Archive of SID

نشریه علمی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران
جلد ۳۵، شماره ۶، صفحه ۹۱۳-۹۰۲ (۱۳۹۸)

شناسه دیجیتال (DOI): 10.22092/ijmapr.2019.125475.2524
شناسه دیجیتال (DOR): 98.1000/1735-0905.1398.35.902.98.6.1576.1610

بررسی اثر عصاره هگزانی گیاه دارویی درمنه کوهی (*Artemisia aucheri* Boiss.) بر ویژگی‌های تخمیری، فراسنجه‌های تولید گاز و تجزیه‌پذیری در شرایط آزمایشگاهی

محسن کاظمی[1*]

۱*- نویسنده مسئول، استادیار، گروه علوم دامی، مجتمع آموزش عالی تربت‌جام، تربت‌جام، ایران، پست الکترونیک: phd1388@gmail.com

تاریخ دریافت: اسفند ۱۳۹۷ تاریخ اصلاح نهایی: مهر ۱۳۹۸ تاریخ پذیرش: مهر ۱۳۹۸

چکیده

درمنه کوهی (*Artemisia aucheri* Boiss.) گیاهی دارویی متعلق به خانواده Asteraceae بوده که اثرهای ضد میکروبی آن به فراوانی بررسی شده است. اطلاعات محدودی در مورد اثر عصاره هگزانی این گیاه بر شرایط تخمیر ایجاد شده توسط میکروارگانیسم‌های شکمبه‌ای (باکتری‌ها، قارچ‌ها و پروتوزوآ) وجود دارد. ازاین‌رو، این پژوهش با هدف بررسی عصاره هگزانی استخراج شده از درمنه کوهی با سوکسله (در چهار سطح صفر (شاهد)، ۱۵۰، ۳۰۰ و ۴۵۰ میلی‌گرم/لیتر) بر ویژگی‌های تخمیری، فراسنجه‌های تولید گاز و قابلیت هضم آزمایشگاهی یک جیره تهیه شده برای بره‌های پرواری در شرایط آزمایشگاهی انجام شد. با افزایش سطح عصاره به محیط کشت، pH و اسیدهای چرب فرّار کل (TVFA) نسبت به تیمار شاهد (به‌صورت خطی) به‌ترتیب کاهش و افزایش یافتند. بیشترین مقدار فراسنجه‌های تولید گاز (قابلیت تولید گاز، تولید تجمعی گاز در زمان‌های ۴۸ و ۷۲ ساعت) و کمترین مقدار ثابت میزان تولید گاز (c_{gas})، ضریب تفکیک‌پذیری و بازده سنتز توده میکروبی نیز در سطح ۴۵۰ میلی‌گرم/لیتر عصاره مشاهده شد. با توجه به نتایج موجود، به‌نظر می‌رسد که عصاره هگزانی درمنه کوهی تا حدودی توانسته است شرایط تخمیر را در محیط کشت به‌ویژه با افزایش TVFA به‌عنوان مهمترین منبع تولید انرژی در نشخوارکنندگان بهبود بخشد.

واژه‌های کلیدی: جیره، تجزیه‌پذیری، میکروارگانیسم‌های شکمبه‌ای، ویژگی تخمیری.

مقدمه

استفاده از محرک‌های رشد آنتی بیوتیکی، با بازدهی بالایی باعث بهبود عملکرد حیوانات می‌شوند (Van Nevel & Demeyer, 1988)، اما در مقابل بروز مقاومت آنتی‌بیوتیکی در انسان‌ها، باعث گردیده است که نگرانی‌های ویژه‌ای در بین آنها ایجاد کند که در نهایت منجر به ممنوعیت بکارگیری طیف وسیعی از آنها در خوراک‌های دامی در اروپا شده است (Castillejos *et al.*, 2007). بدین‌منظور استفاده از محرک های طبیعی همانند عصاره گیاهان دارویی، برای دست‌کاری و بهبود شرایط تخمیر در شکمبه دام‌های نشخوارکننده، روز به روز در حال افزایش می‌باشد (Cobellis *et al.*, 2016). عصاره‌های روغنی گیاهان مختلف، ترکیب هایی از مواد معطره یا شیمیایی خاص بوده که برخی از آنها می‌توانند اثرهای محرک تخمیر در شکمبه را داشته باشند. گزارش شده است که بسیاری از عصاره های گیاهی، فعالیت ضد میکروبی علیه طیف وسیعی از باکتری ها، مخمرها و قارچ‌ها دارند (Baratta *et al.*, 1998؛ Giordani *et al.*, 2004) و می‌توانند جایگزین مناسب و مطمئنی برای اغلب محرک‌های رشد آنتی‌بیوتیکی صنعتی گردند. علاوه‌براین، عصاره‌های گیاهان دارویی در قالب

www.SID.ir

Archive of SID

افزودنی‌های بی‌خطر طبقه‌بندی شده و به‌عنوان ترکیب های مطمئن، پیشنهاد جایگزینی بجای آنتی‌بیوتیک‌ها شده‌اند (Calsamiglia *et al.*, 2006).

درمنه، گیاهی از خانواده کاسنی‌ها بوده و بین ۲۰۰ تا ۴۰۰ گونه از آن در سراسر دنیا شناسایی شده است و در ایران نیز ۳۴ گونه از این گیاه رشد می‌کند (Nasirpour *et al.*, 2014). بسیاری از گونه‌های درمنه معطر و سرشار از اسانس بوده که این عطر ویژه آنها ناشی از وجود مونوترپن‌ها و سزکویی‌ترپن‌ها می‌باشد و مهمترین دلیل کاربرد آنها در طب سنتی، وجود همین مواد معطر است (Nasirpour *et al.*, 2014). گونه‌های مختلف درمنه دارای ویژگی‌های تب‌بری، ضد باکتریایی، ضد مالاریایی، ضد قارچی و آنتی‌اکسیدانی می‌باشند (Massry *et al.*, 2002). درمنه کوهی، گیاهی با بوته‌های به ارتفاع ۲۵ تا ۵۰ سانتی‌متر می‌باشد که در شرایط بیش از ۳۰۰ میلی‌متر بارندگی سالیانه رشد می‌کند (Nasirpour *et al.*, 2014). مطالعات انجام شده بر روی این گیاه، وجود فلاونوییدها، سانتونین‌ها، لیپیدها و ترکیب‌های تلخ را در قسمت‌های مختلف این گیاه نشان داده است. به‌طوری که میزان اسانس این گیاه ۰/۴٪ گزارش شده است (Dinani *et al.*, 2010).

Cobellis و همکاران (۲۰۱۶) گزارش کردند که استفاده از ترکیب برخی از گیاهان دارویی همانند دارچین، دانه شوید، اکالیپتوس و یا سایر گیاهان در غلظت‌های پایین، در کاهش تولید متان شکمبه‌ای و یا کاهش اتلاف نیتروژن خوراک مؤثر بوده، بدون اینکه اثرهای مغایری بر قابلیت هضم خوراک داشته باشند. همچنین گزارش شده است که اسانس‌های گیاهی، یک ابزار بالقوه طبیعی در جهت تغییر الگوی تخمیر ناشی از فعالیت باکتری‌های دخیل در بیوهیدروژناسیون اسیدهای چرب شکمبه‌ای هستند (Calsamiglia *et al.*, 2007).

