Archive of SID

تحقیقات تولیدات دامی

سال نهم/شماره سوم/پاییز ۱۳۹۹ (۸۳-۷۱)

Animal Production Research

دانشگاه گیلان

مقاله پژوهشی

برهم‌کنش اسانس آنغوزه (*Ferula assafoetida*) و درمنه کوهی (*Artemisia aucheri*) با سطح کنسانتره جیره بر پویایی تخمیر و القاء اسیدوز برون‌تنی

سارا حسنی[۱]، فرشید فتاح نیا[۲*]، گلناز تأسلی[۳]، شهریار کارگر[۴]، فاطمه رؤف فرد[۵]

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد تغذیه دام، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام

۲- دانشیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام

۳- استادیار پژوهشی، بخش تحقیقات علوم دامی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان چهارمحال و بختیاری، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی. شهرکرد. ایران

۴- دانشیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز

۵- استادیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز

(تاریخ دریافت: ۹۸/۰۷/۲۳ - تاریخ پذیرش: ۹۸/۱۱/۱۷)

چکیده

این پژوهش با هدف مطالعه برهم‌کنش اسانس صمغ آنغوزه (*Ferula assafoetida*) و یا اسانس درمنه کوهی (*Artemisia aucheri*) در جیره‌های دارای سطوح مختلف کنسانتره (۴۰ یا ۶۰ درصد) بر پویایی تخمیر و القاء اسیدوز در شرایط برون‌تنی انجام شد. میزان استفاده از هر اسانس در جیره‌ها به میزان ۰/۰۵ درصد ماده خشک جیره بود. فراسنجه‌های تولید گاز، pH، غلظت نیتروژن آمونیاکی، اسیدهای چرب فرار و جمعیت پروتوزوآ اندازه‌گیری و گوارش‌پذیری ماده آلی برآورد شد. اثر اسانس صمغ آنغوزه و اسانس درمنه کوهی بر جلوگیری از اسیدوز در شرایط برون‌تنی نیز اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که برهم‌کنش جیره‌ها و اسانس‌ها بر تولید و سرعت گاز، غلظت نیتروژن آمونیاکی، pH، غلظت کل اسیدهای چرب فرار، استات، پروپیونات و والرات، کل جمعیت پروتوزوآ و جنس‌های انتودینیوم، دیپلودینیوم و افریواسکولکس معنی‌دار نبود. افزودن اسانس صمغ آنغوزه به جیره دارای ۴۰ درصد کنسانتره سبب افزایش گوارش‌پذیری ماده آلی برآورد شده در مقایسه با جیره شاهد شد (۹۲/۶۴ در برابر ۸۳/۱۳ درصد، $P<۰/۰۵$). افزودن اسانس‌ها سبب کاهش تولید گاز، غلظت نیتروژن آمونیاکی و جمعیت کل پروتوزوآ شد ($P<۰/۰۵$). نتایج آزمایش القاء اسیدوز در شرایط برون‌تنی نشان داد اسانس صمغ آنغوزه و اسانس درمنه کوهی توانایی جلوگیری از اسیدوز را داشتند. بر اساس نتایج این آزمایش، اسانس صمغ آنغوزه و اسانس درمنه کوهی می‌توانند تخمیر شکمبه را بهبود بخشند.

واژه‌های کلیدی: اسانس گیاهی، القاء اسیدوز، فراسنجه‌های تخمیر، نسبت علوفه به کنسانتره

* نویسندهٔ مسئول: ffatahnia@yahoo.com

doi: 10.22124/ar.2020.14543.1448

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

پژوهشگران علم تغذیه در سال‌های اخیر به دنبال روش‌هایی هستند که بتوانند با تغییر مطلوب سوخت و ساز شکمبه، بازده خوراک را بهبود بخشند. استفاده از اسانس‌های گیاهی در این زمینه یک پیشنهاد مناسب است، زیرا بسیاری از گیاهان دارای متابولیت‌های ثانویه‌ای هستند که خواص ضدمیکروبی دارند (Wallace, 2004). بر همین اساس پژوهشگران تلاش می‌کنند تا با استفاده از متابولیت‌های ثانویه گیاهان، تخمیر میکروبی شکمبه را تغییر داده و بازده استفاده از خوراک در نشخوارکنندگان را بهبود دهند (Benchaar *et al.*, 2008). پژوهش‌هایی در ارتباط با اثر اسانس‌های گیاهی به عنوان افزودنی طبیعی به منظور بهبود تخمیر شکمبه مانند افزایش تولید اسیدهای چرب فرار، کاهش تولید متان، بهبود سوخت و ساز پروتئین و افزایش بازده استفاده از خوراک انجام شده است (Benchaar and Greathead, 2011)

اسانس‌ها که از بخش‌های مختلف گیاه استخراج می‌شوند، دارای ترکیبات ثانویه فراوانی هستند. اسانس‌های گیاهی مخلوط‌های متغیری از اصولاً ترپنوئیدها (خصوصاً مونوترپن-ها و سزکویی ترپن‌ها هستند، گرچه دی ترپن‌ها نیز ممکن است حضور داشته باشند) و تنوعی از هیدروکربن‌های آلیفاتیک با وزن مولکولی کم، اسیدها، الکل‌ها، آلدئیدها، استرهای آسیلی یا لاکتون‌ها و به طور نامعمول ترکیبات حاوی سولفور و نیتروژن، کومارین‌ها و هومولوگ‌های فنیل پروپانوئیدی هستند (Dorman and Deans, 2000).

آنغوزه و درمنه از گیاهان بومی ایران هستند که دارای ترکیبات فعال و مواد مؤثره مختلف با غلظت‌های متفاوت هستند. مهمترین اجزای فعال اسانس آنغوزه و اسانس درمنه شامل ترپنوئیدها (پینن، پی سایمن، بتا اوسایمن و ۱،۸-سینول و فنل‌پروپانوئیدها) است که همگی این ترکیبات مؤثره توانایی تغییر جمعیت میکروبی شکمبه را دارند (Araujoa *et al.*, 2011؛ Okara, 2016). ترپنوئیدها و فنل-پروپانوئیدها با اثر روی دیواره سلولی، فعالیت ضدباکتریایی خود را نشان می‌دهند و باعث تغییرات ساختاری در غشاء می‌شوند که در نتیجه آن، باکتری سیال شده و از هم می‌پاشد (Isman, 2000). درمنه با توجه به ترکیبات ثانویه موجود در اسانس آن مانند ترکیبات فلاونوئیدی و فنلی توانایی تغییر میکروفلور شکمبه به سمت باکتری‌های مفید را دارد (Kim *et al.*, 2013). هم‌چنین گونه‌ای از درمنه (*Artemisia herba alba*) در شرایط درون‌تنی، با اثر بر باکتری‌های مؤثر در روند بیوهیدروژناسیون شکمبه، سبب تغییر الگوی اسید چرب گوشت شد (Vasta *et al.*, 2013).

