Archive of SID

تحقیقات تولیدات دامی

سال هشتم/شماره اول/بهار ۱۳۹۸ (۳۹-۲۹)

Animal Production Research

دانشگاه گیلان

اثر تغذیه مکمل گیاه کاکوتی به بره‌های پرواری بر فعالیت قارچ‌ها و باکتری‌های شکمبه در هضم و تخمیر سرشاخه نیشکر

پروین علی‌میرزایی[۱]، مرتضی چاجی[۲*]

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان

۲- دانشیار گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان

(تاریخ دریافت: ۹۷/۰۷/۲۱ - تاریخ پذیرش: ۹۷/۰۹/۰۷)

چکیده

پژوهش حاضر با هدف بررسی اثر استفاده از گیاه کاکوتی در جیره بره‌های پرواری بر فعالیت باکتری‌ها و قارچ‌های شکمبه در هضم برون‌تنی سرشاخه نیشکر انجام شد. سه جیره آزمایشی حاوی سطوح صفر، ۰/۲ یا ۰/۴ درصد کاکوتی به مدت ۳۰ روز به ۱۵ راس بره پرواری ۷ ماهه با میانگین وزن ۴۰ کیلوگرم تغذیه شدند. در پایان آزمایش، از بره‌ها به روش لوله معدی مایع شکمبه گرفته شد. سپس جمعیت باکتری‌ها و قارچ‌ها از مایع شکمبه جداسازی و بعد از خالص‌سازی، تاثیر آنها بر هضم و تخمیر سرشاخه نیشکر در محیط کشت اختصاصی باکتریایی یا قارچی بررسی شد. نتایج نشان داد پتانسیل تولید گاز سرشاخه نیشکر به وسیله قارچ‌های شکمبه در تیمارهای حاوی مایع شکمبه گوسفندان تغذیه شده با کاکوتی بیشتر از شاهد بود ($P<۰/۰۵$). غلظت نیتروژن آمونیاکی، pH و درصد ناپدید شدن ماده خشک و NDF سرشاخه نیشکر در محیط کشت قارچی تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت. غلظت نیتروژن آمونیاکی محیط کشت باکتریایی در ساعت ۷۲ انکوباسیون کاهش یافت و غلظت آن در تیمار ۰/۴ درصد کاکوتی کمترین مقدار (۱۳/۶ میلی‌گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر) بود ($P<۰/۰۵$). ناپدید شدن ماده خشک و NDF سرشاخه نیشکر در محیط کشت باکتریایی در ساعت ۲۴ انکوباسیون با استفاده از مایع شکمبه گوسفندان تغذیه شده با کاکوتی بیشتر از شاهد بود و بیشترین مقدار ناپدید شدن ماده خشک (۵۵/۶ درصد) و NDF (۴۴/۵ درصد) مربوط به تیمار ۰/۴ درصد کاکوتی بود ($P<۰/۰۵$). در مجموع، تغذیه مکمل کاکوتی به بره‌های پرواری تاثیری بر هضم سرشاخه نیشکر به وسیله قارچ‌های شکمبه نداشت و تنها منجر به افزایش پتانسیل تولید گاز سرشاخه نیشکر به وسیله آنها شد. از طرفی مکمل کاکوتی تنها در زمان ۲۴ ساعت انکوباسیون منجر به افزایش ناپدید شدن مواد مغذی سرشاخه نیشکر به وسیله باکتری‌های شکمبه شد.

واژه‌های کلیدی: تولید گاز، جدایه باکتریایی، جدایه قارچی، قابلیت هضم برون‌تنی

* نویسندهٔ مسئول: chaji@ramin.ac.ir

doi: 10.22124/ar.2019.11463.1347

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

نشخوارکنندگان دستگاه گوارش ویژه‌ای دارند که برای هم‌زیستی با میکروارگانیسم‌های تخمیرکننده کاملاً مناسب است (فریور و تربتی‌نژاد، ۱۳۹۲). اتلاف انرژی و نیتروژن طی تخمیر شکمبه موجب کاهش عملکرد حیوان می‌شود (Tamminga, 1992). با استفاده از برخی از افزودنی‌ها مانند گیاهان دارویی می‌توان فرآیند تخمیر شکمبه را بهبود بخشید (Busquet *et al*., 2006). گیاهان خانواده نعنا از جمله این گیاهان دارویی هستند که خاصیت ضد میکروبی بالایی دارند (Mahboubi and Haghi, 2008).

گیاه کاکوتی متعلق به تیره نعنائیان (*Lamiaceae*) و زیر راسته لامیالس (*Lamiales*) است. تیره نعناعیان دارای چهار گونه در ایران است که سه گونه آن شامل گونه چندساله (*Ziziphora clinopodioides*) و یک گونه یک ساله (*Ziziphora tenuior*) دارویی هستند. کاکوتی گیاهی علفی، یکساله با ساقه کوتاه به ارتفاع ۱۵-۵ سانتی‌متر، برگ‌های باریک، نوک تیز با میان گره‌های کوچک است که گل‌هایی کوچک به رنگ بنفش کم‌رنگ یا بنفش مایل به ارغوانی دارد و به حالت وحشی در شمال، مرکز، شمال‌غرب، جنوب و شمال شرق ایران پراکنده است (سلامت و همکاران، ۱۳۹۴). تعدادی از مواد موثره مهم موجود در کاکوتی شامل پولگون (۳۴/۳۸ درصد، Pulegone)، پی‌پرینتون (۱۸/۶۱ درصد، Piperitenone)، یوموگی‌الکل (۱۲/۹۲ درصد، Yomogi alcohol)، دی‌ال‌منتول (۱۱/۵۱ درصد، DL-Menthol)، کارواکرول (۵/۴۳ درصد، Carvacrol)، پیپرتون (۲/۶۸ درصد، Pipertenone)، گاماتریپنن (۲/۶۸ درصد، γ-Terpinene) و کارنون (۲/۵۰ درصد، Carnoon) است (قهاری و همکاران، ۱۳۹۵). در پژوهشی، افزودن کاکوتی به جیره گوسفند دالاق سبب بهبود قابلیت هضم ماده خشک و افزایش باکتری‌های اسید لاکتیکی و کل جمعیت باکترهای بی‌هوازی شکمبه (سویه‌ها نامشخص) شد، اما تاثیری بر pH، جمعیت پروتوزآیی شکمبه، گلوکز، تری-گلیسرید و کلسترول خون نداشت (سلامت و همکاران، ۱۳۹۴). مخلوط کردن پودر کاکوتی با شیر گاو تاثیری بر عملکرد، کل باکتری‌های هوازی، لاکتوباسیل‌ها و جمعیت اشرشیاکولی مدفوع گوساله‌های شیرخوار نداشته، اما باعث کاهش قابلیت هضم خوراک شد (قهاری و همکاران، ۱۳۹۵). در مجموع، اطلاعات در مورد استفاده از کاکوتی در تغذیه دام بسیار محدود است.

