

مطالعه اثرات سطوح مختلف پودر دانه زیره و رازیانه بر تولید گاز و فراسنجه‌های تخمیر شکمبه‌ای در جیره‌های با کنسانتره زیاد به روش آزمایشگاهی

• مهرداد تقی زاده

دانشجوی دکتری تغذیه دام دانشگاه زابل

• مصطفی یوسف الهی (نویسنده مسئول)

دانشیار گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه زابل.

• حمیدرضا میرزایی

دانشیار گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه زابل

• آرش آذرفر

دانشیار گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه لرستان

• ایوب عزیزی

استادیار گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه لرستان

تاریخ دریافت: مرداد ۱۳۹۶ تاریخ پذیرش: اردیبهشت ۱۳۹۷

شماره تماس نویسنده مسئول: ۰۹۱۲۵۲۰۲۹۱۰

Email: m_yousefelahi@uoz.ac.ir

شناسه دیجیتال (DOI): 10.22092/asj.2018.114794.1520

چکیده

این تحقیق به منظور مطالعه تأثیر سطوح مختلف پودر دانه زیره و رازیانه در جیره‌های با کنسانتره بالا به روش آزمایشگاهی (*in vitro*) صورت گرفت. تیمارهای آزمایشی عبارت بود از: ۱- شاهد (۷۵ درصد کنسانتره و ۲۵ درصد یونجه)، ۲- جیره شاهد مکمل شده با سه سطح مختلف پودر زیره و رازیانه (۸، ۱۲ و ۱۶ گرم در کیلوگرم ماده خشک خوراک) که در هر سطح نسبت‌های متفاوتی از رازیانه و زیره (۲۵٪ رازیانه + ۷۵٪ زیره، ۵۰٪ رازیانه + ۵۰٪ زیره، ۷۵٪ رازیانه + ۲۵٪ زیره) تکرار شد، تیمارها با مایع شکمبه‌ای گرم‌خانه گذاری شد و سپس میزان تولید گاز اندازه‌گیری شد. فراسنجه‌های تولید گاز، قابلیت هضم مواد آلی، میزان تولید اسیدهای چرب کوتاه زنجیر تیمارها برآورد گردید. همچنین، غلظت نیترژن آمونیاکی و pH تیمارها ۲۴ ساعت پس از انکوباسیون اندازه‌گیری شد. افزودن دانه زیره و رازیانه باعث افزایش معنی دار گاز تجمعی و پتانسیل تولید گاز (b) شد ($P < 0/05$)، اما تأثیر معنی‌داری بین تیمارهای مختلف برای میانگین نرخ تولید گاز مشاهده نشد ($P > 0/05$). قابلیت هضم ماده آلی تیمارهای حاوی پودر دانه زیره و رازیانه به‌طور معنی‌داری بالاتر از تیمار شاهد بود ($P < 0/05$). میزان نیترژن آمونیاکی با افزودن سطوح و نسبت‌های مختلف پودر زیره و رازیانه به‌طور معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد کاهش یافت ($P < 0/05$). میانگین اسیدهای چرب زنجیر کوتاه در سطح ۸ گرم پودر زیره و رازیانه با افزایش معنی‌داری همراه بود ($P < 0/05$)، ولی سطوح بالاتر پودر زیره و رازیانه (۱۲ و ۱۶ گرم در کیلوگرم ماده خشک) افزایش معنی‌داری در این فراسنجه نداشت. بر اساس نتایج این تحقیق می‌توان نتیجه‌گیری نمود که افزودن پودر زیره و رازیانه در جیره با کنسانتره زیاد می‌تواند باعث بهبود قابلیت تخمیر شکمبه، قابلیت هضم و افزایش تولید اسیدهای چرب فرار گردد که استفاده از ۸ گرم مخلوط پودر زیره و رازیانه با نسبت ۵۰٪ رازیانه و ۵۰٪ زیره در کیلوگرم ماده خشک، بیشترین تأثیرات معنی دار را نشان داد.

واژه‌های کلیدی: زیره، رازیانه، تولید گاز، تخمیر شکمبه، قابلیت هضم، نیترژن آمونیاکی

Animal Science Journal (Pajouhesh & Sazandegi) No 122 pp: 17-28

Effect of Fennel and Cumin Seed Powder different levels on *in vitro* the gas production and on ruminal fermentation Characteristics of a high concentrate dietBy: Mehrdad Taghizadeh¹, Mostafa Yusef Elahi^{*2}, Hamidreza Miezaei³, Arash Azarfar⁴, Ayub Azizi⁵¹ Graduate ph.D., Zabol University² and ³ Associate Professor, Zabol University⁴ Associate Professor, Lorestan University⁵ Assistant Professor Lorestan University**Received: August 2017****Accepted: May 2018**

This research was conducted to evaluate the effects of different levels of fennel and cumin seed powder in high-concentrate diets on some *in vitro* rumen fermentation and gas production characteristics. The treatments were repeated: 1- control (75% concentrate and 25% alfalfa), 2- control diet supplemented with three different levels of cumin and fennel powder (8, 12 and 16 g / kg dry matter feed), at each level of the ratio Different types of fennel and cumin (25% fennel + 75% cumin, 50% fennel + 50% cumin, 75% fennel + 25% cumin). Treatments were incubated with rumen fluid and 24 hours after incubation, the amount of gas, parameters of gas production, digestibility of organic matter, short chain fatty acids and pH were estimated. Addition of cumin and fennel powder significantly increased the cumulative gas and gas production potential (b) ($P < 0.05$), but there was no significant effect on the average gas production rate on different treatments ($P < 0.05$). The treatments with cumin and fennel powder had significantly higher digestibility than organic matter ($P < 0.05$). Ammonia nitrogen was measured by adding different levels and ratios of cumin and fennel powder Significant decrease was observed in control treatment ($P < 0.05$). The mean short chain fatty acids at 8 grams of cumin and fennel powder had a significant increase ($P < 0.05$), However, no significant increase was observed with higher levels of cumin and fennel powder (12 and 16 g / kg dry matter). Based on the results of this study, it can be concluded that adding cumin and fennel powder to high concentrate ration can improve rumen fermentation, digestibility and increase the production of volatile fatty acids, using 8 g of cumin and fennel powder With the ratio of 50% fennel and 50% cumin per kilogram of dry matter, the most significant effects were shown.

Key words: Cumin, Fennel, Gas Production, Ruminal Fermentation, Digestibility, Ammonia Nitrogen**مقدمه**

همکاران (۲۰۰۹) استفاده از دانه زیره و رازیانه جزء دانش بومی کشور ما محسوب می شود، به طوری که دامداران در گذشته از پودر آنها در جیره دام های خود استفاده می نمودند (امین پور و جعفری، ۱۳۸۷). ماده مؤثره دانه رازیانه را عمدتاً ترکیباتی نظیر آنتول^۱، فنکون^۲ و استراگول^۳ و قسمت عمده ماده مؤثره زیره سبز

در سال های اخیر متخصصین تغذیه دام توجه خود را به یافتن مکمل هایی جهت استفاده در جیره نشخوارکنندگان متمرکز نموده اند که علاوه بر بهبود عملکرد دام، فاقد تبعات نامطلوب - بهداشتی و زیست محیطی باشد. از جمله این مکمل ها می توان به زیره و رازیانه اشاره نمود که برای افزایش عملکرد دام مورد توجه محققین قرار گرفته است (Kilic و همکاران ۲۰۱۱; Sallam و

¹ Anethole² Fenchon³ Estragole

سبب بهبود کیفیت گوشت و لاشه نیز می شوند (فریور و همکاران، ۱۳۹۲).