در بیشتر پژوهش‌هایی که اثر مواد فیتوشیمیایی گیاهان بر فرایند تخمیر شکمبه بررسی شده، از جیره‌های پر علوفه استفاده شده است. در گاوهای شیرده پرتولید، کربوهیدرات‌های غیرالیافی حدود ۳۰ تا ۴۵ درصد از ماده خشک جیره را تشکیل می‌دهند (Grant and Kononoff, 2007). مصرف جیره‌های با نسبت کنسانتره بالا (نشاسته بالا) در تغذیه گاوهای شیرده سبب افزایش تولید اسید لاکتیک و کاهش pH مایع شکمبه می‌شود، در چنین شرایطی به دلیل کاهش pH، جمعیت میکروبی شکمبه تغییر می‌کند و فرآیند تخمیر نیز متفاوت از شرایط طبیعی شکمبه می‌شود و احتمالاً ساز و کار عمل متابولیت‌های ثانویه گیاهان بر میکروبیوم شکمبه نیز دچار تغییراتی می-شود. علت آن، تغییر بخش‌های هیدروفیل و هیدروفوب ساختار مواد مؤثره ترکیبات فیتوشیمیایی گیاهی است (Cardozo *et al.*, 2005). از طرفی فعالیت ضد باکتریایی مواد فعال گیاهی به pH شکمبه هم بستگی دارد، چنان‌که با کاهش pH شکمبه، متابولیت‌های ثانویه با اجزای سلولی میکروب‌ها آسان‌تر ارتباط برقرار می‌کنند و اثر ضد میکروبی خود را بهتر نشان می‌دهند (Cardozo *et al.*, 2005). بنابراین مطالعه ساز و کار عمل اسانس‌ها در جیره‌های با میزان بالای کنسانتره در شرایط برون‌تنی ضروری به نظر می‌رسد.

با توجه به مواد مؤثره این دو اسانس، امکان تغییر جمعیت میکروبی شکمبه و تخمیر مطلوب وجود دارد. هم‌چنین، بومی بودن این دو گیاه و دسترسی آنها در کشور و اطلاعات اندک از نحوه اثرگذاری آن‌ها بر میکروارگانیسم‌های شکمبه سبب شد تا در این پژوهش، اثر افزودن اسانس این دو گیاه در جیره نشخوارکنندگان بر فرآیندهای تخمیری شکمبه در شرایط برون‌تنی بررسی شود. بنابراین، این مطالعه با هدف بررسی اثر اسانس صمغ آنغوزه و اسانس درمنه کوهی در

www.SID.ir

Archive of SID

جیره‌های دارای سطوح مختلف کنسانتره بر فراسنجه‌های تولید گاز، تخمیر و جمعیت پروتوزوآ و جلوگیری از بروز اسیدوز در شرایط برون‌تنی انجام شد.

مواد و روش‌ها

دو جیره آزمایشی با نسبت علوفه به کنسانتره ۴۰ به ۶۰ و ۶۰ به ۴۰ بر اساس جداول مؤسسه تحقیقات ملی برای گاوهای شیری تنظیم شدند (NRC, 2001). جدول ۱ مواد خوراکی تشکیل‌دهنده، انرژی خالص شیردهی و پروتئین خام جیره‌های پایه را نشان می‌دهد. ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس صمغ آنغوزه و اسانس درمنه کوهی به ترتیب در جداول ۲ و ۳ نشان داده شده است. تیمارهای آزمایشی به صورت آزمایش فاکتوریل ۳×۲ (دو سطح کنسانتره و سه نوع اسانس) و بر پایه طرح کاملاً تصادفی عبارت بودند از: ۱- تیمار دارای جیره با سطح پایین کنسانتره (۴۰ درصد) و بدون اسانس، ۲- تیمار دارای جیره با سطح پایین کنسانتره (۴۰ درصد) و ۰/۰۵ درصد (ماده خشک جیره) اسانس درمنه کوهی، ۳- تیمار دارای جیره با سطح پایین کنسانتره (۴۰ درصد) و ۰/۰۵ درصد (ماده خشک جیره) اسانس آنغوزه، ۴- تیمار دارای جیره با سطح بالای کنسانتره (۶۰ درصد) و بدون اسانس، ۵- تیمار دارای جیره با سطح بالای کنسانتره (۶۰ درصد) و ۰/۰۵ درصد (ماده خشک جیره) اسانس درمنه کوهی و ۶- تیمار دارای جیره با سطح بالای کنسانتره (۶۰ درصد) و ۰/۰۵ درصد (ماده خشک جیره) اسانس آنغوزه.

صمغ گیاه آنغوزه از بهره‌برداران محلی خریداری و گیاه منطقه بهره‌برداری شده جهت شناسایی جمع‌آوری شد. سرشاخه‌های گیاه درمنه کوهی در مرحله گلدهی جمع‌آوری شد. نمونه‌های گیاهی جمع‌آوری شده در هرباریوم دانشگاه شیراز شناسایی شدند و به ترتیب برای *Ferula assafoetida* و *Artemisia aucheri* شماره‌های هرباریومی ۵۵۰۰۴ و ۵۵۰۶۹ تعلق گرفت.

نمونه‌های درمنه کوهی در شرایط سایه، خشک شدند. استخراج اسانس از صمغ آنغوزه و همین‌طور از نمونه‌های خشک و آسیاب شده درمنه کوهی به روش تقطیر با آب و با دستگاه کلونجر در گروه علوم باغبانی دانشگاه شیراز انجام شد (British Pharmacopoeia, 1998). اسانس‌ها پس از جمع‌آوری به وسیله سولفات سدیم خشک آبگیری شدند و تا زمان تجزیه و آزمایش در دمای ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری شدند. جداسازی و شناسایی ترکیبات موجود در اسانس‌ها با استفاده از دستگاه‌های کروماتوگراف گازی و کروماتوگراف گازی متصل به طیف‌سنج جرمی آزمایشگاه گیاهان دارویی مرکز تحقیقات کشاورزی و متابع طبیعی شیراز انجام شد (Velcovic *et al.*, 2013).

