.35^{b}	56.35^{a}	54.51^{a}	52.93^{ab}	55.71^{a}	گوارش‌پذیری‌ماده‌خشک (درصد) In vitro DM digestibility (%)
0.34	3.08	57.23	53.37	58.66	58.56	58.12	58.48	گوارش‌پذیری‌ماده‌آلی (درصد) In vitro OM digestibility (%)
<0.01	0.18	3.66^{b}	3.67^{b}	3.55^{b}	3.65^{b}	3.95^{a}	3.56^{b}	عامل تفکیک کننده Partitioning factor
0.07	12.06	104.72	97.97	103.90	107.73	120.16	105.60	تولیدتوده‌میکروبی (میلی‌گرم) Microbial biomass production (mg)
0.04	0.73	29.40^{b}	29.39^{b}	27.76^{b}	30.01^{b}	33.73^{a}	29.42^{b}	بازده‌تولیدتوده‌میکروبی (درصد) Efficiency of MBP (%)
<0.01	0.64	11.36^{b}	14.40^{a}	15.69^{a}	11.34^{b}	14.74^{a}	15.09^{a}	نیتروژن آمونیاکی (میلی‌مول) Ammonia (Mm)
<0.01	0.42	3.48^{b}	3.25^{c}	3.66^{a}	3.56^{ab}	3.27^{c}	3.70^{a}	اسیدهای‌چرب فرار (میلی‌مول) VFA (Mm)
<0.01	0.46	24.84^{ab}	23.64^{b}	26.17^{a}	23.40^{b}	23.83^{b}	26.49^{a}	انرژی‌متابولیسمی (مگاژول‌برکیلوگرم) ME (MJ/Kg)
<0.01	0.02	6.72^{ab}	6.70^{b}	6.71^{ab}	6.74^{a}	6.73^{ab}	6.70^{b}	pH

در هر ردیف میانگین‌هایی که دارای حرف مشترک نیستند در سطح آماری ۵ درصد با هم اختلاف دارند.

نمک‌های کلسیمی اسیدهای چرب در pH طبیعی شکمبه تقریبا تجزیه نمی‌شوند و اثرمنفی آنها بر تخمیر مواد خوراکی در شکمبه کم می‌باشد. چربی‌های فعال در شکمبه بر فرآیندهای تخمیری میکروب‌های شکمبه اثر می‌گذارند و گوارش‌پذیری خوراک را کاهش می‌دهند. در این میان گوارش‌پذیری کربوهیدرات‌های الیافی بیشتر تحت تاثیر این نوع چربی‌ها قرار می‌گیرد. اسیدهای چرب غیر اشباع اثر منفی بیشتری بر گوارش‌پذیری الیاف دارند (۲۲) که این می‌تواند با کاهش گوارش پذیری ظاهری در جیره حاوی روغن سویا و ۲۴ میلی‌گرم مونسین در کیلوگرم ماده خشک ارتباط داشته باشد. کاهش گوارش‌پذیری ظاهری ماده خشک را می‌توان به اثر منفی روغن سویا بر میکروارگانیسم‌های تجزیه‌کننده سلولز، پوشاندن فیزیکی ذرات خوراک و جلوگیری از چسبیدن میکروارگانیسم‌ها به آنها نسبت داد (۱۲). نتایج آزمایش بنچار و همکاران (۲۰۰۷) که از اسانس آویشن (۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر محیط کشت)، کارواکرول (۴۰۰ میلی‌گرم در لیتر محیط کشت)، تیمول (۴۰۰ میلی‌گرم در لیتر محیط کشت) و یوگنول (۴۰۰ میلی‌گرم در لیتر محیط کشت) استفاده کرده بودند، نشان داد که با افزودن کارواکرول و یوگنول pH مایع شکمبه و غلظت مولی بوتیرات افزایش و غلظت مولی پروپیونات، گوارش‌پذیری ماده خشک و تولید گاز کاهش و با افزودن تیمول pH مایع شکمبه افزایش یافت و غلظت نیتروژن آمونیاکی و غلظت کل اسیدهای چرب فرار تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت (۳). مونسین و اسانس‌های گیاهی معمولا با مهار باکتری‌های گرم مثبت باعث کاهش نسبت استات به پروپیونات می‌شوند (۴ و ۲۰).