اگر چه استفاده از متابولیت‌های ثانویه گیاهی عمدتاً با نتایج مثبتی همراه بوده، اما اثر متابولیت‌های ثانویه گیاهی روی نشخوارکنندگان به عواملی مانند ترکیب جیره به کار رفته و میزان استفاده از این متابولیت‌ها در جیره بستگی دارد (-Khiaosa Zebeliard، ۲۰۱۴). به طوری که استفاده از گیاهان دارویی در غلظت‌های پایین بدون اثر و در غلظت‌های بالا همراه با اثراتی مخرب بر تخمیر شکمبه بوده است (Benchaar و همکاران، ۲۰۰۷). نتایج مطالعات صورت گرفته نشان داد که افزایش میزان اسانس زیره (از ۱۴۰ به ۲۸۰ میکرولیتر در کیلوگرم ماده خشک جیره) باعث کاهش قابل توجه هضم پروتئین خام گردیده و استفاده از سطوح پایین آن (۳۵ میکرولیتر) اثری بر میزان هضم پروتئین خام جیره نداشت (Jahani و همکاران، ۲۰۱۴). همچنین در تحقیق دیگری استفاده از غلظت بالای اسانس رازیانه (۳۰ میکرولیتر) سبب کاهش قابل توجه بخش قابل تخمیر خوراک‌های دانه‌ای گردید (ساک و همکاران، ۱۳۹۳).

بنابراین هدف از انجام تحقیق حاضر بررسی اثر مکمل نمودن جیره نشخوارکنندگان با کنسانتره بالا با سطوح مختلف پودر زیره و رازیانه بر آزمون تولید گاز و فراسنجه‌های تخمیر شکمبه در شرایط آزمایشگاهی (*in vitro*) بود.

مواد و روش‌ها

محل انجام آزمایش

این تحقیق در ایستگاه دامپروری و آزمایشگاه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه لرستان و با استفاده از دو راس گوسفند نر نژاد لری فیستوله شده انجام گرفت.

تیمارهای آزمایشی

در این تحقیق از سه سطح ۸، ۱۲ و ۱۶ گرم در کیلوگرم ماده خشک جیره پایه از مخلوط پودر دانه زیره (خراسان جنوبی) و رازیانه (همدان) استفاده شد که هر سطح در سه نسبت مختلف از

شامل پاراسیمول^۴، آلفا و بتاپنین^۵، کومین آلدئید^۶، آلفا و بتا فلاندرن^۷، اوژنول^۸، آلفا ترپینول^۹ و میرسن^{۱۰} است (حقیر السادات و همکاران، ۱۳۸۹؛ مقتدر و همکاران، ۱۳۸۷). مواد مؤثره موجود در زیره و رازیانه نقش مهمی در کاهش یا توقف اسپاسم‌های دستگاه گوارش، تشدید ترشح شیرابه‌های گوارشی و در نتیجه بالا رفتن میزان هضم مواد غذایی دارد (Ramakrishna و همکاران، ۲۰۰۳). همچنین، به دلیل وجود مواد مؤثره معطر در زیره و رازیانه، مکمل نمودن جیره نشخوارکنندگان با دانه این گیاهان، ممکن است سبب افزایش اشتها شود (Tekeli و همکاران، ۲۰۰۷) که این افزایش اشتها می‌تواند عملکرد دام را در دوره پروار و زمان‌هایی که دام درگیر تنش حرارتی است، بهبود بخشد (نعمتی و همکاران، ۱۳۹۶). ترکیبات موجود در رازیانه و زیره دارای اثرات ضد میکروبی بوده و می‌تواند سبب تغییر جمعیت میکروبی در جهت مثبت (Benchar و Greathead، ۲۰۱۱) شود، یعنی مانند آنتی‌بیوتیک مونسین با مهار باکتری‌های گرم مثبت، نسبت تولید استات به پروپیونات را در شکمبه و نگاری کاهش می‌دهد. همچنین، استفاده آنها در جیره‌ی نشخوارکنندگان متابولیسم نیتروژن را در راستای کاهش نیتروژن آمونیاکی شکمبه تغییر داده و تولید گاز متان را در شکمبه کاهش می‌دهند. کاهش تولید متان به دلیل ترکیبات فنولی محلول در اتانول و متانول موجود در این گیاهان بوده بدون آن که اثر نامطلوبی بر تخمیر شکمبه داشته باشند (Patra و همکاران، ۲۰۱۰ و Kamara و همکاران، ۲۰۰۶). بنابراین افزایش بازدهی تخمیر و بهبود راندمان استفاده از مواد مغذی در نشخوارکنندگان را به دنبال خواهد داشت (Hart و همکاران، ۲۰۰۸). همچنین، متابولیت‌های گیاهی اثر آنتی‌اکسیدانی مناسبی دارند که با کاهش شاخص پراکسیداسیون،

⁴ Paracymol

⁵ α - β Pinene

⁶ cumin aldehyde

⁷ α - β phellandrene

⁸ Eugenol

⁹ α -Terpineol

¹⁰ Myrcene

تجزیه شیمیایی جیره آزمایشی

با استفاده از نرم افزار CNCPS یک جیره فرضی برای بره پرواری که با افزودن سطوح و نسبت‌های مختلف پودر زیره و رازیانه مکمل سازی شده بود، تنظیم گردید (جدول ۱). ترکیب شیمیایی جیره پایه با استفاده از روش AOAC (۲۰۰۰)، دیواره سلولی با روش ون سوست و همکاران (Van Soest) و همکاران، (۱۹۹۱) و مقدار کلسیم و فسفر با اسپکتروفتومتر (مدل Milton-roy 20D ساخت آمریکا) اندازه گیری گردید.

پودر دانه این گیاهان (۲۵٪ پودر رازیانه + ۷۵٪ پودر زیره، ۵۰٪ پودر رازیانه + ۵۰٪ پودر زیره و ۷۵٪ پودر رازیانه + ۲۵٪ پودر زیره) تهیه شده بود. خوراک‌های آزمایشی حاوی سطوح و نسبت‌های مختلفی از پودر زیره و رازیانه تهیه گردید و به منظور انجام آزمایش تولید گاز با الک یک میلی متری آسیاب شدند.

جدول ۱- اجزا و ترکیب شیمیایی جیره پایه

مقدار	ترکیب مواد مغذی	مقدار (درصد)	اجزای جیره پایه
۲/۵۹	انرژی قابل متابولیسم (مگا کالری در کیلوگرم)	۳۷/۵	جو آسیاب شده
۹۳/۸	ماده خشک (%)	۱۸/۷۵	ذرت آسیاب شده
۱۴/۶	پروتئین خام (%)	۴/۷۵	کنجاله سویا
۷/۵	خاکستر خام (%)	۱۲	سبوس
۰/۵۸	کلسیم (%)	۲۵	یونجه
۰/۴۳	فسفر (%)	۰/۵	نمک
۳۳/۳	الیاف نامحلول در شوینده خنثی (%)	۰/۵	دی کلسیم فسفات
۱۸/۷	الیاف نامحلول در شوینده اسیدی (%)	۱	مکمل ویتامینی و معدنی*

*هر کیلوگرم از مکمل شامل ۱۹۰ گرم کلسیم، ۹۰ گرم فسفر، ۱۹ گرم منیزیم، ۳ گرم مس، ۳ گرم آهن، ۲ گرم منگنز، ۳ گرم روی، ۱۰۰ میلی‌گرم کبالت، ۱۰۰ میلی‌گرم ید، ۱ میلی‌گرم سلنیوم، ۵۰۰۰۰ واحد بین المللی ویتامین A، ۱۰۰۰۰ واحد بین المللی ویتامین D₃، ۱۰۰ میلی‌گرم ویتامین E) بود.