در مجموع اثرهای انواع مختلفی از عصاره‌های گیاهی بر روی تخمیر میکروبی در شرایط *in vitro* توسط محققان بی‌شماری بررسی شده است (Cobellis *et al.*, 2016؛ Castillejos *et al.*, 2008؛ Ye *et al.*, 2018)، اما اثر عصاره هگزانی گیاه درمنه تا حدودی ناشناخته مانده است. ازاین‌رو این پژوهش با هدف بررسی اثر استفاده از سطوح مختلف عصاره هگزانی استخراج شده از گیاه درمنه کوهی بر ویژگی‌های تخمیری- هضمی یک جیره پایه‌ای تهیه شده برای گوسفند بلوچی پرواری در شرایط *in vitro* انجام شد.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری گیاه و تهیه عصاره هگزانی

نمونه کاملی از درمنه کوهی (*Artemisia aucheri* Boiss.) در مرحله رویشی در بهار سال ۱۳۹۷ از مناطق کوهپایه‌ای روستای رونج واقع در شهرستان تربت‌جام (خراسان رضوی) جمع‌آوری و به‌داخل کیسه‌های پلاستیکی چند لایه انتقال و درب آنها بسته و به آزمایشگاه انتقال داده شدند. قسمتی از نمونه‌های کامل گیاهی به‌داخل آون با دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت انتقال داده شد. نمونه‌ها پس از خشک شدن، با ابعاد یک میلی‌متر آسیاب شده و در نهایت عصاره هگزانی بخش‌های کامل این گیاه با دستگاه سوکسله استخراج شد (AOAC., 1999). این عصاره پس از استخراج در داخل لوله‌های درب‌دار ذخیره و تا انجام آزمایش‌های بعدی در داخل یخچال با دمای چهار درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید.

روش ***in vitro***

در آزمون تولید گاز، مواد و نحوه آماده‌سازی محیط کشت براساس روش Menke و Steingass (۱۹۸۸) انجام شد. قبل از تغذیه صبحگاهی، مایع شکمبه از دو رأس گوسفند نر بلوچی (۳/۵±۳۰ کیلوگرم) دارای فیستولای شکمبه‌ای تهیه، صاف و بلافاصله به آزمایشگاه انتقال داده شد.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱- ترکیب شیمیایی و اقلام جیره آزمایشگاهی

اقلام	میزان (%DM)
دانه جو (mill ground)	۲۱
دانه ذرت آسیاب شده (mill ground)	۲۱
دانه گندم آسیاب شده (mill ground)	۶
سبوس گندم	۱۱
کنجاله سویا	۸
مکمل ویتامینی- معدنی[۱]	۰/۸
نمک	۰/۶
بی‌کربنات سدیم	۰/۹
کربنات کلسیم	۰/۷
یونجه خشک	۳۰
ترکیب‌های شیمیایی	
(٪) CP	۱۶/۲
(٪) Ash	۷/۶
(٪) CF	۴/۲
(٪) NDF	۲۴/۹
(٪) NFC	۲۹/۶
ME (مگاکالری در هر کیلوگرم ماده خشک)	۲/۷۴
(٪) Ca	۰/۸
(٪) P	۰/۴

۱- حاوی ۴۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی در کیلوگرم ویتامین A، ۱۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی در کیلوگرم ویتامین D، ۱۰۰ میلی‌گرم ویتامین E، ۱۰ میلی‌گرم ویتامین B_1، ۲۰ میلی‌گرم ویتامین B_2، ۳٪ کلسیم، ۱/۲٪ فسفر، ۴٪ سدیم، ۱۱۰۰۰ میلی‌گرم منیزیم، ۲۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم منگنز، ۲۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم روی، ۳۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم آهن، ۱۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم مس، ۶۰ میلی‌گرم در کیلوگرم ید، ۶۰ میلی‌گرم در کیلوگرم کبالت.

CP (crude protein): پروتئین‌خام؛ CF (crude fat): چربی‌خام؛ NDF (neutral detergent fiber): الیاف نامحلول در شوینده خنثی؛ NFC (non fiber carbohydrate)؛ Ca (calcium): کلسیم؛ P (phosphorus): فسفر

جیره براساس نرم‌افزار جیره‌نویسی SRNS (نسخه ۱,۹,۴۴۶۸) تهیه شد.

میزان ۲۰۰ میلی‌گرم از جیره تهیه شده برای گوسفند پرواری بلوچی (جدول ۱)، به داخل (NRC, 2007) شیشه‌های با حجم ۱۲۰ میلی‌لیتری ریخته شد و بعد عصاره هگزانی درمنه کوهی به‌مقدار صفر (شاهد)، ۱۵۰، ۳۰۰ و ۴۵۰ میلی‌گرم/لیتر محیط کشت به شیشه‌ها اضافه شد. هریک از سطوح عصاره در ۰/۲ میلی‌لیتر اتانول حل (Castillejos *et al.*, 2008) و بعد به محیط کشت اضافه شد (به محیط کشت بدون عصاره نیز ۰/۲ میلی‌لیتر اتانول اضافه شد). در ادامه پس از افزودن مایع شکمبه و بزاق مصنوعی (با نسبت یک به دو و با حجم کلی ۳۰ میلی‌لیتر) بلافاصله درب آنها با درپوش‌های لاستیکی بسته شد و توسط کریمپر درب‌های آنها پلمپ شده و در بن‌ماری با دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد برای زمان‌های ۳، ۶، ۹، ۱۲، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت انکوباسیون شدند. برای هر تیمار پنج تکرار در نظر گرفته شد. همچنین ۵ شیشه فاقد نمونه و عصاره هگزانی به‌عنوان بلنک (blank) برای تصحیح گاز تولید شده از

www.SID.ir

Archive of SID

ذرات قبلی باقیمانده در مایع شکمبه در نظر گرفته شد. اصول اندازه‌گیری و ثبت تولید گاز براساس روش Theodorou و همکاران (۱۹۹۴) انجام شد. درب شیشه‌ها پس از اتمام زمان ۹۶ ساعت انکوباسیون، بلافاصله باز و محتوای آنها با کمک قیف بوخنر دارای صافی از جنس پلی‌استر با قطر ۴۵ میکرون و پمپ خلأ صاف و بلافاصله pH مایع فیلترشده اندازه‌گیری و محتوای رویی کیسه، به‌داخل کروزه‌های از قبل شماره‌گذاری و توزین شده انتقال و به آون با دمای ۶۰ درجه به‌مدت ۴۸ ساعت تا خشک شدن نهایی (برای تعیین میزان تجزیه‌پذیری ماده خشک و ماده آلی) انتقال داده شدند. درصد ماده آلی ذرات باقیمانده (تجزیه نشده) پس از خاکستر شدن آنها در کوره با دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۴ ساعت تعیین و بعد تجزیه‌پذیری ماده آلی محاسبه شد.

