

## اثر برگ گیاه مورد و اسانس آن بر خصوصیات تخمیر و قابلیت هضم در گوسفند عربی

کلثوم صالح پور<sup>۱</sup>، طاهره محمدآبادی<sup>۲\*</sup> و محمدرضا قربانی<sup>۳</sup>

تاریخ دریافت: ۹۶/۲/۷ تاریخ پذیرش: ۹۶/۶/۲۹

<sup>۱</sup> دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان

<sup>۲</sup> دانشیار گروه علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان

<sup>۳</sup> استادیار گروه علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان

\*مسئول مکاتبه: Email: Mohammadabadi@ramin.ac.ir

### چکیده

**زمینه مطالعاتی:** متابولیت‌های ثانویه برگ مورد، توانایی تعدیل تخمیر شکمبه‌ای و بهبود مصرف مواد مغذی در دام را دارند. **هدف:** هدف از این آزمایش بررسی اثر تغذیه برگ گیاه مورد بر خصوصیات تولید گاز و هضم‌پذیری الیاف و پروتئین در گوسفند عربی و تاثیر اسانس مورد بر فراسنجه‌های تولید گاز بود. **روش کار:** در این آزمایش از ۸ راس گوسفند عربی (تقریباً ۹ ماه و میانگین وزن  $23 \pm 1/5$  کیلوگرم) استفاده شد که با جیره بدون برگ مورد و جیره حاوی ۰/۴ درصد برگ مورد همراه با جیره ۷۰ به ۳۰ کنسانتره به علوفه به مدت یک ماه تغذیه شدند (۴ تکرار برای هر تیمار). در پایان فراسنجه‌های تخمیر، تولید گاز و قابلیت هضم آزمایشگاهی کاه و کنجاله سویا با مایع شکمبه دام‌های تغذیه شده اندازه‌گیری شد. در آزمایش دیگر، اثر سطوح مختلف اسانس مورد (۰، ۰/۰۵، ۰/۱ و ۰/۱۵ میلی‌لیتر)، بر فراسنجه‌های تولید گاز جیره‌های آزمایشی حاوی نسبت ۷۰ به ۳۰ کنسانتره به علوفه، با استفاده از تکنیک تولید گاز تعیین شد. داده‌های به دست آمده در قالب طرح کاملاً تصادفی آنالیز شدند. **نتایج:** نتایج نشان داد که تفاوت معنی‌داری در پتانسیل تولید گاز کاه گندم بین تیمارها مشاهده نشد. اما پتانسیل تولید گاز کنجاله سویا با مایع شکمبه دام‌های تغذیه شده با مورد طی ۹۶ ساعت انکوباسیون افزایش (۱۵۸/۱۳ میلی‌لیتر در ساعت) یافت ( $P < 0/05$ ). نرخ تولید گاز کاه و کنجاله تحت تاثیر برگ مورد افزایش یافت ( $P < 0/05$ ). خصوصیات تخمیری کاه گندم تحت تاثیر تیمارها قرار نگرفت، اما میزان ضریب تفکیک (PF)، ماده آلی واقعاً هضم شده و توده میکروبی کنجاله سویا در دام‌های تغذیه شده با مورد نسبت به تیمار شاهد بالاتر بود ( $P < 0/05$ ). در آزمایش دوم، کاهش معنی‌دار در نرخ تولید گاز، حجم گاز تولیدی و ماده آلی واقعاً هضم شده در همه تیمارهای حاوی اسانس مورد نسبت به تیمار شاهد مشاهده شد ( $P < 0/05$ ). اما ضریب تفکیک افزایش معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد نشان داد ( $P < 0/05$ ). **نتیجه‌گیری نهایی:** با توجه به نتایج حاصل، افزودن ۰/۴ درصد برگ مورد در جیره، دارای اثرات افزایشی بر خصوصیات تولید گاز و هضم‌پذیری NDF در گوسفند عربی بود. همچنین افزودن سطوح مختلف اسانس مورد، سبب کاهش حجم گاز تولیدی، تخمیر میکروبی و قابلیت هضم ماده آلی شد.

**واژگان کلیدی:** برگ مورد، تولید گاز، خصوصیات تخمیر، قابلیت هضم، گوسفند عربی

## مقدمه

برای دستکاری میکروفلورای دستگاه گوارش، تنظیم تخمیر شکمبه، بهبود اکولوژی شکمبه و بهبود استفاده از مواد مغذی در حیوانات اهلی می‌باشند (پاترا و ساکسنا ۲۰۱۰). محققان گزارش کردند اسانس اکالیپتوس (هم خانواده مورد) به دلیل خاصیت ضد میکروبی و محدود کردن فعالیت میکروارگانیسم‌ها از تولیدگان جلوگیری کرده اما غلظت اسیدهای چرب فرار و نسبت مولی پروپیونات را افزایش می‌دهد، بنابراین منجر به بهبود برخی پارامترهای تخمیری شکمبه می‌شود (تاتسوکا و همکاران ۲۰۰۸). اطلاعات روی استفاده از برگ مورد در تغذیه نشخوارکنندگان محدود است، بنابراین هدف از این آزمایش بررسی اثر تغذیه برگ مورد و اسانس آن بر خصوصیات تخمیر، تولید گاز و هضم‌پذیری الیاف و پروتئین در گوسفند عربی می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

در آزمایش اول، از ۸ راس گوسفند عربی (تقریباً ۹ ماه و میانگین وزن  $23 \pm 1/5$  کیلوگرم) استفاده شد. جیره پایه پروراری (۳۰ درصد علوفه و ۷۰ درصد کنسانتره) بر اساس جدول احتیاجات غذایی گوسفند (ان آر سی ۲۰۰۷) تنظیم شد. برگ مورد با مقادیر صفر و ۰/۴ درصد ماده خشک جیره به صورت سرک اضافه گردید. برای هر تیمار، ۴ گوسفند در نظر گرفته شد که برای مدت یک ماه با جیره‌های آزمایشی در حد اشتها تغذیه شدند. ترکیبات شیمیایی برگ مورد شامل ماده خشک ۲۵/۳۶، خاکستر ۲/۲، ADF ۲۷/۳۲، NDF ۵۵/۴ و پروتئین خام ۱۶/۲۹ درصد بود.