سرشاخه نیشکر یکی از محصولات فرعی نیشکر است که ۲۰ درصد وزن گیاه را تشکیل می‌دهد و می‌توان از آن به عنوان یک منبع خوراکی در تغذیه نشخوارکنندگان استفاده کرد. کل مواد مغذی قابل هضم، پروتئین خام، فیبر خام، خاکستر، عصاره اتری، کلسیم و فسفر آن به ترتیب ۴۶/۸، ۵/۹، ۳۳/۵، ۸/۵، ۱/۳۳، ۰/۶۲ و ۰/۰۷ درصد گزارش شده است (Noroozy and Alemzadeh, 2006).

عملکرد نشخوارکنندگان بستگی به فعالیت میکروارگانیسم‌های شکمبه در استفاده از ماده خوراکی دارد. یکی از مهمترین عللی که سبب تاثیر یا عدم تاثیر مواد افزودنی بر قابلیت هضم و عملکرد دام نشخوارکننده به ویژه در هضم الیاف می‌شود، ناشی از اثری است که ممکن است آن افزودنی بر فعالیت هضمی و تخمیری میکروارگانیسم‌ها به ویژه باکتری‌ها و قارچ‌های شکمبه داشته باشد (Nagpal *et al*., 2009). باکتری‌ها، قارچ‌ها و پروتوزوآها مسئول هضم ۵۰ تا ۸۲ درصد دیواره سلولی هستند (Nagpal *et al*., 2009). باکتری‌ها مهمترین نقش را در هضم و تجزیه مواد فیبری و سایر پلی‌ساکاریدهای موجود در دیواره سلولی گیاهی، مواد نشاسته‌ای و پروتئینی دارند (Dehority, 2003). قارچ‌های بی‌هوازی شکمبه در اطراف توده گیاهی کلونی تشکیل می‌دهند و قادرند طیف وسیعی از مواد گیاهی مانند کاه گندم، کاه برنج، ساقه ذرت، پوسته سویا و حتی الیاف نخل و چوب را هضم کنند (Roger *et al*., 1992). پژوهشگران بیان کردند که باکتری‌ها قطعات گیاهی را به وسیله فرسایش سطحی هضم می‌کنند و قارچ‌ها به قطعات گیاهی نفوذ کرده و با تشکیل کلونی آن‌ها را هضم می‌کنند (France *et al*., 1990). حذف قارچ‌ها از محتوای شکمبه، کاهش معنی‌داری در تولید گاز به روش برون‌تنی و هضم خوراک‌های فیبری ایجاد می‌کند، لذا قارچ‌ها نقش مهمی در هضم فیبر دارند (Kamra, 2005).

اطلاعات چندانی درباره اثر تغذیه میان مدت یا طولانی مدت کاکوتی بر ترکیب جمعیت قارچی و باکتریایی شکمبه وجود ندارد و اجرای پژوهش در این زمینه برای

www.SID.ir

Archive of SID

درک اثرات این گیاه مفید خواهد بود. بنابراین هدف از پژوهش حاضر، بررسی تأثیر استفاده از این گیاه در جیره بر فعالیت هضمی و تخمیری جمعیت‌های خالص قارچی و باکتریایی شکمبه در هضم مواد فیبری در شرایط برون‌تنی بود.

مواد و روش‌ها

آزمایش حاضر در مزرعه آموزشی و تحقیقاتی و آزمایشگاه تغذیه دام پیشرفته دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان انجام شد و سه جیره شامل جیره بدون کاکوتی (شاهد) و جیره‌های حاوی مقادیر مختلف کاکوتی (۰/۲ یا ۰/۴ درصد) استفاده شد. کاکوتی به صورت مکمل به یک جیره پایه تهیه شده بر اساس جداول استاندارد (NRC, 2007) مربوط به بره‌های پرواری افزوده شد. جیره بره‌ها شامل ۶۰ درصد علوفه (یونجه، سیلاژ ذرت و سرشاخه نیشکر) و ۴۰ درصد بخش متراکم (دانه ذرت، دانه جو، سبوس گندم، کنجاله سویا، مکمل معدنی-ویتامینی و نمک) بود. برای هر تیمار (جیره)، ۵ بره ۷±۱/۵ ماهه (تکرار) با وزن ۴۰±۲/۵ کیلوگرم در نظر گرفته شد. جیره‌های آزمایشی به مدت ۳۰ روز به ۱۵ بره پرواری آمیخته عربی-رومانف تغذیه شدند. در پایان آزمایش، از هر یک از بره‌ها به روش لوله معدی نمونه مایع شکمبه تهیه شد و مایع شکمبه مربوط به هر گروه آزمایشی با هم مخلوط و از آن به عنوان مایع تلقیح (اینوکولنت) در محیط کشت باکتری‌ها و قارچ‌ها استفاده شد. پس از جداسازی و خالص‌سازی باکتری‌ها و قارچ‌ها از مایع شکمبه حاصل از بره‌های تحت آزمایش، فعالیت آنها در هضم و تخمیر سرشاخه نیشکر به عنوان یک ماده لیگنوسلولزی در محیط کشت اختصاصی باکتری‌ها یا قارچ‌ها مورد مطالعه قرار گرفت. به عبارت دیگر، تیمارهای آزمایشی شامل تیمار ۱: شاهد، سرشاخه نیشکر انکوبه شده به طور جداگانه با قارچ‌ها یا باکتری‌های جدا شده از مایع شکمبه بره‌های تغذیه شده با جیره حاوی جیره فاقد کاکوتی، تیمار ۲: سرشاخه نیشکر انکوبه شده با قارچ‌ها یا باکتری‌های جدا شده از مایع شکمبه بره‌های تغذیه شده با جیره حاوی ۰/۲درصد کاکوتی و تیمار ۳: سرشاخه نیشکر انکوبه شده با قارچ‌ها یا باکتری‌های جدا شده از مایع شکمبه بره‌های تغذیه شده با جیره حاوی ۰/۴درصد کاکوتی بودند.

روش تهیه محیط کشت اختصاصی قارچ‌های بی‌هوازی شکمبه و مطالعه فعالیت هضمی و تخمیری قارچ‌ها: برای تهیه محیط کشت اختصاصی قارچ‌ها از روش تغییر یافته Orpin (Orpin, 1977) استفاده شد. به طور خلاصه، محیط کشت قارچ‌های شکمبه با اختلاط محلول نمکی ۱ (فسفات هیدروژن دی پتاسیم در یک لیتر آب مقطر)، محلول نمکی ۲ (فسفات هیدروژن پتاسیم، سولفات آمونیوم، کلرید سدیم و کلرید کلسیم در یک لیتر آب مقطر) با مایع شکمبه (سانتریفیوژ شده)، عصاره مخمر، پپتون تریپتیکاز، گلوکز، سلوبیوز، بی کربنات سدیم، سیستئین HCl و رزازورین ۰/۱ درصد تهیه شد (Davies *et al.*, 1993). سرشاخه نیشکر در محیط کشت اختصاصی قارچ های شکمبه، در دمای ۳۹ درجه سلسیوس برای مدت زمان ۱، ۳ و ۶ روز کشت داده شد. محیط کشت در شرایط بی‌هوازی به داخل شیشه‌های کشت حاوی یک گرم از سرشاخه نیشکر، انتقال داده شد و به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۲۰ درجه سلسیوس اتوکلاو شد. به این ترتیب محیط کشت اختصاصی قارچ آماده افزودن مایع تلقیح (اینوکولنت) شد.

