Archive of SID

تولیدات دامی
دوره ۱۸ ■ شماره ۳ ■ پاییز ۱۳۹۵
صفحه‌های ۴۹۰-۴۷۷

تأثیر گیاه و اسانس پونه بر فراسنجه‌های تخمیر، تولیدگاز متان و جمعیت پروتوزوآیی شکمبه بز به روش آزمایشگاهی

علی خضریان[۱]، محمد ابراهیم نوریان سرور[۲*]، و محمد مهدی معینی[۳]

۱. دانشجوی دکتری دامپزشکی، گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران
۲. استادیار گروه علوم دامی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران
۳. دانشیار گروه علوم دامی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران

تاریخ وصول مقاله: ۱۳۹۴/۰۴/۰۷ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۴/۱۲/۰۹

چکیده

هدف از انجام تحقیق حاضر، ارزیابی تأثیر گیاه و اسانس پونه بر فرایند تخمیر شکمبه و جمعیت پروتوزوآیی بز بود. گیاه پونه (در سطوح صفر، ۲۵، ۳۵، ۵۵، ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم در ۳۰ میلی‌لیتر) و اسانس پونه (در سطوح صفر، ۱۷۰۰، ۳۰۰۰، ۶۷۰۰، ۸۳۰۰ و ۱۰۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر) و مونسین (۵۰ میلی‌گرم محلول در اتانول) به مایع شکمبه اضافه شد. آزمون تولید گاز در قالب یک طرح کاملاً تصادفی و با پنج تکرار در هر تیمار انجام شد. گاز تولیدی در سطوح ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم گیاه پونه کاهش یافت (P<۰/۰۰۱). سطوح ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم گیاه پونه و مونسین در مقایسه با شاهد، تجزیه‌پذیری ماده آلی کاهش داد (P<۰/۰۰۱). کلیه سطوح گیاه پونه غلظت ازت آمونیاکی را کاهش داد (P<۰/۰۰۱)، اما ضریب تفکیک‌پذیری و بازده تولید پروتئین میکروبی تنها در سطح ۱۰۰ میلی‌گرم پونه و تیمار مونسین افزایش یافت (P<۰/۰۰۱). همزمان با کاهش مقادیر اسیدهای چرب فرار، انرژی قابل سوخت‌وساز و انرژی خالص شیردهی در دو سطح ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم پونه نسبت به شاهد کاهش یافت (P<۰/۰۰۱). جمعیت کل پروتوزوآی و زیرخانواده انتودینینه در تمام سطوح گیاه پونه کاهش یافت (P<۰/۰۰۱). تمام سطوح اسانس پونه، گاز متان، ازت آمونیاکی و جمعیت پروتوزوآیی را کاهش و بازده تولید پروتئین میکروبی را بهبود بخشید (P<۰/۰۰۱). براساس نتایج حاصل، استفاده از گیاه و اسانس پونه، گاز متان، نیتروژن آمونیاکی و جمعیت پروتوزوآیی را کاهش و ضریب تفکیک پذیری و بازده تولید میکروبی را بهبود می بخشد.

کلیدواژه‌ها: ازت آمونیاکی، بز، پونه، تجزیه‌پذیری، گاز گلخانه‌ای

* نویسنده مسئول Email: menooriyan@razi.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

یک میش بالغ (۴۸ کیلوگرم)، گاو نر پرواری (۴۷۰ کیلوگرم) و گاو شیری (۵۵۰ کیلوگرم) در سال به ترتیب حدود ۱۳-۱۰، ۹۰-۵۰ و ۱۴۶-۹۱ کیلوگرم متان تولید دارند که این مقادیر برای میش، گاو نر و گاو شیری به ترتیب برابر با اتلاف ۲/۰-۱/۵، ۱۳/۶-۷/۶ و ۲۲/۱-۱۳/۶ مگاژول انرژی خام در روز است [۱۴]. لذا در ایران براساس جمعیت نشخوارکنندگان به ترتیب گاو، گوسفند و بز در حدود ۷۷۸، ۵۲۲ و ۲۲۶ میلیون کیلوگرم متان در سال تولید دارند. اتلاف انرژی خام ناشی از تولید متان برای جمعیت گاو، گوسفند و بز ایرانی به ترتیب ۷۹، ۱۱۷ و ۳۶ میلیون مگاژول در روز است [۱۴]. یونوفرها (مونسین) ترکیباتی با قابلیت افزایش تولید پروپیونات، کاهش استات و متان و بهبوددهنده متابولیسم نیتروژن در شکمبه هستند که به دلیل ممنوعیت استفاده از آنها، توجه ویژه‌ای به استفاده از گیاهان دارویی دارای ترکیبات مؤثر با هدف بهبود فرایند تخمیر شکمبه صورت گرفته است [۸ و ۱۴]. همچنین کاهش دآمیناسیون اسیدهای آمینه و نیتروژن آمونیاکی و افزایش تولید پروتئین میکروبی از اهداف کاربرد افزودنی‌ها در جیره دام است [۸ و ۲۲]. گیاهان دارویی حاوی اسانس، اثرات ضدباکتریایی و ضدپروتوزوآیی در محیط تخمیر شکمبه گوسفند و بز دارند [۸ و ۱۹]، لذا امکان جایگزینی آن‌ها به عنوان آنتی-بیوتیک‌های طبیعی و مهار برخی فعالیت‌های میکروبی در شکمبه نشخوارکنندگان وجود دارد.

افزودن پنج سطح گیاه جنس *Mentha* در محیط تخمیر آزمایشگاهی دارای مایع شکمبه گاو میش، سبب کاهش ۱۵ تا ۴۵ درصدی گاز متان، کاهش نیتروژن آمونیاکی، افزایش گاز تولیدی می شود [۲۸]. استفاده از دو سطح اسانس (یک و دو گرم در روز) و دو سطح مونسین (۶۰ و ۲۵۰ میلی‌گرم در روز) در جیره گاوهای گوشتی نشان داده است که اسانس توانایی کاهش متان را نداشته ولی سطح دوم مونسین ضمن کاهش گاز متان به مقدار ۱۸ درصد؛ ماده خشک مصرفی را نیز کاهش داده است [۲۶]. استفاده از اسانس نعناع به روش آزمایشگاهی در سه سطح، سبب افزایش گاز کل، کاهش گاز متان، نیتروژن آمونیاکی و جمعیت پروتوزوآیی *اسپیروتیچ‌ها* [۳] و استفاده از نعناع (۲۰۰ میلی‌گرم در روز) در گاوهای پرواری سبب کاهش جمعیت پروتوزوآیی کل و نیتروژن آمونیاکی شده است [۴]. همچنین پروتوزوآ تولیدکننده H_2 در محیط تخمیر است و این گاز به عنوان سوبسترا جهت تولید متان مصرف می‌شود [۲۴]. همچنین، کاهش جمعیت پروتوزوآیی به میزان ۱۷-۱۲ درصد، سبب کاهش تولید متان شده است (۱).

گیاه پونه (*Mentha longifolia* L.) حاوی یک میلی‌لیتر اسانس به ازای هر ۱۰۰ گرم ماده خشک بوده و حاوی ۵۵ ماده مؤثره می‌باشد که مهمترین آنها پلی‌گون (۵۴/۶ درصد) و منتون (۱۵/۱ درصد) هستند. ۳۰ نوع منوترپنوئید (۹۱/۸ درصد)، ۱۷ نوع سسکویی ترپنوئید (۲/۴ درصد) و هشت نوع غیرترپنوئید (۲/۷ درصد) در اسانس پونه وجود دارد که اثر قابل توجهی بر باکتری‌های گرم مثبت و قارچ‌ها دارند [۲۵]. هدف از انجام پژوهش حاضر، بررسی تأثیر این گیاه و اسانس آن بر فراسنجه‌های تخمیر و جمعیت پروتوزوآیی بز بود.

مواد و روشها

گیاه پونه در فصل بهار و آغاز ماه خرداد از کوهستان الوند تهیه و بعد از خشک کردن به روش سایه خشک، توسط دستگاه کلونجر و با آب مقطر، اسانس آن در آزمایشگاه علوم دامی استخراج شد. پس از تهیه اسانس، در دو مرحله توسط سرنگ و ترکیب سولفات سدیم، اسانس حاصل آب‌گیری شد. مایع شکمبه به روش لوله مری از سه راس بز مرخُز با میانگین وزن (۱/۵±)۳۱/۸ کیلوگرم در حالت ناشتا تهیه شد. بزها با استفاده از جیره نگهداری (یونجه خشک) که براساس احتیاجات توصیه شده [۲۵] تنظیم

www.SID.ir

Archive of SID

شده بود روزانه دو مرتبه (نه صبح، ۱۵ عصر) تغذیه شدند و آزادانه به آب دسترسی داشتند.