آزمون تولید گاز و تعیین فراسنجه‌های تخمیر

آزمون تولید گاز طبق روش مارتن و بارنس صورت گرفت (Marten and Barnes, ۱۹۸۰). در این روش جهت تهیه بزاق مصنوعی از دو محلول بافر A و B استفاده گردید. برای تهیه محلول A میزان ۱۰ گرم پتاسیم دی هیدروژن فسفات (KH₂PO₄)، ۰/۵ گرم سولفات منیزیم ۷ آب (MgSO₄.7H₂O)، ۰/۵ گرم نمک (NaCl) و ۰/۱ گرم کلرید کلسیم دوآبه (CaCl₂.2H₂O) در یک لیتر آب مقطر و برای تهیه محلول B میزان ۱۵ گرم کربنات سدیم (Na₂CO₃) و ۱ گرم سدیم سولفید ۹ آب (Na₂S.9H₂O) در ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر

جیره‌های آزمایشی حاوی سطوح و نسبت‌های مختلف پودر زیره و رازیانه با استفاده از آزمون تولید گاز مورد بررسی قرار گرفتند (Marten and Barnes, ۱۹۸۰). مایع شکمبه مورد نیاز (قبل از خوراک دهی) از دو رأس گوسفند نر نژاد لری فیستوله شده با میانگین وزن ۵۵ کیلوگرم و تغذیه شده در سطح نگهداری (دو بار در روز) گرفته شد، سپس به وسیله دو لایه پارچه تمیز صاف گردید و مایع شکمبه‌ای با استفاده از فلاکس بلافاصله به آزمایشگاه منتقل شد.

۰/۲ نرمال مخلوط شد و سپس در دمای ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری گردید. برای اندازه گیری نیتروژن آمونیاکی از معرف-های فنول و هیپوکلریت استفاده شد و قرائت جذب توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر (مدل Epoch) در طول موج ۶۵۰ نانومتر صورت گرفت (Kang و Broderick، ۱۹۸۰). به منظور تعیین قابلیت هضم شکمبه‌ای ماده خشک، بقایای به دست آمده از هر ویال، به مدت ۴۸ ساعت به داخل آونی با دمای ۶۰ درجه سلسیوس انتقال داده شد تا خشک شدن نمونه‌ها صورت گیرد. از معادله زیر قابلیت هضم ماده خشک تعیین گردید:

$$100 \times \text{وزن نمونه اولیه (میلی گرم)} / \text{وزن بقایا (میلی گرم)} - \text{وزن}$$

نمونه اولیه (میلی گرم) = قابلیت هضم شکمبه‌ای ماده خشک

قابلیت هضم ماده آلی و مقدار انرژی قابل متابولیسم جیره‌های آزمایشی پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون با استفاده از معادلات زیر تخمین زده شد (Steingass و Menke، ۱۹۸۸).

$$\text{OMD (گرم در کیلوگرم)} = 14/88 + 0/893\text{GP}_{24} + 0/0651\text{Ash} + 0/45\text{CP}$$

$$\text{ME (مگاژول در کیلوگرم ماده خشک)} = 2/2 + 0/136\text{GP}_{24} + 0/057\text{CP} + 0/0029\text{CP}^2$$

میزان اسیدهای چرب زنجیر کوتاه، بر اساس رابطه زیر برآورد گردید (Steingass و Menke، ۱۹۸۸).

$$0/0222\text{GP}_{24} - \text{(میلی مول) اسیدهای چرب زنجیر کوتاه} = 0/00425$$

در این روابط GP₂₄ حجم گاز تولید شده در ۲۴ ساعت، ME انرژی قابل متابولیسم، Ash میزان خاکستر خام (گرم در ۱۰۰ گرم ماده خشک) و CP پروتئین خام (گرم در ۱۰۰ گرم ماده خشک) می‌باشد.

تجزیه و تحلیل آماری

داده‌های بدست آمده در قالب طرح کاملاً تصادفی با استفاده از رویه GLM و برنامه آماری SAS (۲۰۰۲) تجزیه و تحلیل شدند. اختلاف بین میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن و در سطح احتمال ۵ درصد مورد بررسی قرار گرفت.

حل گردید. محلول B جهت تنظیم pH محلول A بصورت قطره قطره روی آن افزوده و به کمک همزن مخلوط می‌شود تا pH محلول به روی ۶/۸ تنظیم شود. بزاق مصنوعی قبل از انجام آزمایش و به صورت تازه تهیه شده و قبل از افزودن به ویال‌ها، به میزان نیم ساعت با گاز دی اکسید کربن بی‌هوازی گردید. از هر تیمار آزمایشی میزان ۲۵۰ میلی‌گرم در ۶ تکرار درون بطری‌های شیشه‌ای ۱۰۰ میلی‌لیتری که از قبل شسته شده و در آون خشک گردیده بودند، ریخته شد. بلافاصله به هر بطری شیشه‌ای میزان ۲۰ میلی‌لیتر بزاق مصنوعی و ۵ میلی‌لیتر مایع شکمبه (قبل از افزودن به بطری‌ها توسط گاز دی اکسید کربن به میزان نیم ساعت بی‌هوازی شده بود) افزوده شد. همه بطری‌ها به داخل بن‌ماری با دمای ۳۹ درجه سلسیوس انتقال داده شدند. گاز تولیدی در هر ویال در زمان‌های صفر، ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۲، ۱۶، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت (Menke and Steingass، 1988) به کمک دستگاه فشار سنج دیجیتال (شرکت مهندسی پزشکی رازی) ثبت گردید. در پایان، با استفاده از منحنی استاندارد اعداد فشار به حجم تبدیل شد. به منظور تعیین فراسنجه‌های تولید گاز از معادله $P = b(1 - e^{-ct})$ استفاده شد (Ørskov and McDonald، ۱۹۷۹). در این معادله فراسنجه b گاز تولیدی از بخش قابل تخمیر (میلی‌لیتر در ۲۵۰ میلی‌گرم ماده خشک خوراک)، c نرخ تولید گاز (درصد در ساعت)، t زمان انکوباسیون بر حسب ساعت و P گاز تولیدی (میلی‌لیتر) در زمان t می‌باشد.

اندازه‌گیری pH و غلظت نیتروژن آمونیاکی

پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون، سه ویال از هر تکرار از بن‌ماری خارج شده و پس از ثبت گاز تولیدی آن‌ها، بلافاصله پس از باز نمودن درب آن‌ها، میزان pH هر ویال با استفاده از دستگاه pH متر (مدل ۷۴۴؛ شرکت Metrohm سوئیس) اندازه‌گیری شد. به منظور تعیین غلظت نیتروژن آمونیاکی، پس از سانتریفیوژ محتویات هر ویال (با ۲۰۰۰ دور در دقیقه (RCF= ۴۷۹) مدت ۵ دقیقه و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد)، میزان ۵ میلی‌لیتر مایع شفاف رویی از آن برداشته شد و با یک میلی‌لیتر اسیدکلریدریک

نتایج و بحث

اثرات افزودن تیمارها بر تولید گاز

۲۰۰ میلی گرم ماده خشک) به ترتیب در جدول‌های ۲ و ۳ نشان داده شده است. افزودن مقادیر و نسبت‌های مختلف پودر دانه زیره و رازیانه مقدار گاز تولید شده در مراحل مختلف انکوباسیون را به طور معنی داری افزایش داد ($P < 0.05$).