نمونه‌گیری از محیط کشت و آماده‌سازی نمونه‌ها برای اندازه‌گیری اسیدهای چرب فرّار کل (TVFA) براساس روش Getachew و همکاران (۲۰۰۴) انجام شد و نیز تعیین مقدار کل اسیدهای چرب فرّار (TVFA) براساس روش Barnett و Reid (۱۹۵۷) و با کمک دستگاه مارخام انجام گردید. پس از صاف کردن محتوای شیشه‌ها، مقدار ۵ میلی‌لیتر از نمونه محیط کشت با ۵ میلی‌لیتر اسید کلریدریک ۰/۲ نرمال مخلوط (با نسبت مساوی) و تا انجام آزمایش‌های بعدی در فریزر با دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد نگهداری و در نهایت میزان نیتروژن آمونیاکی تیمارها براساس روش کجلدال تعیین شد (Komolong *et al.*, 2001).

تعیین پارامترهای میکروبی

از یک محیط کشت مشابه آزمون تولید گاز برای تعیین پارامترهای میکروبی استفاده شد. همچنین از روش Makkar (۲۰۱۰) برای تعیین ضریب تفکیک‌پذیری (PF) استفاده گردید، به‌طوری که این ضریب از تقسیم میلی‌گرم ماده آلی تجزیه شده بر میلی‌لیتر گاز تولیدی [مطابق با رابطه (۱)] تعیین شد (Vercoe *et al.*, 2010).

$$PF = OMD/IVGP = c - (a - b)/IVGP$$ رابطه ۱

انتخاب خوراک براساس ضریب PF یعنی انتخاب قابلیت تجزیه‌پذیری بیشتر به‌ازای گاز تولیدی کمتر می‌باشد. در رابطه ۱، c، b و a به‌ترتیب برابر ماده آلی ریخته شده در هر شیشه، مقدار خاکستر مواد تجزیه نشده در هر شیشه (میلی‌گرم) و مقدار ماده خشک تجزیه نشده در هر شیشه (میلی‌گرم) می‌باشد. پس از اتمام زمان ثبت گاز تولیدی در طی ۹۶ ساعت انکوباسیون، محتویات داخل شیشه‌ها به داخل کیسه‌های پلی‌استری انتقال و با کمک دستگاه انکوم و با کمک محلول شوینده خنثی، اقدام به حذف پروتئین میکروبی تولید شده در آنها شد. در پایان کیسه‌ها به داخل آون با دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۴۸ ساعت انتقال و پس از خشک شدن و توزین (تفاضل کیسه همراه نمونه هضم نشده بعد از استفاده از محلول شوینده خنثی و خشک شدن در آون از کیسه‌های خالی: a، میلی‌گرم) به داخل کروزه‌های از پیش وزن شده انتقال و در کوره با دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۴ ساعت خاکستر شدند (وزن خاکستر خالص: b، میلی‌گرم). همچنین چند کیسه خالی به‌عنوان عامل تصحیح برای تولید خاکستر در نظر گرفته شد. در نهایت از تفاضل مقدار b از a، مقدار ماده آلی تجزیه نشده بر حسب میلی‌گرم محاسبه شد (Vercoe *et al.*, 2010). میزان تولید توده میکروبی و بازده سنتز توده میکروبی نیز براساس رابطه ۲ و به روش Makkar (۲۰۱۰) محاسبه شد (Vercoe *et al.*, 2010؛ Makkar, 2010) که در این رابطه MM برابر میلی‌گرم توده میکروبی تولید شده، NG برابر میلی‌لیتر گاز خالص تولیدی و ۲/۲ ضریب استوکیومتری می‌باشد.

رابطه ۲

$$MM(\text{میلی‌گرم}) = [c-(a-b)] - [NG(\text{میلی‌لیتر}) \times ۲/۲]$$

www.SID.ir

Archive of SID

تجزیه‌وتحلیل آماری داده‌ها

در این پژوهش، اختلاف آماری بین تیمارها در سطح ۵٪ و با آزمون دانکن تعیین شد و داده‌های این پژوهش در قالب طرح کاملاً تصادفی و به‌کمک نرم‌افزار SAS (Institute INC., 2002) آنالیز شدند. همچنین از مدل آماری $Yij = \mu + Ti + eij$ برای این طرح استفاده شد که در آن Yij = مقدار هر مشاهده، μ= میانگین کل، Ti= اثر تیمار و eij= خطای آزمایشی بود. داده‌های حاصل از آزمون گاز با کمک رابطه $Y = b(1 - e^{-ct})$ آنالیز شدند که در آن، Y= حجم گاز تولیدی در زمان t، b= گاز تولید شده از بخش دارای قابلیت تولید گاز پس از ۹۶ ساعت انکوباسیون (میلی‌لیتر به‌ازای ۲۰۰ میلی‌گرم ماده خشک)، c= ثابت میزان تولید گاز برای b (میلی‌لیتر در ساعت) و t= زمان انکوباسیون (ساعت) می‌باشد (Ørskov & McDonald, 1979).

نتایج

اثر افزودن عصاره هگزانی درمنه کوهی بر برخی پارامترهای تخمیری محیط کشت در جدول ۲ آورده شده است. میزان pH محیط کشت در اثر افزایش سطوح عصاره هگزانی درمنه کوهی به محیط کشت، به‌صورت خطی و درجه دو کاهش معنی‌داری پیدا کرد. نیتروژن آمونیاکی محیط کشت نیز تحت تأثیر افزودن عصاره به محیط کشت قرار نگرفت اما تولید اسیدهای چرب فرّار کل (TVFA)، با افزایش سطوح مختلف عصاره درمنه در محیط کشت افزایش معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد نشان داد، به‌طوری که بیشترین مقدار TVFA در سطح ۴۵۰ میلی‌گرم/لیتر عصاره مشاهده شد.

اثر افزودن عصاره هگزانی درمنه کوهی بر برخی فراسنجه‌های تولید گاز حاصل از محیط کشت در جدول ۳ آورده شده است. میزان تولید گاز در زمان ۱۲ ساعت انکوباسیون و نیز ثابت نرخ تولید گاز در اثر افزایش سطح عصاره هگزانی درمنه کوهی در محیط کشت (به‌ویژه در سطح ۴۵۰ppm)، کاهش معنی‌دار خطی نسبت به تیمار شاهد نشان داد اما تولید گاز در زمان ۲۴ ساعت انکوباسیون تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت.