گیاه پونه در شش سطح صفر (شاهد)، ۲۵، ۳۵، ۵۵، ۷۵ و ۱۰۰ (میلی‌گرم در ۳۰ میلی‌لیتر مایع شکمبه بافری) و هر سطح در پنج تکرار به محیط تخمیر اضافه شد. سوبسترا یونجه در محیط تخمیر به ترتیب ۲۰۰، ۱۷۵، ۱۶۵، ۱۴۵، ۱۲۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم بود. اسانس پونه نیز در شش سطح صفر (شاهد)، ۱۷۰۰، ۳۰۰۰، ۶۷۰۰، ۸۳۰۰ و ۱۰۰۰۰ (میلی‌گرم در لیتر مایع شکمبه بافری) به هر یک از محیط‌های تخمیر در پنج تکرار اضافه شد. از مونسین به عنوان شاهد مثبت (۵۰ میلی‌گرم محلول در اتانول) استفاده شد. محیط‌های تخمیر یعنی بطری‌های ویتن ۱۲۰ میلی‌لیتری و محتویات داخل آن (سوبسترای یونجه و ۳۰ میلی‌لیتر مایع شکمبه بافری شده) در دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت در گرمخانه نگهداری شدند. محلول بافر [۲۲] با نسبت دو به یک با مایع شکمبه مخلوط شد. بعد از ۲۴ ساعت نگهداری در گرمخانه، میزان گاز تولیدی کل در هر بطری توسط سرنگ مدرج و گاز متان ثبت شد [۱۵]. برای اندازه‌گیری متان با استفاده از آزمون تولید گاز ابتدا مقدار گاز تولیدی ۲۴ ساعت ثبت و مقدار چهار میلی‌لیتر سود ۱۰ نرمال به داخل محیط تخمیر محتوی ۱۵ میلی‌لیتر بافر و ۱۰۰ میلی‌گرم سوبسترا تزریق شد و گاز تولیدی ثبت شد [۱۵]. بعد از تعیین مقادیر گاز کل و متان، با در نظر گرفتن مقادیر ثابت ۷/۸ درصد برای سایر گازها (N_2، H_2 در شکمبه به‌ترتیب ۷/۲ و ۰/۶ درصد، مقدار گاز دی‌اکسیدکربن با استفاده از رابطه ۱ محاسبه شد:

(۱) سایر گازها + متان + دی‌اکسیدکربن = گاز کل

دی‌اکسیدکربن = گاز کل – (متان + سایرگازها)

بعد از پایان نگهداری در گرمخانه، از محیط‌های تخمیر نمونه‌های مایع شکمبه با هدف تعیین ماده آلی تجزیه شده، ازت آمونیاکی و اسیدهای چرب فرار کل تهیه شد. غلظت ازت آمونیاکی (NH_3-N) به وسیله روش فنول-هیپوکلریت و با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۳۰ نانومتر اندازه گیری شد (۱۳).

ضریب تفکیک‌پذیری (نسبت میلی‌گرم ماده آلی تجزیه شده به میلی‌لیتر گاز تولیدی) با استفاده از رابطه ۲ محاسبه شد [۲۷]:

$$PF = c - (a-b)/ IVGP \quad (۲)$$

در این رابطه، c ماده آلی وزن شده در هر بطری (میلی‌گرم)، a مقدار مواد تجزیه نشده در هر بطری (میلی‌گرم)، b مقدار خاکستر مواد تجزیه نشده در هر بطری (میلی‌گرم) و IVGP گاز تولیدی است. ماده آلی تجزیه شده (OMDe) نیز به کمک رابطه ۳ محاسبه شد [۲۷]:

$$OMDe\ (mg) = c - (a - b) \quad (۳)$$

بعد از اندازه‌گیری حجم گاز تولیدی در طی ۲۴ ساعت نگهداری درگرمخانه، محتویات داخل بطری شیشه‌ای ویتن به داخل یک بشر انتقال داده شد و توسط محلول شوینده خنثی و حرارت به مدت یک ساعت در دستگاه مجهز به سردکننده شسته شد. سپس محتویات داخل محلول شوینده توسط کاغذ صافی بدون خاکستر تصفیه و باقیمانده توسط آون و در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۱۰ ساعت خشک شد. با کسر نمودن وزن بوته خالی از بوته با محتویات بعد از آون، مقدار مواد تجزیه نشده در هر بطری (a) محاسبه شد. سپس بوته و محتویات داخل آن به کوره انتقال داده شد و در دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد مقدار خاکستر آن (b) محاسبه شد. با کسر نمودن میزان b از a، ماده آلی تجزیه نشده برحسب میلی‌گرم محاسبه شد [۲۷]. مقادیر توده میکروبی تولیدی و بازده تولید توده میکروبی نیز با استفاده از رابطه ۴ محاسبه شد [۲۷]:

$$MM_{(mg)} = [c - (a - b)] - [NG_{(ml)} \times ۲/۲] \quad (۴)$$

در این رابطه، MM میلی‌گرم توده میکروبی تولید شده، c ماده آلی وزن شده در هر بطری (میلی‌گرم)، a مقدار مواد تجزیه نشده در هر بطری (میلی‌گرم)، b مقدار خاکستر مواد تجزیه نشده در هر بطری (میلی‌گرم)، NG میلی‌لیتر گاز

www.SID.ir

Archive of SID

خالص تولیدی و ۲/۲ ضریب استوکیومتری است.

اسیدهای چرب فرار کل (میلی‌مول بر ۲۰۰ میلی‌گرم) با استفاده از دستگاه مارخام و روش بارنت و رید اندازه-گیری شد [۶]. با استفاده از رابطه‌ی ۵ نیز مقادیر انرژی سوخت و ساز تیمارهای مورد مطالعه برآورد شد [۲]:

$$ME_{mj/KDM} = [(۲/۲) + (۰/۱۳۶ \times GP) + (۰/۰۰۵۷ + CP) + (۰/۰۰۰۲۹ \times EE^2)] \quad (۵)$$

در این رابطه، ME انرژی متابولیسمی (مگاژول در هر کیلوگرم)، GP گاز تولیدی(میلی‌لیتر)، CP پروتئین خام، EE چربی خام است. همچنین با استفاده از رابطه ۶ مقادیر انرژی خالص شیردهی تیمارهای مورد مطالعه محاسبه شد [۲]:

$$NE_{L\ mj/KDM} = [(۰/۱۱۵ \times GP) + (۰/۰۰۵۴ + CP) + (۰/۰۱۴ \times EE) - (۰/۰۰۵۴ \times CA) - ۰/۳۶] \quad (۶)$$

در این رابطه، NE_L انرژی خالص شیردهی (مگاژول در هر کیلوگرم)، GP گاز تولیدی (میلی‌لیتر)، CP پروتئین خام، EE چربی خام و CA خاکستر است.

مقدار ماده خشک جیره، خاکستر خام، پروتئین خام و چربی خام با روش تجزیه تقریبی اندازه‌گیری شد [۶]. درصد ماده آلی جیره از تفاضل ماده خشک با خاکستر خام محاسبه شد.

جمعیت پروتوزوآیی مژکدار شکمبه براساس سه زیر خانواده *Entodiniinae*، *Ophryscolecinae*، *Diplodiniinae* و خانواده *Isotrichdae* و با استفاده از لام هموسیتومتر و میکروسکوپ نوری (مدل Nikon, YS 100) با بزرگ‌نمایی ۱۰x در نُه تکرار برای هر تیمار شمارش شد. بعد از اتمام فرایند تخمیر، مایع شکمبه با محلول فرمال سالین (محلول حاوی ۸/۱ گرم کلرید سدیم خالص در ۹۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر و ۱۰۰ میلی‌لیتر فرمالین ۳۶ درصد) با نسبت یک به پنج، ترکیب شد و تا روز شمارش در دمای یخچال معمولی نگهداری شد. تعداد پروتوزوآ در هر میلی‌لیتر مایع شکمبه به کمک رابطه ۷ محاسبه شد:

$$NP\ ml = \frac{N}{[area\ mm\ .\ Dmm.\frac{1}{n}]} \times 1000 \quad (۷)$$

در این رابطه NP تعداد پروتوزوآی شمارش شده در هر میلی‌لیتر، N تعداد پروتوزوآ در هر بار شمارش لام، $area_{mm}$ مساحت هر بخش لام (یک میلی‌متر مربع)، D_{mm} عمق هر بخش لام (۰/۱ میلی‌متر) و $\frac{1}{n}$ ضریب رقت (یک پنجم) است.