جهت بررسی فراسنجه‌های تخمیر و تولید گاز و گوارش پذیری توسط دام‌ها، در پایان آزمایش مایع شکمبه از گوسفندان تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی با روش لوله مری قبل از خوراک‌دهی صبح گرفته شد. تخمیر آزمایشگاهی کاه گندم و کنجاله سویا با استفاده از روش تولید گاز (منک و استینگس ۱۹۸۸) در ویال‌های شیشه‌ای ۱۰۰ میلی‌لیتری که حاوی ۳۰۰ میلی‌گرم نمونه، ۲۰ میلی‌لیتر بزاق مصنوعی (بزاق از مخلوط کردن ۲۴۰ ml محلول معدنی پرنیان، ۲۴۰ ml بافر، ۰/۱۲ ml محلول معدنی کم نیاز، ۱/۲۲ ml محلول ریززورین ۰/۱٪ و

متابولیت‌های ثانویه گیاهی به عنوان تغییردهنده‌های تخمیر شکمبه‌ای منجر به کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی و کاهش تولید متان شده و ممکن است راندمان استفاده از انرژی در شکمبه را بهبود بخشند (باسکوت و همکاران ۲۰۰۵). عصاره‌های گیاهی یکی از گزینه‌های مناسب و بی‌ظنیر جهت جایگزینی آنتی‌بیوتیک‌ها با هدف بهبود تخمیر شکمبه گوسفندان است (هارت و همکاران ۲۰۰۸). مورد با نام علمی *Myrtus communis* از خانواده *Myrtaceae* می‌باشد. این خانواده دارای ۷۵ جنس و ۳۰۰۰ گونه در جهان است. درختچه‌های کوچکی است که ارتفاع آن‌ها در شرایط عادی بین ۱ تا ۳ متر می‌رسد. مورد درختچه‌ای است با برگ‌های ساده به رنگ سبز تیره با بافتی چرمی و همیشه سبز با عطر دل‌انگیز می‌باشد. میوه آن تقریباً گوشتی، حاوی دانه‌های متعدد، تخم‌مرغی شکل به رنگ آبی تیره و دارای طعم شیرین و گس است (برازنده ۲۰۰۱). مورد در مناطقی مانند گیلان، منجیل و هرزویل، لرستان، خرم‌آباد و شهبازان، کرمانشاه، گیلانغرب، لب سفید بختیاری، کازرون، مهارلو، نیریز، کرمان، فسا، لار، بندرعباس، بلوچستان، خراسان، خوزستان و یزد مشاهده شده است (مظفریان ۱۳۸۳). اسانس برگ مورد عمدتاً شامل ترپینولن، سینئول، لینالول، ترپینئول و لینالیل استات می‌باشد (زرگری ۱۹۹۷). از جمله مواد مؤثره موجود در گیاه مورد می‌توان به اسیدهای فنولی مانند گالیک اسید، وانیلیک اسید و فرولیک اسید، تانن‌ها مانند گالتانین و فلاونوئیدها مانند میریستین، کاتچین و کوئرستین اشاره کرد (ایدی وانزو ۲۰۱۰). محققین نشان دادند که روغن‌های ضروری مورد تا حد زیادی به عنوان نگهدارنده مواد غذایی و داروی سنتی در درمان ناهنجاری‌های تنفسی، اسهال و بواسیر و فعالیت‌های ضدالتهابی مورد استفاده قرار گرفته است (لوزاباتا و همکاران ۲۰۱۵). مصرف موضعی این گیاه و اسانس آن در درمان تبخال تیپ ۱ و ۲، به عنوان آنتی‌سپتیک و در درمان التهاب مخاط بینی استفاده می‌شود (قاسمی ۱۳۸۸). دانشمندان علاقه‌مند به استفاده از گیاهان دارویی و عصاره آن‌ها

در حمام آب گرم ثبت شد. از رابطه ۱ برای توصیف روند تخمیر در روش تولید گاز استفاده شد.

$$P = b(1 - e^{-ct}) \quad \text{رابطه (۱)}$$

که در این رابطه  $P$ ، پتانسیل تولید گاز؛  $b$ ، بخش دارای پتانسیل تولید گاز (میلی‌لیتر گاز تولیدی به ازاء ۳۰۰ میلی‌گرم ماده خشک)؛  $c$ ، نرخ تولید گاز (درصد در ساعت) و  $t$ ، زمان انکوباسیون است.

۴۰ ml محلول احیا (سولفید سدیم ۹ آبه در سود یک مولار) تهیه شد و ۱۰ میلی‌لیتر مایع شکمبه بود، اندازه‌گیری شد (۴ تکرار برای هر نمونه در نظر گرفته شد). دو ویال بدون نمونه به عنوان بلانک برای کنترل فعالیت مایع شکمبه در نظر گرفته شد. مایع شکمبه مورد نیاز از گوسفندان مورد نظر جمع‌آوری و با استفاده از پارچه متقال چهار لایه صاف شد. سپس با حجم مناسبی (نسبت ۱:۲ بزاق مصنوعی و مایع شکمبه) از بزاق مصنوعی مخلوط شد. محیط با استفاده از گاز دی اکسید کربن بی‌هوازی شد. میزان گاز تولیدی در ساعات صفر، ۲، ۴، ۸، ۱۶، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت پس از قرار دادن ویال‌ها

جدول ۱- اجزاء و ترکیب شیمیایی جیره آزمایشی پایه تغذیه شده به گوسفندان عربی

Table 1- Ingredients and chemical composition of experimental diet fed to Arabi sheep's

اقلام خوراکی Ingredients	درصد %
Alfalfa hay یونجه	30
Corn دانه ذرت	21
Soybeans meal کنجاله سویا	12.35
Barely جو	35.5
Limestone آهک	0.40
Salt نمک	0.25
Vitamin and mineral supplement مکمل معدنی-ویتامینی	0.5
Total مجموع	100
ترکیب شیمیایی (درصد)(%) Chemical composition (%)	
NDF الیاف نامحلول در شوینده خنثی	20.75
ADF الیاف نامحلول در شوینده اسیدی	15.83
Organic matter ماده آلی	97.97
Crud protein پروتئین خام	16.5
ME (Mcal/kg) انرژی قابل متابولیسم (مگا کالری بر کیلوگرم)	2.75

هضم شده محاسبه شد و بر اساس آن ضریب تفکیک (PF)، توده میکروبی و راندمان توده میکروبی با استفاده از روابط ۲، ۳ و ۴ اندازه‌گیری شد (بلومل و همکاران ۱۹۹۷). ضریب تفکیک بیان‌کننده نسبت تجزیه واقعی

پس از پایان انکوباسیون، محتوای ویال‌ها با محلول شوینده خنثی به مدت یک ساعت جوشانده شد. سپس محلول صاف شد. باقی‌مانده در آن خشک و سپس به کوره منتقل و خاکستر شد. در نهایت ماده آلی واقعا

مورد (۰/۰۵، ۰/۱ و ۰/۱۵ میلی‌لیتر)، و تیمار شاهد بودند. تمام جیره‌های آزمایشی از نظر نسبت کنسانتره به علوفه ۷۰ به ۳۰ بود و اسانس مورد به صورت سرک به جیره‌ها اضافه گردید.