از کروماتوگراف گازی مدل A۳۴۲۰Beifen مجهز به آشکارساز یونیزاسیون شعله هیدروژن (FID)، ستون HP-5 به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۳۲ میلی‌متر و ضخامت فیلم برابر ۰/۲۵ میکرومتر و گاز حامل نیتروژن با شدت جریان

جدول ۱- مواد خوراکی و ترکیب شیمیایی جیره‌های پایه (درصد از ماده خشک)
Table 1. Ingredients and chemical compositions of basal diets (% of DM)

Ingredients (% of DM)	Basal diets	
	Diet containing 60% concentrate and 40% forage	Diet containing 40% concentrate and 60% forage
Alfalfa hay	20	30
Corn silage	20	30
Corn grain	32.24	19.70
Barley grain	5	3.55
Soybean meal	17.20	10.15
Corn gluten meal	2.40	3.44
Mineral-vitamin supplements	2.60	2.60
Salt	0.56	0.56
Chemical compositions		
NE_L (Mcal/kg DM of diet)	1.65	1.58
CP (%)	19.20	17.80

www.SID.ir

Archive of SID

یک میلی‌لیتر در دقیقه استفاده شد. دمای آون دستگاه از ۶۰ درجه سلسیوس شروع شد و به تدریج با سرعت سه درجه در دقیقه افزایش یافت تا به ۲۱۰ درجه سلسیوس رسید. سپس افزایش دما تا ۲۴۰ درجه سلسیوس با سرعت ۲۰ درجه سلسیوس در دقیقه انجام شد و به مدت ۸/۵ دقیقه در این دما نگه داشته شد. دمای محفظه تزریق و آشکارساز به ترتیب ۲۵۰ و ۳۰۰ درجه سلسیوس بود.

از کروماتوگراف گازی (Agilent مدل ۷۸۹۰A) متصل شده به طیف‌سنج جرمی Agilent مدل C- ۵۹۷۵ ستون HP-5MS (۳۰ متر طول، ۰/۲۵ میلی‌متر قطر داخلی، ضخامت فیلم ۰/۲۵ میکرومتر) با انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت و گاز حامل هلیوم استفاده شد. برنامه‌ریزی حرارتی ستون شبیه به برنامه‌ریزی دستگاه کروماتوگراف گازی بود.

شاخص بازداری با استفاده از زمان‌های بازداری سری آلکان-های نرمال هشت تا ۲۵ کربنه که در شرایط برنامه‌ریزی دمایی مشابه با تزریق نمونه‌ها بعد از اسانس‌ها به دستگاه تزریق شدند، محاسبه شد. ترکیبات با مقایسه شاخص‌های بازداری با شاخص‌های گزارش شده در منابع (Velkovic *et al*., 2013) و همچنین مقایسه طیف جرمی با اطلاعات موجود در کتابخانه Wiley شناسایی شدند.

برای برآورد فراسنجه‌های تولید گاز، مایع شکمبه از دو رأس گوسفند نر نژاد کردی دارای فیستولای شکمبه با میانگین وزن زنده ۵ ± ۶۰ کیلوگرم جمع‌آوری شد. این گوسفندان در جایگاه انفرادی و با آخور و آبخوری مجزا نگهداری شدند و با یک جیره کاملاً مخلوط حاوی۷۰ درصد علوفه و ۳۰ درصد کنسانتره در سطح نگهداری تغذیه شدند. این جیره حاوی ۵۵ درصد علوفه خشک یونجه، ۱۵ درصد کاه گندم، ۱۵ درصد دانه جو، ۱۰ درصد کنجاله سویا و ۵ درصد سبوس گندم بود که در دو نوبت صبح و عصر به گوسفندان ارائه شد.

نمونه مایع شکمبه قبل از خوراک نوبت صبح جمع‌آوری و با چهار لایه پارچه کتان صاف شد. بافر تهیه شده (Menke and Steingass, 1988) با نسبت دو به یک با مایع شکمبه مخلوط شد. برای ساخت غلظت مورد نظر اسانس‌ها، ۵ میلی‌گرم از هر اسانس در ۱۵ میلی‌لیتر اتانول حل شد. قبل از ریختن مخلوط مایع شکمبه و بافر، ۷۵۰ میکرولیتر از استاک هر اسانس که در اتانول حل شده بود، به ویال‌ها اضافه و ۴۰ میلی‌لیتر از مخلوط مایع شکمبه و بافر به ویال‌های حاوی ۲۰۰ میلی‌گرم از جیره‌های آزمایشی که با الک یک میلی‌متری آسیاب شده بودند، اضافه شد (Menke and Steingass, 1988). سپس ۱۵ ثانیه دی اکسید کربن تزریق و بلافاصله درپوش لاستیکی ویال‌ها گذاشته شد و با استفاده از محافظ آلومینیومی مخصوص پرس شد.

جدول ۲- ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس صمغ آنغوزه (درصد)

Table 2. Compounds of *Ferula* gum essential oils (%)

Compound	RI[1]	Percent	Compound	RI	Percent
(E)-1-propenyl sec-butyl disulfide	1175	38.6	α-Thujene	926	0.1
Bis (1-methyl propyl) disulfide	1213	1.0	α-pinene	936	8.9
trans-Pinocarvyl acetate	1300	0.1	Camphene	948	0.2
n-Tetradecane	1400	0.1	Sabinene	973	0.1
Bis (1-methl thio) propyl disulfide	1427	0.2	β-pinene	979	0.9
α-Guaiene	1443	0.4	Myrcene	991	1.2
1-propyl sec-butyl disulfide	1460	0.5	Limonene	1028	3.8
allo- aromadendrene	1463	0.2	β-Phellandrene	1029	0.2
cis-Cadina-1,4-diene	1494	0.6	1,8-Cineole	1031	0.5
β- Dihydro agarofuran	1499	0.4	(Z)-β-Ocimene	1036	2.4
γ-Cadinene	1514	1.8	(E)-β-Ocimene	1048	12.2
δ-Cadinene	1524	0.3	allo-Ocimene	1129	0.4
trans-Cadina-1(2),4-diene	1532	0.2	neo allo-Ocimene	1141	0.2
10-epi-γ-Eudesmol	1619	2.0	Guaiol	1597	1.2
(Z)-1-propenyl sec-butyl disulfide	1617	8.7	α-Humulene	1453	0.4
Bulnesol	1678	0.4			

1. Retention Index

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۳- ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس درمنه کوهی (درصد)

Table 3. Compounds of *Artemisia aucheri* essential oils (%)