داده‌های حاصل از آزمون تولید گاز و جمعیت زیر خانواده پروتوزوآ در طول دوره نگهداری در گرمخانه با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS (نسخه ۲۱) برای شش تیمار گیاه پونه و اسانس پونه براساس رابطه ۸ تجزیه و میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در دو سطح ۰/۰۵ و ۰/۰۱ مقایسه شدند.

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + R_j + \varepsilon_{ijk} \quad \text{رابطه۸)}$$

در این رابطه، Y_{ijk} مقدار هر مشاهده، μ میانگین کل، T_i اثر تیمار، R_j اثر تکرار و ε_{ijk} مقدار باقیمانده بود. داده-های جمعیت پروتوزوآ ابتدا با آزمون کولموگروف – اسمیرنوف بررسی و سپس براساس داده‌های چند مشاهده-ای تجزیه و تحلیل شدند.

نتایج و بحث

میزان گاز تولیدی در تیمارهای ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم گیاه پونه کمتر از سایر سطوح بود ($P<۰/۰۰۱$) (جدول ۱). گاز تولیدی در تیمارهای گیاه پونه بیشتر از تیمار مونسین بود ($P<۰/۰۰۱$). گاز کل تولیدی در محیط تخمیر شامل دی‌اکسیدکربن (۷۰–۶۰ درصد)، متان (۲۵–۲۰ درصد) و سایر گازها (۷ درصد) است [۱۴]. مقایسه داده‌های گاز کل، متان و دی‌اکسیدکربن و تأثیر کاهشی مونسین بر گاز کل و عدم تأثیر آن بر گاز متان، نشان می‌دهد گیاه دارویی پونه از طریق کاهش گاز دی‌اکسیدکربن توانسته است گاز کل را کاهش دهد. در انکوباسیون آزمایشگاهی،

www.SID.ir

Archive of SID

کربوهیدرات‌های ماده خوراکی تخمیر شده و اسیدهای چرب زنجیر کوتاه، گاز و توده میکروبی تولید می‌شوند [۲۷]، لذا گاز تولیدی معرف سرعت و مقدار تجزیه‌پذیری ماده آلی است [۱۲]. از آنجایی که کاهش جمعیت و فعالیت باکتریایی و پروتوزوآیی از عوامل کاهش تجزیه-پذیری ماده مغذی است، به دنبال آن مقادیر گاز کل تولیدی نیز کاهش می‌یابد [۱۲]. به نظر می‌رسد در حضور گیاه پونه فعالیت باکتری‌ها و پروتوزوآی تجزیه‌کننده ماده آلی کاهش داشته که همزمان با کاهش تجزیه ماده آلی مقادیر گاز تولیدی نیز کمتر شده است.

جدول ۱. تأثیر گیاه پونه بر فراسنجه‌های تخمیر و گاز متان تولیدی در بز مرخز به روش آزمایشگاهی

فراسنجه‌های تخمیر	تیمار: گیاه پونه (میلی‌گرم به ازای ۳۰ میلی لیتر مایع شکمبه بافری)							SEM	p-Value
	شاهد	۲۵	۳۵	۵۵	۷۵	۱۰۰	مونسین		خطی
گاز ۲۴ ساعت (میلی‌لیتر)	۳۱/۲^{c}	۳۰/۷^{c}	۲۸/۷^{c}	۲۹/۰^{c}	۲۵/۴^{b}	۲۳/۲^{b}	۲۰/۳^{a}	۰/۷۷۳	۰/۰۰۱
متان (میلی‌لیتر/ ۲۰۰ میلی‌گرم ماده خشک)	۶/۱^{b}	۱۴/۶^{c}	۳/۱^{a}	۵/۱^{b}	۱۴/۰^{b}	۱۴/۶^{a}	۹/۷^{b}	۰/۹۸۹	۰/۰۰۴
متان (میلی‌لیتر/ میلی‌گرم ماده آلی تجزیه شده)	۵/۵^{b}	۱۳/۲^{c}	۲/۸^{a}	۴/۶^{b}	۱۲/۵^{c}	۱۳/۷^{c}	۸/۷^{b}	۰/۹۱۶	۰/۰۰۵
متان (درصد)	۱۹/۵^{b}	۴۸/۰^{c}	۱۰/۹^{a}	۱۷/۳^{b}	۵۵/۰^{bc}	۶۳/۱^{c}	۴۷/۶^{b}	۴/۰۹۹	۰/۰۰۱
دی‌اکسیدکربن (میلی‌لیتر/ ۲۰۰ میلی‌گرم ماده خشک)	۲۲/۶^{d}	۱۳/۷^{c}	۲۳/۳^{d}	۲۱/۶^{d}	۹/۴^{b}	۶/۷^{b}	۱/۶^{a}	۱/۵۸۰	۰/۰۰۱
دی‌اکسیدکربن (درصد)	۷۲/۷^{d}	۴۴/۱^{c}	۸۱/۳^{d}	۷۴/۹^{d}	۳۷/۲^{bc}	۲۹/۱^{b}	۹/۱^{a}	۴/۹۷۷	۰/۰۰۱
ماده آلی تجزیه شده (میلی‌گرم)	۷۷/۵^{c}	۷۶/۵^{c}	۷۳/۵^{c}	۷۲/۶^{c}	۶۶/۷^{b}	۶۶/۴^{b}	۶۰/۵^{a}	۱/۲۰۷	۰/۰۰۱
ماده آلی تجزیه شده (درصد)	۴۲/۶^{c}	۴۲/۲^{c}	۴۰/۴^{c}	۴۰/۶^{c}	۳۷/۵^{b}	۳۵/۵^{ab}	۳۳/۶^{a}	۰/۶۶۳	۰/۰۰۱
ازت آمونیاکی (میلی‌گرم/ لیتر)	۲۵۷/۱^{c}	۹۱/۷^{a}	۸۲/۴^{a}	۹۲/۵^{a}	۸۰/۸^{a}	۱۲۳/۴^{a}	۱۵۸/۳^{b}	۱۳/۳	۰/۰۰۱
ضریب تفکیک‌پذیری (میلی‌گرم ماده آلی تجزیه شده/ میلی‌لیتر گاز)	۲/۵^{a}	۲/۵^{a}	۲/۶^{a}	۲/۵۱^{a}	۲/۶^{a}	۲/۹^{b}	۳/۰^{b}	۰/۰۳۸	۰/۰۰۱
توده میکروبی تولیدی (میلی‌گرم)	۸/۹^{a}	۹/۱^{a}	۱۰/۴^{a}	۹/۲^{a}	۱۰/۸^{a}	۱۵/۵^{b}	۲۲/۵^{c}	۰/۹۱۱	۰/۰۰۱
بازده تولید توده میکروبی (درصد)	۱۱/۵^{a}	۱۱/۹^{a}	۱۴/۲^{a}	۱۲/۴^{a}	۱۶/۲^{a}	۲۳/۴^{b}	۳۷/۲^{c}	۷/۳۸۷	۰/۰۰۱
اسیدهای چرب فرار و انرژی کل اسیدهای چرب زنجیر کوتاه (میلی‌مول/ ۲۰۰ میلی‌گرم)	۰/۶۸^{c}	۰/۶۸^{c}	۰/۶۳^{c}	۰/۳۴^{a}	۰/۵۶^{b}	۰/۵۱^{b}	۰/۴۵^{a}	۰/۰۱۷	۰/۰۰۱
انرژی قابل سوخت وساز (مگاژول/ کیلوگرم ماده خشک)	۶/۵^{c}	۶/۴^{c}	۶/۲^{c}	۶/۲^{c}	۵/۷^{b}	۵/۴^{b}	۴/۹^{a}	۰/۱۰۵	۰/۰۰۱
انرژی خالص شیردهی (مگاژول/ کیلوگرم ماده خشک)	۳/۲^{c}	۳/۲^{c}	۲/۹^{c}	۳/۰^{c}	۲/۶^{c}	۲/۳^{a}	۲/۱^{a}	۰/۰۸۷	۰/۰۰۱