داده‌های حاصل از آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با نرم افزار آماری SAS (رویه GLM) نسخه ۹/۱ اجرا گردید. مقایسه میانگین‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح خطای ۵ درصد انجام گرفت. مدل آماری طرح به صورت زیر بود:

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

$Y_{ij}$ : مقدار مشاهده شده

$\mu$ : میانگین جامعه

$T_i$ : اثر آمین تیمار

$\varepsilon_{ij}$ : اثرات باقیمانده (خطا)

### نتایج و بحث

نتایج آزمایش اول نشان داد، پتانسیل تولید گاز کاه گندم با مایع شکمبه دام‌های تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی، تحت تأثیر تیمارها قرار نگرفت اما نرخ تولید گاز تحت تأثیر برگ مورد افزایش یافت ( $P < 0.05$ ). پتانسیل تولید گاز کنجاله سویا با مایع شکمبه دام‌های تغذیه شده با تیمار شاهد و گیاه مورد طی ۹۶ ساعت انکوباسیون به ترتیب ۱۰۶/۸۷ و ۱۵۸/۱۳ میلی‌لیتر در ساعت بود ( $P < 0.05$ ). نرخ تولید گاز نیز به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر تیمارها قرار گرفت ( $P < 0.05$ ). محققین گزارش کردند که استفاده از سطوح مختلف اکالیپتوس (هم خانواده مورد) میزان گاز تولیدی جیره با نسبت ۴۰ به ۶۰ علوفه به کنسانتره را نسبت به شاهد افزایش داد (مهرآبادی و همکاران ۱۳۹۴). اما رضایی (۱۳۹۳) گزارش کرد که افزودن گیاه گل میمونی سازوئی (حاوی لینالول و فلاونوئید کوئرستین) به جیره باعث کاهش میزان و نرخ تولید گاز کاه گندم نسبت به جیره شاهد شد. گیاهان دارویی تولید متان را نسبت به کل گاز تولیدی کاهش می‌دهند که هر کدام مکانیسم عمل خاصی دارند، ترکیبات آلفا-پینن، بتا-پینن و او-۸-سینئول موجود در گیاهان دارویی از جمله مورد از طریق تخریب سلول پروتوزوآ

ماده آلی به حجم گاز تولید شده در دوره‌های زمانی انکوباسیون (معمولاً ۲۴ یا ۴۸ ساعت) می‌باشد. رابطه (۲)

$$PF = \frac{\text{میلی گرم ماده آلی حقیقی هضم شده}}{\text{میلی لیتر گاز تولید شده}}$$

رابطه (۳)

$$(PF - 2/2) \times \text{گاز تولیدی} = \text{توده میکروبی}$$

رابطه (۴) = راندمان سنتز توده میکروبی

ماده آلی واقعا تجزیه شده/ توده میکروبی

برای محاسبه تجزیه دیواره سلولی، محتوای ویال‌ها تخلیه و سپس صاف شدند و به مدت ۲۴ ساعت در آن خشک گردیدند. با کم کردن ماده اولیه و مواد باقیمانده بعد از آن، میزان تجزیه دیواره سلولی محاسبه شد. قابلیت هضم برون تنی کاه و کنجاله سویا، با استفاده از روش هضم دو مرحله‌ای (تلی و تری ۱۹۶۳)، در لوله‌های آزمایش ۱۰۰ میلی‌لیتری که حاوی ۰/۵ گرم نمونه، ۴۰ میلی‌لیتر بزاق مصنوعی (بافر مک دوگال) و ۱۰ میلی‌لیتر مایع شکمبه بود (نسبت ۱:۴)، اندازه‌گیری شد. لوله‌های حاوی مخلوط بزاق و مایع شکمبه، در دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. پس از گذشت ۴۸ ساعت، پنج میلی‌لیتر آنزیم پپسین (مرک-۷۸۵) همراه با شش میلی‌لیتر اسید کلریدریک ۲۰ درصد به هر لوله اضافه شد. و بعد از ۴۸ ساعت (هضم شیردانی) مواد باقیمانده شسته شده و در آن (۴۸ ساعت در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد) خشک شد. قابلیت هضم ماده خشک و الیاف غیرقابل حل در شوینده خنثی با توجه به اختلاف ماده اولیه و مواد باقیمانده در پایان آزمایش هضم، محاسبه شد.

در آزمایش دوم، برگ گیاه مورد از دشت‌های استان کهگیلویه و بویراحمد جمع آوری شد و استخراج اسانس آن به روش تقطیر با آب و با استفاده از دستگاه کلونجر به نسبت ۴۰ گرم پودر برگ و ۱۰۰۰ گرم آب مقطر در آزمایشگاه صورت پذیرفت. اسانس استخراج شده با سولفیت سدیم بی آب رطوبت‌گیری و سپس در دمای یخچال تا زمان آزمایش نگهداری شد (زندى سوهانی و همکاران ۲۰۱۳). برای تعیین اثر اسانس مورد بر فراسنجه‌های تخمیری تولید گاز، از تکنیک تولید گاز طبق روش قبلی استفاده شد. تیمارها شامل سه سطح اسانس

مانع تولید هیدروژن کافی برای تولید متان می‌گردد  
 (مورگاو و همکاران ۲۰۱۰).  
 روند تولید گاز کاه گندم و کنجاله سویا انکوبه شده با  
 مایع شکمبه گوسفندان تغذیه شده با جیره های آزمایشی  
 در جدول ۳ نشان داده شده است.

جدول ۲- تولید گاز کاه گندم و کنجاله سویا انکوبه شده با مایع شکمبه گوسفندان تغذیه شده با جیره حاوی گیاه مورد  
 Table 2- Gas production of wheat straw and soybean meal incubated with rumen fluid of sheep fed with diet containing myrtle plant

تیمار Treatment	پتانسیل تولید گاز (میلی لیتر در ۳۰۰ میلی گرم ماده خشک) Potential of gas production (mL/300 mg DM)	نرخ تولید گاز (میلی لیتر بر ساعت) Gas production rate (mL/h)
<b>کاه گندم Wheat straw</b>		
جیره بدون مورد Diet without myrtle	99.94 <sup>b</sup>	0.020 <sup>b</sup>
جیره حاوی مورد Diet containing myrtle	106.87 <sup>a</sup>	0.028 <sup>a</sup>
SEM <sup>1</sup>	3.84	0.002
P-value	0.307	0.24
<b>کنجاله سویا Soybeans meal</b>		
جیره بدون مورد Diet without myrtle	106.87 <sup>b</sup>	0.028 <sup>b</sup>
جیره حاوی مورد Diet containing myrtle	158.13 <sup>a</sup>	0.041 <sup>a</sup>
SEM <sup>1</sup>	5.19	0.0036
P-value	0.0004	0.048

SEM: خطای استاندارد میانگین ها، در هر ستون اعداد دارای حروف ناهمسان، اختلاف معنی دار با یکدیگر دارند (P<0.05).