روش تهیه جدایه قارچ‌ها: مایع شکمبه تهیه شده از بره‌های تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی مختلف، بعد از صاف کردن، در ۱۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شد و سپس باکتری‌ها با استفاده از آنتی-بیوتیک (پنی‌سیلین و استرپتومایسین و کلرامفنیکل، ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر) حذف شدند (Mohammadabadi *et al.*, 2012). از این جدایه‌های قارچی به عنوان مایع تلقیح در شیشه‌های کشت ۱۰۰ میلی‌لیتری (ویال‌های درب پرسی) که محتوی محیط کشت اختصاصی قارچ به همراه سرشاخه نیشکر به عنوان نمونه آزمایشی بودند استفاده شد. کشت طبق شرایط دمایی و زمانی که در پاراگراف قبلی شرح داده شده بود، انجام شد و برای بدست آوردن محیط کشت خالص، عمل کشت در سه مرحله تکرار شد. در هر یک از روزهای ۱، ۳ و ۶ رشد قارچ‌های شکمبه، از هر تیمار چهار تکرار (شیشه کشت) انتخاب شدند و پس از اندازه‌گیری pH با pH متر (WTW 3110، آلمان) و نمونه‌گیری برای سنجش نیتروژن آمونیاکی (Brodrick and Kang, 1980)، خشک و توزین شدند و میزان ناپدید شدن ماده خشک و الیاف نامحلول در شوینده خنثی

www.SID.ir

Archive of SID

(NDF) سرشاخه نیشکر در اثر فعالیت قارچ‌ها، با توجه به اختلاف ماده اولیه و مواد باقیمانده محاسبه شد.

روش تهیه محیط کشت اختصاصی باکتری‌های بی‌هوازی شکمبه و مطالعه فعالیت هضمی و تخمیری آن‌ها: این محیط کشت با استفاده از روش کالدول و برایانت تهیه شد (Caldwell and Bryant, 1966). به‌طور خلاصه، ابتدا شیشه‌های کشت (ویال‌های ۱۰۰ میلی‌لیتری) حاوی یک گرم سرشاخه نیشکر (نمونه آزمایشی) در داخل اتوکلاو به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۱۲۰ درجه سلسیوس استریل شدند. برای جداسازی ذرات شکمبه و پروتوزوآ، مایع شکمبه تهیه شده از هر گروه از بره‌ها، به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۱۰۰۰ سانتریفیوژ شد و مایع رویی آن در شرایط بی‌هوازی به محیط کشت اختصاصی باکتری‌ها، حاوی سلوبیوز، سولفید سدیم، سیستئین HCL، کربنات سدیم، قارچ‌کش (بنومیل و متالاکسیل)، پپتون، تریپتیکاز و عصاره مخمر اضافه شد. ظروف کشت در انکوباتور با دمای ۳۹ درجه سلسیوس در سه زمان ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت کشت داده شدند. برای هر زمان، چهار تکرار در نظر گرفته شد. در هر زمان، محتوی شیشه‌های کشت پس از اندازه‌گیری pH و نمونه‌گیری از مایع کشت صاف شده، برای سنجش نیتروژن آمونیاکی، خشک و توزین شد و میزان ناپدید شدن ماده خشک و الیاف نامحلول در شوینده خنثی نمونه‌ها در اثر فعالیت باکتری‌ها اندازه‌گیری شد.

روش سنجش نیتروژن آمونیاکی و NDF: محتوی محیط‌های کشت باکتری‌ها یا قارچ‌ها با پارچه چهار لایه نخی صاف شد، سپس با مقدار مساوی از اسید کلریدریک ۰/۲ مولار ترکیب شد و برای سنجش نیتروژن آمونیاکی مورد استفاده قرار گرفت (Brodrick and Kang, 1980). الیاف نامحلول در شوینده خنثی سرشاخه قبل و بعد از انکوباسیون بدون استفاده از آمیلاز اندازه‌گیری شد (VanSoest *et al*., 1991).

روش سنجش تولید گاز توسط باکتری‌ها و قارچ‌های بی‌هوازی شکمبه: تولید گاز سرشاخه نیشکر گرمخانه‌گذاری شده با قارچ‌ها و باکتری‌های جداسازی شده از بره‌های تغذیه شده با تیمارهای آزمایشی با استفاده از فشارسنج دیجیتال اندازه‌گیری شد. برای هر تیمار، چهار شیشه (ویال) ۱۰۰ میلی‌لیتری محتوی محیط کشت اختصاصی قارچ یا باکتری‌های شکمبه استفاده شد. دو ویال فاقد نمونه سرشاخه نیشکر نیز به عنوان بلنک در نظر گرفته شد. تولید گاز در دمای ۳۹ درجه سلسیوس در زمان‌های ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۲، ۲۴، ۳۶، ۴۸، ۷۲ ساعت انکوباسیون اندازه‌گیری شد (Menke and Steingass, 1988). داده‌های حاصل پس از تبدیل آن به حجم، با استفاده از مدل نمایی (Orskov and McDonald, 1979) برای بدست آوردن فراسنجه‌های تولید گاز برازش شد:

$$Y=b\ (1-e^{-ct})$$

در این مدل، Y: تولید گاز در زمان t، b: تولید گاز از بخش قابل تخمیر (میلی‌لیتر) c: نرخ تولید گاز (در ساعت) و t: زمان انکوباسیون (ساعت) است.

تجزیه داده‌های حاصل از آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی (مایع شکمبه حاصل از دام‌های تغذیه شده با جیره شاهد و دو سطح کاکوتی به عنوان تیمار بودند) با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS (ویرایش ۹/۱)، و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از روش دانکن در سطح ۵ درصد انجام شد. سه تیمار هضم باکتریایی و سه تیمار هضم قارچی جداگانه تجزیه آماری شدند. مدل آماری طرح به صورت زیر بود:

$$Y_{ij}=\mu+T_i+\mathcal{E}_{ij}$$

در این مدل، Y_{ij}: مقدار اندازه‌گیری شده، μ: میانگین جامعه، T_i: اثر تیمار i ام و $\mathcal{E}_{ij}$: خطای باقیمانده است.