مقادیر تولید گاز ناشی از افزودن مقادیر و نسبت‌های متفاوت زیره و رازیانه به جیره پایه با کسناثره بالا (۷۵ درصد) در ساعت‌های مختلف انکوباسیون و فراسنجه‌های تولید گاز (اصلاح شده در

جدول ۲- میانگین تولید گاز تجمعی (میلی لیتر در ۲۰۰ میلی گرم ماده خشک) جیره‌های حاوی سطوح و نسبت‌های مختلف پودر دانه زیره و رازیانه در زمان‌های مختلف انکوباسیون

P-value	SEM	تیمار										
		۱۰	۹	۸	۷	۶	۵	۴	۳	۲	۱	زمان (ساعت)
۰/۰۰۴	۰/۲۷	۳/۹ ^{abcd}	۳/۷ ^{bcde}	۳/۵ ^{cde}	۲/۸ ^e	۳/۸ ^{bcde}	۴ ^{abcd}	۴/۷ ^{ab}	۳ ^{de}	۴/۵ ^{abc}	۴/۸ ^a	۲
۰/۰۰۱	۰/۴۷	۸/۷ ^{abcd}	۸/۱ ^{bcde}	۷ ^{de}	۷ ^{de}	۷/۴ ^{cde}	۷/۵ ^{cde}	۱۰/۴ ^a	۶/۸ ^e	۹ ^{abc}	۹/۷ ^{ab}	۴
۰/۰۱۶	۰/۷۲	۱۵/۵ ^{ab}	۱۳/۳ ^{abcd}	۱۲/۳ ^d	۱۲/۵ ^{dc}	۱۲/۸ ^{bdc}	۱۲/۱ ^d	۱۶ ^a	۱۲/۸ ^{bdc}	۱۵/۳ ^{abc}	۱۴/۶ ^{abcd}	۶
۰/۰۰۸	۰/۹۵	۲۰/۸ ^{ab}	۱۷/۹ ^{bc}	۱۶/۸ ^c	۱۸/۲ ^{bc}	۱۷/۹ ^{bc}	۱۷/۱ ^c	۲۲/۵ ^a	۱۸/۲ ^{bc}	۲۲/۳ ^a	۱۸/۲ ^{bc}	۸
0/۰۰۳	۱/۲۲	۲۸/۸ ^{abc}	۲۶/۹ ^{bc}	۲۴/۲ ^c	۲۶/۸ ^{bc}	۲۸ ^{abc}	۲۵/۵ ^c	۳۰/۳ ^{ab}	۲۸/۳ ^{abc}	۳۱/۹ ^a	۲۵/۵ ^c	۱۲
۰/۰۰۶	۱/۴۱	۳۶/۸ ^{bc}	۳۶/۴ ^{bc}	۳۴/۶ ^{bc}	۳۶/۴ ^{bc}	۳۸/۲ ^{abc}	۳۵/۳ ^{abc}	۳۷/۹ ^{abc}	۳۹/۳ ^{ab}	۴۲/۲ ^a	۳۳/۱ ^c	۱۶
۰/۰۱۶	۱/۴۵	۴۶/۲ ^{bc}	۴۸/۱ ^{ab}	۴۵/۹ ^{bc}	۴۷/۹ ^{ab}	۴۸/۵ ^{ab}	۴۶/۶ ^b	۴۷/۲ ^b	۵۰/۹ ^{ab}	۵۳/۱ ^a	۴۱/۲ ^c	۲۴
۰/۰۱۳	۱/۴۲	۵۵/۸ ^{bc}	۵۷/۴ ^b	۵۵/۸ ^{bc}	۵۸/۱ ^{ab}	۵۶/۷ ^b	۵۵/۴ ^{bc}	۵۵/۸ ^{bc}	۶۰/۳ ^{ab}	۶۲/۹ ^a	۵۰/۹ ^c	۳۶
۰/۰۲۱	۱/۴۶	۶۰/۹ ^{bcd}	۶۱/۱ ^{bed}	۶۱/۱ ^{bcd}	۶۲/۸ ^{bc}	۶۲/۱ ^{bcd}	۶۰/۱ ^{dc}	۶۲/۱ ^{bcd}	۶۶/۱ ^{ab}	۶۸ ^a	۵۷/۲ ^d	۴۸
0/۰۱۶	۱/۵۲	۶۵/۲ ^c	۶۴/۷ ^c	۶۴/۱ ^c	۶۶/۴ ^{bc}	۶۶/۱ ^{bc}	۶۴/۲ ^c	۶۶/۱ ^{bc}	۷۱/۱ ^{ab}	۷۲/۳ ^a	۶۱/۴ ^c	۷۲
۰/۰۱۸	۱/۵	۶۷/۷ ^{bc}	۶۶/۵ ^c	۶۵/۹ ^c	۶۸/۵ ^{abc}	۶۸/۶ ^{abc}	۶۶/۴ ^c	۶۸/۷ ^{abc}	۷۳/۲ ^{ab}	۷۴/۱ ^a	۶۴/۱۵ ^c	۹۶

۱: جیره پایه، ۲: ۸ گرم مخلوط زیره و رازیانه در هر کیلوگرم ماده خشک جیره (۲۵٪ زیره و ۷۵٪ رازیانه)، ۳: ۸ گرم مخلوط زیره و رازیانه (۵۰٪ زیره و ۵۰٪ رازیانه)، ۴: ۸ گرم مخلوط زیره و رازیانه (۷۵٪ زیره و ۲۵٪ رازیانه)، ۵: ۱۲ گرم مخلوط زیره و رازیانه (۲۵٪ زیره و ۷۵٪ رازیانه)، ۶: ۱۲ گرم مخلوط زیره و رازیانه (۵۰٪ زیره و ۵۰٪ رازیانه)، ۷: ۱۲ گرم مخلوط زیره و رازیانه (۷۵٪ زیره و ۲۵٪ رازیانه)، ۸: ۱۶ گرم مخلوط زیره و رازیانه (۲۵٪ زیره و ۷۵٪ رازیانه)، ۹: ۱۶ گرم مخلوط زیره و رازیانه (۵۰٪ زیره و ۵۰٪ رازیانه)، ۱۰: ۱۶ گرم مخلوط زیره و رازیانه (۷۵٪ زیره و ۲۵٪ رازیانه). SEM، خطای استاندارد میانگین‌ها.

*حروف غیر مشابه در هر سطر به معنی دار است ($P < 0.05$)