SEM: Standard Error of Means. Means within the same column with different superscript letters differ significantly (P<0.05)

جدول ۳- روند تولید گاز\* کاه گندم و کنجاله سویا انکوبه شده با مایع شکمبه گوسفندان تغذیه شده با جیره حاوی گیاه مورد (میلی‌لیتر در ۳۰۰ میلی‌گرم ماده خشک)

Table 3- Kinetic of gas production\* of wheat straw and soybean meal incubated with rumen fluid of sheep fed with diet containing myrtle plant (mL/300 mg DM)

Time (h) زمان (ساعت)	Wheat straw				Soybean meal			
	جیره بدون مورد Diet without myrtle		جیره حاوی مورد Diet containing myrtle		جیره بدون مورد Diet without myrtle		جیره حاوی مورد Diet containing myrtle	
	گاز تجمعی Cumulative gas	نسبت تولید گاز Proportion of gas production	گاز تجمعی Cumulative gas	نسبت تولید گاز Proportion of gas production	گاز تجمعی Cumulative gas	نسبت تولید گاز Proportion of gas production	گاز تجمعی Cumulative gas	نسبت تولید گاز Proportion of gas production
0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	5.25	6.23	11.25	11.6	11.25	11.16	15.5	9.98
4	6.25	1.18	12.5	1.24	12.5	1.24	21.5	3.86
6	9.95	4.39	17.75	5.21	17.75	5.21	35.75	9.17
8	12.75	3.32	21.5	3.72	21.5	3.72	45	4.66
10	16	3.85	25.25	3.72	25.25	3.72	53.75	5.63
12	22	7.12	30.75	5.45	30.75	5.45	64.25	6.76
24	40.25	21.66	52.25	21.33	52.25	21.33	91	17.23
48	64.75	29.08	79.75	27.29	79.75	27.29	136.75	29.46
72	75.5	12.75	92	12.15	92	12.15	147.75	7.08
96	84.25	10.38	100.75	8.68	100.75	8.68	155.25	4.83

\*: تفاضل تولید گاز هر زمان از زمان قبلی خود تقسیم بر کل گاز تولیدی

\* Subtracting gas production in each time from its previous time divided by total gas produced

خوراک هضم شده صرف تولید گاز نسبت به سنتز پروتئین میکروبی شده است (سالم و همکاران ۲۰۰۹). نتایج آزمایش رضایی (۱۳۹۳)، نشان داد که PF، ماده آلی واقعا هضم شده، توده میکروبی و راندمان سنتز توده میکروبی کاه با مایع شکمبه دامهای تغذیه شده با گل میمونی سازوئی (حاوی لینالول و کوئرستین)، نسبت به تیمار شاهد افزایش داشت. پژوهشگران گزارش کردند عصاره آویشن (دارای ترکیبات فلاونوئیدی) و رازیانه (حاوی لیمونن و آلفا-پینن مشابه مورد) نیز باعث کاهش PF می‌شوند (پاترا و ساکسنا ۲۰۱۰).

افزودن گیاه مورد به جیره دامها تأثیر معنی‌داری روی میزان PF یا ضریب تفکیک، میزان ماده آلی واقعا هضم شده، توده میکروبی و راندمان سنتز توده میکروبی مربوط به کاه گندم نداشت. میزان ضریب تفکیک مربوط به کنجاله سویا دامهای تغذیه شده با جیره شاهد و آزمایشی به ترتیب ۹/۰۱ و ۶/۹۹ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود ( $P < 0.05$ ). میزان ماده آلی واقعا هضم شده و میزان توده میکروبی کنجاله سویا مربوط به تیمار آزمایشی نسبت به تیمار شاهد بالاتر بود ( $P < 0.05$ ). در واقع مقادیر کمتر PF نشان‌دهنده پایین بودن راندمان سنتز پروتئین میکروبی می‌باشد، به این معنا که سهم بیشتری از

جدول ۴- فراسنجه‌های تخمیر کاه گندم و کنجاله سویا انکوبه شده با مایع شکمبه گوسفندان تغذیه شده با جیره حاوی گیاه

مورد

Table 4- Fermentation parameters of wheat straw and soybean meal incubated with rumen fluid of sheep fed with diet containing myrtle plant

تیمار Treatment	ضریب تفکیک (میلی‌گرم در میلی‌لیتر) PF (mg per mL)	ماده آلی واقعا هضم شده (میلی‌گرم) Truly digested organic matter (mg)	توده میکروبی (میلی‌گرم) Microbial biomass (mg)	راندمان توده میکروبی (درصد) Efficiency of microbial biomass (%)	تجزیه دیواره سلولی Cell wall degradation (%)
<b>کاه گندم Wheat straw</b>					
جیره بدون مورد Diet without myrtle	7.91	159.25	114.15	71.82	29.58
جیره حاوی Diet containing myrtle	7.83	195.7	141.25	72.18	30.30
مورد					
SEM <sup>1</sup>	0.385	10.01	5.40	1.28	1.28
P-value	0.89	0.123	0.071	0.863	0.834
<b>کنجاله سویا Soybeans meal</b>					
جیره بدون مورد Diet without myrtle	9.01 <sup>a</sup>	223 <sup>b</sup>	168.55 <sup>b</sup>	75.58	61.20
جیره حاوی Diet containing myrtle	6.99 <sup>b</sup>	284.85 <sup>a</sup>	194.65 <sup>a</sup>	68.40	67.60
مورد					
SEM <sup>1</sup>	0.328	7.33	2.18	1.46	3.59
P-value	0.0489	0.027	0.013	0.074	0.334

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها، در هر ستون اعداد دارای حروف ناهمسان، اختلاف معنی دار با یکدیگر دارند ( $P < 0.05$ ).

SEM: Standard Error of Means. Means within the same column with different superscript letters differ significantly ( $P < 0.05$ ).