نتایج و بحث

نتایج نشان داد پتانسیل تولید گاز با انکوباسیون سرشاخه نیشکر به وسیله قارچ‌های بی‌هوازی شکمبه طی روزهای یکم تا ششم انکوباسیون در تیمارهای حاوی مایع شکمبه گوسفندان تغذیه شده با کاکوتی بیشتر از شاهد بود ($P<0/05$)، اما در بین سطوح کاکوتی اختلاف معنی‌دار وجود نداشت. نرخ تولید گاز تیمارها اختلاف معنی‌داری نداشت (جدول ۱).

افزایش تولید گاز نشان از آن دارد که ترکیبات ضد تغذیه‌ای موجود در کاکوتی نظیر ترکیبات فنلی (مینوئیان-حقیقی و خسروی، ۱۳۹۲) تاثیر منفی بر تخمیر قارچ‌های شکمبه نداشته است. احتمالاً در آزمایش حاضر روغن‌های اسانسی یا ترکیبات ثانویه کاکوتی فعالیت قارچ‌های شکمبه را تقویت کرده است، اما در مورد اثر روغن‌های اسانسی کاکوتی بر فعالیت قارچ‌های شکمبه اطلاعی در

www.SID.ir

Archive of SID

دسترس نیست. شاید افزایش تولید گاز به دلیل تغییر در جمعیت میکروبی و بهبود فعالیت هضم و تخمیر آنها در اثر ترکیبات ثانویه موجود در کاکوتی باشد (Alexander *et al*., 2008). بیان شده است که متابولیت‌های ثانویه نظیر ترکیبات فنولی (که در کاکوتی هم وجود دارد) دارای فعالیت ضد میکروبی است و سبب مهار فعالیت باکتری‌هایی نظیر باکتری‌های آمیلولیتیک و پروتئولیتیک می‌شوند، بدون اینکه اثری بر هضم الیاف داشته باشند (Wallace *et al*., 2002). به عبارت دیگر، اثر انتخابی گیاهان دارویی بر میکروارگانیسم‌های شکمبه منجر به حذف رقابتی گونه‌هایی به نفع سایر گونه‌ها می‌شود. مواد اولیه محیط به این روش برای فعالیت گونه‌هایی دیگر نظیر باکتری‌های سلولولیتیک فراهم می‌شود که تولیدکنندگان اصلی گازهایی مانند دی اکسید کربن و متان هستند. شاید همین ساز و کار سبب افزایش تولید گاز در تیمار حاوی کاکوتی در آزمایش حاضر شده باشد. پژوهشگران گزارش کردند پتانسیل تولید گاز به وسیله قارچ‌ها با افزودن سطوح مختلف گیاه دارویی خارمریم (مانند کاکوتی حاوی تانن) در جیره تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی افزایش یافت (نیک‌زاد و همکاران، ۱۳۹۴).

نتایج ارائه شده در جدول ۲ نشان داد که pH محیط کشت قارچ‌ها تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت. با افزایش مدت زمان انکوباسیون از روز اول تا ششم، مقدار نیتروژن آمونیاکی تولیدی کاهش یافت. از آنجا که با افزایش مدت زمان انکوباسیون، مقدار هضم‌پذیری افزایش می‌یابد (Joblin, 1981)، بنابراین مواد مورد نیاز از جمله نیتروژن ممکن است به منظور تولید و تکثیر قارچ‌ها استفاده شود و در نتیجه احتمال می‌رود به مرور از مقدار نیتروژن آزاد در محیط کاسته شود. در منابع علمی گزارشی از تاثیر کاکوتی یا مواد موثره آن بر قارچ‌های شکمبه یافت نشد. لذا در بحث از نتایج مطالعاتی استفاده شد که اثر مواد موثره مشابه کاکوتی را بر قارچ‌ها و یا سایر میکروارگانیسم‌های شکمبه بررسی کرده بودند. کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی در شرایط برون‌تنی با استفاده از گیاه پونه (دارای ۱و ۸ سینئول مشابه کاکوتی) (خضریان و همکاران، ۱۳۹۵) و پونه‌کوهی (دارای کارواکرول مشابه کاکوتی) (Busquet *et al*., 2006) گزارش شده است. در آزمایش دیگری، غلظت نیتروژن آمونیاکی در بره‌های تغذیه شده با اسانس پونه کوهی (دارای کارواکرول مشابه کاکوتی) تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی کاهش یافت (شهابی و همکاران، ۱۳۹۵).

هضم‌پذیری ماده خشک و NDF سرشاخه نیشکر به وسیله قارچ‌های بی‌هوازی شکمبه تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت (جدول ۳). درصد قابلیت هضم NDF سیلاژ سرشاخه نیشکر به وسیله کل میکروارگانیسم‌های شکمبه به‌طور متوسط، ۳۸ درصد (محمودی میمند و همکاران، ۱۳۹۲)، ۵۱ درصد (Yuangklang *et al*., 2005) و ۷۵ درصد (Mohammadabadi and Chaji, 2010) گزارش شده است. احتمالاً علت تفاوت در قابلیت هضم به نوع روش عمل‌آوری سیلاژ (با بخار تحت فشار، پلت، آنزیم، هیدروکسید سدیم، اسید، اوره، ملاس و ترکیب آنها)، زمان برداشت نیشکر (برای قلمه‌زنی یا استحصال شکر) و یا مدت زمان انکوباسیون مربوط می‌شود. در آزمایشی، مقدار ناپدید شدن ماده خشک و NDF جیره به وسیله قارچ‌های شکمبه تحت تاثیر سطوح مختلف خارمریم (تانن مشابه کاکوتی) قرار نگرفت (نیک‌زاد و همکاران، ۱۳۹۴). همچنین در مطالعه‌ای دیگر، قابلیت هضم ماده خشک و NDF جیره تحت تاثیر سطوح مختلف اسانس نعناع فلفلی (دارای پولگون مشابه کاکوتی) قرار نگرفت (احمدی نقدهی و همکاران، ۱۳۹۴). پتانسیل و نرخ تولید گاز سرشاخه نیشکر که با باکتری های جدا شده از مایع شکمبه گوسفندان تغذیه شده با جیره‌های حاوی مقادیر مختلف کاکوتی انکوبه شده بودند تحت‌تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت (جدول ۴).