جدول ۲- اثر افزودن عصاره هگزانی درمنه کوهی بر برخی پارامترهای تخمیری محیط کشت

مورد	سطح عصاره *Artemisia aucheri* Boiss. (میلی‌گرم/لیتر)					p-value		
	صفر (شاهد)	۱۵۰	۳۰۰	۴۵۰	SEM	خطی	درجه ۲	درجه ۳
pH	۶/۷۳a	۶/۷۷a	۶/۷۵a	۶/۶۱b	۰/۰۳	۰/۰۲	۰/۰۱	۰/۷۵
NH3-N (mg/dL)	۳۱/۴۸	۲۸/۲۱	۳۰/۷۱	۳۴/۱۹	۲/۸۲	۰/۳۶	۰/۲۲	۰/۷۰
TVFA (mmol/L)	۳۲/۱۲b	۳۴/۵۰ab	۳۵/۵۰ab	۴۰/۳۷a	۱/۹۶	۰/۰۲	۰/۶۰	۰/۶۱

نیتروژن آمونیاکی: NH3-N؛ اسیدهای چرب فرّار کل: TVFA

همچنین میزان تولید گاز در زمان‌های ۴۸ و ۷۲ ساعت انکوباسیون و نیز قابلیت تولید گاز (b_{gas}) دارای بیشترین مقدار در سطح ۴۵۰ میلی‌گرم/لیتر عصاره بود. ثابت نرخ تولید گاز (c_{gas}) نیز در سطح ۴۵۰ میلی‌گرم/لیتر عصاره در کمترین مقدار خود در بین تیمارهای آزمایشی قرار داشت.

برخی فراسنجه های برآورد شده از محیط کشت در اثر افزودن عصاره هگزانی گیاه درمنه کوهی در شرایط آزمایشگاهی در جدول ۴ آورده شده است. کمترین مقدار تجزیه پذیری ماده خشک و ماده آلی در اثر استفاده از سطح ۱۵۰ میلی‌گرم/لیتر عصاره هگزانی درمنه کوهی در محیط کشت مشاهده شد. ضریب تفکیک پذیری (PF) و بازده سنتز توده میکروبی در تیمار ۴۵۰ میلی‌گرم/لیتر عصاره در کمترین مقدار خود قرار داشته اما در مقابل توده میکروبی تولیدی در بیشترین مقدار خود در این سطح قرار داشت.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۳- اثر افزودن عصاره هگزانی درمنه کوهی بر برخی فراسنجه‌های تولید گاز حاصل از محیط کشت

مورد	سطح عصاره *Artemisia aucheri* Boiss. (میلی‌گرم/لیتر)						p-value	
	صفر (شاهد)	۱۵۰	۳۰۰	۴۵۰	SEM	خطی	درجه ۲	درجه ۳
gas 12h (میلی‌لیتر)	۴۱/۰۵a	۳۹/۴۵ab	۳۹/۹۵a	۳۷/۶۲b	۰/۶۰	۰/۰۰۳	۰/۵۵	۰/۰۹
gas 24h (میلی‌لیتر)	۴۷/۳۵	۴۵/۲۲	۴۶/۰۵	۴۵/۷۵	۰/۷۰	۰/۲۳	۰/۲۲	۰/۲۲
gas 48h (میلی‌لیتر)	۵۵/۳۲ab	۵۳/۰۵b	۵۴/۳۷ab	۵۵/۵۵a	۰/۷۴	۰/۵۵	۰/۰۴	۰/۲۸
gas 72h (میلی‌لیتر)	۵۸/۸۲ab	۵۷/۸۰b	۵۹/۱۲ab	۶۱/۵۵a	۰/۸۷	۰/۰۳	۰/۰۷	۰/۷۵
b_{gas} (میلی‌لیتر)	۵۷/۱۶b	۵۶/۰۷b	۵۷/۳۵b	۶۰/۵۶a	۰/۸۶	۰/۰۱	۰/۰۳	۰/۹۱
c_{gas} (میلی‌لیتر/ساعت)	۰/۱۰a	۰/۰۹۵a	۰/۰۹۳a	۰/۰۷۴b	۰/۰۰۳	۰/۰۰۰۱	۰/۰۵	۰/۱۲

gas 12, 24, 48, 72: به‌ترتیب شامل تولید تجمعی گاز در زمان‌های ۱۲، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از انکوباسیون می‌باشند؛ b_{gas}: قابلیت تولید گاز؛ c_{gas}: ثابت نرخ تولید گاز

جدول ۴- برخی فراسنجه‌های برآورد شده از محیط کشت در اثر افزودن عصاره هگزانی گیاه درمنه کوهی در شرایط آزمایشگاهی

مورد	سطح عصاره *Artemisia aucheri* Boiss. (میلی‌گرم/لیتر)						p-value	
	صفر (شاهد)	۱۵۰	۳۰۰	۴۵۰	SEM	خطی	درجه ۲	درجه ۳
DMD (٪)	۷۷/۳۹a	۷۳/۰۶b	۸۰/۳۰a	۸۰/۱۵a	۱/۳۳	۰/۰۲	۰/۱۴	۰/۰۰۸
OMD (٪)	۸۰/۹۷ab	۷۷/۸۵b	۸۲/۸۱a	۸۰/۹۷ab	۱/۱۷	۰/۳۶	۰/۵۹	۰/۰۱
ضریب تفکیک‌پذیری (میلی‌گرم ماده آلی تجزیه شده/میلی‌لیتر گاز تولیدی)	۳/۱۰a	۳/۱۰a	۳/۰۶a	۲/۸۹b	۰/۰۵	۰/۰۱	۰/۱۱	۰/۷۴
توده میکروبی تولیدی (میلی‌گرم)	۵۳/۲۷b	۵۹/۰۲a	۶۰/۲۲a	۶۳/۶۰a	۱/۵۳	۰/۰۰۰۵	۰/۴۵	۰/۳۴
بازدهی سنتز توده میکروبی (٪)	۲۸/۹۸a	۲۹/۱۱a	۲۸/۰۳a	۲۳/۸۶b	۱/۲۰	۰/۰۱	۰/۱	۰/۷۳

PF: Partitioning Factor، ضریب تفکیک‌پذیری؛ DMD (Dry Matter Degradability): تجزیه‌پذیری ماده خشک؛ OMD (Organic Matter Degradability): تجزیه‌پذیری ماده آلی

بحث

در مطالعه Castillejos و همکاران (۲۰۰۵)، در اثر افزودن ۱/۵ میلی‌گرم از یک نوع عصاره تجاری گیاهی به محیط کشت، تولید اسیدهای چرب فرّار کل (TVFA) افزایش معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد نشان داد، بدون اینکه سایر پارامترهای تخمیری محیط کشت دستخوش تغییرات شوند که در تطابق با مطالعه ما می‌باشد. McIntosh و همکاران (۲۰۰۳) و نیز Newbold و همکاران (۲۰۰۴) مهار فرایند دی‌آمیناسیون اسیدهای آمینه را در محیط کشتی مشاهده کردند که در آن از مایع شکمبه حیواناتی استفاده شده بود که آنها عصاره گیاهی (۱۰۰۰ میلی‌گرم/گاو/روز یا ۱۱۰ میلی‌گرم/گوسفند/روز) را قبلاً دریافت کرده بودند. در مطالعه ما نیز تفاوتی در میزان نیتروژن آمونیاکی تولیدی به‌عنوان یک محصول حاصل از دی‌آمیناسیون پروتئین‌ها در