$^{a-d}$: تفاوت میانگین ها در هر ردیف با حروف غیرمشابه معنی‌دار است ($P<۰/۰۵$).

www.SID.ir

Archive of SID

تنها در سطح ۳۵ میلی‌گرم گیاه پونه، گاز متان کاهش یافت (P<۰/۰۰۱). در فرایند ۹ مرحله‌ای تولید گاز متان، گاز دی‌اکسیدکربن با گاز هیدروژن ترکیب شده و محصول متان تولید می‌گردد [۲۴] و از آنجایی که در این بررسی کاهش گاز کل از طریق کاهش گاز دی‌اکسیدکربن اتفاق افتاده است و تأثیری در گاز متان مشاهده نمی‌گردد، احتمالاً مواد موثره پونه تأثیری بر آرکایاهای متانوژن نداشته است و از طریق کاهش گاز دی‌اکسیدکربن توانسته گاز کل را کاهش دهد. عدم کاهش جمعیت پروتوزآ در برخی از سطوح گیاه پونه که تولیدکننده گاز هیدروژن برای تولید متان هستند، نیز مؤید این مطلب می‌باشد [۲۴]. همچنین استفاده از گیاه حاوی اسانس (*Rheum officinale*) به روش آزمایشگاهی در بره‌ها در مقادیر ۰/۵، ۰/۹۵، ۱/۴۰ و ۱/۸۵ گرم در لیتر نیز نشان داده است که همزمان با کاهش گاز کل، ماده آلی تجزیه شده نیز کاهش معنی‌داری داشته است، اگرچه گاز متان برخلاف بررسی حاضر کاهش داشته است [۱۹]. برخلاف نتیجه این تحقیق، مشخص شده است که افزودن مونسین سبب کاهش گاز متان (۱۰-۵ درصد) می‌گردد [۸]. به نظر می‌رسد که این تفاوت نتایج ناشی از تفاوت جیره پایه و مقدار مونسین کاربردی باشد. اگرچه استفاده از مونسین در سطح ۱۵-۱۰ قسمت در میلیون بی‌تأثیر بر تولید گاز متان و در ۳۵-۲۴ قسمت در میلیون کاهش‌دهنده آن بوده است [۱۴]. استفاده از گیاه گلپر (حاوی اسانس، در دو سطح ۲۹ و ۵۷ میلی‌گرم) به روش آزمایشگاهی با مایع شکمبه گوسفندان افشاری نیز سبب کاهش گاز کل و گاز متان شده است [۱].

تجزیه‌پذیری ماده‌آلی در دو سطح ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم گیاه پونه و تیمار مونسین به ترتیب مقدار ۵/۱، ۷/۱ و ۹ درصد کاهش(P< ۰/۰۰۱) یافت. در بررسی حاضر، کاهش ماده آلی تجزیه شده می‌تواند به دلیل فعالیت ضدباکتریایی و پروتوزوآیی ماده مؤثره پونه باشد [۱۷]. در حضور ماده مؤثره نعناع، آنزیم‌های کربوکسیل متیل سلولاز و زایلاناز مهار شده و درنهایت تجزیه‌پذیری ماده آلی را کاهش داده است که این امر را ناشی از مهار فعالیت باکتری‌های *فیبروباکتر ساکسینوجنس* و قارچ‌ها دانسته‌اند [۳]. این دو گروه عمده میکروارگانیسم‌های تجزیه‌کننده فیبر هستند. استفاده از مونسین و اسانس‌های گیاهی به روش *In Sacco* تأثیری بر قابلیت هضم ماده آلی نداشت [۷].

در مقایسه با شاهد و مونسین تمامی سطوح گیاه پونه توانسته‌اند غلظت نیتروژن آمونیاکی را کاهش دهند (P<۰/۰۰۱). در حضور گیاه پونه غلظت نیتروژن آمونیاکی (میلی‌گرم در لیتر) در دامنه غلظت طبیعی (۳۰۰-۸۵ میلی-گرم در لیتر) بوده (جدول ۱) و تولید آمونیاک در شکمبه به دلیل شکار باکتری توسط پروتوزوآ و متابولیسم نیتروژن آن و فعالیت باکتری‌های تولیدکننده زیاد آمونیاک، می‌باشد [۸ و ۲۲]. کاهش غلظت آمونیاک همراه با افزایش غلظت گیاه پونه می‌تواند به دلیل مهار فعالیت دی‌آمیناسیون اسیدهای آمینه توسط باکتری و یا مهار فعالیت باکتریهای تولیدکننده آمونیاک زیاد [۸] و یا کاهش فعالیت آنزیم اوره آز [۲۰] باشد. کاهش آمونیاک در مطالعه آزمایشگاهی با مایع شکمبه گوسفند و کاربرد گیاه حاوی اسانس گلپر [۱] و نعناع به روش آزمایشگاهی (۲/۳۳، ۸/۱۷، ۱۶/۳۴ و ۲۳/۳۵ میلی‌گرم) با مایع شکمبه گاو [۲۸] نیز مشاهده شده است. گیاه پونه در مقایسه با آنتی‌بیوتیک مونسین غلظت نیتروژن آمونیاکی را کاهش داده است، لذا گیاه دارویی پونه جایگزین خوبی برای آنتی‌بیوتیک مونسین با هدف کاهش فرایند دآمیناسیون در شکمبه است. مشابه با نتیجه این تحقیق، کاهش غلظت آمونیاک در حضور مونسین به روش آزمایشگاهی نیز گزارش شده است [۱۹]. مونسین به عنوان مهارکننده برخی از گونه‌های باکتری‌های دآمیناسیون کننده شناخته می‌شود. مشابه این بررسی، استفاده از مونسین و اسانس نیز غلظت آمونیاک تولیدی را کاهش داده است [۸ و ۲۷].

ضریب تفکیک‌پذیری در تیمارهای ۱۰۰ میلی‌گرم پونه

www.SID.ir

Archive of SID

و مونسین بالاتر بود (P<۰/۰۰۱). ضریب تفکیک‌پذیری (PF) (میلی‌گرم ماده آلی تجزیه شده/ میلی‌لیتر گاز) معرف میزان پروتئین میکروبی تولید شده نیز می‌باشد [۲۷]. لذا مقادیر توده میکروبی تولیدی و بازده تولید پروتئین میکروبی افزایش داشته‌اند. اتخاذ نتیجه نهایی در خصوص بهبود یا عدم بهبود تخمیر تنها براساس گاز کل تولیدی و یا تنها براساس ماده آلی تجزیه شده توصیه نمی‌گردد [۲۷]، لذا ضرورت دارد ضریب تفکیک‌پذیری که مشخص کننده گاز تولیدی به ازای ماده آلی تجزیه شده می‌باشد را در نظر گرفت. لذا در سطح بالای پونه (۱۰۰ میلی‌گرم) گرچه ماده آلی تجزیه شده و گاز کل تولیدی هر دو نسبت به شاهد کاهش داشته‌اند ولی، ضریب تفکیک‌پذیری بهبود داشته که در افزایش مقدار توده میکروبی نمایان گشته است. بنابراین سطح ۱۰۰ میلی‌گرم پونه می‌تواند جایگزین مناسب مونسین با هدف بهبود بازده تخمیر (تود میکروبی) گردد. استفاده از گیاهان حاوی متابولیت‌های ثانویه اسانس *Carduus* و *Sesbania* به روش آزمایشگاهی سبب بهبود بازده تولید پروتئین میکروبی (ضریب تفکیک‌پذیری، به ترتیب ۴/۲۵ و ۴/۶۳ در مقابل شاهد با عدد ۳/۱۱) شده است [۱۸]. همچنین استفاده از گیاه گلپر(حاوی اسانس) نیز در گوسفندان افشاری به روش آزمایشگاهی ضریب تفکیک‌پذیری و بازده تولید پروتئین میکروبی را افزایش داده است [۱]. در سطح ۱۰۰ میلی‌گرم پونه و مونسین، توده میکروبی تولیدی و بازده تولید پروتئین میکروبی افزایش داشت (P<۰/۰۰۱).