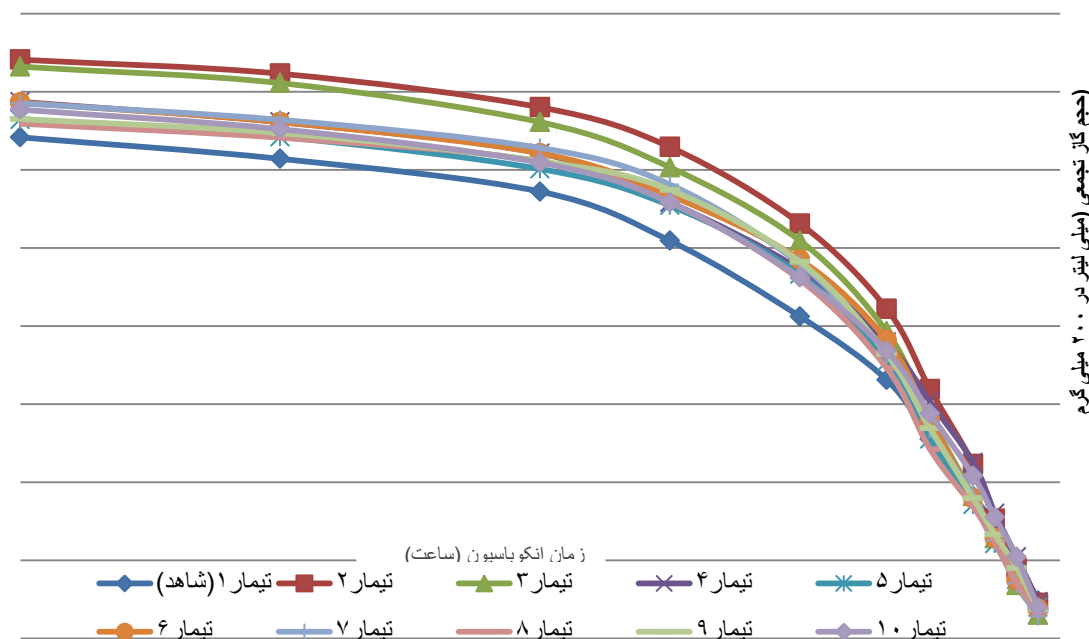
در تیمار فاقد هر گونه افزودنی (تیمار شاهد) مشاهده گردید. این نتایج با نتایج مطالعات Kilic و همکاران (۲۰۱۱) هم‌خوانی دارد. این محققین نشان دادند که افزودن اسانس دانه زیره به میزان ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ ppm به خوراک‌های متراکم و علوفه‌ای باعث افزایش میزان گاز تولید در شرایط آزمایشگاهی می‌گردد. از آنجایی که مقدار گاز تولید شده از یک خوراک شاخصی از قابلیت تخمیر آن خوراک و در نتیجه ارزش انرژی‌زایی آن می‌باشد، در نتیجه استفاده از گیاهان دارویی به منظور افزایش کارایی استفاده از

در ساعات ابتدایی (۶ ساعت اول) میزان گاز تولید شده تیمارهای مختلف حاوی سطوح مختلف زیره و رازیانه نسبت به تیمار شاهد پایین‌تر بود (نمودار ۲) که با پیشرفت انکوباسیون میزان گاز تولید شده تیمارهای مختلف نسبت به تیمار شاهد افزایش یافت ($P < 0.05$). پس از اتمام انکوباسیون، بیشترین (۷۴/۱) میلی‌لیتر در ۲۰۰ میلی‌گرم ماده خشک) حجم گاز تولیدی در تیمار حاوی ۸ گرم دانه پودر شده زیره و رازیانه (۲۵٪ زیره و ۷۵٪ رازیانه) و کمترین میزان آن (۶۴/۱۵) میلی‌لیتر در ۲۰۰ میلی‌گرم ماده خشک)

افزایش به صورت معنی دار نبود (Jahani و همکاران، ۲۰۱۴). برخلاف نتایج این پژوهش، گزارش شد که استفاده از ۴٪ پودر زیره در کیلوگرم ماده خشک جیره‌ای با کنسانتره پایین (۸۰٪ علوفه)، باعث کاهش معنی دار تولید گاز در شرایط آزمایشگاهی در جیره با کنسانتره پایین (۸۰٪ علوفه) شده است (Jahani و همکاران، ۲۰۰۹). این محققین علت کاهش تولید گاز در نتیجه استفاده از پودر زیره را کاهش تولید متان ذکر نمودند. مقایسه میانگین گاز تولیدی تیمارها در زمان‌های مختلف در نمودار شماره ۱ نشان داده شده است.

خوراک مفید بوده و می‌تواند برای قابلیت استفاده از نیتروژن خوراک کارساز باشد. در خصوص تاثیر رازیانه بر فراسنجه‌های تخمیری شکمبه، نتایج تحقیقات صورت گرفته نشان می‌دهد که استفاده از اسانس رازیانه به میزان ۰/۵، ۱ و ۱/۵ میلی لیتر در ۷۵ میلی لیتر مایع شکمبه بافوری شده باعث افزایش معنی دار میزان گاز جمعی در طول ۲۴ ساعت گردید (Sallam و همکاران، ۲۰۰۹) که موافق با نتایج این تحقیق می‌باشد. اما نتایج بعضی از تحقیقات بیانگر این بود که افزایش دوز مصرفی اسانس زیره باعث افزایش تولید گاز (در جیره‌ای با ۵۰٪ علوفه) گردید ولی این

نمودار ۱- مقایسه میانگین گاز تولیدی تیمارها در زمان‌های مختلف



۱: جیره پایه، ۲: ۸۰ گرم مخلوط زیره و رازیانه در هر کیلوگرم ماده خشک جیره (۲۵٪ زیره و ۷۵٪ رازیانه)، ۳: ۸۰ گرم مخلوط زیره و رازیانه (۵۰٪ زیره و ۵۰٪ رازیانه)، ۴: ۸۰ گرم مخلوط زیره و رازیانه (۷۵٪ زیره و ۲۵٪ رازیانه)، ۵: ۱۲ گرم مخلوط زیره و رازیانه (۲۵٪ زیره و ۷۵٪ رازیانه)، ۶: ۱۲ گرم مخلوط زیره و رازیانه (۵۰٪ زیره و ۵۰٪ رازیانه)، ۷: ۱۲ گرم مخلوط زیره و رازیانه (۷۵٪ زیره و ۲۵٪ رازیانه)، ۸: ۱۶ گرم مخلوط زیره و رازیانه (۲۵٪ زیره و ۷۵٪ رازیانه)، ۹: ۱۶ گرم مخلوط زیره و رازیانه (۵۰٪ زیره و ۵۰٪ رازیانه)، ۱۰: ۱۶ گرم مخلوط زیره و رازیانه (۷۵٪ زیره و ۲۵٪ رازیانه)

اثرات افزودن تیمارها بر فراسنجه های تخمیر

با افزایش سطوح دانه زیره و رازیانه، در ثابت نرخ تولید گاز مشاهده نگردید ($P > 0/05$). این نتایج موافق نتایج ساکی و همکاران (۱۳۹۳) بود؛ به طوری که افزودن اسانس رازیانه باعث افزایش میزان پتانسیل تولید گاز گردید ولی با افزایش میزان

نتایج مربوط به تاثیر تیمارهای مختلف بر روی پتانسیل تولید گاز (b) و ثابت نرخ تولید گاز (c) در جدول ۳ نشان داده شده است. افزودن دانه زیره و رازیانه در همه سطوح و نسبت‌ها باعث افزایش معنی داری پتانسیل تولید شد ($P < 0/05$). اگر چه تاثیر معنی داری

میزان اسیدهای چرب کوتاه زنجیر بود، به طوری که افزودن پودر دانه شنبلیله به میزان ۲ درصد، با افزایش میزان اسیدهای چرب زنجیر کوتاه همراه شد (فریور و همکاران، ۱۳۹۳). همچنین، افزودن ۳ گرم در روز ساپونین چای در جیره بره‌های در حال رشد به طور معنی‌داری با افزایش میزان کل اسیدهای چرب شکمبه همراه بود (Mao و همکاران، ۲۰۱۰). برخلاف این نتایج، یافته‌های بعضی از محققین (Cardozo و همکاران، ۲۰۱۴) نشان داد که افزودن ۲ گرم عصاره رازیانه در روز به جیره گوساله‌های پرواری اگر چه باعث کاهش نسبت میزان اسید چرب استات به اسید چرب پروبیونات گردید ولی تغییر معنی‌داری در میزان تولید کل اسیدهای چرب فرار شکمبه نداشت.