افزودن اسانس آویشن شیرازی باعث کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی نسبت به جیره‌های پایه (بدون افزودنی) و جیره حاوی مونسین گردید ($P<0/05$). کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی در جیره‌های حاوی اسانس آویشن شیرازی را می‌توان به فعالیت ضد میکروبی این اسانس بر باکتری‌های گرم مثبت و باکتری‌های تولید کننده مقدار بالای نیتروژن آمونیاکی ارتباط داد (۴). همسو با این نتایج، در آزمایش دیگر که از اسانس آویشن شیرازی در سطوح ۱۰۰،۲۰۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر در جیره بره‌های پرواری استفاده شد، در سطوح پایین، غلظت نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه در شرایط آزمایشگاهی کاهش یافت (۳۸). انتقال اسیدهای آمینه به درون سلول باکتری از طریق نیروی محرک پروتون- سدیم صورت می‌گیرد (۱۳). یکی از سازوکارهای پیشنهاد شده برای عمل کارواکرول و تیمول آسیب به غشای سلول باکتری و اختلال در کارکرد نیروی محرک پروتون- سدیم می‌باشد که باعث از بین رفتن باکتری‌های تولید کننده آمونیاک می‌شود (۱۱).

نتیجه‌گیری

بنا بر این نتایج نظر می‌رسد که اثر اسانس آویشن شیرازی با توجه به نوع سوبسترا متفاوت است. البته برای دستیابی به نتایج کاربردی انجام آزمایش‌های بیشتری با سطوح مختلف علوفه به کنسانتره و یا سطوح دیگری از آویشن شیرازی توصیه می‌شود.

منابع

1. Amin, M., E. Kalantar, N. Mohammad-Saeid, and B. Ahsan. 2010. Antibacterial effect and physicochemical properties of essential oil of *Zataria multiflora Boiss*. Asia-Pac. J. Trop. Med. 3: 432-442.
2. AOAC, 1990. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists Association of Official Analytical Chemists, Washington D.C., USA.
3. Benchaar, C., Chaves, A. V., Fraser, G. R., Wang, Y., Beauchemin, K. A., and McAllister. T. A. 2007. Effects of essential oils and their components on *in vitro* rumen microbial fermentation. Can. J. Anim. Sci. 87: 413–419.
4. Benchaar, C., Calsamiglia, S., Chaves, A. V., Fraser, G. R., Colombatto, D., McAllister, T. A., and Beauchemin. K. A. 2008. A review of plant-derived essential oils in ruminant nutrition and production. Anim. Feed Sci. Technol. 145: 209-228.
5. Benchaar, C., and H. Greathead. 2011. Essential oils and opportunities to mitigate enteric methaneemissions from ruminants. Anim. Feed Sci. Technol. 166: 338– 355.
6. Blummel, M., and Orskov, E. R. 1993. Composition of *in vitro* gas production and nylon bag degradability of roughages in predicting food intake in cattle. Anim. Feed Sci. Technol. 40: 109-119.
7. Blummel, M., Makkar, H. P. S., and Becker. K. 1997. *In vitro* gas production: a technique revisited. J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. 77: 24-34.
8. Borchers, R. 1965. Proteolytic activity of rumen fluid *in vitro*. J. Anim. Sci. 24: 1033-1038.
9. Broderick, G.A. and Kang, J.H. 1980. Automated simultaneous determination of ammonia and total amino acids in ruminal fluid and *in vitro* media. J. Dairy. Sci. 63: 64–75.
10. Bunthoeun, P. 2007. Studies on manipulation of ruminal fermentation and methanogenesis by natural products. Graduate School of Agricultural Sciences, Iowa State University. USA.
11. Burt, S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review. International Journal of Food Microbiology 94: 223–253.