در دو سطح ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم پونه نسبت به شاهد همراه با کاهش مقادیر اسید چرب فرار (به ترتیب ۰/۱۲ و ۰/۱۷ میلی‌مول)، انرژی قابل سوخت وساز را به مقدار ۰/۵ و ۱/۱ مگاژول نیز کاهش داد (P<۰/۰۰۱). افزودن مونسین نیز انرژی قابل سوخت وساز را کاهش داد (P<۰/۰۰۱). انرژی خالص شیردهی نیز در سطح ۱۰۰ میلی‌گرم و مونسین کاهش کمتر بود (P<۰/۰۰۱). کاهش مقادیر اسید چرب فرار، انرژی قابل سوخت وساز در دو سطح ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم پونه؛ دقیقاً همسو با کاهش تجزیه‌پذیری ماده آلی در این دو سطح است. به نظر می‌رسد کاهش تجزیه مواد آلی سبب کاهش تولید اسیدهای چرب فرار کل شده است که نشان‌دهنده تأثیرات ضدمیکروبی مواد مؤثره گیاه پونه است [۱۱]. نظر به این که اسیدهای چرب فرار تولیدی منبع اصلی تأمین‌کننده انرژی برای دام هستند و کاهش تولید اسیدهای چرب فرار در دام زنده سبب کاهش بازده انرژی در دام می‌گردد [۱۱]، لذا ضرورت دارد این موضع در دام زنده نیز بررسی گردد. کاهش اسیدهای چرب فرار کل در حضور گیاه دارویی دارچین [۱۱] و استفاده از گیاه *Rheum officinale* به روش آزمایشگاهی نیز مشاهده شده است [۱۷]. اگرچه برخلاف نتیجه تحقیق حاضر، استفاده از ۲۰۰ میلی‌گرم نعناع گیاه نعناع (جنس *Menthe*) به روش دام زنده تأثیری بر غلظت اسیدهای چرب فرار کل نداشت [۷]. کاهش تجزیه‌پذیری ماده آلی سبب کاهش تولید اسیدهای چرب فرار گردیده است، لذا همان‌طورکه انتظار می‌رود مقادیر انرژی قابل سوخت وساز و انرژی خالص شیردهی نیز کاهش داشته است.

با افزایش مقدار اسانس پونه، گاز کل تولیدی (در طی ۲۴ ساعت) در مقایسه با شاهد کاهش یافت (P<۰/۰۰۱) (جدول ۲). افزودن اسانس به محیط تخمیر، به غیر از سطح ۱۷۰۰ میلی‌گرم در لیتر، گاز متان تولیدی (میلی‌لیتر/ ۲۰۰ میلی‌گرم ماده خشک) را کاهش داد (P<۰/۰۰۱)؛ ولی درصد گاز متان از گاز کل در مقایسه با شاهد تفاوتی نداشت، ولی در سطح ۱۰۰ میلی‌گرم اسانس افزایش نیز داشت (P<۰/۰۰۱). کاهش گاز دی‌اکسیدکربن در تمامی سطوح اسانس مشاهده شد (P< ۰/۰۰۱). گاز کل تولیدی معرف مقدار تخمیر و قابلیت هضم ماده آلی است [۲۷]، لذا تولید گاز کل کمتر نشان‌دهنده توقف تخمیر سوبسترا بوده و افزایش اسانس از سطح ۳۰۰۰ تا ۱۰۰۰۰ میلی‌گرم

www.SID.ir

Archive of SID

در لیتر، شدیداً دارای تأثیر آنتی‌باکتریایی بوده و به طور چشم‌گیری سبب کاهش تخمیر شده است [۱۱]، اما مونسین برابر با سطح ۱۷۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسانس عمل نموده است. مونسین در مقایسه با تیمار شاهد، نیز تأثیر کاهشی تخمیر داشته است. گاز کل؛ شامل گاز دی‌اکسیدکربن، متان و در حدود ۷ درصد از سایر گازهاست. لذا باید مشخص نمود که کاهش گاز کل به دلیل گاز متان بوده یا گاز دی‌اکسیدکربن. چون میزان گاز کل نیز کاهش جدی داشته است و درصد گاز متان افزایش نشان می‌دهد؛ بنابراین به استناد مقادیر و درصد گاز دی اکسید کربن مشخص می‌گردد که تأثیر مهارکنندگی عوامل موثر اسانس پونه (سیس پی‌پریتون اپوکسید، آلفا ترپینه اُل، منتون و پوله‌گون به ترتیب۲۳/۷/۲۸،۱۱/۱۸ و۹/۷ درصد) [۲۵] از طریق کاهش گاز دی اکسید کربن بوده است نه کاهش متان. لذا مشخص می‌گردد اسانس پونه از طریق گاز دی اکسید کربن و مونسین از طریق کاهش متان سبب کاهش گاز کل شده است. گرچه مشابه با نتایج مطالعه حاضر استفاده از اسانس نعناع به روش آزمایشگاهی در گوسفند (۲ میکرولیتر/۳۰ میلی‌لیتر مایع شکمبه) سبب کاهش گاز کل و برخلاف این تحقیق ولی گاز متان را نیز کاهش داده است [۳].

همچنین ماده آلی تجزیه شده (میلی‌گرم) نیز با افزایش سطح اسانس کاهش داشت (P<۰/۰۰۱). با توجه به وضعیت گاز همان طور که انتظار می‌رود، ماده آلی تجزیه شده مقدار ۲۰۰ میلی‌گرم ماده خشک در حضو اسانس از ۷۲/۷ میلی‌گرم تا سطح ۳۱/۵ میلی‌گرم کاهش داشته است، ولی مونسین تنها ۱۷ میلی‌گرم از ماده آلی تجزیه شده را کاهش داده است. همین کاهش ماده آلی تجزیه شده سبب تولید گاز کمتر در محیط تخمیر گردیده است. همچنین استفاده از ۴ سطح اسانس نعناع (صفر، ۰/۳۳، ۱ و ۲ میکرولیتر در هر میلی‌لیتر) به روش آزمایشگاهی با مایع شکمبه گاو میش نیز به دلیل مهار دو آنزیم کربوکسی متیل سلولاز و زایلاناز سبب کاهش تجزیه پذیری ماده آلی شده است [۳] که کاهش فعالیت این آنزیم‌ها را ناشی از کاهش جمعیت دو میکروارگانیسم فیبرولیتیک اصلی یعنی فیبرو باکتر ساکسینوجنس و قارچ بی‌هوازی دانسته‌اند. با توجه به وضعیت گاز همان طور که انتظار می‌رود، ماده آلی تجزیه شده مقدار ۲۰۰ میلی‌گرم ماده خشک در حضو اسانس از ۷۲/۷ میلی‌گرم تا سطح ۳۱/۵ میلی‌گرم کاهش داشته است؛ ولی مونسین تنها ۱۷ میلی‌گرم از ماده آلی تجزیه شده را کاهش داده است. همین کاهش ماده آلی تجزیه شده سبب تولید گاز کمتر در محیط تخمیر گردیده است. همچنین استفاده از ۴ سطح اسانس نعناع (صفر، ۰/۳۳، ۱ و ۲ میکرولیتر در هر میلی‌لیتر) به روش آزمایشگاهی با مایع شکمبه گاو میش نیز به دلیل مهار دو آنزیم کربوکسی متیل سلولاز و زایلاناز سبب کاهش تجزیه‌پذیری ماده آلی شده است [۳] که کاهش فعالیت این آنزیم‌ها را ناشی از کاهش جمعیت دو میکروارگانیسم فیبرولیتیک اصلی یعنی فیبرو باکتر ساکسینوجنس و قارچ بی‌هوازی دانسته‌اند.

تولید ازت آمونیاکی تحت تأثیر تمام سطح اسانس، در مقایسه با شاهد کمتر شده و در اثر مونسین نیز در مقایسه با شاهد کاهش نشان می‌دهد (P< ۰/۰۰۱). ولی اسانس در مقایسه با تیمار مونسین موثرتر بوده است. مقادیر نیتروژن آمونیاکی تقریباً در دامنه معمولی آن (۳۰۰-۸۵ میلی‌گرم در لیتر) در محیط شکمبه قرار دارد، ولی مونسین در مقایسه با شاهد، مقدار ۱۰۰ میلی‌گرم از غلظت آن‌را کاهش داده است. در تمام سطح اسانس، نیتروژن میکروبی در مقایسه با شاهد کاهش داشته که به استناد افزایش پروتئین میکروبی احتمالاً منابع نیتروژن دار به سمت تولید پروتئین میکروبی رفته است. به نظر می‌رسد ترکیبات موثر اسانس پونه (سیس پی‌پریتون اپوکسید، آلفا ترپینه اُل، منتون و پوله‌گون) [۲۵] از طریق کاهش جمعیت پروتوزوآ و به دنبال آن کاهش مصرف پروتئین میکروبی و تولید نیتروژن و کاهش دی‌آمیناسیون [۸]، احتمالاً کاهش جمعیت باکتری‌های

www.SID.ir

Archive of SID

تولیدکننده آمونیاک [۲۲] و مهار آنزیم اوره‌آز [۲۰] توانسته است غلظت نیتروژن آمونیاکی را کاهش دهد. استفاده از اسانس نعناع (صفر، ۰/۳۳، ۱/۰ و ۲/۰ میکرولیتر در هر میلی‌لیتر) تنها در سطح ۲/۰ میکرولیتر به روش آزمایشگاهی و با استفاده از مایع شکمبه گاو میش [۳] و اسانس نعناع به روش آزمایشگاهی [۴] نیز غلظت نیتروژن آمونیاکی را کاهش داده است. اگرچه استفاده از اسانس نعناع در دو سطح ۰/۳۳ و ۱ میکرولیتر به روش آزمایشگاهی [۳] تأثیری بر غلظت نیتروژن آمونیاکی نداشت.