Compound	RI[1]	Percent	Compound	RI	Percent
Neryl acetate	1359	0.5	α -Pinene	933	0.4
α -Copaene	1375	0.8	α -Terpinene	1016	0.4
Geranyl acetate	1384	0.5	p-Cymene	1024	3.0
(E)-Jasmone	1392	0.5	Limonene	1029	0.6
(Z)-Jasmone	1396	0.4	1,8-Cineole	1030	6.0
Methyl eugenol	1405	4.2	β -Terpinene	1058	1.2
(E)-Caryophyllene	1418	0.8	Unknown	1075	0.5
Davana,bis-ether	1446	0.7	p-Cymenene	1089	0.6
α-Humulene	1456	3.8	Linalool	1099	0.7
Davana ether	1508	25.3	trans-Pinocarveol	1138	0.6
Davanone B	1568	0.7	Terpinen-4-ol	1177	0.7
Spathulenol	1577	4.0	α-Terpineol	1191	0.2
Caryophyllene oxide	1582	6.3	nor-Davanone	1230	1.1
Davanone	1588	1.4	Thymol methyl ether	1234	0.9
β-Oplopenone	1609	10.5	Geranial	1269	0.3
Davanol D1	1619	5.7	Thymol	1291	1.1
Cadalene	1671	4.3	Carvacrol	1299	1.1
Davanol acetate	1688	2.2	iso-Ascaridole	1305	2.0
β -Davanone-2-ol	1722	2.2	Hexyl tiglate	1331	0.4

1. Retention Index

گاز تولیدی در زمان‌های دو، چهار، شش، هشت، ۱۲، ۲۴، ۴۸، ۷۲، ۹۶ و ۱۲۰ ساعت پس از شروع انکوباسیون با فشارسنج (مدل Testo 512 Digitalmonomer, Germany) قرائت شد. برای تصحیح میزان گاز، ۴۰ میلی‌لیتر از مخلوط مایع شکمبه و بافر داخل سه ویال فاقد نمونه آزمایشی ریخته شد (بلانک). برآورد فراسنجه‌های تولید گاز از معادله $Y= a + b (1 - e^{-c(t-lag)})$ بدست آمد (McDonald, 1981). در این معادله، Y: میزان گاز تجمعی تولید شده در زمان، a: میزان گاز تولیدی به وسیله بخش بالفعل قابل تخمیر خوراک، b: میزان گاز تولیدی به وسیله بخش بالقوه قابل تخمیر خوراک، c: سرعت کل تولید گاز (درصد در ساعت)، lag: فاز تأخیر و t: زمان است. آزمون تولید گاز دو بار اجرا شد و هر اجرا با سه تکرار از هر تیمار انجام شد.

برای اندازه‌گیری نیتروژن آمونیاکی، اسیدهای چرب فرار و شمارش جمعیت پروتوزوآ یک آزمون تولید گاز به مدت ۲۴ ساعت انجام شد. پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون، دو میلی‌لیتر از مایع درون ویال با پنج میلی‌لیتر محلول اسیدکلریدریک ۰/۲ نرمال رقیق شد و تا روز اندازه‌گیری در دمای ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری شد. نیتروژن آمونیاکی با استفاده از اسپکتروفتومتر به روش فنول هیپوکلریت اندازه‌گیری شد (Broderick and Kang, 1980). برای اندازه‌گیری اسید چرب فرار، چهار میلی‌لیتر از مایع درون ویال با یک میلی-لیتر محلول اسید متافسفریک مخلوط شد. اندازه‌گیری غلظت اسیدهای چرب فرار با استفاده از دستگاه گاز کروماتوگرافی (Inc., WalnutCreek,Canada Varian) دارای ستون شیشه‌ای (۱/۶۵ متر × ۴/۶ میلی‌متری) در آزمایشگاه گروه علوم دامی دانشگاه زنجان انجام شد (Ottenstein and Bartley, 1971). برای شمارش جمعیت پروتوزوآ پنج میلی-لیتر از مایع شکمبه با پنج میلی‌لیتر محلول فرمالین ۵۰ درصد رقیق شد. دو قطره رنگ سبز بریلیانت به آن اضافه و به خوبی تکان داده شد. ۲۴ ساعت بعد از افزودن رنگ، شمارش پروتوزوآ با استفاده از از لام نئوبار و میکروسکوپ نوری (Olympus Optical CHT, Japan) با بزرگنمایی ۱۰ انجام شد (Dehority, 2003). گوارش‌پذیری ماده آلی با استفاده از رابطه زیر برآورد شد (Menke and Steingass, 1988):

گوارش‌پذیری ماده آلی (درصد) = ۱۴/۸۸ + ۰/۸۸۹ GP +۰/۰۴۵CP

که، GP، حجم گاز حاصل از ۲۴ ساعت انکوباسیون (میلی‌لیتر) و CP، پروتئین خام (درصد) است.

آزمایش القاء اسیدوز بر اساس روش Hutton *et al.* (2010) انجام شد. تیمارهای این آزمایش شامل شاهد (۱۰۰ میلی-

www.SID.ir

Archive of SID

گرم کاه جو)، اسیدوز کنترل نشده (۱۰۰ میلی‌گرم کاه جو، یک گرم دی گلوکز)، شاهد مثبت (۱۰۰ میلی‌گرم کاه جو، یک گرم دی‌گلوکز و آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین)، اسیدوز کنترل نشده حاوی اسانس درمنه کوهی (۷۵۰ میکرولیتر) و اسیدوز کنترل نشده حاوی اسانس صمغ آنغوزه (۷۵۰ میکرولیتر) بودند. برای هر تیمار، سه تکرار در نظر گرفته شد. آزمون تولید گاز مشابه قبل انجام و تولید گاز در دو، چهار و شش ساعت پس از شروع انکوباسیون اندازه‌گیری شد. پس از شش ساعت انکوباسیون، درب ویال‌ها باز و pH با استفاده از دستگاه pH متر (Istek, Inc Neomet 200L, Korea) اندازه‌گیری شد.

داده‌های مربوط به فراسنجه‌های تخمیر شکمبه (pH، غلظت نیتروژن آمونیاکی و غلظت اسیدهای چرب فرار)، جمعیت پروتوزوآ و قابلیت هضم ماده آلی به صورت آزمایش فاکتوریل ۳×۲ (دو سطح کنسانتره و سه نوع اسانس) بر پایه طرح کاملاً تصادفی با رویه مختلط نرم افزار آماری SAS (نسخه ۹/۲) و با رابطه زیر تجزیه واریانس شدند:

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + B_j + (AB)_{ij} + e_{ijk}$$

که در این رابطه، Y_{ijk}، متغیر وابسته، μ، میانگین جامعه، A_i، اثر جیره آزمایشی، B_j، اثر نوع اسانس، $(AB)_{ij}$، اثر متقابل نوع جیره آزمایشی و نوع اسانس و e_{ijk}، اثر خطای آزمایشی است. داده‌های مربوط به فراسنجه‌های تولید گاز به صورت آزمایش فاکتوریل۳×۲ و بر پایه طرح بلوک کامل تصادفی و با رابطه زیر تجزیه شد:

$$Y_{ijkl} = \mu + A_i + B_j + (AB)_{ij} + R_k + e_{ijkl}$$

که در این رابطه، Y_{ijkl}، متغیر وابسته، μ، میانگین جامعه، A_i، اثر جیره آزمایشی، B_j، اثر نوع اسانس، $(AB)_{ij}$، اثر متقابل نوع جیره آزمایشی و نوع اسانس، R_k، اثر بلوک (هر بار اجرای آزمایش گاز) و e_{ijkl} ، اثر خطای آزمایشی است.