12. Castillejos, L., Calsamiglia, S., and Ferret. A. 2006. Effect of essential oil active compounds on rumen microbial fermentation and nutrient flow in *in vitro* systems. J. Anim. Sci. 89: 2649-2658.
13. Chen, G., and Russell, J. B. 1989. More monensin-sensitive, ammonia producing bacteria from the rumen. Applied and Environmental Microbiology 55: 1052–1057.
14. France, J., Siddons, R.C., 1993. Volatile fatty acid production. In: Forbes, J.M., France, J. (Eds.), Quantitative Aspects of Ruminant Digestion and Metabolism. CAB International, Cambridge, UK. pp: 157.
15. Fraser, G.R., Chaves, A.V., Wang, Y., McAllister, T.A., Beauchemin, K.A., and Benchaar, C. 2007. Assessment of the effects of cinnamon leaf oil on rumen microbial fermentation using two continuous culture systems. J. Dairy. Sci. 90: 2315-2328.
16. Groot, J.C.J., Cone, J.W., Williams, B.A., Debersaques, F.M.A., and Lantinga. E.A. 1996. Multiphasic analysis of gas production kinetics for *in vitro* fermentation of ruminant feeds. Anim. Feed. Sci. Technol. 64: 77–89.
17. Hall, M.B. 2004. Effect of carbohydrate fermentation rate on estimates of mass fermented and milk response. J. Dairy. Sci. 87: 1455-1456.
18. Hart, K.J., Ruiz, D.R.Y., Duva, S.M., McEwan, N.R., and Newbold. C.J. 2008. Plant extracts to manipulate rumen fermentation. Anim. Feed Sci. Technol. 14: 78–35.
19. Hosseinzadeh, H., Ramezani, M., and Salmani. G. 2000. Antinociceptive, anti-inflammatory and acute toxicity effects of *Zataria multiflora* Boiss. extracts in mice and rate. J. Ethnopharmacol. 73: 379-385.
20. Ipharraguerre, I. R., and Clark. J. H. 2003. Usefulness of ionophores for lactating dairy cows: A review. Anim. Feed Sci. Technol. 106: 39-57.
21. Jenkins, T.C. 1993. Lipid metabolism in the rumen. J. Dairy Sci. 76: 3851-3863.
22. Jenkins, T.C. 2004. Challenge of meeting cow demands for omega fatty acids. Pp: 52-65. Florida ruminant nutrition symposium. University of Florida, USA.
23. Makkar, H.P.S. 2010. *In vitro* screening of feed resources for efficiency of microbial protein synthesis. In: Vercoe, P. E., Makkar, H. P. S., and Schlink, A. C. (Eds.), *In vitro* Screening of Plant Resources for Extra-Nutritional Attributes in Ruminants: Nuclear and Related Methodologies. IAEA, Dordrecht, the Netherlands, pp. 107–144.
24. McGuffey, R.K., Richardson, L.F., and Wilkinson, J.I.D. 2001. Ionophores for dairy cattle: current status and future outlook. J. Dairy. Sci. 84 (E. Suppl.): E194-E203.
25. McInotch, F.M., Williams, P., Losa, R., Wallace, R.J., Beever, D.A., Newbold, C.J., 2003. Effects of essential oils on ruminal microorganisms and their protein metabolism. Appl. Environ. Microb. 69: 5011–5014.

26.Menke. K.H. and Steingass, H. 1987. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. Anim. Res. Devel. 28: 7-12.
27. National Research Council. 1985. Nutrient Requirements of Sheep, 6th ed. National Academy Press, Washington, DC, USA.
28.National Research Council. 2001. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7th rev. ed. Natl. Acad Sci., Washington, DC. USA.
29.Noeck, J.E. 1988. *In situ* and other methods to estimate ruminal protein and energy digestibility: a Review. J. Dairy. Sci. 71: 2051-2069.
30.Offner, A., Bach, A., and Sauvant, D. 2003. Quantitative review of *in situ* starch degradation in the rumen. Anim. Feed. Sci. Technol. 106: 81–93.
31.Orskov, E.R. 1982. Protein Nutrition in Ruminants. Academic Press, London and NewYork. pp: 125.
32.Patra, A.K. 2011. Effects of essential oils on rumen fermentation, microbial ecology and ruminant production. Asi. J. Anim. Vet. Adv. 6: 416-428.
33.Rachel, L.T. 2010. Effects of essential oils on rumen fermentation, eating behavior and milk production in lactating dairy cattle. Ph.D Dissertation. West Virginia State University, USA.
34.Reynolds, C.K. 2006. Production and metabolic effects of site of starch digestion in dairy cattle. Anim. Feed Sci. Technol. 130: 78-94.
35.Sallam, S.M.A., Da Silva Bueno, I.C., Godoy, P.B., Nozella., E.F., Vitti, D.M.S.S., and Abdalla. A.L. 2010. Ruminal fermentation and tannins bioactivity of some browses using a semi-automated gas production technique. Trop. Subtrop. Agroecosys. 12:1–10.
36.SAS, 2000. User's Guide: Statistic, 8 end. Statistical Analysis System Institute SAS/STAT, Cary, NC.
37.Spanghero, M., Zanfia, C., Fabbro, E., Scicutella, N., and Camellini. C. 2008. Effects of a blend of essential oils on some end products of *in vitro* rumen fermentation. Anim. Feed Sci. Technol. 145: 364-374.
38.Taghavi Nezhad, M., Alipour, D., Flythe, M.D., Zamani, P., and Khodakaramian. G. 2014. The effect of essential oils of *Zataria multiflora* and *Mentha spicata* on the rumen fermentation and growth and deaminative activity of amino acid-fermenting bacteria isolated from Mehraban sheep. Anim. Prod. Sci. 54: 299-307.
39. Talebzadeh, R., Alipour, D., Saharkhiz, M.J., Azarfar, A., and Malecky. M. 2012. Effect of essential oils of *Zataria multiflora* on *in vitro* rumen fermentation, protozoal population, growth and enzyme activity of anaerobic fungus isolated from Mehraban sheep. Anim. Feed Sci. Technol.172: 115- 124.
40. Tatsouka, N., Hara, K., Katsushiko, M., Hara, K., Kasimoto, H., Itabash, H., 2008. Effects of the essential oil cyclodextrin complexes on ruminal methane production *in vitro*. Anim. Sci. J. 79: 68–75.