جدول ۲. تأثیر اسانس پونه بر فراسنجه‌های تخمیر و گاز متان تولیدی در بز مرخُز به روش آزمایشگاهی

فراسنجه های تخمیر	تیمار							SEM	P-value
	اسانس پونه (میلی‌گرم/ لیتر مایع شکمبه بافری)								
	شاهد	۱۷۰۰	۳۰۰۰	۶۷۰۰	۸۳۰۰	۱۰۰۰۰	مونسین		خطی
گاز ۲۴ ساعت (میلی‌لیتر)	۳۱/۲^{f}	۲۲/۳^{e}	۱۳/۸^{d}	۱۰/۷^{c}	۶/۵^{b}	۳/۰^{a}	۲۰/۳^{e}	۱/۸۲۶	۰/۰۰۱
متان (میلی لیتر/۲۰۰ میلی‌گرم ماده خشک)	۶/۱۰^{d}	۷/۱^{d}	۴/۱^{bc}	۳/۰^{c}	۲/۰^{ab}	۱/۵^{a}	۲/۱^{ab}	۰/۴۱۹	۰/۰۰۱
متان (میلی لیتر/ میلی‌گرم ماده آلی تجزیه شده)	۵/۵^{d}	۲/۲^{c}	۱/۰^{b}	۰/۶۵^{a}	۰/۳۷^{a}	۰/۲۴^{a}	۰/۶۳^{a}	۰/۳۵۳	۰/۰۰۱
متان (درصد/۲۰۰ میلی‌گرم ماده خشک)	۱۹/۵^{ab}	۳۲/۴^{b}	۲۹/۷^{b}	۲۸/۴^{b}	۳۱/۱^{b}	۵۰/۰^{c}	۱۰/۳^{a}	۲/۵۶	۰/۷۰۴
دی‌اکسیدکربن (میلی‌لیتر/۲۰۰ میلی‌گرم ماده خشک)	۲۲/۶^{f}	۱۳/۴^{d}	۸/۶^{c}	۶/۸^{c}	۴/۰۰^{b}	۱/۳^{a}	۱۶/۷^{e}	۱/۳۸	۰/۰۰۱
دی‌اکسیدکربن (درصد)	۷۲/۷^{bc}	۵۹/۸^{b}	۶۲/۵^{b}	۶۳/۸^{b}	۶۱/۱^{b}	۴۲/۲^{a}	۸۲/۴^{c}	۲/۵۷	۰/۷۴۴
ماده آلی تجزیه شده (میلی‌گرم)	۷۷/۵^{f}	۶۲/۳^{e}	۴۸/۸^{d}	۴۳/۸^{c}	۳۷/۲^{b}	۳۱/۵^{a}	۶۰/۵^{e}	۲/۹۳	۰/۰۰۱
ماده آلی تجزیه شده (درصد)	۴۲/۶^{f}	۳۴/۷^{e}	۲۷/۱^{d}	۲۴/۴^{c}	۲۰/۷^{b}	۱۷/۵^{a}	۳۳/۶^{e}	۱/۶۳	۰/۰۰۱
ازت آمونیاک (میلی‌گرم/ لیتر)	۲۵۷/۱^{c}	۶۵/۰^{a}	۷۸/۴^{a}	۶۰/۱^{a}	۵۹/۴^{a}	۷۶/۰^{b}	۱۵۸/۳^{b}	۱۵/۰۰	۰/۰۰۱
ضریب تفکیک‌پذیری	۲/۵^{a}	۲/۸^{a}	۳/۵^{b}	۴/۱^{b}	۵/۸^{c}	۱۱/۱^{d}	۱/۶^{a}	۰/۰۶۱	۰/۰۰۱
توده میکروبی تولید (میلی‌گرم)	۸/۹^{a}	۱۳/۴^{b}	۱۸/۵^{d}	۲۰/۳^{e}	۲۲/۸^{f}	۲۵/۰^{g}	۱۵/۷^{c}	۱/۰۴	۰/۰۰۱
راندمان تولید توده میکروبی (درصد)	۱۱/۵^{a}	۲۱/۸^{b}	۳۷/۹^{c}	۴۶/۵^{d}	۶۱/۷^{e}	۷۹/۲^{f}	۲۶/۰^{b}	۴/۴۱	۰/۰۰۱
اسیدهای چرب فرار و انرژی									
اسیدهای چرب زنجیر کوتاه (میلی‌مول/ ۲۰۰ میلی گرم)	۰/۶۸^{f}	۰/۴۹^{e}	۰/۳۰^{d}	۰/۲۳^{c}	۰/۱۴^{b}	۰/۰۶^{a}	۰/۴۴^{e}	۰/۰۴	۰/۰۰۰
انرژی قابل سوخت وساز (مگاژول/ کیلوگرم ماده خشک)	۶/۵^{f}	۵/۳^{e}	۴/۱^{d}	۳/۷^{c}	۳/۱^{b}	۲/۶^{a}	۵/۰^{e}	۰/۲۴۷	۰/۰۰۰
انرژی خالص شیردهی (مگاژول/ کیلوگرم ماده خشک)	۳/۲^{e}	۲/۲^{d}	۱/۲^{c}	۰/۸۷^{b}	۰/۳۹^{a}	۰/۱۳^{a}	۲/۰^{d}	۰/۲۰۵	۰/۰۰۰

a-d: تفاوت میانگین ها در هر ردیف با حروف غیرمشابه معنی دار است ($P<0/05$).

www.SID.ir

Archive of SID

افزودن اسانس توانسته است سبب بهبود بازده تولید پروتئین میکروبی محیط تخمیر گردد (P<۰/۰۰۱). به استثناء دو سطح ۸۳۰۰ و ۱۰۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسانس، ضریب تفکیک‌پذیری سایر سطوح اسانس در دامنه نرمال این ضریب (۲/۷۵-۴/۴۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) قرار دارد [۱۲]. بالا بودن ضریب تفکیک‌پذیری دو سطح ۸۳۰۰ و ۱۰۰۰۰ میلی‌گرم اسانس در لیتر، به خاطر کاهش قابل توجه گاز کل می‌باشد، درحالی‌که مونسین نتوانسته است تأثیری بر این ضریب در مقایسه با تیمار شاهد داشته باشد. هر دو شاخص تولید گاز و ماده آلی تجزیه شده کاهش داشته است؛ ولی بهبود ضریب تفکیک‌پذیری با افزودن اسانس نسبت به تیمار شاهد و تیمار مونسین می‌تواند نکته قابل بحث و امید بخش جهت کاربرد این اسانس به روش دام زنده باشد. استفاده از مونسین و گیاه *Frangula alnus* [۱۷] و گیاه گلپر به روش آزمایشگاهی در گوسفند [۴] نیز سبب بهبود شاخص ضریب تفکیک‌پذیری شده است.