بازی کنند (اسمیت و همکاران ۲۰۰۵). روغن‌های ضروری و عصاره گیاهان دارویی فعالیت‌های متفاوتی را در محیط شکمبه نشان می‌دهند (باسکوت و همکاران ۲۰۰۵). موافق با نتایج ما، رضایی (۱۳۹۳) گزارش کرد قابلیت هضم ماده خشک کنجاله سویا در تیمار حاوی گیاه گل میمونی (حاوی کوئرسستین و لینالول مشابه مورد) افزایش معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد داشت. اما دیگر محققان مخالف با نتایج ما، گزارش کردند که کاهش در تجزیه‌پذیری ماده خشک، تولید گاز و متان را می‌توان به فعالیت ضد میکروبی فلاونوئیدها نسبت داد (کاشنی و لامب ۲۰۱۱).

قابلیت هضم آزمایشگاهی ماده خشک و الیاف نامحلول در شوینده خنثی کاه گندم و قابلیت هضم ماده خشک کنجاله سویا در تیمار آزمایشی نسبت به تیمار شاهد بالاتر بودند ( $P < 0.05$ ). ممکن است مواد مؤثره موجود در گیاه مورد موجب تحریک فعالیت میکروارگانیسم‌های مؤثر در قابلیت هضم ماده خشک و الیاف نامحلول در شوینده خنثی شده باشد. در این زمینه مطالعات روی مورد محدود است، اما گزارش شده جدا شدن حلقه C فلاونوئیدهای موجود در گیاهان دارویی، در شکمبه منجر به تولید اسیدهای فنولی می‌شود که می‌توانند نقش جایگزین منبع کربن را برای فعالیت میکروبی شکمبه

جدول ۵- قابلیت هضم آزمایشگاهی کاه گندم و کنجاله سویا با مایع شکمبه گوسفندان تغذیه شده با جیره حاوی گیاه مورد  
Table 5- *In vitro* digestibility of wheat straw and soybean meal incubated with rumen fluid of sheep fed with diet containing myrtle plant

تیمار Treatment	قابلیت هضم ماده خشک (درصد) Digestibility of dry matter (%)	قابلیت هضم الیاف نامحلول در شوینده خنثی (درصد) Digestibility of NDF (%)
<b>Wheat straw کاه گندم</b>		
جیره بدون مورد Diet without myrtle	43.94 <sup>b</sup>	73.73 <sup>b</sup>
جیره حاوی مورد Diet containing myrtle	50.44 <sup>a</sup>	88.33 <sup>a</sup>
SEM <sup>1</sup>	0.936	3.12
P-value	0.0027	0.297
<b>Soybeans meal کنجاله سویا</b>		
جیره بدون مورد Diet without myrtle	77.63 <sup>b</sup>	-
جیره حاوی مورد Diet containing myrtle	85.95 <sup>a</sup>	-
SEM <sup>1</sup>	0.484	-
P-value	<0.0001	-

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها، در هر ستون اعداد دارای حروف ناهمسان، اختلاف معنی‌دار با یکدیگر دارند ( $P < 0.05$ ).

SEM: Standard Error of Means. Means within the same column with different superscript letters differ significantly ( $P < 0.05$ ).

آلی واقعاً هضم شده در همه تیمارها نسبت به تیمار شاهد شد ( $P < 0.05$ ). همچنین با افزودن سطوح مختلف اسانس مورد، ضریب تفکیک نسبت به تیمار شاهد

نتایج آزمایش دوم نشان داد افزودن مقادیر مختلف اسانس مورد (۰، ۰/۰۵، ۰/۱ و ۰/۱۵ میلی‌لیتر) منجر به کاهش معنی‌دار نرخ تولید گاز، حجم گاز تولیدی و ماده



همکاران (۱۳۹۴) گزارش کردند که در سطح ۵ میکرولیتر اسانس، ماده آلی تجزیه نشده بهبود یافت ولی در سطوح بالاتر روند کاهش می‌باشد. نتایج پژوهش‌ها (اولادشنبه و همکاران ۱۳۹۳)، نشان داد که سطوح بالای اسانس مروتلیخ (حاوی ۱ و ۸-سینئول مشابه با اسانس مورد) موجب کاهش پروتئین میکروبی و راندمان تولید پروتئین میکروبی شدند. افزودن سطوح مختلف اسانس مورد در آزمایش تولید گاز سبب کاهش تخمیر میکروبی و در نهایت کاهش قابلیت هضم ماده آلی شده است که می‌تواند به علت ترکیبات فنولی موجود در آن باشد. موافق با آزمایش حاضر، پاینده مهر و همکاران (۱۳۹۳)، گزارش کردند که با افزایش سطح اسانس اکالیپتوس، ماده آلی واقعاً هضم شده کاهش یافت. کاهش هضم ماده آلی و همچنین کاهش تولید گاز را می‌توان به وجود روغن‌های ضروری مانند ۱ و ۸-سینئول که خاصیت ضد میکروبی دارند، نسبت داد. در کل با توجه به مطالب مورد اشاره می‌توان این‌گونه جمع‌بندی نمود که روغن‌های ضروری موجود در اسانس گیاه مورد می‌تواند با اثر گذاری بر میکروارگانیسم‌های محیط کشت از جمله باکتری‌های تولید کننده متان و پروتوزوا حجم گاز تولیدی را در انتهای دوره انکوباسیون کاهش دهند، ولی به دلیل محدودیت اطلاعات در دسترس جمع‌بندی و ارائه مکانیسم اثرگذاری آن نیاز به مطالعات بیشتری دارد. همچنین افزودن سطوح مختلف اسانس مورد در مقایسه با برگ مورد در آزمایش اول، سبب کاهش تخمیر میکروبی و در نهایت کاهش قابلیت هضم ماده آلی شده است که می‌تواند به علت ترکیبات فنولی و مواد موثره بیشتر موجود در اسانس در مقایسه با برگ باشد. روند تولید گاز سطوح مختلف (۰، ۰/۰۵، ۰/۱ و ۰/۱۵ میلی‌لیتر) اسانس مورد در جیره‌های حاوی ۳۰ درصد علوفه و ۷۰ درصد مواد متراکم در جدول ۸ نشان داده شده است.