میزان pH و غلظت نیتروژن آمونیاکی پس از ۲۴ و ۴۸ ساعت اول انکوباسیون سرشاخه در محیط کشت حاوی باکتری‌های جداسازی شده تفاوت معنی‌داری نداشت (جدول ۵). با افزایش مدت انکوباسیون تا ۷۲ ساعت، غلظت نیترژن آمونیاکی تولیدی نسبت به زمان ۲۴ و ۴۸ ساعت کاهش یافت. در ساعت ۷۲ انکوباسیون، غلظت نیتروژن آمونیاکی تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت و در تیمارهایی که با مایع شکمبه گوسفندان تغذیه شده با ۰/۴ درصد کاکوتی انکوبه شده بودند کمتر از شاهد بود ($P<0/05$). برای میانگین کل زمان‌های انکوباسیون، تفاوتی از نظر pH و غلظت نیتروژن آمونیاکی محیط کشت باکتری‌های شکمبه بین تیمارها وجود نداشت.

www.SID.ir

Archive of SID

شاید کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی در پایان ۷۲ ساعت انکوباسیون به علت وجود ترکیبات ضد تغذیه‌ای موجود در کاکوتی نظیر ترکیبات فنلی (مینوئیان‌حقیقی و خسروی، ۱۳۹۲) باشد، زیرا این ترکیبات باعث اتصال به پروتئین‌ها و مانع تجزیه آنها به وسیله باکتری‌های شکمبه می‌شوند (Benchaar *et al*., 2007). گزارش شده که استفاده از غلظت‌های مختلف اسانس پونه‌کوهی (دارای کارواکرول مشابه کاکوتی)، غلظت نیتروژن آمونیاکی محیط کشت را در شرایط آزمایشگاهی کاهش داد (Busquet *et al*., 2006). برخی از اسانس‌های گیاهی (رازیانه، فلفل دلمه، دارچین، میخک، شوید، سیر، زنجبیل، پونه کوهی و درخت چای) و اجزای اصلی آن (آنتول، کارواکرول، کاروون، ائوژنول و غیره) به طور قابل توجهی غلظت نیتروژن آمونیاکی را در غلظت‌های بالا (۳۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر) مهار می‌کنند، اما اثرات در دوزهای متوسط (۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر) در خط مرزی بوده و در دوزهای پایین (۳ میلی‌گرم در لیتر) اثری وجود نداشت (Busquet *et al*., 2006). پژوهشگران نشان دادند که اضافه کردن تیمول (ماده موثره کاکوتی) به مایع شکمبه حاوی کازئین (یک گرم بر لیتر) منجر به تجمع اسید آمینه و کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی می‌شود (Benchaar *et al*., 2007) که نشان‌دهنده مهار دآمیناسیون اسیدهای آمینه به وسیله باکتری‌های شکمبه است. در تحقیق دیگری، اسانس نعناع (دارای پولگون مشابه کاکوتی) تاثیر معنی‌داری بر غلظت نیتروژن آمونیاکی شکمبه گوسفند نداشت (احمدی نقدهی و همکاران، ۱۳۹۴). اما اسانس رزماری (دارای سینئول مشابه کاکوتی) باعث کاهش معنی‌دار غلظت نیتروژن آمونیاکی شکمبه گوسفند قزل شد (صحرایی بلوردی و پیرمحمدی، ۱۳۹۳).

جدول ۱- فراسنجه‌های تولید گاز سرشاخه نیشکر انکوبه‌شده با قارچ‌های بی‌هوازی استخراج شده از مایع شکمبه گوسفندان تغذیه شده با جیره‌های حاوی مقادیر مختلف کاکوتی

Table 1. Gas production parameters of sugarcane top incubated with anaerobic fungi isolated from rumen fluid of lambs fed with diets containing different levels of *Ziziphora clinopodioides*

Treatments[1]	Potential of gas production (mL)	Rate of gas production (mL/h)
Control	109.5[b]	0.20
Ziziphora clinopodioides 0.2%	262.0[a]	0.53
Ziziphora clinopodioides 0.4%	279.4[a]	0.55
SEM[2]	17.03	0.10
P value	0.007	0.10

[1]Sugarcane top incubated with anaerobic fungi isolated from rumen fluid of lambs fed diet without (control) or with 0.2 and 0.4% of *Ziziphora clinopodioides.*

[2]SEM: Standard error of the means; mean within the same column with different letters differ significantly ($P<0.05$).

جدول ۲- pH و نیتروژن آمونیاکی حاصل از تخمیر سرشاخه نیشکر انکوبه شده با قارچ‌های بی‌هوازی استخراج شده از مایع شکمبه گوسفندان تغذیه شده با جیره‌های حاوی مقادیر مختلف کاکوتی

Table 2. The pH and ammonia-N of sugarcane top incubated with anaerobic fungi isolated from rumen fluid of lambs fed with diets containing different levels of *Ziziphora clinopodioides*

	Incubation time (h)							
	0-24		24-72		72-144		Average	
Treatments[1]	pH	NH_3-N (mg/100 ml)	pH	NH_3-N (mg/100 ml)	pH	NH_3-N (mg/100 ml)	pH	NH_3-N (mg/100 ml)
Control	6.68	16.5	6.60	14.7	6.50	14.9	6.60	15.36
Ziziphora clinopodioides 0.2%	6.70	14.7	6.40	14.8	6.40	14.4	6.52	14.64
Ziziphora clinopodioides 0.4%	6.67	15.3	6.62	14.4	6.40	14.4	6.50	14.7
SEM[2]	0.03	1.16	0.43	1.20	0.05	1.26	0.03	1.32
P value	0.70	0.10	0.10	0.40	0.30	0.30	0.70	0.8

[1]Sugarcane top incubated with anaerobic fungi isolated from rumen fluid of lambs fed diet without (control) or with 0.2 and 0.4% *Ziziphora clinopodioides.*

[2]SEM: Standard error of the means; means within the same column with different letters differ significantly ($P<0.05$).

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۳- درصد ناپدید شدن مواد مغذی (درصد) سرشاخه نیشکر انکوبه شده با قارچ‌های بی‌هوازی استخراج شده از مایع شکمبه گوسفندان تغذیه شده با جیره‌های حاوی مقادیر مختلف کاکوتی

Table 3. Nutrients digestibility (%) of sugarcane top incubated with anaerobic fungi isolated from rumen fluid of lambs fed with diets containing different levels of *Ziziphora clinopodioides*

Treatments[1]	Incubation time (h)						Average	
	0-24		24-72		72-144			
	Dry matter	NDF	Dry matter	NDF	Dry matter	NDF	Dry matter	NDF
Control	50.8	41.3	52.3	47.5	52.6	49.9	50.8	46.2
Ziziphora clinopodioides 0.2%	51.9	40.6	51.4	46.9	52.9	46.0	53.3	44.5
Ziziphora clinopodioides 0.4%	50.2	38.0	50.9	46.6	51.1	48.3	52.7	44.3
SEM[2]	2.28	2.59	1.96	0.81	1.32	1.93	1.58	2.41
P value	0.8	0.40	0.70	0.40	0.30	0.10	0.40	0.5

[1]Sugarcane top incubated with anaerobic fungi isolated from rumen fluid of lambs fed diet without (control) or with 0.2 and 0.4% *Ziziphora clinopodioides.*

[2]SEM: Standard error of the means; means within the same column with different letters differ significantly ($P<0.05$).