داده‌های مربوط به تولید گاز و pH در آزمایش القاء اسیدوز در قالب طرح کاملاً تصادفی و با رابطه زیر تجزیه واریانس شدند.

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

که در این رابطه، Y_{ij}، متغیر وابسته، μ، میانگین جامعه، T_i اثر تیمار آزمایشی و e_{ij}، اثر خطای آزمایشی است. میانگین تیمارها با استفاده از آزمون توکی مقایسه شد و سطح احتمال کمتر یا مساوی ۰/۰۵ معنی‌دار تلقی شدند.

نتایج و بحث

جدول ۴ میانگین آثار اصلی (جیره و اسانس) و جدول ۵ برهم‌کنش اثر اسانس درمنه کوهی و اسانس صمغ آنغوزه در جیره‌های دارای نسبت متفاوت علوفه به کنسانتره بر فراسنجه‌های تولید گاز را نشان می‌دهد. نوع جیره تأثیری بر تولید گاز (۱۶۲/۷۷ و ۱۸۳/۰۴ میلی‌لیتر به ترتیب برای جیره‌های پرعلوفه و پرکنسانتره)، سرعت تولید گاز (۰/۰۶۹ و ۰/۰۶۴ درصد در ساعت به ترتیب برای جیره‌های پرعلوفه و پرکنسانتره) و فاز تأخیر (۰/۳۴ و ۰/۱۸ ساعت به ترتیب برای جیره‌های پرعلوفه و پرکنسانتره) نداشت. در صورتی که افزودن اسانس‌ها در مقایسه با عدم استفاده از آن‌ها سبب کاهش تولید گاز (به ترتیب ۱۵۸/۴۶ و ۱۵۱/۸۵ میلی‌لیتر در برابر ۲۰۸/۴۱ میلی‌لیتر) شد ($P<0/05$)، اما اثری بر سایر فراسنجه‌های تولید گاز نداشت. سرعت تولید گاز در جیره‌های بدون اسانس و با اسانس، ۰/۰۶ درصد در ساعت و فاز تأخیر در جیره‌های بدون اسانس و دارای اسانس درمنه و دارای اسانس آنغوزه به ترتیب ۰/۳۴، ۰/۳۴ و ۰/۱۰ ساعت بود (جدول ۴). تیمارهای آزمایشی اثری بر میزان و سرعت تولید گاز و فاز تأخیر نداشتند (جدول ۵)، اما برآورد گوارش‌پذیری ماده آلی تحت تأثیر برهم‌کنش نوع اسانس و نوع جیره قرار گرفت ($P<0/05$)، و افزودن اسانس صمغ آنغوزه به جیره دارای ۴۰ درصد کنسانتره باعث افزایش گوارش‌پذیری ماده آلی برآورد شده در مقایسه با جیره شاهد شد ($P<0/05$).

در پژوهش، دیگری استفاده از پودر آنغوزه خشک شده در جیره باعث افزایش تولید گاز شد (نعمتی شیرزی و همکاران، ۱۳۹۱؛ Sachan *et al.*, 2013). همسو با این پژوهش، استفاده از سطوح ۱۵۰، ۳۰۰ و ۶۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر اسانس آویشن شیرازی، که عمده ترکیبات آن کارواکرول، پی سایمن و تیمول است (Talebzadeh *et al.*, 2012)، افزودن کارواکرول و سینئول، از متابولیت‌های ثانویه اسانس درمنه کوهی و اسانس آنغوزه (Araujoa *et al.*, 2011)، و هم‌چنین افزودن پی سایمن (Okara, 2016)، از متابولیت‌های ثانویه اسانس درمنه کوهی، باعث کاهش تولید گاز شد. مقدار گاز تولیدی می‌تواند بیانگر گوارش‌پذیری مواد خوراکی باشد (Menke and Steingass, 1988). کاهش

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۴- میانگین حداقل مربعات آثار اصلی بر فراسنجه‌های تولید گاز

Table 4. Least squares means of main effects on gas production parameters

Parameters	Diet 40:60[1]	Diet 60:40[2]	Without EO[3]	Artemisia EO[4]	Ferula EO[5]
Gas production (mL)	162.77	183.04	208.41	158.46	151.85
Gas production rate (%/h)	0.069	0.064	0.06	0.06	0.06
Lag time (h)	0.34	0.18	0.34	0.34	0.10
OMD (%)	88.22	89.85	87.36	89.06	90.67

1. Diet containing 40% concentrate and 60% forage, 2. Diet containing 60% concentrate and 40% forage, 3. Without essential oil, 4. Artemisia essential oil, and 5. Ferula essential oil.

جدول ۵- اثر اسانس درمنه و اسانس آنغوزه در جیره‌های دارای سطوح متفاوت کنسانتره بر فراسنجه‌های تولید گاز

Table 5. Effect of *Ferula assafoetida* and *Artemisia aucheri* essential oils in diets containing different levels of concentrate on gas production parameters

Parameters	Diet 40:60[1]			Diet 60:40[2]			SEM	*P*-value		
	Without EO[3]	Artemisia EO[4]	Ferula EO[5]	Without EO	Artemisia EO	Ferula EO		Diet	EO	Diet*EO
Gas production (mL)	188.97	154.52	144.82	227.84	162.40	158.88	19.05	0.21	0.01	0.67
Gas production rate (%/h)	0.068	0.072	0.069	0.063	0.072	0.058	0.009	0.54	0.66	0.84
Lag time (h)	0.47	0.34	0.20	0.21	0.34	0.00	0.20	0.38	0.44	0.80
OMD (%)	83.13[b]	88.90[ab]	92.64[a]	91.60[a]	89.23[ab]	88.71[ab]	1.70	0.26	0.19	0.01

1. Diet containing 40% concentrate and 60% forage, 2. Diet containing 60% concentrate and 40% forage, 3. Without essential oil, 4. Artemisia essential oil, and 5. Ferula essential oil.

[ab] Different superscript letters within the same row indicate significant differences ($P<0.05$).

تولید گاز در این آزمایش در اثر افزودن اسانس احتمالاً نشانه تأثیر مواد مؤثره اسانس‌ها بر جمعیت میکروبی شکمبه است. بدین صورت که مواد مؤثره از فعالیت گوارشی میکروب‌ها جلوگیری کرده و هضم خوراک کاهش می‌یابد (Ultee *et al.*, 1999).