www.SID.ir

Archive of SID

اثر استفاده از سطوح مختلف عصاره مشاهده نشد که در تطابق با مطالعات قبلی می‌باشد. در مطالعه دیگری نیز مشخص شد که میزان TVFA در گوسفندانی که روزانه ۱۱۰ میلی‌گرم اسانس روغنی تجاری (Crina Ruminants, Akzo Nobel Surface Chemistry Ltd.) دریافت کرده بودند (۶ ساعت پس از مصرف خوراک)، تمایل به افزایش داشت (Newbold *et al.*, 2004). بر خلاف مطالعه ما، افزودن عصاره گیاهی به محیط کشت و یا حیوان زنده تأثیر معنی‌داری بر pH مایع شکمبه‌ای نداشت (Newbold *et al.*, 2004؛ Castillejos *et al.*, 2005). برخی محققان به این نتیجه رسیده‌اند که اثر عصاره‌ها و یا اسانس‌های گیاهی زمانی سودمند خواهند بود که غلظت اسیدهای چرب فرّار کل (TVFA) و پروپیونات در مایع شکمبه افزایش پیدا کرده و یا غلظت استات و یا نسبت استات به پروپیونات کاهش پیدا کند و نیز نیتروژن آمونیاکی کاهش پیدا کند (Castillejos *et al.*, 2008) که در تطابق با مطالعه ما می‌باشد. استفاده از دوزهای مختلف عصاره‌های گیاهی، می‌تواند اثرهای متفاوتی بر فرایند تخمیر در محیط کشت داشته باشد (Castillejos *et al.*, 2008). در مطالعه‌ای استفاده از اسانس‌های گیاهی در غلظت‌های بالا (۳۰۰۰ تا ۵۰۰۰ میلی‌گرم/لیتر) مانع تخمیر میکروبی و در نتیجه کاهش تولید TVFA در شکمبه گردید که نشان از وجود اثرهای ضد میکروبی آنها در محیط کشت داشت (Cardozo *et al.*, 2005؛ Castillejos *et al.*, 2006) که در تناقض با مطالعه ما می‌باشد. همچنین Nagy و همکاران (۱۹۶۸) مشاهده نمودند که در شرایط آزمایشگاهی، اسانس استخراج شده از گونه‌ای درمنه (*Artemesia tridentata*)، به‌طور قابل توجهی فعالیت باکتری‌های شکمبه را محدود می‌نماید. سازوکار و نحوه اثرگذاری ترکیب‌های فعال و مواد مؤثره موجود در برخی از گیاهان دارویی تا حد زیادی مورد بررسی قرار گرفته است، به‌طوری که در برخی موارد این مواد با مهار آنزیم پروتئاز باکتریایی موجب کاهش قابلیت هضم پروتئین و غلظت آمونیاک در محیط شکمبه شده که در نهایت باعث هدایت این فرآورده‌های تولیدی به سمت روده می‌گردد (Wang *et al.*, 1997). همچنین کاهش میزان آمونیاک در شکمبه به‌دلیل افزایش تولید پروتئین میکروبی و یا کاهش تجزیه پروتئین موجود در خوراک می‌باشد (Wallace *et al.*, 1994). یکی از سازوکارهای شناخته شده‌ای که از طریق تأثیر غیرمستقیم، موجب تغییر نسبت اسیدهای چرب فرّار می‌شود، افزایش میزان هیدروژن به‌دلیل مهار شدن مسیرهای تولید متان و باقیماندن این پیش‌ماده ساخت متان در محیط تخمیر می‌باشد (Van Nevel & Demeyer, 1988) و به‌نظر می‌رسد که در این مطالعه عصاره هگزانی درمنه توانسته است تولید متان را در محیط کشت کاهش داده و از این طریق منجر به افزایش تولید TVFA شود. اگرچه در مطالعه ما غلظت نیتروژن آمونیاکی تحت تأثیر افزودن عصاره درمنه به محیط کشت قرار نگرفت، اما در تحقیق دیگری مشخص شد که افزودن گیاهان دارویی در شرایط مطلوب، می‌تواند باعث کاهش غلظت آمونیاک در شیرابه شکمبه شود (Sliwinski *et al.*, 2002). در برخی مطالعات پیشین (Castillejos *et al.*, 2006)، افزایش pH با کاهش تولید اسیدهای چرب فرّار همراه بود که منعکس‌کننده یک کاهش در تخمیرپذیری جیره بوده که آن را مربوط به فعالیت ضد میکروبی ترکیب‌های فنولیکی در گیاهان دارویی می‌دانند (Fraser *et al.*, 2007). در این مطالعه اگرچه تولید اسیدهای چرب فرّار در سطح ۴۵۰ میلی‌گرم/لیتر عصاره در بالاترین مقدار خود قرار داشت ولی در مقابل pH محیط کشت نیز در این غلظت از عصاره در کمترین مقدار خود نسبت به تیمار شاهد قرار داشت که شاید افزایش غلظت اسیدهای چرب فرّار کل در محیط کشت (به‌دلیل ماهیت اسیدی بودن آنها)، عامل اصلی کاهش pH در محیط کشت بوده است.

البته حجم گاز تولید شده می‌تواند بیانگر میزان تجزیه‌پذیری مواد خوراکی مورد استفاده نیز باشد (Menke & Steingass, 1988). Nagy و همکاران (۱۹۶۸) جزء اولین کسانی بودند که اثر اسانس‌ها را بر روی مقدار تولید گاز حاصل از تخمیر میکروبی شکمبه‌ای در شرایط *in vitro* بررسی نمودند. در مطالعه فعلی کمترین میزان تولید گاز در

www.SID.ir

Archive of SID

زمان ۱۲ ساعت انکوباسیون، مربوط به سطح ۴۵۰ میلی‌گرم/لیتر عصاره درمنه بود ولی در عین حال با افزایش زمان انکوباسیون به‌ویژه برای زمان‌های ۴۸ و ۷۲ ساعت، اختلافی بین تیمار شاهد و سطح ۴۵۰ میلی‌گرم/لیتر عصاره مشاهده نشد و به‌نظر می‌رسد که میکروارگانیسم‌های محیط کشت در زمان‌های بالاتر انکوباسیون نسبت به اثرهای منفی عصاره درمنه سازگاری پیدا نموده‌اند. درمنه ازجمله بوته‌های بسیار سازگار به شرایط سخت بیابان و مناطق کوهپایه‌های بوده که علاوه بر مصارف علوفه‌ای در مراتع قشلاقی نیز بوته‌ای بسیار مقاوم در مقابل فرسایش‌های بادی تلقی شده و نقش ارزنده‌ای در حفاظت خاک این نقاط بر عهده دارد. مشخص شده است که مواد مؤثره‌ای همانند منوترپن و سزکویی‌ترپن در عصاره استخراج شده از درمنه وجود دارد (Doroodgar *et al.*, 2007). همچنین ترکیب‌های دیگری (بیش از ۱۵۷ نوع) همانند مشتقات بیزابولن و سالسولن در این گیاه شناسایی شده است. در مطالعه دیگری نیز ترکیب‌هایی همانند β-thujone (۳۵/۸٪)، α-thujone (۱۰/۷۷٪)، Dimethylcyclopentanecarboxylic acid (۹/۴۵٪) و کامفر (۴/۵۸٪) در اسانس گیاه درمنه شناسایی شد (Doroodgar *et al.*, 2007). مهمترین اثر روغن‌های گیاهی، فعالیت ضد باکتریایی و ضد قارچی آنها می‌باشد (Burt, 2004). این عصاره‌های روغنی به‌دلیل داشتن ویژگی چربی‌دوستی، از طریق اتصال مستقیم به غشای سلول باکتری و یا غیرمستقیم با صدمه زدن به پروتئین‌های غشای سلول، موجب تخریب غشای پلاسمایی باکتری‌ها شده و از طریق تغییر در سیالیّت غشای باکتری، موجب تجزیه و تخریب سلول می‌شوند (Burt, 2004) که در نهایت این عمل باعث کند شدن سرعت رشد باکتری‌ها شده و باعث بروز تغییرات گسترده‌ای در فرایند تخمیر و در نهایت پروفیل اسیدهای چرب فرّار خواهند شد (Calsamiglia *et al.*, 2007). البته سازوکارهای دیگری مثل ممانعت از ساخت RNA و DNA نیز از طریق بکار بردن این ترکیب‌های گیاهی به اثبات رسیده است (Feldberg *et al.*, 1988). در مطالعه‌ای به‌دنبال کاهش تولید گاز در اثر وجود ترکیب‌هایی همانند کارواکرول، تیمول و ایگنول، تجزیه‌پذیری ماده خشک نیز کاهش نشان داد (Benchaar *et al.*, 2007).