جدول ۴- فراسنجه‌های تولید گاز در سرشاخه نیشکر انکوبه‌شده با باکتری‌های بی‌هوازی استخراج شده از مایع شکمبه گوسفندان تغذیه‌شده با جیره‌های حاوی مقادیر مختلف کاکوتی

Table 4. Gas production coefficients of sugarcane top incubated with anaerobic bacteria isolated from rumen fluid of lambs fed with diets containing different levels of *Ziziphora clinopodioides*

Treatments[1]	Potential of gas production (mL)	Rate of gas production (mL/h)
Control	260.6	0.20
Ziziphora clinopodioides 0.2%	284.2	0.30
Ziziphora clinopodioides 0.4%	295.6	0.53
SEM[2]	19.1	0.12
P value	0.50	0.10

[1]Sugarcane top incubated with anaerobic bacteria isolated from rumen fluid of lambs fed diet without (control) or with 0.2 and 0.4% *Ziziphora clinopodioides.*

[2]SEM: Standard error of the means; means within the same column with different letters differ significantly ($P<0.05$).

جدول ۵- pH و نیتروژن آمونیاکی حاصل از تخمیر سرشاخه نیشکر انکوبه شده با باکتری‌های بی‌هوازی استخراج شده از مایع شکمبه گوسفندان تغذیه شده با جیره‌های حاوی مقادیر مختلف کاکوتی

Table 5. The pH and ammonia-N of sugarcane top incubated with anaerobic bacteria isolated from rumen fluid of lambs fed with diets containing different levels of *Ziziphora clinopodioides*

Treatments[1]	Incubation time (h)						Average	
	0-24		24-48		48-72			
	pH	NH_3-N (mg/100 mL)	pH	NH_3-N (mg/100 mL)	pH	NH_3-N (mg/100 mL)	pH	NH_3-N (mg/100 mL)
Control	6.48	14.7	6.60	14.9	6.62	15.2^{a}	6.53	14.9
Ziziphora clinopodioides 0.2%	6.47	14.7	6.50	14.4	6.50	14.4^{ab}	6.52	14.5
Ziziphora clinopodioides 0.4%	6.51	14.7	6.50	14.9	6.52	13.60^{b}	6.50	14.4
SEM[2]	0.02	1.37	0.03	1.37	0.03	1.26	0.01	1.21
P value	0.2	0.9	0.20	0.50	0.1	0.01	0.7	0.10

[1]Sugarcane top incubated with anaerobic bacteria isolated from rumen fluid of lambs fed diet without (control) or with 0.2 and 0.4% *Ziziphora clinopodioides.*

[2]SEM: Standard error of the means; means within the same column with different letters differ significantly ($P<0.05$).

نتایج نشان داد ناپدید شدن ماده خشک و NDF سرشاخه نیشکر در ساعت ۲۴ انکوباسیون در محیط کشت دارای مایع شکمبه‌های حاوی کاکوتی بیشتر از شاهد بود، اما در ساعت ۴۸ و ۷۲ تفاوتی در ناپدید شدن مواد مغذی مشاهده نشد (جدول ۶). بیشترین درصد ناپدید شدن ماده خشک و NDF در ساعت ۲۴ مربوط به مایع شکمبه

www.SID.ir

Archive of SID

حاصل از گوسفندان تغذیه شده با جیره حاوی ۰/۴ درصد کاکوتی بود. هم‌چنین با افزایش مدت زمان انکوباسیون، میزان هضم‌پذیری افزایش یافت. یکی از دلایل تاثیر یا عدم تاثیر اسانس گیاهان دارویی بر قابلیت هضم ماده خشک به سطح مورد استفاده آن نسبت داده می‌شود که ممکن است در آن سطح قادر به تغییر فعالیت میکروبی شکمبه باشد یا نباشد (Jahani-Azizabadi *et al*., 2011). این احتمال وجود دارد که بهبود هضم ماده خشک و NDF به دلیل اثر ترکیبات ثانویه کاکوتی باشد که از راه تغییر در جمعیت میکروبی سبب بهبود فعالیت هضم میکروبی شود (Alexander *et al*., 2008). در آزمایشی گزارش شده که انواع گیاهان دارویی (حاوی ترکیبات فنولی، مثل کاکوتی) باعث تحریک قابلیت هضم ماده خشک شد. بعلاوه، مواد موثره کاکوتی به ویژه ترکیبات فلاونوئیدی آن با ساز و کار دیگری نیز ممکن است سبب بهبود قابلیت هضم شده باشند، به‌طوری‌که پژوهشگران گزارش کردند که تجزیه میکروبی فلاونوئیدها در شکمبه می‌تواند نقش جایگزین منبع کربن را برای فعالیت میکروبی بازی کند و منجر به تاثیر بر فعالیت هضمی آنها شود (Smith *et al*., 2005). در تحقیقی، قابلیت هضم ماده خشک در گوسفند تحت تاثیر افزودن اسانس پونه-کوهی (دارای پولگون مشابه کاکوتی) قرار نگرفت (شهابی و همکاران، ۱۳۹۵). پژوهشگران دیگری گزارش کردند که قابلیت هضم NDF و ماده خشک جیره گوسفند، در تیمار حاوی ۳ و ۶ درصد گل میمونی سازویی (دارای لینالول مشابه کاکوتی) نسبت به تیمار شاهد افزایش معنی‌دار داشت (رضایی و همکاران، ۱۳۹۵a,b). همچنین در پژوهشی، قابلیت هضم مواد مغذی با استفاده از سطوح مختلف هشت گیاه دارویی افزایش و با چهار اسانس کاهش یافت (Tekippe *et al*., 2011).

جدول ۶- درصد ناپدید شدن مواد مغذی سرشاخه انکوبه شده با باکتری‌های بی‌هوازی استخراج شده از مایع شکمبه گوسفندان تغذیه شده با جیره‌های حاوی مقادیر مختلف کاکوتی

Table 6. Nutrients digestibility (%) of sugarcane top incubated with anaerobic bacteria isolated from rumen fluid of lambs fed with diets containing different levels of *Ziziphora clinopodioides*

Treatments[1]	Incubation time (h/day)							
	0-24		24-48		48-72		Average	
	Dry matter	NDF	Dry matter	NDF	Dry matter	NDF	Dry matter	NDF
Control	51.8[b]	39.3[b]	51.2	46.7	50.6	49.4	51.2	45.5
Ziziphora clinopodioides 0.2%	53.6[ab]	43.4[a]	50.9	44.2	51.8	47.9	52.8	45.2
Ziziphora clinopodioides 0.4%	55.6[a]	44.5[a]	50.7	46.0	51.0	49.6	51.8	46.7
SEM[2]	1.26	0.9	1.95	2.39	1.04	2.15	1.42	2.11
P value	0.03	0.001	0.9	0.40	0.40	0.30	0.20	0.60

[1]Sugarcane top incubated with anaerobic bacteria isolated from rumen fluid of lambs fed diet without (control) or with 0.2 and 0.4% *Ziziphora clinopodioides.*