به دلیل این که بیشترین میزان تولید گاز در طول ۲۴ ساعت در دوره انکوباسیون مربوط به تیمار پودر زیره و رازیانه در سطح ۸ گرم در ماده خشک با نسبت ۵۰ درصد زیره و ۵۰ درصد رازیانه بود، بیشترین قابلیت هضم مواد آلی و میزان انرژی قابل متابولیسم مختص به این تیمار می‌باشد (جدول ۳) که این نتایج موافق با بعضی نتایج (Sallam و همکاران، ۲۰۰۹) است. نتایج این محققین (Sallam و همکاران، ۲۰۰۹) حاکی از افزایش قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی در نتیجه افزودن ۱/۵ میلی‌لیتر اسانس رازیانه به ۷۵ میلی‌لیتر مایع شکمبه بافری شده بود. اما نتایج تحقیق بعضی از محققین (Jahani و همکاران، ۲۰۱۴) بیانگر عدم تاثیر معنی‌دار اسانس زیره و رازیانه بر قابلیت هضم در شرایط آزمایشگاهی می‌باشد که این اثر به غلظت بالای اسانس مصرفی (۵۰L/500mgμ) نسبت به ماده خشک انکوبه شده نسبت داده شده است. این محققین چنین عنوان کردند که غلظت بالای اسانس باعث کاهش جمعیت میکروبی شده و در نتیجه قابلیت هضم مواد انکوبه شده به طور معنی‌داری کاهش یافته است.

اسانس رازیانه میزان پتانسیل تولید گاز کاهش پیدا نمود. اما برخلاف این نتایج سجادیان و همکاران (۱۳۸۹) گزارش نمودند که افزودن اسانس رازیانه باعث کاهش پتانسیل تولید گاز می‌گردد که دلیل آن را میزان بالای مصرف اسانس رازیانه (۲۰۰ میکرولیتر به ازای هر گرم ماده خشک یونجه) و اثر مهارکنندگی بر فعالیت باکتری‌ها شکمبه عنوان نمودند.

مقایسه میانگین اسیدهای چرب زنجیر کوتاه تولید شده در طی انکوباسیون، همچنین مقایسه‌ی نیتروژن آمونیاکی، قابلیت هضم مواد آلی و انرژی قابل متابولیسم تفاوت معنی‌داری ($P < 0.05$) را در بین تیمارهای مختلف نشان داد (جدول ۳). بین میزان اسیدهای چرب زنجیر کوتاه با میزان هضم مواد و هم چنین با میزان تولید گاز رابطه مستقیم و خطی وجود دارد (Steingass و Menke، ۱۹۸۸). افزایش تولید گاز به مفهوم تجزیه بیشتر مواد آلی و تولید اسیدهای چرب بیشتر است. به دلیل افزایش گاز تولیدی حاصل از تیمارهای حاوی سطوح مختلف زیره و رازیانه میزان اسیدهای چرب فرار نیز افزایش می‌یابد. بیشترین میزان اسیدهای چرب کوتاه زنجیر متعلق به تیمار ۲ (۸ گرم پودر زیره و رازانه با نسبت ۵۰ درصد) می‌باشد و با افزایش میزان پودر زیره و رازیانه میانگین اسیدهای چرب شکمبه نیز کاهش یافت نتایج سایر تحقیقات صورت گرفته نشان می‌دهد که میانگین کل اسیدهای چرب شکمبه با افزایش میزان اسانس‌های گیاهی کاهش می‌یابد (Macheboeuf و همکاران، ۲۰۰۸). مطابق با نتایج این تحقیق، افزودن ۱/۵ گرم از ترکیب اسانس (شامل زیره و رازیانه) به محیط کشت تخمیری باعث افزایش معنی‌دار میزان کل اسیدهای چرب زنجیر کوتاه از ۱۱۶/۲ میلی‌مول به میزان ۱۲۲/۸ میلی‌مول گردید (Castillejosa و همکاران، ۲۰۰۴). نتایج بعضی از تحقیقات بر روی سایر افزودنی‌های گیاهی دیگر نیز بیانگر افزایش معنی‌دار

جدول ۳- میانگین برخی فراسنجه‌های تخمیر در تیمارهای مختلف

P-value	SEM	تیمار										
		۱۰	۹	۸	۷	۶	۵	۴	۳	۲	۱	
۰/۰۲	۱/۷۳	۶۸/۸۹ ^b	۶۹/۱ ^b	۶۹/۳۹ ^b	۷۱/۵۸ ^{ab}	۷۰/۷۷ ^{ab}	۶۹/۱ ^b	۶۹/۴۰ ^b	۷۶/۵۵ ^a	۷۶/۱۵ ^a	۶۵ ^b	پتانسیل تولید گاز (ml)
۰/۴۷	۰/۰۰۱	۰/۰۴۳	۰/۰۴۲	۰/۰۳۹	۰/۰۴	۰/۰۴۱	۰/۰۴	۰/۰۴۵	۰/۰۳۹	۰/۰۴	۰/۰۴	نرخ تولید گاز (ml/h)
۰/۹۳۷۹	۰/۰۳۴	۶/۵۹	۶/۴۷	۶/۵	۶/۵۵	۶/۶۲	۶/۵۵	۶/۵۲	۶/۴۷	۶/۶۱	۶/۵۱	pH
۰/۰۳۷	۰/۰۰۹	abcd ۱/۱۹	۱/۱۹۹ ^{abcd}	۱/۱۸۷ ^{cd}	۱/۲ ^{abcd}	۱/۱۷ ^{cd}	۱/۱۷ ^{cd}	۱/۲۴ ^{abc}	۱/۳۰ ^a	۱/۳۱ ^a	۱/۱ ^d	اسیدهایی کوتاه زنجیر (میلی مول)
۰/۰۰۱۳	۰/۱۷	۱۱/۷ ^b	۱۱/۸ ^b	۱۲/۴۵ ^b	۱۱/۰۸ ^b	۱۱/۹۷ ^b	۱۲/۶۷ ^b	۱۲/۹۵ ^b	۱۲/۰۴ ^b	۱۲/۲۷ ^b	۱۶/۸۷ ^a	نیترژن آمونیاکی (میلی گرم)
۰/۰۰۰۱	۰/۱۱۸	۶۴/۶ ^d	۶۴/۷۰ ^{dc}	۶۴/۷۳ ^{dc}	۶۵/۳۳ ^c	۶۳/۶۳ ^c	۶۴/۲۴ ^{de}	۶۷/۰۵ ^b	70/۰۴ ^a	۶۹/۹۶ ^a	۶۰/۹۱ ^f	در دسی قابلیت همضم مواد آلی
۰/۰۰۰۱	۰/۰۱	۹/۸ ^{cd}	۹/۸ ^{cd}	۹/۸ ^{cd}	۹/۹ ^c	۹/۶۳ ^e	۹/۷۳ ^{de}	b	a	a	۹/۲۱ ^f	انرژی قابل متابولیسم (Mj/kg DM)