در مطالعات بسیاری، اثر اضافه کردن عصاره‌های مختلف گیاهی بر تجزیه‌پذیری ماده خشک جیره بررسی شده است که در برخی از آنها بی‌اثر بودن (Santos *et al.*, 2010)، برخی کاهش تجزیه‌پذیری (Castillejos *et al.*, 2006؛ Fraster *et al.*, 2007) و در برخی دیگر افزایش تجزیه‌پذیری (Yang *et al.*, 2007) ماده خشک مشاهده شد. عمده‌ترین اثر استفاده از عصاره‌های روغنی گیاهان دارویی بر شکمبه، کاهش تجزیه‌پذیری پروتئین و نشاسته و نیز ممانعت از تجزیه اسیدهای آمینه بوده که این کار را با اثرگذاری بر روی طیف خاصی از میکروارگانیسم‌ها ازجمله برخی باکتری‌ها انجام می‌دهند (Hart *et al.*, 2008). Malecky و همکاران (۲۰۰۹) گزارش کردند که برخی از مونوترپن‌های عصاره‌های گیاهی (۴۵/۲٪ لینالول، ۳۶/۷٪ پارا-سیمن، ۱۶٪ آلفا-پینن و ۲/۲٪ بتا-پینن) تأثیری بر قابلیت هضم مواد مغذی نداشته، اما در مطالعه دیگری استفاده از غلظت‌های بالاتر عصاره‌ها، قابلیت هضم ماده خشک را کاهش داد (Yang *et al.*, 2010). در مطالعه ما، قابلیت هضم ماده خشک با افزایش سطوح عصاره درمنه به محیط کشت به‌صورت خطی افزایش پیدا کرد ($p=۰/۰۲$). سال‌های متمادی است که از روش تعیین تجزیه‌پذیری ماده خشک در آزمایشگاه به‌طور گسترده‌ای برای ارزیابی کیفیت مواد خوراکی و یا افزودنی در نتیجه همبستگی بالای آن با قابلیت هضم بر روی حیوان زنده استفاده می‌شود (Kazemi *et al.*, 2009؛ Getachew *et al.*, 2004).

تجزیه‌پذیری ماده خشک و ماده آلی در این پژوهش تحت تأثیر افزودن عصاره درمنه به محیط کشت قرار گرفت و به‌ترتیب به‌صورت خطی و درجه ۳ افزایش پیدا نمودند. هر چند که در مطالعه‌ای در اثر استفاده از گیاه گلپر (دارای فلاوونوئید)، ضریب تفکیک‌پذیری (PF)، توده میکروبی و بازده سنتز توده میکروبی افزایش یافت (Nooriyan Soroor & Rouzbehan, 2014)، اما در مطالعه (همسو با گزارش ما) دیگری در اثر افزودن اسانس آویشن به محیط کشت، ضریب

www.SID.ir

Archive of SID

تفکیک‌پذیری نسبت به تیمار شاهد کاهش معنی‌داری پیدا کرد (Sallam *et al.*, 2009). در حقیقت پایین بودن ضریب تفکیک‌پذیری (PF)، بیان‌کننده پایین بودن بازده سنتز پروتئین میکروبی در محیط کشت بوده و این بدین معنی است که سهم بیشتری از ماده خوراکی هضم شده در جهت تولید گاز نسبت به سنتز پروتئین میکروبی مصرف شده است (Sallam *et al.*, 2009). همچنین افزایش ضریب تفکیک‌پذیری، بیان‌کننده بهبود بازدهی تخمیر می‌باشد (Blümmel *et al.*, 1997). در مطالعه ما، کمترین ضریب تفکیک‌پذیری در تیمار دارای ۴۵۰ میلی‌گرم/لیتر عصاره درمنه مشاهده شد و بازده سنتز توده میکروبی در کمترین مقدار خود قرار داشت که نشان‌دهنده تأثیرگذار بودن این عصاره بر محیط کشت می‌باشد. اگرچه افزایش ضریب تفکیک‌پذیری ممکن است به‌دلیل آزادسازی همزمان انرژی و پروتئین در شکمبه به‌دلیل تأثیرگذاری برخی از متابولیت‌های ثانویه موجود در گیاهان دارویی باشد (JimEnez-Peralta *et al.*, 2011) ولی در مطالعه ما به‌نظر می‌رسد که در سطح ۴۵۰ میلی‌گرم/لیتر عصاره درمنه، همزمانی بین انرژی و تجزیه پروتئین در شکمبه انجام نشده است، کما اینکه بالاترین مقدار اسیدهای چرب فرّار در این مطالعه نیز مربوط به سطح ۴۵۰ میلی‌گرم/لیتر عصاره بود ولی نیتروژن آمونیاکی تحت تأثیر این سطح از عصاره قرار نگرفت.

به‌عنوان نتیجه‌گیری کلی باید گفت که در این پژوهش با وجود اینکه غلظت نیتروژن آمونیاکی تحت تأثیر افزودن عصاره درمنه کوهی به محیط کشت دارای یک جیره پروار قرار نگرفت اما اسیدهای چرب فرّار کل (TVFA) و قابلیت تولید گاز (b_{gas}) در سطح ۴۵۰ میلی‌گرم/لیتر عصاره، در بالاترین مقدار خود قرار داشت و نیز ضریب تفکیک‌پذیری (PF) و بازده سنتز توده میکروبی در کمترین مقدار خود بودند. کاهش pH در سطوح بالاتر عصاره (۴۵۰ میلی‌گرم/لیتر)، احتمالاً مربوط به افزایش سطح TVFA در محیط کشت می‌باشد. تجزیه‌پذیری ماده خشک و ماده آلی نیز تحت تأثیر افزودن عصاره درمنه به محیط کشت قرار گرفتند. در مجموع برخی از پارامترهای تخمیری محیط کشت، می‌تواند تحت تأثیر سطوح بالاتر عصاره هگزانی درمنه کوهی (۴۵۰ میلی‌گرم/لیتر) قرار بگیرد. بنابراین توصیه می‌گردد که آزمایش‌های گسترده‌تری برای بررسی اثرهای سطوح مختلف عصاره درمنه کوهی و یا سایر گونه‌های دیگر این گیاه بر روی حیوان زنده (*in vivo*) و یا در شرایط *in vitro* انجام شود.