[2]SEM: Standard error of the means; mean within the same column with different letters differ significantly ($P<0.05$).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج نشان داد که استفاده از گیاه کاکوتی در تغذیه بره‌های پرواری اثر منفی بر فعالیت هضمی و تخمیری میکروارگانیسم‌های مورد مطالعه در شرایط برون‌تنی نداشت، بلکه در مواردی با تاثیر مثبت بر فعالیت هضمی و تخمیری باکتری‌ها و قارچ‌های شکمبه همراه بود، به‌طوری‌که منجر به افزایش پتانسیل تولید گاز سرشاخه نیشکر به وسیله قارچ‌های جدا شده از شکمبه شد. از طرف دیگر، مصرف گیاه کاکوتی موجب شد در پایان ۲۴ ساعت انکوباسیون، درصد ناپدید شدن ماده خشک و NDF سرشاخه نیشکر به وسیله باکتری‌های شکمبه افزایش یابد، اما در سایر زمان‌ها و میانگین زمان‌ها اثر معنی‌داری بر هضم نداشتند.

تشکر و قدردانی

از مسئولین محترم دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان به سبب فراهم آوردن زمینه انجام این پژوهش قدردانی می‌شود.

www.SID.ir

Archive of SID

فهرست منابع

احمدی نقدهی ع. ع.، پیرمحمدی ر.، صحرایی‌بلوردی م. و پارسایی‌مهر خ. ۱۳۹۴. تاثیر اسانس گیاه نعناع فلفلی بر قابلیت هضم خوراک و تخمیر شکمبه‌ای گوسفندان ماکویی. علوم دامی، ۲۸(۱): ۷۰-۶۵.

خضریان ع.، نوریان سرور م. ا.، و معینی م. م. ۱۳۹۵. تاثیر گیاه و اسانس پونه بر فراسنجه‌های تخمیر، تولید گاز متان و جمعیت پروتوزوایی شکمبه بز به روش آزمایشگاهی. تولیدات دامی، ۱۸(۳): ۴۹۰-۴۷۷.

رضایی ف.، محمدآبادی ط.، چاجی م. و مشایخی م. ر. ۱۳۹۵a. اثر تغذیه گل میمونی سازوئی یا تشنه‌داری بر خصوصیات تخمیر، تولید گاز و قابلیت هضم آزمایشگاهی در گوسفند لری- بختیاری. علوم دامی ایران، ۴۷(۱): ۱۶۴-۱۵۵.

رضایی ف.، محمدآبادی ط.، چاجی م. و مشایخی م. ر. ۱۳۹۵b. اثر تغذیه گل میمونی سازوئی یا تشنه‌داری بر خصوصیات تخمیر، تولید گاز و قابلیت هضم آزمایشگاهی در گوسفند لری- بختیاری. تحقیقات تولیدات دامی، ۵(۳): ۹۲-۸۳.

سلامت ع.، قورچی ت.، قنبری ف. و عشایری‌زاده ا. ۱۳۹۴. تعیین تجزیه‌پذیری و اثر گیاه کاکوتی بر قابلیت هضم ماده خشک، جمعیت میکروبی شکمبه و فراسنجه‌های خونی گوسفند دالاق. تحقیقات دام و طیور، ۴(۳): ۳۴-۲۳.

شهابی ح.، چاشنی‌دل ی.، تیموری یانسری ا. ا. و جعفرپور س. ع. ۱۳۹۵. اثر اسانس پونه کوهی و روغن کلزا بر قابلیت هضم، pH و نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه و کیفیت لاشه در بره‌های پرواری دالاق. پژوهش‌های تولیدات دامی، ۱۳: ۱۳۵-۱۲۷.

صحرایی‌بلوردی م. و پیرمحمدی ر. ۱۳۹۳. تاثیر اسانس گیاه رزماری بر قابلیت هضم خوراک و فراسنجه‌های خونی و شکمبه گوسفندان نژاد قزل. علوم دامی، ۱۰۳: ۸۲-۷۱.

قهاری ن.، قورچی ت. و وکیلی س. ع. ر. ۱۳۹۵. اثر افزودن گیاهان کاکوتی، نعنا و پونه به شیر بر عملکرد، متابولیت‌های شیمیایی خون و جمعیت میکروبی مدفوع گوساله های هلشتاین. پژوهشهای علوم دامی ایران، ۸(۱): ۷۱-۵۷.

محمودی میمند ص.، چاجی م.، اسلامی م.، محمدآبادی ط. و بوجارپور م. ۱۳۹۲. استفاده از افزودنی‌های مختلف برای تهیه سیلاژ سر شاخه نیشکر و ارزیابی ارزش تغذیه‌ای آن با روش‌های هضم آزمایشگاهی. تحقیقات دام و طیور، ۲(۴): ۲۳-۱۱.

مینوئیان‌حقیقی م. ح. و خسروی ع. ر. ۱۳۹۲. اثر مهاری و تخریبی اسانس‌های زیره سبز، کاکوتی و سیاه دانه روی سلول‌های آسپرژیلوس، مجله دانشگاه علوم پزشکی بابل، ۱۵: ۳۵-۲۵.

نیک‌زاد ز.، چاجی م.، محمدآبادی ط. و ساری م. ۱۳۹۴. تاثیر جیره‌های حاوی سطوح مختلف خارمریم و دانه‌هایی با سرعت تجزیه متفاوت بر قارچ‌های شکمبه گاومیش خوزستان. تحقیقات دامپزشکی، ۷۰(۲): ۲۲۵-۲۱۳.

Alexander G., Singh B., Sahoo A. and Bhat T. K. 2008. *In vitro* screening of plant extracts to enhance the efficiency of utilization of energy and nitrogenin ruminant diets. Animal Feed Science and Technology, 145: 229-242.

Benchaar C., Chaves A. V., Fraser G. R., Wang Y., Beauchemin K. A. and McAllister T. A. 2007. Effects of essential oils and their components on *in vitro* rumen microbial fermentation. Canadian Journal of Animal Science, 87: 413-449.

Brodrick G. A. 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., Frevet A. and Camel C. 2006. Plant extract of feet *in vitro* rumen microbial fermentation. Journal Dairy Science, 89: 761-771.

Caldwell D. R. and Bryant M. P. 1966. Medium without rumen fluid for nonselective enumeration and isolation of rumen bacteria. Applied Microbiology, 14: 794-801.

Davies D. R., Theodorou M. K., Lawrence M. I. and Trinci A. P. J. 1993. Distribution of anaerobic fungi in the digestive tract of cattle and their survival in faeces. Journal of General Microbiology, 139: 1395-1400.

Dehority B. A. 2003. Rumen Microbiology. Nottingham University Press, Nottingham, UK.