افزایش معنی‌داری نشان داد ( $P < 0/05$ ). میزان راندمان سنتز توده میکروبی و توده میکروبی فقط در سطح ۱۰/۱۵ اسانس به‌طور معنی‌داری نسبت به شاهد کاهش یافت ( $P < 0/05$ ). با بررسی اثر سطوح مختلف اسانس مورد بر روند تولید گاز می‌توان دریافت که تولید گاز تیمار شاهد از بقیه تیمارها بالاتر بود، که شاید نشانه اثر مهارکنندگی اسانس‌ها مانند اکالیپتوس (هم خانواده مورد) بر تخمیر میکروبی شکمبه و کاهش هضم و تولید گاز به دلیل غلظت بیشتر مواد موثره موجود در اسانس نسبت به برگ گیاه باشد (پاینده مهر و همکاران ۱۳۹۳). در طی پژوهشی اثرات استفاده از سطوح مختلف اسانس اکالیپتوس (۰، ۰/۰۵، ۱، ۱/۵ و ۲ میلی‌لیتر) در جیره حاوی ۳۰ درصد علوفه و ۷۰ درصد کذسانتره بررسی شد، و مشخص شد که با افزودن سطوح مختلف اسانس، تولید گاز به‌طور قابل توجهی نسبت به تیمار شاهد کاهش می‌یابد و همچنین در مطالعه‌ای دیگر (نوریان سرور و همکاران ۱۳۹۴)، اثر ۵ سطح اسانس اکالیپتوس (۵، ۵۰، ۲۵۰ و ۵۰۰ میکرولیتر) روی حجم گاز تولیدی بررسی شد که نتایج نشان داد فقط در سطح ۵ میکرولیتر اسانس، حجم کل گاز تولیدی افزایش داشت اما سایر سطوح مهار تخمیر را نشان دادند، که دلیل کاهش حجم گاز تولیدی در سطح بالای اسانس را، وجود عوامل مؤثر اسانس اکالیپتوس (۱ و ۸-سینئول، آلفا-پینن و تانن) دانستند که سبب مهار آنزیم‌های تجزیه کننده مواد مغذی و در نهایت کاهش گاز کل شده است. گیاهان دارویی منجر به کاهش تولید متان از طریق مهار پروتوزوا، کاهش تولید هیدروژن و مهار مستقیم تولید کننده‌های متان می‌شوند (هریستو و همکاران ۲۰۰۸). اسانس‌های گیاهی وابسته به نوع و مقدار اسانس مورد ارزیابی، اثرات متفاوتی بر فرآیند تولید متان دارند. محدوده اثر اسانس‌های گیاهی و اجزای آن‌ها بر حسب ماهیت و فعالیت متفاوت است (مچنکوف و همکاران ۲۰۰۸). در مطالعه‌ای (پاینده مهر و همکاران ۱۳۹۳)، مشاهده گردید که با افزایش سطوح اسانس اکالیپتوس (خانواده میرتاسه) اعداد مربوط به PF در تیمار شاهد (بدون اسانس) کمترین مقدار بود. نوریان سرور و

جدول ۶- اثر سطوح مختلف اسانس مورد در جیره‌های حاوی ۳۰ درصد علوفه و ۷۰ درصد مواد متراکم بر فراسنجه‌های

تخمیر و تولید گاز

Table 6- Effect of different levels of myrtle essential oil in diets containing 30% forage and 70% concentrate on fermentation parameters and gas production

اسانس لیتر)(میلی Treatment (ml)	پتانسیل تولید گاز(میلی لیتر در ۳۰۰ میلی‌گرم ماده خشک) Potential of gas production (mL/300 mg DM)	نرخ تولید گاز (میلی لیتر بر ساعت) Rate of gas production (mL/h)	ضریب تفکیک (میلی‌گرم در لیتر)میلی PF (mg per mL)	ماده آلی واقعا هضم شده (میلی‌گرم) Truly digested organic matter (mg)	راندمان سنتز توده میکروبی (درصد) Efficiency of microbial biomass (%)	توده میکروبی (میلی‌گرم) Microbial biomass (mg)	تجزیه دیواره سلولی Cell wall degradation (%)
شاهد Control	133.3 <sup>a</sup>	0.081 <sup>a</sup>	3.27 <sup>b</sup>	217.7 <sup>a</sup>	0.506 <sup>a</sup>	110.45 <sup>a</sup>	82.33 <sup>a</sup>
0.05	115.9 <sup>b</sup>	0.064 <sup>b</sup>	4.32 <sup>a</sup>	204.3 <sup>a</sup>	0.488 <sup>a</sup>	99.8 <sup>a</sup>	58.33 <sup>b</sup>
0.1	109.8 <sup>b</sup>	0.070 <sup>b</sup>	4.47 <sup>a</sup>	187.2 <sup>b</sup>	0.502 <sup>a</sup>	94.25 <sup>a</sup>	63.10 <sup>b</sup>
0.15	111.5 <sup>b</sup>	0.069 <sup>b</sup>	4.43 <sup>a</sup>	118.15 <sup>c</sup>	0.325 <sup>b</sup>	38.4 <sup>b</sup>	57.3 <sup>b</sup>
SEM <sup>1</sup>	5.05	0.0026	0.235	3.79	0.0318	7.005	2.60
P-value	0.024	0.005	0.059	0.0002	0.0003	0.0064	0.071

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها، در هر ستون اعداد دارای حروف ناهمسان، اختلاف معنی دار با یکدیگر دارند (P<0.05).

SEM: Standard Error of Means. Means within the same column with different superscript letters differ significantly (P<0.05)

جدول ۷- اثر سطوح مختلف اسانس مورد در جیره‌های حاوی ۳۰ درصد علوفه و ۷۰ درصد مواد متراکم بر روند تولید گاز\* (میلی‌لیتر در ۳۰۰ میلی‌گرم ماده خشک)

Table 7- Effect of different levels of myrtle essential oil in diets containing 30% forage and 70% concentrate on kinetics of gas production\* (mL/300 mg DM)

Time (h) زمان (ساعت)	Wheat straw				Soybean meal			
	جیره بدون مورد Diet without myrtle		جیره حاوی مورد Diet containing myrtle		جیره بدون مورد Diet without myrtle		جیره حاوی مورد Diet containing myrtle	
	گاز تجمعی Cumulative gas	نسبت تولید گاز Proportion of gas production	گاز تجمعی Cumulative gas	نسبت تولید گاز Proportion of gas production	گاز تجمعی Cumulative gas	نسبت تولید گاز Proportion of gas production	گاز تجمعی Cumulative gas	نسبت تولید گاز Proportion of gas production
0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	14.75	10.68	17	13.90	14.75	12.77	15	12.76
4	29.25	10.5	31	11.45	26.25	9.95	27	10.21
6	43.5	10.32	44.75	11.24	39	11.03	39.25	10.42
8	55.75	8.87	57.25	10.22	50.25	9.74	50.25	9.36
10	66.25	7.60	68	8.79	58.5	7.14	59	7.44
12	75	6.34	75	5.72	64.5	5.19	65.25	5.31
24	95.5	14.85	90.5	12.67	81	14.28	81.75	14.04
48	124.75	21.19	110	15.95	102.75	18.83	104.25	19.14
72	131.5	4.89	115.75	4.70	109	5.41	110.5	5.31
96	138	4.71	122.25	5.31	115.5	5.61	117.5	5.95

\*: تفاضل تولید گاز هر زمان از زمان قبلی خود تقسیم بر کل گاز تولیدی

\* Subtracting gas production in each time from its previous time divided by total gas produced

**نتیجه‌گیری کلی**

سبب کاهش حجم گاز تولیدی، تخمیر میکروبی و در نهایت کاهش قابلیت هضم ماده آلی شده است.