سپاسگزاری

این پژوهش در قالب طرح تحقیقاتی مصوب معاونت آموزشی-پژوهشی مجتمع آموزش عالی تربت‌جام انجام شد، بدین‌وسیله نویسندگان مقاله تقدیر و تشکر خود را از دست‌اندرکاران این مجتمع و معاونت مربوط اعلام می‌دارند.

منابع مورد استفاده

- AOAC., 1999. Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, USA.
- Baratta, M.T., Damien Dorman, H.J., Deans, S.G., Figueiredo, A.C., Barroso, J.G. and Ruberto, G., 1998. Antimicrobial and antioxidant properties of some commercial essential oils. Flavour and Fragrance Journal, 13: 235-244.
- Barnett, A.J.G. and Reid, R., 1957. Studies on the production of volatile fatty acids from grass in artificial rumen. 1. Volatile fatty acids production from fresh grasses. The Journal of Agricultural Science, 48: 315-321.
- 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(3): 413-419.
- Blümmel, M., Steingass, H. and Becker, K., 1997. The relationship between *in vitro* gas production, *in vitro* microbial biomass yield and 15N incorporation and its implications for prediction of voluntary feed intake of roughages. British Journal of Nutrition, 77(6): 911-921.
- Burt, S., 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods: a review. International Journal of Food Microbiology, 94(3): 223-253.
- Calsamiglia, S., Busquet, M., Cardozo, P.W., Castillejos, L. and Ferret, A., 2007. Invited review: essential oils as modifiers of rumen microbial

www.SID.ir

Archive of SID

N.H., 1988. In vitro mechanism of inhibition of bacterial cell growth by allicin. Antimicrobial Agents Chemistry, 32: 1763-1768.
- Fraser, G.R., Chaves, A.V., Wang, Y., McAllister, T.A., Beauchemin, K.A. and Benchaar, C., 2007. Assessment of the effects of *Cinnamon* leaf oil on rumen microbial fermentation using two continuous culture systems. Journal of Dairy Science, 90(5): 2315-2328.
- Getachew, G., Robinson, P.H., DePeters, E.J. and Taylor, S.J., 2004. Relationships between chemical composition, dry matter degradation and *in vitro* gas production of several ruminant feeds. Animal Feed Science and Technology, 111(1-4): 57-71.
- Giordani, R., Regli, P., Kaloustian, J., Mikaıl, C., Abou, L. and Portugal, H., 2004. Antifungal effect of various essential oils against *Candida albicans*. Potentiation of antifungal action of Amphotericin B by essential oil from *Thymus vulgaris*. Phytotherapy Research, 18: 990-995.
- 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.
- JimEnez-Peralta, F.S., Salem, A.Z.M., Mejia-Hernndez, P., Gonzlez-Ronquillo, M., lbarrn-Portillo, B., Rojo-Rubio, R. and Tinoco-Jaramillo, J.L., 2011. Influence of individual and mixed extracts of two tree species on *in vitro* gas production kinetics of a high concentrate diet fed to growing lambs. Livestock Science, 136: 192-200.
- Kazemi, M., Tahmasbi, A.M., Valizadeh, R., Naserian, A.A. and Moheghi, M.M., 2009. Assessment of nutritive value of four dominant weed species in range of Khorasan distinct of Iran by *in vitro* and *in situ* techniques. Journal of Animal and Veterinary Advances, 8(11): 2286-2290.
- Komolong, M.K., Barber, D.G. and McNeill, D.M., 2001. Post-ruminal protein supply and N retention of weaner sheep fed on a basal diet of lucerne hay (*Medicago sativa*) with increasing levels of quebracho tannins. Animal Feed Science and Technology, 92(1-2): 59-72.
- Makkar, H.P.S., 2010. In vitro screening of feed resources for efficiency of microbial protein synthesis: 107-144. In: Vercoe, P.E., Makkar, H.P.S. and Schlink, A.C., (Ed.). In Vitro Screening of Plant Resources for Extra-Nutritional Attributes in Ruminants: Nuclear and Related Methodologies. New York, Springer, 242p.
- Malecky, M., Broudiscou, L.P. and Schmidely, P., 2009. Effects of two levels of monoterpene blend on rumen fermentation, terpene and nutrient flows in fermentation. Journal of Dairy Science, 90(6): 2580-2595.
- Calsamiglia, S., Castillejos, L. and Busquet, M., 2006. Alternatives to antimicrobial growth promoters in cattle: 129-167. In: Garnsworthy, P.C. and Wiseman, J., (Eds.). Recent Advances in Animal Nutrition. Notthingham University Press, Nottingham, UK, 388p.
- Cardozo, P.W., Calsamiglia, S., Ferret, A. and Kamel, C., 2005. Screening for the effects of natural plant extracts at two pH level on *in vitro* rumen microbial fermentation of a high-concentrate diet for beef cattle. Journal of Animal Science, 83: 2572-2579.
- Castillejos, L., Calsamiglia, S., Ferret, A. and Losa, R., 2005. Effects of a specific blend of essential oil compounds and the type of diet of rumen microbial fermentation and nutrient flow from continuous culture systems. Animal Feed Science and Technology, 119: 29-41.
- Castillejos, L., Calsamiglia, S. and Ferret, A., 2006. Effect of essential oils active compounds on rumen microbial fermentation and nutrient flow in *in vitro* systems. Journal of Dairy Science, 89: 2649-2658.
- Castillejos, L., Calsamiglia, S., Ferret, A. and Losa, R., 2007. Effects of dose and adaptation time of a specific blendof essential oil compound on rumen fermentation. Animal Feed Science and Technology, 132: 186-201.
- Castillejos, L., Calsamiglia, S., Martın-Tereso, J. and Ter Wijlen, H., 2008. In vitro evaluation of effects of ten essential oils at three doses on ruminal fermentation of high concentrate feedlot-type diets. Animal Feed Science and Technolology, 145: 259-270.
- Cobellis, G., Trabalza-Marinucci, M. and Zhongtang, Y., 2016. Critical evaluation of essential oils as rumen modifiers in ruminant nutrition: A review. Science of the Total Environment, 545-546: 556-568.
- Dinani, N.J., Asgary, A., Madani, H., Naderi, G. and Mahzoni, P., 2010. Hypocholesterolemic and antiatherosclerotic effect of *Artemisia aucheri* in essential oils of three species of *Artemisia* on some soil-borne phytopathogens. Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences, 71: 1327-1333.
- Doroodgar, A., Arbabi, M., Razavi, M.R., Mohebali, M., Sadr, F. and Tashakkor, Z., 2007. Effect of *Artemisia sieberi* extract on *Leishmania major* ulcers in BALB/c mice. Feyz (Journal of Kashan University of Medicinal Science), 11(3): 52-56.
- Feldberg, R.S., Chang, S.C., Kotik, A.N., Nadler, M., Neuwirth, Z., Sundstrom, D.C. and Thompson,