۱: جیره پایه، ۲: ۸ گرم مخلوط زیره و رازیانه در هر کیلوگرم ماده خشک جیره (۲۵٪ زیره و ۷۵٪ رازیانه)، ۳: ۸ گرم مخلوط زیره و رازیانه (۵۰٪ زیره و ۵۰٪ رازیانه)، ۴: ۸ گرم مخلوط زیره و رازیانه (۷۵٪ زیره و ۲۵٪ رازیانه)، ۵: ۱۲ گرم مخلوط زیره و رازیانه (۲۵٪ زیره و ۷۵٪ رازیانه)، ۶: ۱۲ گرم مخلوط زیره و رازیانه (۵۰٪ زیره و ۵۰٪ رازیانه)، ۷: ۱۲ گرم مخلوط زیره و رازیانه (۷۵٪ زیره و ۲۵٪ رازیانه)، ۸: ۱۶ گرم مخلوط زیره و رازیانه (۲۵٪ زیره و ۷۵٪ رازیانه)، ۹: ۱۶ گرم مخلوط زیره و رازیانه (۵۰٪ زیره و ۵۰٪ رازیانه)، ۱۰: ۱۶ گرم مخلوط زیره و رازیانه (۷۵٪ زیره و ۲۵٪ رازیانه). SEM، خطای استاندارد میانگین‌ها. *حروف غیر مشابه در هر سطر به معنی دار است (P<0.05)

هضم ماده خشک و ماده آلی در نتیجه افزودن ۱/۵ میلی لیتر اسانس رازیانه به ۷۵ میلی لیتر مایع شکمه بافری شده بود. اما نتایج تحقیق بعضی از محققین (Jahani و همکاران، ۲۰۱۴) بیانگر عدم تاثیر معنی‌دار اسانس زیره و رازیانه بر قابلیت هضم در شرایط آزمایشگاهی می‌باشد که این اثر به غلظت بالای اسانس مصرفی (۵۰L/500mgμ) نسبت به ماده خشک انکوبه شده نسبت داده شده است. این محققین چنین عنوان کردند که غلظت بالای

به دلیل این که بیشترین میزان تولید گاز در طول ۲۴ ساعت در دوره انکوباسیون مربوط به تیمار پودر زیره و رازیانه در سطح ۸ گرم در ماده خشک با نسبت ۵۰ درصد زیره و ۵۰ درصد رازیانه بود، بیشترین قابلیت هضم مواد آلی و میزان انرژی قابل متابولیسم مختص به این تیمار می‌باشد (جدول ۳) که این نتایج موافق با بعضی نتایج (Sallam و همکاران، ۲۰۰۹) است. نتایج این محققین (Sallam و همکاران، ۲۰۰۹) حاکی از افزایش قابلیت

پایین اسانس تاثیر در کاهش تعداد پروتوزوآهای شکمبه ندارند (Zebeli و Khiaosa-ard، ۲۰۱۴).

در این تحقیق افزودن سطوح مختلف پودر زیره و رازیانه اثر معنی-داری بر pH شکمبه نداشت ($P > 0.05$). نتایج مربوط به تاثیر سطوح مختلف پودر زیره و رازیانه بر pH مایع شکمبه مطابق با نتایج تحقیقات بهرامی و همکاران (۱۳۸۹) است به طوری که این محققین تاثیر معنی داری در نتیجه افزودن دانه زیره و رازیانه در جیره های با کنسانتره بالا مشاهده نمودند.

نتیجه گیری

بر اساس نتایج به دست آمده در این تحقیق، بهترین سطح زیره و رازیانه در جیره های با کنسانتره زیاد، ۸ گرم و به نسبت ۵۰٪ رازیانه و ۵۰٪ زیره می باشد که باعث بهبود قابلیت تخمیر شکمبه، افزایش قابلیت هضم مواد آلی و میزان اسیدهای چرب زنجیر کوتاه و همچنین کاهش نیتروژن آمونیاکی و در نتیجه بهبود قابلیت استفاده از انرژی و پروتئین جیره می گردد. این اثرات مثبت می-تواند به دلیل ترکیبات موثره موجود در زیره و رازیانه باشد که سبب تغییر الگوی تخمیر شکمبه در جهت افزایش بازدهی تخمیر و بهبود راندمان استفاده از مواد مغذی باشد. پیشنهاد می شود عملاً امکان استفاده از این سطح و نسبت از پودر زیره و رازیانه در جیره با کنسانتره زیاد مورد استفاده قرار گیرد.

اسانس باعث کاهش جمعیت میکروبی شده و در نتیجه قابلیت هضم مواد انکوبه شده به طور معنی داری کاهش یافته است. میزان نیتروژن آمونیاکی تیمار شاهد به طور معنی داری بیشتر از تیمارهای آزمایشی است. این کاهش در میزان نیتروژن آمونیاکی در تیمارهای پودر زیره و رازیانه می تواند دلالت بر کاهش فعالیت پروتئولیتیکی باکتری ها در شکمبه و در نتیجه کاهش تجزیه پروتئین و بازچرخش نیتروژن بین باکتری و پروتوزوآی شکمبه باشد (Ivan و همکاران، ۲۰۰۰). همچنین، ترکیبات موثره گیاهان دارویی می توانند رشد سویه هایی از باکتری ها که مقدار زیادی نیتروژن آمونیاکی تولید می کنند مانند (کلستریدیوم استیک لاندی^{۱۱} و پیتواستریپتوکوکوس ائروبیوس^{۱۲}) را محدود کرده و باعث کاهش ازت آمونیاکی شوند (Mcintosh و همکاران، ۲۰۰۳). این نتایج موافق با نتایج تحقیق Sallam و همکاران (۲۰۰۹) بود. این محققین گزارش نمودند که افزودن سه سطح اسانس رازیانه (۰/۵، ۱ و ۱/۵ میلی لیتر در ۷۵ میلی لیتر مایع شکمبه بافری شده) به طور معنی داری باعث کاهش میزان نیتروژن آمونیاکی گردید. همچنین، نتایج مخالف با نتایج تحقیق (Jahani و همکاران، ۲۰۱۴) می باشد. که اثر معنی داری در نتیجه استفاده از اسانس رازیانه در کاهش میزان نیتروژن آمونیاکی مشاهده نمودند اگر چه افزودن اسانس زیره به طور معنی داری سبب کاهش معنی-دار نیتروژن آمونیاکی نسبت به تیمار شاهد گردید که این محققین دلیل این کاهش معنی دار در میزان نیتروژن آمونیاکی را کاهش فعالیت پروتئولیتیکی باکتری ها عنوان نموده اند. Busquet و همکاران (۲۰۰۶) نشان دادند که برخی از اسانس های گیاهی نظیر اسانس رازیانه و جزء اصلی آن (آنتول) به طور قابل توجهی غلظت ازت آمونیاکی را در غلظت های بالا مهار می کند، اما اثرات در دوزهای متوسط در خط مرزی بوده و در دوزهای پایین وجود ندارد. استفاده از غلظت های بالای اسانس (بیشتر از ۰/۲ گرم در کیلوگرم ماده خشک) باعث کاهش تعداد پروتوزوآهای شکمبه و در نتیجه کاهش فعالیت پروتئولیتیک و دامیناسیون شکمبه و کاهش غلظت ازت آمونیاکی می گردد و غلظت های