France J., Theodorou M. K. and Davies D. 1990. The use of zoospore concentrations and life cycle parameters in determining the population of anaerobic fungi in the rumen ecosystem. Journal of Theoretical Biology, 147: 413-422.

Jahani-Azizabadi H., Danesh Mesgaran M., Vakili A. R., Rezayazdi K. and Hashemi M. 2011. Effect of various medicinal plant essential oils obtained from semi-arid climate on rumen fermentation characteristics of a

www.SID.ir

Archive of SID

high forage diet using *in vitro* batch culture. African Journal of Microbiology Research, 5(27): 4812-4819.

Joblin K. N. 1981. Isolation, enumeration and maintenance of rumen anaerobic fungi in roll tubes. Applied Environmental Microbiology, 42: 1119-1122.

Kamra D. N. 2005. Rumen microbial ecosystem. Current Sciences, 89(1): 124-135.

Mahboubi M. and Haghi Gh. 2008. Antimicrobial activity and chemical composition of *Mentha pulegium* L. essential oil. Journal of Ethnopharmacology, 119: 325-327.

Menke K. H. 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.

Mohammadabadi T. and Chaji M. 2010. *In vitro* digestibility of sugarcane top treated with exogenous enzyme or sodium hydroxide. In: Proceeding of Australian Society of Animal Production 11-15 July. Armidale, Australia. p. 45.

Mohammadabadi T., Danesh Mesgaran M., Chaji M. and Tahmasebi R. 2012. Evaluation of the effect of fat content of sunflower meal on rumen fungi growth and population by direct (quantitative competitive polymerase chain reaction) and indirect (dry matter and neutral detergent fiber disappearance) methods. African Journal of Biotechnology, 11(1): 179-183.

Nagpal R., Puniya A. K., Griffith G., Goel G., Puniya M., Sehgal J. P. and Singh K. 2009. Anaerobic rumen fungi: potential and applications. Chapter 17, 375-393 in: Khachatourians G. G., Arora D. K., Rajendran T. P. and Srivastava A. K. (Eds), Agriculturally Important Micro-Organisms, Volume 1, Academic World International.

Noroozy S. and Alemzadeh B. 2006. Effect of different amounts of treated sugarcane tops silage on performance of milk buffaloes. Buffalo Bulletin, 25(1): 1.

NRC. 2007. Nutrient Requirements of Small Rumenants; sheep, goats, cervids, and New World camelids (2nd ed.) Nalt Academy press.

Orpin C. G. 1977. The rumen flagellate *Piromonas communis*: its life history and invasion of plant material in the rumen. Journal of General Microbiology, 99: 107-117.

Orskov 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 Sciences, 92: 499-503.

Roger V., Grenet E., Jamot J., Bernalier A., Fonty G. and Gouet P. 1992. Degradation of maize stem by two rumen fungal species, *Piromyces comrnunis* and *Caecomyces comrnunis*, in pure cultures or in association with cellulolytic bacteria. Reproduction Nutrition Development, 32: 321-329.

Smith H., Zoetendal E. and Mackie R. I. 2005. "Bacterial mechanisms to overcome inhibitory effects of dietary tannins". Microbial Ecology, 50(2): 197-205.

Tamminga S. 1992. Nutrition management of dairy cows as a contribution to pollution control. Journal of Dairy Science, 75: 345-357.

Tekippe J. A., Hristov A. N., Heyler K. S., Cassidy T. W., Zheljazkov V. W., Ferreira J. F. S., Karnati S. K. and Varga G. A. 2011. Rumen fermentation and production effects of *Origanum vulgare* L. leaves in lactating dairy cows. Journal of Dairy Science, 90: 5056-5079.

Van Soest P. J., Robertson J. B. and Lewis B. A. 1991. Methods of dietary fiber, neutral detergent fiber, and non starch polysaccharides in relation to animal nutrition. Journal of Dairy Science, 74: 3583-3597.

Wallace R. J., McEwan N. R., McIntosh F. M., Teferedegne B. and Newbold C. J. 2002. Natural products as manipulators of rumen fermentation. Asian-Australasian Journal of Animal Science, 15: 1458-1468.

Yuangklang C., Wanapat M. and Wachirapakorn C. 2005. Effects of pelleted sugarcane tops on voluntary feed intake, digestibility and rumen fermentation in beef cattle. Asian-Australasian Journal of Animal Science, 18(1): 22-26.

www.SID.ir

Archive of SID

Animal Production Research

Vol. 8, No. 1, 2019 (29-39)

University of Guilan

Effect of feeding *Ziziphora clinopodioides* to finishing lambs on the activity of rumen fungi and bacteria in digestion and fermentation of sugarcane top

P. Alimirzaii[1], M. Chaji[2*]

1. Graduated MSc., Department of Animal Science, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Ahvaz, Iran
2. Associate Professor, Department of Animal Science, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Ahvaz, Iran

(Received: 13-10-2018 – Accepted: 28-11-2018)

Abstract

The aim of the present study was to investigate the effect of using *Ziziphora clinopodioides* in the diet of fattening lambs on the activity of rumen bacteria and fungi in the *in vitro* digestibility of sugarcane top. Three experimental diets containing *Ziziphora clinopodioides* at the levels of 0, 0.2 or 0.4% were fed to 15 finishing lambs (about seven months, 40 kg weight) for 30 days. At the end of the experiment, the rumen fluid of the lambs was taken through a stomach tube. After separation and purification of the bacteria and fungi populations from the rumen fluid, their effects were investigated on the digestion and fermentation of sugarcane top in a specific medium culture of bacteria or fungi. The results showed that the gas production potential of sugarcane top by ruminal fungi was significantly higher in the treatments containing *Ziziphora clinopodioides* ($P<0.05$). Ammonia nitrogen concentration, pH, and the disappearance of dry matter and NDF of sugarcane top in fungi medium culture were not affected by experimental treatments. The ammonia nitrogen concentration in bacteria medium culture was decreased after 72 h incubation and the lowest concentration was observed in treatment containing 0.4% of *Ziziphora clinopodioides* (13.6 mg/100 mL) ($P<0.05$). In comparison to the control, the disappearance of dry matter and NDF of sugarcane top from bacteria medium culture after 24 h incubation was significantly higher in the diets containing *Ziziphora clinopodioides*, and the highest disappearance of dry matter (55.62%) and NDF (44.5%) were observed in treatment containing 0.4% of *Ziziphora clinopodioides*. Overall, feeding the *Ziziphora clinopodioides* supplement to finishing lambs had no effect on digestion of sugarcane top by rumen fungi, but led to an increase in the potential of gas production. On the other hand, the *Ziziphora clinopodioides* resulted in increase of the nutrients' disappearance of sugarcane top by rumen bacteria only at time 24 h of incubation.

Keywords: Gas production, Isolated bacteria, Isolated fungi, *In vitro* digestibility

[*]Corresponding author: chaji@ramin.ac.ir

doi: 10.22124/ar.2019.11463.1347

www.SID.ir