همزمان با کاهش ماده آلی تجزیه شده و گاز تولیدی، مقادیر اسیدهای چرب فرار و انرژی قابل سوخت‌وساز و انرژی خالص شیردهی نیز کاهش همسویی را نشان میدهد (P< ۰/۰۰۱) (جدول ۲). همراه با کاهش مقادیر اسید چرب فرار، انرژی قابل سوخت‌وساز نیز کاهش داشت (P< ۰/۰۰۱). مونسین نیز سبب کاهش چشم‌گیر انرژی قابل سوخت ساز شده است (P< ۰/۰۰۱). انرژی خالص شیردهی نیز در سطح ۱۰۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر و مونسین کاهش داشته است (P< ۰/۰۰۱). اسیدهای چرب فرار، محصول تجزیه ماده آلی توسط میکروارگانیسم‌های شکمبه است[۱۰]. گونه‌های گیاه *Mentha* و چندین ترکیب مؤثره آن (منتول، منتون، رو-سیمین، لیمونن، لینالول، آلفا- پینن و بتا-پینن) دارای فعالیت ضدباکتریایی علیه باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی [۱۱] و ضدپروتوزوآیی هستند [۸ و ۱۱]. لذا باتوجه به کاهش جمعیت پروتوزوآیی و به دنبال آن ماده آلی تجزیه شده در حدود ۷/۹ تا ۲۵/۱ درصد، کاهش اسیدهای چرب فرار کل نیز مورد انتظار است. استفاده از اسانس نعناع (صفر، ۰/۳۳، ۱/۰ و ۲/۰ میکرولیتر) به روش آزمایشگاهی مایع شکمبه گاو میش در دو غلظت ۱/۰ و ۲/۰ میکرولیتر نیز غلظت اسیدهای چرب فرار کل را کاهش داده است [۳]. اسیدهای چرب فرار تولیدی در فرایند تخمیر شکمبه منبع عمده تأمین انرژی (۷۵-۶۵ درصد) برای دام هستند [۱۰]، لذا کاهش میزان انرژی قابل سوخت‌وساز می‌تواند به دلیل کاهش غلظت اسیدهای چرب فرار کل باشد. استفاده از تنها یک سطح نعناع (۲۰۰ گرم در روز) در گاوهای پرواری تأثیری بر قابلیت هضم ماده آلی و انرژی نداشت [۴].

نتایج بررسی تاثیر گیاه و اسانس پونه بر جمعیت پروتوزوآ نشان داد که بر خلاف مونسین، گیاه و اسانس در بعضی از سطوح جمعیت پروتوزوآی کل را کاهش داده است (P<۰/۰۰۱) (جدول ۳). زیرخانواده انتودینینه در تمام سطوح گیاه پونه در مقایسه با شاهد و آنتی‌بیوتیک مونسین کاهش داشت (P<۰/۰۰۱). افریواسکلاسینه و ایزوتریشیده نیز در کلیه سطوح کاهش نشان دادند (P<۰/۰۰۱). جمعیت پروتوزوآی کل (P<۰/۰۰۲)، زیر خانواده انتودینینه(P<۰/۰۱)، افریواسکلاسینه (P<۰/۰۵) و ایزوتریشیده (P<۰/۰۵) نیز در اثر حضور اسانس کاهش یافت.

در بین جمعیت پروتوزوایی شکمبه بز، انتودینیوم و دیپلودینیوم به ترتیب بیشترین و کمترین جمعیت را به خود اختصاص داده‌اند. عوامل مؤثر گیاه پونه از طریق تأثیر کاهشی بر جمعیت انتودینینه و ایزوتریشیدا، جمعیت پروتوزوآ کل را کاهش داده است. این کاهش احتمالاً به دلیل وجود ترکیب مؤثر (پلی‌گون (۵۴/۶ درصد) و منتون (۱۵/۱ درصد)) در این گیاه است [۲۵]. این ترکیبات دارای فعالیت ضد میکروبی بوده و وجود هیدروژن در ساختار این ترکیبات در توانایی ضد میکروبی آن‌ها مؤثر می‌باشد [۸ و ۱۱].

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۳. تأثیر گیاه و اسانس پونه بر جمعیت پروتوزوآیی ($N \times 10^5$) در بز مَرخُز به روش آزمایشگاهی

پروتوزوآ	تیمار								SEM	P-value
	سطوح گیاه پونه (میلی گرم/۳۰ میلی لیتر مایع شکمبه بافری)									
	شاهد	۲۵	۳۵	۵۵	۷۵	۱۰۰	مونتسین			
پروتوزوآ کل	۲/۸۶۱^{c}	۲/۱۹۷^{a}	۱/۹۳۰^{a}	۲/۵۰۰^{bc}	۱/۹۳۰^{a}	۲/۴۸۸^{bc}	۲/۸۵۱^{c}		۰/۰۶۳۶	۰/۰۰۱
زیر خانواده										
انتودینیه	۲/۷۲۲^{c}	۲/۱۸۸^{ab}	۱/۸۴۷^{a}	۲/۴۷۲^{bc}	۱/۸۸۹^{a}	۲/۴۰۳^{bc}	۲/۸۳۳^{c}		۰/۰۶۰۹	۰/۰۰۱
دیپلودینیه	۰/۰۱۴	۰/۰۰۱	۰/۰۱۴	۰/۰۱۴	۰/۰۱۴	۰/۰۲۸	۰/۰۰۰		۰/۰۰۵۷	۰/۵۹۷
افریواسکالسینه	۰/۰۵۵^{b}	۰/۰۰۰^{a}	۰/۰۱۴^{ab}	۰/۰۱۴^{ab}	۰/۰۰۱^{a}	۰/۰۱۴^{ab}	۰/۰۱۸^{ab}		۰/۰۰۶۱	۰/۰۵۰
خانواده ایروتریشیده	۰/۰۶۹^{b}	۰/۰۰۱^{a}	۰/۰۵۵^{ab}	۰/۰۰۱۴^{a}	۰/۰۲۷^{ab}	۰/۰۴۲^{ab}	۰/۰۰۰^{a}		۰/۰۰۹۰	۰/۰۲۲۷
	سطوح اسانس پونه (میلی گرم/ لیتر مایع شکمبه بافری)									
	شاهد	۱۷۰۰	۳۰۰۰	۶۷۰۰	۸۳۰۰	۱۰۰۰۰	مونتسین	SEM	مقدار عددی *p*	
پروتوزوآ کل	۲/۸۶۱^{b}	۲/۲۶۴^{a}	۲/۱۶۷^{a}	۲/۲۶۴^{a}	۲/۸۰۵^{b}	۲/۰۹۷^{a}	۲/۸۱۱^{b}	۰/۰۶۴۹	۰/۰۲۶	
زیر خانواده										
انتودینیه	۲/۲۲^{b}	۲/۱۹۴^{a}	۲/۱۶۷^{a}	۲/۲۳۶^{a}	۲/۷۶۳^{ab}	۲/۰۸۳^{a}	۲/۷۷۷^{b}	۰/۰۶۱۴	۰/۰۰۷	
دیپلودینیه	۰/۰۱۴	۰/۰۴۲	۰/۰۰۰	۰/۰۲۸	۰/۰۱۴	۰/۰۰۰	۰/۰۰۴	۰/۰۰۶۰	۰/۰۱۳	
افریواسکالسینه	۰/۰۵۵^{b}	۰/۰۱۴^{ab}	۰/۰۰۰^{a}	۰/۰۰۰^{a}	۰/۰۱۴^{ab}	۰/۰۰۰^{a}	۰/۰۲۰^{ab}	۰/۰۰۵۶	۰/۰۱۳	
خانواده ایروتریشیده	۰/۰۶۹^{b}	۰/۰۱۴^{a}	۰/۰۰۰^{a}	۰/۰۰۰^{a}	۰/۰۱۴^{a}	۰/۰۱۴^{a}	۰/۰۰۹^{a}	۰/۰۰۶۴	۰/۰۴۱	

d: تفاوت میانگین‌ها در هر ردیف با حروف غیرمشابه معنی دار است ($P<0/05$).

www.SID.ir

Archive of SID

گروه هیدروکسیل عوامل ثانویه گیاه سبب بروز اختلال در انتقال یون از غشای سیتوپلاسم و باعث غیرفعال شدن آنزیم‌های پروتوزوآ، کاهش میزان ATP سلول و کاهش گلوکز ورودی به سلول و درنهایت منجر به تجزیه سلولی پروتوزوآ می‌شود [۸ و ۱۱].