با توجه به نتایج به نظر می‌رسد تغذیه ۰/۴ درصد برگ گیاه مورد دارای اثرات مفیدی بر تخمیر شکمبه‌ای و هضم پذیری NDF در گوسفند عربی می‌باشد. بنابراین با توجه به ارزان و در دسترس بودن این گیاه در بعضی مناطق، شاید بتوان آن را به عنوان یک مکمل گیاهی در جیره گوسفند عربی استفاده کرد. اما برای استفاده در سطوح بالاتر بهتر است آزمایشات بیشتری در این زمینه انجام شود. همچنین افزودن سطوح مختلف اسانس مورد،

**تشکر و قدردانی**

بدین وسیله از مسئولین محترم دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان به خاطر فراهم آوردن زمینه انجام این آزمایش قدردانی می‌شود.

**منابع مورد استفاده**

- Aidi Wannas W, Mhamdi B, Sriti J and Marzouk B, 2010. Changes in essential oil composition of Tunisian *Myrtus communis* var. *italica* during its vegetative cycle. *Journal Essential Oil Research* 22: 13–18.
- Barazandeh M M, 2001. Identification of essential oil components of myrtle (*Myrtus communis*. L). *Iran Journal Medicinal Aromatic* 6: 115-127.
- Blümmel M, Steingass H and Becker K, 1997. The relationship between *in vitro* gas production, *in vitro* microbial biomass yield and 15N incorporation and its implications for prediction of voluntary feed intake of roughages. *British Journal of Nutrition* 77: 911–921.
- Bouzabata A, Bazzali O Cabral C, Goncalves MJ, Cruz M, Bighelli A, Tomi F and Salgueiro L, 2015. *Myrtus communis* L. as source of a bioactive and safe essential oil. *Journal Food and Chemical Toxicology* 75: 166–172.
- Busquet M, Calsamiglia S, Ferret A and Kamel C, 2006. Plant extracts affect *in vitro* rumen microbial fermentation. *Journal of Dairy Science* 89: 761–771.
- Busquet M, Calsamiglia S, Ferret A, Carro MD and Kamel C, 2005. Effect of garlic oil and four of its compounds on rumen microbial fermentation. *Journal of Dairy Science* 88: 4393–4404.
- Cushnie TPT and Lamb A J, 2011. Recent advances in understanding the antibacterial properties of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents* 38(2): 99–107.
- Danesh Mesgaran M, 2009. *The New in Vitro Methods in Animal Researches*. Ferdowsi University Press, Mashhad, P. 191. (In Persian).
- Ellis RH, Hong TD and Roberts EH, 1985. Handbook of seed technology for gene banks. Vol 2, Rome, IBPGR, 511-513.
- Ghasemi A, 2013. *Medical and Aromatic Plants of Iran*. Islamic Azad University of Shahrekord Press. P. 491. (In Persian).
- Hart KJ, Yanez-Ruiz DR, Duval SM, McEwan NR and Newbold CJ, 2008. Plant extracts to manipulate rumen fermentation. *Animal Feed Science and Technology* 147: 8–35.
- Hristov AN, Ropp JK, Zaman S and Melgar A, 2008. Effects of essential oils on *in vitro* ruminal fermentation and ammonia release. *Animal Feed Science and Technology* 144: 55-64.
- Macheboeuf D, Morgavi DP, Papon Y, Mousset JL and Arturo-Schaan M, 2008. Dose response effects of essential oils on *in vitro* fermentation activity of the rumen microbial population. *Animal Feed Science and Technology* 145:335-350.
- Mehrabadi M, Vakili AR, Danesh Mesgaran M and Valizadeh R, 2016. The effect of adding different levels of garlic and eucalyptus powder on *in vitro* fermentative parameters of rumen. 2<sup>th</sup> International Conference on Modern Research in Agricultural Science and Environment. 14<sup>th</sup> March. Istanbul, Turkey.
- Menke KH and Steingass H, 1988. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and gas production using rumen fluid. *Animal Research and Development* 28: 7–55.

- Morgavi DP, Forano E, Martin C and Newbold CJ, 2010. Microbial ecosystem and methanogenesis in ruminants. *Animal* 4(7): 1024–1036.
- Mozafaryan W. 2008. *Ilam Flora, Publisher Department of Natural Resources of Ilam*. (pp. 597-598). (In Persian).
- Nourian Sarvar MA, Moeini MM and Vosoghi F, 2015. The effect of eucalyptus essential oil on sheep in vitro fermentation parameters and production of methane. *Journal of Research in Animal Nutrition* 3: 19-26. (In Persian).
- NRC. 2007. *Nutritional Requirements of Small Ruminant*. National Academy Press. Washington, D.C.
- Ouladshanbe Y, Sari M, Chaji M, Mohammadabadi T and Bojarpour M, 2014. Investigating the effects of *Salvia mirzayanii* essential oil on rumen microbial fermentation and nutrient digestibility using gas production and dual flow continuous culture system. *Iranian Journal of Animal Science Research* 6 (1). 54-65. (In Persian).
- Patra AK and Saxena J, 2010. A new perspective on the use of plant secondary metabolites to inhibit methanogenesis in the rumen. *Phytochemistry* 71 (11-12): 1198–1222.
- Payandeh Mehr M, Bojarpour M, Sari M, Mohammadabadi T and Chaji M, 2014. The study of effect of adding eucalyptus essential oil on fermentation parameters in diets containing high concentrate by using gas production test. 6<sup>th</sup> Animal Science Congress. Tabriz, Iran. (In Farsi).
- Rezai F, 2014. Investigating the effect of *Scrophularia striata* Boiss on fermentation and rumen microbial digestion of Lori- Bakhtiari sheep. Msc Thesis. Ramin Agriculture and Natural Resource University of Khuzestan.
- Sallam SMA, Bueno ICS, Brigide PB, Vittii DMSS and Abdalla AL, 2009. Efficiency of eucalyptus oil on *in vitro* ruminal fermentation and methane production. *Nutritional and Foraging Ecology of Sheep and Goats* 85: 267-272.
- Smith H, Zoetendal E and Mackie RI, 2005. Bacterial mechanisms to overcome inhibitory effects of dietary tannins. *Microbial Ecology* 50(2): 197–205.
- Tatsuoka N, Hara K, Mikuni K, Hashimoto H and Itabashi H, 2008. Effect of the essential oil cyclodextrin complexes on ruminal methane production *in vitro*. *Animal Science Journal* 79: 68-75.
- Tilley JMA and Terry RA, 1963. A two stage technique for the in digestion of forage crops. *Journal of the British Grassland Society* 18: 104-111.
- Zandi-Sohani N, Hojjati M and Carbonell-Barrachina AA, 2013. Insecticidal and repellent activities of the essential oil of *Callistemon citrinus* (myrtaceae) against *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae). *Neotropical Entomology* 42: 89-94.
- Zargari A, 1997. Medicinal plants. Tehran university press. vol 4. pp:130 (In Persian).