www.SID.ir

Archive of SID

complex to the diet of lactating dairy cows on whole tract digestion of nutrients and productive performance. Animal Feed Science and Technology, 157(1-2): 64-71.
- SAS Institute INC., 2002. Sas user's Guide: statistics. Statistical Analysis Systems Institute Inc. Cary NC.
- Sliwinski, B.J., SolivaCarla, R., Machmuller, A. and Kreuzer, M., 2002. Efficacy of plant extracts rich in secondary constituents to modify rumen fermentation. Animal Feed Science and Technology, 101: 101-114.
- Theodorou, M.K., Williams, B.A., Dhanoa, M.S., McAllan, A.B. and France, J., 1994. A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. Animal Feed Science and Technology, 48: 185-197.
- Van Nevel, C.J. and Demeyer, D.I., 1988. Manipulation of rumen fermentation: 387-447. In: Hobson, P.N., (Ed.). The Rumen Microbial Ecosystem. Elsevier Applied Science, New York, USA, 708p.
- Vercoe, P.E., Makkar, H.P.S. and Schlink, A.C., 2010. In Vitro Screening of Plant Resources for Extra-Nutritional Attributes in Ruminants: Nuclear and Related Methodologies. New York, Springer, 242p.
- Wallace, R.J., Arthaud, L.C. and Newbold, J., 1994. Influence of *Yucca schidigera* extract on ruminal ammonia concentrations and ruminal microorganisms. Applied Environmental Microbiology, 60: 762-767.
- Wang, Y., McAllister, T.A., Newbold, C.J., Cheeke, P.R. and Cheng, K.J., 1997. Effects of Yucca extract on fermentation and degradation of saponins in the Rusitec. Proceedings of the Western Section, American Society of Animal Science. 48: 149-152.
- Yang, W.Z. Benchaar, C., Ametaj, B.N., Chaves, A.V., He, M.L. and McAllister, T.A., 2007. Effects of garlic and Juniper Berry essential oils on ruminal fermentation and on the site and extent of digestion in lactating cows. Journal of Dairy Science, 90(12): 5671-5681.
- Yang, W.Z., Ametaj, B.N. Benchaar, C. and Beauchemin, K.A., 2010. Dose response to cinnamaldehyde supplementation in growing beef heifers: Ruminal and intestinal digestion. Journal of Animal Science, 88(2): 680-688.
- Ye, D., Karnati, S.K.R., Wagner, B., Firkins, J.L., Eastridge, M.L. and Aldrich, J.M., 2018. Essential oil and monensin affect ruminal fermentation and the protozoal population in continuous culture. Journal of Dairy Science, 101: 1-13.

the duodenum and milk production in dairy goats. Animal Feed Science and Technology, 154: 24-35.
- Massry, K., Ghorab, A. and Farouk, A., 2002. Antioxidant activity and volatile components of Egyptian, *Artemisia judaica*. Food Chemistry, 79: 331-336.
- McIntosh, F.M., Williams, P., Losa, R., Wallace, R.J., Beever, D.A. and Newbold, C.J., 2003. Effects of essential oils on ruminal microorganisms and their protein metabolism. Applied and Environmental Microbiology, 69: 5011-5014.
- Menke, K.H. 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.
- Nagy, J.G. and Tengerdy, R.P., 1968. Antibacterial action of essential oils of *Artemisia* as an ecological factor. II. Antibacterial action of the volatile oils of *Artemisia tridentata* (big sagebrush) on bacteria from the rumen of mule deer. Applied and Environmental Microbiology, 16: 441-444.
- Nasirpour, M., Yavarmanesh, M., Mohhamadi Sani, A., Nasirpour, M. and Mohamdzade Moghadam., M., 2014. Antibacterial effect of aqueous extract of *Artemisia aucheri*, *Artemisia sieberi* and *Hyssopus officinalis* L. on the food borne pathogenic bacteria. Food Science and Technology, 12(46): 73-84.
- Newbold, C.J., McIntosch, F.M.,Williams, P., Losa, R. and Wallace, R.J., 2004. Effects of a specific blend of essential oil compounds on rumen fermentation. Animal Feed Science and Technology, 114: 105-112.
- Nooriyan Soroor, E. and Rouzbehan, Y., 2014. The influence of Golpar (*Heracleum persicum*) on *in vitro* rumen fermentation parameter, sand on methane production. Iranian Journal of animal Science, 44(4): 385-395.
- NRC, 2007. Nutrient Requirements of Small Ruminants: Sheep, Goats, Cervids, and New World Camelids. Washington: National Academy Press, Washington, D.C., USA, 384p.
- 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.
- Sallam, S.M.A., Bueno, I.C.S., Brigide, P., Godoy, P.B., Vittii, D.M.S.S. and Abdalla, A.L., 2009. Efficiency of *Eucalyptus* oil on *in vitro* ruminal fermentation and methane production. Nutritional and Foraging Ecology of Sheep and Goats, 85: 267-272.
- Santos, M.B., Robinson, P.H., Williams, P. and Losa, R., 2010. Effects of addition of an essential oil

www.SID.ir

Archive of SID

Effects of hexane extract of medicinal plant *Artemisia aucheri* Boiss. on fermentation characteristics, gas production parameters, and degradability under *in vitro* conditions

M. Kazemi[1*]

1*- Corresponding author, Department of Animal Science, Higher Education Complex of Torbat-e Jam, Torbat-e Jam, Iran, E-mail: phd1388@gmail.com

Received: February 2019 Revised: September 2019 Accepted: September 2019

Abstract

Artemisia aucheri Boiss. is a medicinal herb belonging to the *Asteraceae* family which its antimicrobial effects have been extensively investigated. There is limited information on the effect of hexane extract of this plant on fermentation conditions caused by ruminal microorganisms (bacteria, fungi, and protozoa); therefore, this research aimed to investigate the effect of hexane extract of *Artemisia aucheri* Boiss. prepared by soxhlet [0 (control), 150, 300 and 450 mgl^{-1} on fermentation characteristics, gas production parameters and degradability of a diet supplied for fattening lambs under *in vitro* conditions. By increasing the amount of extract to the culture media, pH and total volatile fatty acids (TVFA) decreased and increased respectively when compared to the control treatment (linearly). The highest amount of gas production parameters (potential gas production, cumulative gas production after 48 and 72 h), and the lowest constant rate of gas production (c_{gas}), partitioning factor (PF) and efficiency of microbial mass synthesis were observed at 450 mgl^{-1} of the extract. According to the results, it seems that hexane extract of *Artemisia aucheri* Boiss. has somewhat improved the fermentation conditions in the culture media, especially by the increase of TVFA as the most important source of energy production in ruminants.

Keywords: Diet, degradability, ruminal microorganisms, fermentation characteristics.

www.SID.ir