جدول ۶ میانگین آثار اصلی (جیره و اسانس) و جدول ۷ برهم‌کنش اثر اسانس درمنه کوهی و اسانس صمغ آنغوزه را در جیره‌های دارای نسبت متفاوت علوفه به کنسانتره بر فراسنجه‌های تخمیر نشان می‌دهند. نوع جیره‌ها بر غلظت نیتروژن آمونیاکی تأثیر داشت ($P<۰/۰۱$)، به طوری‌که جیره‌های دارای ۴۰ درصد کنسانتره غلظت نیتروژن آمونیاکی بیشتری (۴/۸۴ میلی‌گرم در دسی‌لیتر) نسبت به جیره‌های دارای ۶۰ درصد کنسانتره (۳/۳۸ میلی‌گرم در دسی‌لیتر) داشتند (جدول ۶). ناهمسو با این نتایج، محققین گزارش نمودند که غلظت نیتروژن آمونیاکی در جیره‌های دارای کنسانتره بیشتر در مقایسه با جیره‌های دارای کنسانتره کمتر افزایش یافت (Manatbay *et al.*, 2014). غلظت پایین نیتروژن آمونیاکی در جیره‌های دارای ۴۰ درصد کنسانتره احتمالاً به علت تجزیه‌پذیری کمتر پروتئین در pH کم و یا گوارش‌پذیری کمتر پروتئین علوفه در مقایسه با کنسانتره است (Ramos *et al.*, 2009). برهم‌کنش اسانس و جیره بر غلظت نیتروژن آمونیاکی و pH معنی‌دار نبود (جدول ۷).

افزودن اسانس سبب کاهش میانگین غلظت نیتروژن آمونیاکی شد، به طوری‌که غلظت نیتروژن آمونیاکی در جیره‌های بدون اسانس ۵/۲۴ میلی‌گرم در دسی‌لیتر و در جیره‌های دارای اسانس درمنه کوهی و یا اسانس صمغ آنغوزه به ترتیب ۳/۲۲ و ۳/۸۶ میلی‌گرم در دسی‌لیتر بود (جدول ۶). همسو با این نتایج، استفاده از پودر آنغوزه خشک شده (نعمتی شیرزی و همکاران، ۱۳۹۱) و افزودن پی سایمن سبب کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی شد. کاهش تولید نیتروژن آمونیاکی به دنبال افزودن اسانس در آزمایش حاضر، می‌تواند به دلیل مهار باکتری‌هایی باشد که آمونیاک زیادی تولید می‌کنند و یا به علت جلوگیری از دآمیناسیون اسیدهای آمینه به وسیله باکتری‌های پروتئولایتیک شکمبه باشد (Benchaar *et al.*, 2008).

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۶- میانگین حداقل مربعات آثار اصلی بر فراسنجه‌های تخمیر

Table 6. Least squares means of main effects on fermentation parameters

Parameters	Diet 40:60[1]	Diet 60:40[2]	Without EO[3]	Artemisia EO[4]	Ferula EO[5]
pH	6.19	6.25	6.20	6.22	6.25
N- ammonia (mg/dL)	4.84	3.38	5.24	3.22	3.86
Total VFA (mM)	85.86	75.90	78.22	73.18	70.25
Acetate (%)	67.31	65.12	63.19	67.51	67.94
Propionate (%)	15.76	17.37	20.40	14.81	14.50
Butyrate (%)	9.44	10.13	9.83	10.02	9.50
Isobutyrate (%)	2.14	1.94	1.56	2.26	2.29
Valerate (%)	2.01	2.06	2.11	2.09	1.89
Isovalerate (%)	3.34	3.37	2.90	3.29	3.89

1. Diet containing 40% concentrate and 60% forage, 2. Diet containing 60% concentrate and 40% forage, 3. Without essential oil, 4. Artemisia essential oil, and 5. Ferula essential oil.

جدول ۷- اثر اسانس درمنه و اسانس آنغوزه در جیره‌های دارای سطوح متفاوت کنسانتره بر فراسنجه‌های تخمیر

Table 7. Effect of *Ferula assafoetida* and *Artemisia aucheri* essential oils in diets containing different levels of concentrate on fermentation parameters

Parameters	Diet 40:60[1]			Diet 60:40 [2]			SEM	*P*-value		
	Without EO [3]	Artemisia EO [4]	Ferula EO [5]	Without EO	Artemisia EO	Ferula EO		Diet	EO	Diet*EO
pH	6.21	6.15	6.22	6.19	6.29	6.28	0.09	0.45	0.89	0.72
N- ammonia (mg/dL)	5.47	4.13	4.92	5.00	2.31	2.81	0.40	<0.01	<0.01	0.16
Total VFA (mM)	82.99	68.23	95.78	72.66	76.27	77.47	6.22	0.17	0.07	0.09
Acetate (%)	63.17	67.31	68.34	62.38	66.92	65.17	0.84	0.05	<0.01	0.45
Propionate (%)	19.97	14.28	14.94	20.60	15.72	16.45	0.61	<0.01	<0.01	0.16
Butyrate (%)	8.56^{b}	10.42^{a}	9.32^{ab}	11.01^{a}	9.90^{a}	9.64^{ab}	0.39	0.04	0.27	<0.01
Isobutyrate (%)	2.83	2.65	2.16	1.53	1.88	2.41	0.28	0.41	0.04	0.21
Valerate (%)	2.04	2.33	1.66	2.17	1.92	2.11	0.22	0.75	0.50	0.18
Isovalerate (%)	3.43^{ab}	3.01^{ab}	3.55^{ab}	2.31^{b}	3.66^{ab}	4.23^{a}	0.34	0.80	0.03	0.03

1. Diet containing 40% concentrate and 60% forage, 2. Diet containing 60% concentrate and 40% forage, 3. Without essential oil, 4. Artemisia essential oil, and 5. Ferula essential oil.

^{ab} Different superscript letters within the same row indicate significant differences (P<0.05).