41. Van Soest, P.J. 1994. Nutritional Ecology of the Ruminant. Cornell University Press, Ithaca, NY, USA.
42. Van Soest, P.J., Robertson, J.B., and Lewis. B.A. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. J. Dairy. Sci. 74: 3583–3598.

Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources
J. of Ruminant Research, Vol. 3(3), 2015
http://ejrr.gau.ac.ir

Effect of *Zataria multiflora* essential oils on *in vitro* gas production and rumen fermentation in diets containing different starch sources and fat types

T. Mohammadizad[1], *F. Fatahnia[2], A. Azarfar[3], A. Khatibjoo[2] and G. Taasoli[2]
[1]MSc Student, Dept. of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ilam University
[2]Assistant Prof., Dept. of Animal Sciences, Faculty of Agriculture, Tabriz University
[3]Associate Prof., Dept. of Animal Sciences, Faculty of Agriculture, Lorestan University
Received: 07/13/2015; Accepted: 12/13/2015

Abstract

Background and objectives: The effect of essential oils on in vitro gas production and rumen fermentation has been studied but there are few experiments about the interaction between essential oils and diet type. This experiment was conducted to study the effect of *Zataria multiflora* essential oil (ZMEO) in diets containing different sources of starch (different degradation rate) and different sources of fat on *in vitro* gas production kinetics, ruminal digestion and fermentation parameters.

Materials and methods: Experimental diets in first experiment consist of: 1- corn based diet, 2- wheat and barley based diet. 3- first diet with monensin, 4- second diet with monensin, 5- first diet with ZMEO, 6- second diet with ZMEO and in second experiment experimental diets consist of: 1- diet containing calcium salts of fatty acids, 2- diet containing soybean oil, 3- first diet with monensin, 4- second diet with monensin, 5- first diet with ZMEO and 6- second diet with ZMEO. Gas production (GP), pH, ammonia-N concentration, apparent *in vitro* dry matter digestibility (AIVDMD) and true *in vitro* organic matter digestibility (TIVOMD) were measured. Gas production parameters, fermentation parameters and metabolisable energy (ME) were estimated.

Results: In both experiments ZMEO and monensin significantly decreased the gas production after 24 h of incubation (GP_{24}), gas production potential, VFA concentration, ammonia-N concentration and ME ($P<0.05$). The results of first experiment showed that both of ZMEO and monensin significantly decreased the rate of gas production ($R_{max}S$), microbial biomass production (MBP), apparent *in vitro* dry matter digestibility (AIVDMD) and true *in vitro* organic matter digestibility (TIVOMD) ($P<0.05$). In comparison with monensin, ZMEO significantly decreased GP_{24}, potential gas production and the time at which the maximum of substrate degradation is reached ($TR_{max}S$), MBP, AIVDMD,

*Corresponding author; ffatahnia@yahoo.com

TIVOMD and VFA (P<0.05) and increased half life of gas production and pH (P<0.05). ZMEO significantly increased potential of gas production, maximum gas production per hour, AIVDMD, TIVOMD and MBP and reduced efficiency of MBP and pH in diet containing corn starch in comparison to diets containing wheat and barley starch.

Results of the second experiment showed that both of ZMEO and monensin significantly decreased maximum gas production per hour and half life of gas production (P<0.05). Both of ZMEO and monensin significantly increased the time at which maximum rate of gas production is reached (TRmaxG) and rate of gas production (P<0.05). In comparison with monensin, ZMEO significantly increased $GP_{24,}$ AIVDMD, VFA, rate of gas production, maximum gas production per hour and time at which maximum rate of gas production is reached (TRmaxG). None of the *in vitro* gas production parameters and fermentation were influenced by addition of ZMEO on the different fat sources in the diets (P >0.05).

Conclusion: It is concluded that ZMEO changed the ruminal fermentation and digestion and its effect depending on substrate type.

Keywords**:** *Zataria multiflora*, Starch source, Fat type, Gas production kinetic.