استفاده از اسانس نعناع (۰/۳۳ ، ۱/۰ و ۲/۰ میلی‌لیتر در هر لیتر مایع شکمبه) به روش آزمایشگاهی و آزمون گاز ۲۴ ساعته، سبب کاهش متان همراه با کاهش جمعیت (*هلوتریش‌ها و اسپیروتیچ‌ها*) و فعالیت پروتوزوآ بود [۳]. همچنین در نتایج مشابهی با استفاده از ۲۰۰ گرم در روز (۵۴ گرم در هر کیلوگرم ماده خشک مصرفی) نعناع خشک شده، کاهش تعداد کل پروتوزوآ، انتودینیوم، ایزوتریشیده و دیپلودینیوم مایع شکمبه گاوهای نر گزارش شده است [۴]. استفاده از گیاه رازیانه که حاوی اسانس می‌باشد، به روش آزمایشگاهی با مایع شکمبه گوسفندان افشاری نیز سبب کاهش جمعیت پروتوزوآیی شده است [۱]. در این مطالعه، جمعیت انتودینینه، ایزوتریچیدا و کل پروتوزوآها کاهش یافتند. بین متانوژن‌های شکمبه و جمعیت پروتوزوآیی ایزوتریچیدا و انتودینینه بیشترین ارتباطی وجود دارد [۱]. لذا به نظر می‌رسد بخشی از تأثیرات مهارکنندگی متانوژنسیس ترکیبات موثر پونه؛ به خاطر فعالیت ضدپروتوزوآیی این گیاه دارویی است. کاهش جمعیت پروتوزوآی کل، ایزوتریشیدا، انتودینینه با استفاده از نعناع [۴] و کاهش *اسپروتیچ‌ها* با استفاده از اسانس نعناع [۳] نیز مشاهده شده است.

گیاه و اسانس پونه در تغذیه دام از طریق کاهش گاز متان، نیتروژن آمونیاکی و جمعیت پروتوزوآیی و بهبود ضریب تفکیک پذیری و بازده تولید میکروبی، دارای ارزش زیست محیطی و تغذیه‌ای است. لذا، پیشنهاد می‌گردد اثرات این گیاه دارویی در سطح ۲۵، ۳۵ و ۵۰ و اسانس آن در سطح ۱۷۰۰ و ۳۰۰ به منظور بررسی بیشتر بر روی دام زنده نیز استفاده گردد.

منابع

۱. نوریان سرور م ا و روزبهان ی(۱۳۹۲) بررسی تأثیر گیاه گلپر بر فراسنجه‌های تخمیر شکمبه گوسفند و تولید گاز متان به روش درون شیشه‌ای. علوم دامی ایران. ۴۴(۴): ۳۹۵-۳۸۵.

2. Abas I, Ozpinar H, Can-Kutay H and Kahraman R (2005) Determination of the metabolizable energy (ME) and net energy actation (NEL) contents of some feeds in the marmara region by *in vitro* gas technique. Turkish Journal of Vetenaryan and Animal Science. 29: 751-757.

3. Agarwal N, Shekhar C, Kumar R, Chaudhary LC and Kamra DN (2009) Effect of peppermint (*Mentha piperita*) oil on *in vitro* methanogenesis and fermentation of feed with buffalo rumen liquor. Animal Feed Science and Technology. 148: 321-327.

4. Ando S, Nishida T, Ishida M, Hosoda K and Bayaru E (2003) Effect of peppermint feeding on the digestibility, ruminal fermentation and protozoa. Livestock Production Science. 82: 245-248.

5. AOAC (1990) Official Methods of Analysis, 15th edition. Association of Official Analytical Chemists. Arlington, VA. USA.

6. Barnet AJG and Reid RL (1957) Studies on production of volatile fatty acids from grass by rumen liquid in an artificial rumen. Journal Agriculture Science, (Camb). 48: 315-321.

7. Beauchemin KA, McAllister TA and McGinn SM (2009) Dietary mitigation of enteric methane from cattle. CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources. 4: 1-18.

www.SID.ir

Archive of SID

8. Benchaar C, Calsamiglia S, Chaves AV, Fraser GR, Colombatto D, McAllister TA and Beauchemin KA(2008) A review of plant-derived essential oils in ruminant nutrition and production. Animal Feed Science and Technology. 145: 209-228.

9. Benchaar C, Chaves1 AV, Fraser GR, Wang Y, Beauchemin KA and McAllister TA (2007) Effects of essential oils and their components on *in vitro* rumen microbial fermentation. Canadian Journal of Animal Science. Pp. 413-419.

10. Benchaar C, Rivest J, Pomar C and Chiquette J (1998) Prediction of Methane Production from Dairy Cows Using Existing Mechanistic Models and Regression Equations. Journal of Animal Science. 76: 617-627.

11. Benchaar C and Greathead H (2011) Essential oils and opportunities to mitigate enteric methane emissions from ruminants. Animal Feed Science and Technology. 166-167: 338-355.

12. Blümmel M, Karsli A and Russell JR (2003) Influence of diet on growth yields of rumen microorganisms *in vitro* and *in vivo*: influence on growth yield of variable carbon fluxes to fermentation products. British Journal of Nutrition. 90: 625-634.

13. Broderick GA and Kang JH (1980) Automated simultaneous determinations of ammonia and total amino acids in ruminal fluid and *in vitro* media. Journal of Dairy Science. 63: 64-75.

14. Eckard RJ, Grainger C and De Klein CAM (2010) Options for the abatement of methane and nitrous oxide from ruminant production: A Review. Livestock Science. 130: 47-56.

15. Fievez V, Babayemi OJ and Demeyer D (2005) Estimation of direct and indirect gas production in syringes: A tool to estimate short chain fatty acid production that requires minimal laboratory facilities. Animal Feed Science Technology. 123-124: 197-210.

16. Fraser GR, Chaves AV, Wang Y, McAllister TA, Beauchemin KA and Benchaar C (2007) Assessment of the effects of cinnamon leaf oil on rumen microbial fermentation using two continuous culture systems. Journal of Dairy Science. 90: 2315-2328.

17. Garc´ıa-Gonz´alez R, L´opez S, Fern´andez M and Gonz´alez JS (2008) Dose response effects of *Rheum officinale* root and *Frangula alnus* bark on ruminal methane production *in vitro.* Animal Feed Science and Technology.145: 319-334.

18. Goel G, Makkar HPS and Becker K (2008) Effects of *Sesbania sesban* and *Carduus pycnocephalus* leaves and Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) seeds and their extracts on partitioning of nutrients from roughage- and concentrate-based feeds to methane. Animal Feed Science and Technology. 147: 72-89.

19. Hristov AN, Ropp JK, Zama 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.

20. Hussain I and Cheeke PR (1995) Effect of *Yucca Scidigera* extract on rumen and blood profiles of steers fed concentrate- or roughage-based diets. Animal Feed Science and Technology. 51: 231-242.

21. Kim SH, Mamuad LL, Jeong CD, Choi YJ , Lee SS, Ko JU and Lee SS (2013) *In vitro* Evaluation of Different Feeds for Their Potential to Generate Methane and Change Methanogen Diversity. Asian Australians Journal Animal Science. 26(12): 1698-1707.

22. McIntosh FM, Williams P, Losa R, Wallace RJ, Beever DA and Newbold CJ (2003) Effects of essential oils on ruminal microorganisms and

www.SID.ir

Archive of SID

their protein metabolism. Applied Environment Microbiology. 69: 5011-5014.

23. Menke KH and Steingass H (1988) Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. Animal Research Development. 28: 7-55.

24. Morgavi DP, Forano E, Martin C and Newbold CJ (2010) Microbial ecosystem and methanogenesis in ruminants. Animal. 7: 1024-1036.

25. National Research Council (2007) Nutrient Requirments of Small Ruminants. National academy Press, Washington, DC.,USA.

26. Semnani M, Saeedi M and Akbarzadeh M (2011) Chemical Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oil of *Mentha pulegium* L. Essential Oil Bearing Plants. 14(2): 208-213.

27. Tomkins NW, Denmanb SE, Pilajunc P, Wanapatc M, McSweeney CS and Elliot R (2015) Manipulating rumen fermentation and methanogenesis using an essential oil and monensinin beef cattle feda tropical grasshay. Animal Feed Science and Technology. 200: 25-34.

28. Vercoe EP, Makkar HPS and Schlink AC (2010) *In vitro* screening of plant resources for extra-nutritional attributes in ruminants: nuclear and related methodologies (Ed.), *In vitro* Screening of Feed Resources for Efficiency of Microbial Protein Synthesis, (pp. 106-144). New York: Springer.

Zmora P, Cieslak A, Jedrejek D, Stochmal A, Pers-Kamczyc E, Oleszek W, Nowak A, Szczechowiak J, Lechniak D and Szumacher-Strabel M (2012) Effect of *Mentha piperita* L. on *in vitro* rumen methanogenesis and fermentation. Acta Agriculturae Scandinavica. Animal Science. 66: 66-71.

www.SID.ir