برهم‌کنش جیره و اسانس تأثیری بر غلظت کل اسیدهای چرب فرار، استات، پروپیونات، ایزوبوتیرات و والرات نداشت، در حالی‌که غلظت بوتیرات و ایزووالرات تحت تأثیر برهم‌کنش جیره و اسانس قرار گرفت (*P*<۰/۰۵) (جدول ۷). تیمار دارای جیره ۴۰ درصد کنسانتره و بدون اسانس کمینه و تیمار دارای جیره ۶۰ درصد کنسانتره و بدون اسانس بیشینه غلظت بوتیرات را به خود اختصاص دادند (جدول ۷). هم‌چنین، تیمار دارای جیره ۶۰ درصد کنسانتره و بدون اسانس کمینه غلظت و تیمار دارای جیره ۶۰ درصد کنسانتره و اسانس آنغوزه بیشینه غلظت ایزووالرات را داشتند. غلظت استات و پروپیونات و بوتیرات تحت تأثیر نوع جیره قرار گرفت (*P*<۰/۰۵)، به طوری‌که جیره‌های دارای ۴۰ درصد کنسانتره در مقایسه با جیره‌های دارای ۶۰ درصد کنسانتره، استات بیشتر (۶۷/۱۶ در برابر ۶۵/۴۹ درصد) و پروپیونات (۱۵/۲۷ در برابر ۱۷/۴۶ درصد) و بوتیرات (۹/۴۳ در برابر ۱۰/۱۸ درصد) کمتری داشتند (*P*<۰/۰۵). افزودن اسانس به جیره‌ها سبب افزایش غلظت استات (۶۲/۷۷ در برابر ۶۸/۱۰ درصد)، ایزوبوتیرات (۲/۱۸ در برابر ۱/۷۱ درصد) و ایزووالرات (۲/۸۷ در برابر ۳/۶۱ درصد) و کاهش غلظت پروپیونات (۲۰/۲۸ در برابر ۱۴/۷۵ درصد) شد (*P*<۰/۰۵) (جدول ۶).

www.SID.ir

Archive of SID

همسو با این نتایج، افزودن پی سایمن غلظت استات را افزایش و غلظت پروپیونات را کاهش داد (Okara, 2016). متابولیت‌های ثانویه گیاهان به دلیل اثر مستقیم بر آرکایی‌های شکمبه موجب تغییر نسبت اسیدهای چرب فرار و افزایش تولید پروپیونات می‌شوند (Van Nevel and Demeyer, 1977). پژوهش‌ها نشان داده که اسانس‌ها روی باکتری‌ها به صورت انتخابی عمل می‌کنند (Molero *et al.*, 2004). ویژگی هیدروفوبی اسانس‌ها این امکان را فراهم می‌کند که اسانس در ساختار دو لایه غشاء سلول باکتری وارد شده و با افزایش سیالیت و نفوذپذیری غشاء، در شیب یونی غشاء اختلال ایجاد کنند. سلول باکتری در این هنگام از پمپ یونی برای برقراری تعادل استفاده می‌کند که در این حالت مصرف انرژی سلول باکتری افزایش یافته و بنابراین سرعت رشد آن کم می‌شود. این تغییر سرعت رشد موجب تغییر تخمیر و الگوی اسیدهای چرب فرار می‌شود (Calsamiglia *et al.*, 2007).

اسیدهای چرب فرار منبع اصلی انرژی برای نشخوارکنندگان هستند. گاز تولیدی نتیجه تجزیه‌پذیری ماده آلی و تولید اسیدهای چرب فرار است (Getachew *et al.*, 1998). بنابراین عدم تأثیر برهم‌کنش نوع جیره و اسانس بر تولید گاز (جدول ۴) می‌تواند به علت عدم تأثیر برهم‌کنش نوع جیره و اسانس بر غلظت کل اسیدهای چرب فرار باشد. در جیره‌های دارای ۴۰ درصد کنسانتره، به دلیل این که بخش علوفه‌ای جیره در مقایسه با جیره‌های دارای ۶۰ درصد کنسانتره بیشتر است، زمینه برای رشد باکتری‌های سلولولایتیک فراهم می‌شود و از آنجایی که مهم‌ترین فرآورده نهایی این باکتری‌ها استات است، بنابراین در این جیره‌ها استات بالاتری تولید شده است.

جدول ۸ میانگین آثار اصلی (جیره و اسانس) و جدول ۹ برهم‌کنش اثر اسانس درمنه کوهی و اسانس صمغ آنغوزه در جیره‌های دارای نسبت متفاوت علوفه به کنسانتره بر جمعیت پروتوزوآ را نشان می‌دهند. نوع جیره بر جمعیت کل پروتوزوآ و جمعیت انتودنیوم اثر داشت ($P<۰/۰۵$)، و میانگین کل جمعیت پروتوزوآ در جیره‌های دارای ۴۰ درصد کنسانتره برابر ۴/۷۲ و در جیره‌های دارای ۶۰ درصد کنسانتره برابر ۴/۵۱ (لگاریتم در پایه ۱۰ به ازای گرم ماده هضم شده) بود. جمعیت انتودنیوم در جیره‌های دارای ۴۰ درصد کنسانتره برابر ۴/۶۷ و در جیره‌های دارای ۶۰ درصد کنسانتره برابر ۴/۴۸ (لگاریتم در پایه ۱۰ به ازای گرم ماده هضم شده) بود. اسانس باعث کاهش جمعیت کل پروتوزوآ و جمعیت انتودینیوم شد. میانگین جمعیت کل پروتوزوآ در جیره‌های بدون اسانس برابر ۴/۷۷ و در جیره‌های دارای اسانس درمنه کوهی و یا اسانس صمغ آنغوزه به ترتیب برابر با ۴/۵۳ و۴/۵۴ بود. همچنین میانگین جمعیت انتودینیوم در جیره‌های بدون اسانس برابر ۴/۷۴ و در جیره‌های دارای اسانس درمنه کوهی و یا اسانس صمغ آنغوزه به ترتیب برابر با ۴/۵۲ و ۴/۴۷ بود (جدول ۸). کاهش جمعیت کل پروتوزوآ در اثر استفاده از اسانس را می‌توان به تأثیر کاهشی اسانس‌ها بر غلظت نیتروژن آمونیاکی (جدول ۶) نسبت داد، چرا که پروتوزوآ با باکتری‌های تولید کننده آمونیاک همزیستی دارد (Takahashi *et al.*, 2005). فعالیت میکروبی شکمبه ممکن است تحت تأثیر متابولیت‌های ثانویه اسانس‌ها قرار گیرد، زیرا اسانس‌های گیاهی فعالیت ضد-پروتوزوآیی دارند (Benchaar and Greathead, 2011). درصد انتودینیوم در بیشتر حیوانات اهلی (حتی در جیره تمام علوفه) در دامنه ۹۹-۸۰ درصد است (Dehority, 2003). این می‌تواند دلیل بالا بودن جمعیت پروتوزوآی جنس انتودینیوم در بین دیگر جنس‌ها در آزمایش حاضر باشد. برهم‌کنش اسانس و جیره بر کل جمعیت پروتوزوآ و جنس‌های انتودینیوم، دیپلودینیوم و افریواسکولکس معنی‌دار نبود (جدول ۹).