## The effect of myrtle leaves and essential oil on the fermentation characteristics and digestibility in Arabi sheep

K Salehpour<sup>1</sup>, T Mohammadabadi<sup>2\*</sup> and MR Ghorbani<sup>3</sup>

Received: April 27, 2017 Accepted: September 20, 2017

<sup>1</sup>Graduated M.Sc. Student, Department of Animal Science, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Ahvaz, Iran

<sup>2</sup>Associate Professor, Department of Animal Science, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Ahvaz, Iran

<sup>3</sup>Assistant Professor, Department of Animal Science, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Ahvaz, Iran

\*Corresponding author: Mohammadabadi@ramin.ac.ir

**Introduction:** Medicinal herbs such myrtle leaf are used in animals, and secondary metabolites of them alter rumen fermentation in livestock. Essential oils of myrtle leaf are containing terpinolene, cineole, linalool, terpineol and linalyl acetate. Also there are phenolic acids such as gallic acid, vanillic acid and ferulic acid; tannins such as galotannin and flavonoids such as myrcetin, catechin and quercetin in myrtle oil. Myrtle leaf was used traditionally in the treatment of bronchitis, sinusitis, diarrhea and hemorrhoids. The studies showed that myrtle essential oils are used greatly as a food preservative. Also researchers reported that secondary metabolites of medicinal plants have hypoglycemic properties and reduce cholesterol and other blood lipids. There is rare information about using of myrtle leaf in livestock nutrition. Therefore, purpose of this experiment was to evaluate the effect feeding of myrtle leaf on the gas production characteristics and fiber digestion and protein in Arabi sheep and effect of myrtle essential oils on gas production parameters.

**Material and methods:** In this trial, 8 Arabi sheep (about 9 months' age and average weight  $23 \pm 1.5$  kg) were used and fed with diet without myrtle leaf and diet containing 0.4 percent myrtle leaf in diet 70:30 concentrate to forage for 30 days (4 replicates per treatment). In the end of experiment, fermentation parameters, gas production and *in vitro* digestibility of wheat straw and soybean meal with rumen fluid of sheep's fed with experimental diets were measured. Rumen fluid was collected from animals before the morning feeding. About 200 mg sample (1.0 mm screen) incubated in 100 ml vials with 35 mL buffered rumen fluid under continuous CO<sub>2</sub> reflux for 2, 4, 6, 8, 10, 12, 16, 24, 48, 72 and 96 h, in a water bath maintained at 39°C. Cumulative gas production data were fitted to the exponential equation  $Y=B(1-e^{-ct})$ , where B is the gas production (mL) from the fermentable fraction, C is the rate constant of gas production (mL/h), t is the incubation time (h) and Y is the volume of gas produced at time t. Partitioning factor (PF), microbial biomass and truly digested organic matter was calculated by Makkar and Becker. For determination of partitioning factor at the end of each incubation period, the content of vials was transferred into an Erlenmeyer flask, mixed with 20 mL neutral detergent fiber solution, boiled for 1 hour, filtered, dried (in oven at 60 °C for 48 h) and ashed. In the second trial, the effect of different levels of myrtle essential oils (0, 0.05, 0.1 and 0.15 mL) in diet 30% forage and 70% concentrate on gas production parameters was measured by gas production method. Essential oils of myrtle leaf were taken by cleveger.

Digestibility of dry matter and NDF of samples (wheat straw and soybean meal) were determined using tilly and terry method. Rumen fluid was collected from animals, and were mixed with McDougall buffer in a ratio 1:4. After gasifying with CO<sub>2</sub>, tubes were incubated at 39 °C. After 48 h of fermentation, 6 mL of 20% HCl solution and 5 mL pepsin solution were added and the incubated for 48 h, simulating post-ruminal degradation. After incubation, the residual substrates of each tube were filtered and used to determine digestibility of DM and NDF.

The obtained data were analyzed in a completely randomized design using the General Linear Model (GLM) procedure of SAS software, version 9.1. The Duncan multiple range test was used to compare means at  $P < 0.05$ .

**Result and discussion:** The results showed that no significant difference between treatments was observed in gas production potential of wheat straw, but gas production potential of soybean meal with rumen fluid of animals fed with myrtle leaf after 96 hours' incubation (158.13 mL/hour) increased ( $P < 0.05$ ). The gas production rate of wheat straw and soybean meal increased by myrtle leaf ( $P < 0.05$ ). Fermentation characteristics (partitioning factor, truly digested organic matter and microbial biomass) of wheat straw were not affected by experimental treatments, but the partitioning factor, truly digested organic matter and microbial biomass of the soybean meal in animals fed with myrtle leaf was higher in compared with control treatment ( $P < 0.05$ ). On the base of second experiment, using different levels of myrtle essential oils in diet significantly reduced gas production potential and rate and truly digested organic matter in comparison to the control treatment but PF significantly increased ( $P < 0.05$ ). Other parameters did not affect by levels of myrtle essential oils. It seems the inhibitory effect of essential oils on rumen microbial fermentation and decrease of digestion and gas production because of high content of active matters of essential oil in compared with myrtle leaf, but increasing of gas production by inclusion of leave in diet refer nutrient availability of myrtle leaf for microorganisms. The researchers reported cineole, alfa-pinen and tannins of myrtle essential oils caused to inhibition of microbial enzymes and decrease fermentation. Tannins can reduce microorganism adhesion to nutrients, inhibit microbial activity which have negative effects on fermentation and methane production.

**Conclusion:** According to the result, it appears that inclusion 0.4 % myrtle leaf in diet increased gas production and digestibility of NDF in Arabi sheep. But, myrtle essential oils levels significantly reduced gas production, fermentation and digested organic matter.

**Keywords:** Arabi sheep, Digestibility, Essential oils, Gas production, Myrtle leave