¹¹ *Clostridium sticklandii*

¹² *Peptostreptococcus anaerobius*

منابع

- AOAC. (2000). Official Methods of Analysis. 17th ed. Association of Official Analytical Chemists, Gaithersburg, MD.
- Benchaar, C., Chaves, A.V., Fraser, G.R., Wang, Y., Beuchemin, K.A. and McAllister T.A. (2007). Effects of essential oils and their components on *in vitro* rumen microbial fermentation. *Canadian Journal of Animal Science*. 87: 413-419
- Benchaar, C. and Greathead, H. (2011). Essential oils and opportunities to mitigate enteric methane emissions from ruminants. *Animal Feed Science and Technology*. 166: 338-355.
- Broderick, G. and Kang, J. H. (1980). Automated simultaneous determination of ammonia and total amino acids in ruminal fluid and *in vitro* media. *Journal of Dairy Science*, 63: 64-75.
- 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.
- Cardozo, P.W., Calsamiglia, S., Ferret, A. and Kamel, C. (2014). Effects of alfalfa extract anise, capsicum and a mixture of cinnamaldehyde and eugenol on ruminal fermentation and protein degradation in beef heifers fed a high concentrate diet. *Journal of Animal Science*. 84: 2801-2808.
- Castillejosa, L., Calsamiglia, S., Ferret, A. and Losa, R. (2005). Effects of a specific blend of essential oil compounds and the type of diet on rumen microbial fermentation and nutrient flow from a continuous culture system. *Animal Feed Science and Technology*. 119: 29-41
- Jahani-Azizabadi, H., Danesh Mesgaran, M., Vakili, A. R. and Rezayazdi, K. 2014. Effect of some plant essential oils on *in vitro* ruminal methane production and on fermentation characteristics of a mid-forage diet. *Journal of Agriculture Science Technology*. 16: 1543-1554.
- امین پور، ر.، و جعفری، ا. (۱۳۸۷). زیره سبز. نشریه ترویجی سازمان جهاد کشاورزی استان اصفهان
- بهرامی، غ.، دانش مسگران، م. و وکیلی، س. (۱۳۸۹). تاثیر اسانس های گیاهی بر بار اسیدی مایع شکمبه گوسفند در شرایط برون تنی. چهارمین کنگره علوم دامی ایران. صفحات: ۲۱۰۱ - ۲۰۹۸
- فریور، ف.، تربتی نژاد، ن.، حسینی، س. و جعفری، ی. (۱۳۹۲). تاثیر پودر دانه شبلیله به عنوان افزودنی خوراکی درجیره، بر خصوصیات تخمیر شکمبه، قابلیت هضم، عملکرد پروار، کیفیت گوشت و برخی متابولیت های خون گوسفند. رساله دکتری تغذیه دام، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
- ساک، س.، وکیلی، س. و دانش مسگران، م. (۱۳۹۳). اثر اسانس های گیاهی کاج و اکالیپتوس بر فراسنجه های تولید گاز خوراک های دانه ای در شرایط آزمایشگاهی. ششمین کنگره علوم دامی ایران - دانشگاه تبریز
- سجادیان، م.، دانشگران، م.، وکیلی، ع.ر. و جهانی عزیزآبادی، ح. (۱۳۸۹). تاثیر اسانس برخی از چاشنی های دانه گیاهان دارویی بر فراسنجه های تولید گاز علف خشک یونجه در شرایط آزمایشگاهی. چهارمین کنگره علوم دامی ایران - دانشگاه تهران
- حقیر السادات، ب.، برنارد، ف.، کلانتر، س. و شیخ ها، م. (۱۳۸۹). بررسی ترکیبات موثر و خواص آنتی اکسیدانی اسانس گیاه دارویی زیره سیاه استان یزد. مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، دوره ۱۸، صفحات: ۲۹۱ - ۲۸۴
- مقتدر، م.، ایرج منصوری، ع.، سالاری، ح. و فرهمند، آ. (۱۳۸۷). شناسایی ترکیبهای شیمیایی و بررسی اثر ضد میکروبی اسانس بذر زیره. فصلنامه علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران جلد ۲۵، شماره ۱، صفحات: ۲۸-۲۰
- نعمتی، م.، هاشم زاده، ف. و ادوی، ظ. (۱۳۹۶). نقش گیاهان دارویی در تغذیه دام. اولین همایش ملی نقش گیاهان دارویی در اقتصاد مقاومتی، فریدونشهر، دانشگاه پیام نور مرکز فریدونشهر

- Jahani-Azizabadi, H., Danesh-Mesgaran, M., Vakili, A. R. and Heravi-Moussavi, A. R. (2009). Screening the activity of medicinal plants or spices on *In vitro* ruminal methane production. *Journal of Dairy Science*. 92: 277-278.
- Hart, K. J., Yanez- Ruiz, D. R., Duval, S. M., Mcewan, N. R. and Newbold, C. J. (2008). Plant extracts to manipulate rumen fermentation. *Animal Feed Science and Technology*. 147: 8-35
- Ivan, M., Neill, L., Foster, R., Alimon, R., Rode, L.M, and Entz , T. (2000). Effects of *Isotricha*, *Dasytricha*, *Entodinium*, and total fauna on ruminal fermentation and duodenal flow in wethers fed different diets. *Journal of Dairy Science*. 83: 776 – 787.
- Kamara, D.N., Agarwal , N. and Chaudhary, L.C, (2006). Inhibition of ruminal methanogenesis by tropical plants containing secondary compounds. *International Congress Series*, 1293: 156–163.
- .Khiaosaard, R., and Zebeli, Q. (2014). Meta-analysis of the effects of essential oils and their bioactive compounds on rumen fermentation characteristics and feed efficiency in ruminants. *Journal of Animal Science*. 91:1819–1830.
- Kilic, U., Boga, M., Gorgulu., M., and Şahan, Z., (2011). The effects of different compounds in some essential oils on in vitro gas production. *Journal of Animal and Feed Sciences*. 20: 626–636.
- Macheboeuf, D., Morgavi, D.P., Papon, Y. Mousset, J.L. 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.
- Mao, H.L., Wang, J.K., Zhou, Y.Y. and Liu., J.X. (2010). Effects of addition of tea saponins and soybean oil on methane production, fermentation and microbial population in the rumen of growing lambs. *Livestock Science* 129: 56–62.
- Marten, G.C., and R.F. Barnes. (1980). Prediction of energy digestibility of forages with in vitro rumen fermentation and fungal enzymes systems. P 61-71. In Pidgen, W.J., C.C. Balch, and M. Graham, (ed.) *tandardization of Analytical Methodology for Feeds*. International Development Research Center, Ottawa.
- Mcintosh, F., Williams, P., Losa, R., Wallace, R., Beever, D. and Newbold, C. (2003). Effects of essential oils on ruminal metabolism and their protein metabolism. *Applied and Environmental Microbiology*. 69: 5011-5014
- Menke, K. and Steingass H. (1988). Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and in vitro gas production using rumen fluid. *Animal Research and Development*, 28: 7-55.
- Patra, A.K., Kamra, D.N. and Agarwal, N. (2010). Effects of extracts of spices on rumen methanogenesis, enzyme activities and fermentation of feeds *in vitro*. *Journal of Science Food Agriculture*. 90: 511-520.
- Ramakrishna, R.R., Platel, K. and Srinivasan, K. (2003). *In vitro* influence of species and spice-active principles on digestive Enzymes of rat pancreas and small intestine. *Nahrung*, 47: 408-412.
- Sallam, S.M.A., Bueno, S., Brigide, I., Godoy, P. P.B., Vitti, P. and Abdalla, D. (2009). Investigation of potential new opportunities for plant extracts on rumen microbial fermentation *in vitro*. Zaragoza : *CIHEAM / FAO / NAGREF*. pp: 255-260 .
- Tekeli. A. Çelik, L. and Kutlu, H. (2007). Plant Extracts; a New Rumen Moderator in Ruminant Diets. *Tekirdag. Ziraat Fakultesi Dergisi Journal of Tekirdag Agricultural Faculty*.
- Van Soest, P.J., Robertson, J.B. and Levis, B.A. (1991). Method for dietary fiber, neutral detergent fiber, and non- starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*. 74: 3583-3597.
- Ørskov, E. R. and McDonald, I. (1979). The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *Journal of Agricultural Science*, 92: 499–503.