همسو با نتایج این پژوهش، استفاده از عصاره درمنه (*Artemisia capillaris*) سبب کاهش جعیت پروتوزوآ شده است (Kim *et al.*, 2013). آثار ضد پروتوزوآیی اسانس‌ها به دلیل قابلیت آنها برای تشکیل کمپلکس‌های غیر قابل برگشت با کلسترول در غشاء سلولی پروتوزوآ است که باعث تجزیه غشاء و در نهایت مرگ سلول می‌شود (Min *et al.*, 2002). به طور کلی فعالیت ضدمیکروبی اسانس‌ها در نتیجه تأثیر ترکیبات مؤثره آنها بر فرآیندهای مرتبط با غشاء مانند انتقال الکترونی، گرادیان یونی، جابه‌جایی پروتئین‌ها، فسفریلاسیون و دیگر فعالیت‌های آنزیمی ذکر شده است (Dorman and Deans, 2000).

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۸- میانگین حداقل مربعات آثار اصلی (جیره و اسانس) جمعیت پروتوزوآ (لگاریتم در پایه ۱۰ به ازای گرم ماده هضمی)

Table 8. Least squares means of main effects on protozoa population (log10/g digesta)

Parameters	Diet 40:60[1]	Diet 60:40[2]	Without EO[3]	Artemisia EO[4]	Ferula EO[5]
Total protozoa population	4.72	4.51	4.77	4.53	4.55
Entodinium	4.67	4.48	4.74	4.52	4.47
Diplodinium	2.28	2.03	2.10	1.05	3.32
Ophrioscolex	2.49	1.47	2.26	1.63	2.05

1. Diet containing 40% concentrate and 60% forage, 2. Diet containing 60% concentrate and 40% forage, 3. Without essential oil, 4. Artemisia essential oil, and 5. Ferula essential oil.

جدول ۹- اثر اسانس درمنه و اسانس آنغوزه در جیره‌های دارای سطوح مختلف کنسانتره بر جمعیت پروتوزوآ (لگاریتم در پایه ۱۰ به ازای گرم ماده هضمی)

Table 9. Effect of *Ferula assafoetida* and *Artemisia aucheri* essential oils in diets containing different levels of concentrate on protozoa population (log10/g digesta)

Parameters	Diet 40:60 [1]			Diet 60:40 [2]			SEM	*P*-value		
	Without EO [3]	Artemisia EO [4]	Ferula EO [5]	Without EO	Artemisia EO	Ferula EO		Diet	EO	Diet*EO
Total protozoa population	4.81	4.63	4.71	4.74	4.43	4.37	0.08	<0.01	0.01	0.27
Entodinium	4.78	4.62	4.61	4.69	4.41	4.33	0.08	0.01	0.01	0.48
Diplodinium	2.10	1.10	3.65	2.10	1.00	3.00	0.87	0.73	0.07	0.92
Ophrioscolex	2.20	2.16	3.10	2.32	1.10	1.00	0.00	0.24	0.81	0.55

1. Diet containing 40% concentrate and 60% forage, 2. Diet containing 60% concentrate and 40% forage, 3. Without essential oil, 4. Artemisia essential oil, and 5. Ferula essential oil.

اثر اسانس درمنه کوهی و اسانس صمغ آنغوزه بر اسیدوز القاء شده در شرایط برون‌تنی در جدول ۱۰ نشان داده شده است. استفاده از اسانس درمنه کوهی و اسانس صمغ آنغوزه در مقایسه با تیمار اسیدوز کنترل نشده سبب کاهش تولید گاز و افزایش pH شد ($P<۰/۰۱$). در اسیدوز القاء شده، گلوکز افزوده شده به سرعت به وسیله میکروب‌های شکمبه تخمیر شده که نتیجه آن، به هم خوردن شرایط معمول تخمیر، تغییر ویژگی‌های تخمیری ماده خوراکی و مقاومت متفاوت آن‌ها در شرایط اسیدوز القاء شده است. این تغییرات، تخمیر را نسبت به شرایط تخمیر طبیعی تحت تأثیر قرار می‌دهد و سبب کاهش pH نسبت به شرایط تخمیر طبیعی می‌شود (یلچی و همکاران، ۱۳۹۶). در آزمایش حاضر، به منظور ممانعت از بروز اسیدوز از آنتی‌یوتیک پنی‌سیلین استفاده شد. استفاده از این آنتی‌بیوتیک (تیمار شاهد مثبت) موجب افزایش pH در مقایسه با تیمار اسیدوز کنترل نشده شد ($P<۰/۰۵$)، که این نتیجه نشان می‌دهد آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین توانسته است باکتری‌های تولیدکننده اسید لاکتیک را مهار و از بروز اسیدوز جلوگیری کند. هر دو اسانس در مقایسه با تیمار شاهد مثبت، pH بالاتری داشتند. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که اسانس‌ها توانستند از اسیدوز جلوگیری کنند. تیمول اثر ممانعت‌کننده بر تولید لاکتات به وسیله *استرپتوکوکوس بوویس* دارد (Dorman and Deans, 2000).

نتیجه‌گیری کلی

بر اساس نتایج این مطالعه، بیشتر فراسنجه‌های مورد بررسی تحت تأثیر برهم‌کنش نسبت کنسانتره به علوفه جیره و نوع اسانس قرار نگرفت، گرچه افزودن اسانس درمنه و اسانس آنغوزه به جیره تولید گاز، جمعیت پروتوزوآ، غلظت نیتروژن آمونیاکی و پروپیونات را کاهش و غلظت استات را افزایش داد. هم‌چنین، اسانس درمنه و اسانس آنغوزه توانایی جلوگیری از بروز اسیدوز در شکمبه در شرایط برون‌تنی را داشتند. با توجه به کاهش جمعیت پروتوزوآ و غلظت نیتروژن آمونیاکی و جلوگیری از وقوع اسیدوز، هر دو اسانس باعث بهبود تخمیر شکمبه شدند. مطالعه اثر دو اسانس بر جلوگیری از اسیدوز در شرایط درون‌تنی ضروری است.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱۰- اثر اسانس درمنه و اسانس صمغ آنغوزه بر اسیدوز القاء شده در شرایط برون‌تنی

Table 10. Effect of *Ferula assafoetida* and *Artemisia aucheri* essential oils on *in vitro* acidosis induction

	Experimental treatments[1]						
Parameters	1	2	3	4	5	SEM	*P*-value
pH	6.24[a]	4.85[d]	5.27[c]	5.50[b]	5.54[b]	0.04	<0.01
Gas production (mL)	37.70[b]	54.57[a]	37.53[b]	42.77[b]	40.90[b]	2.04	<0.01

[1] Experimental treatments included: 1. Control (100 mg barley straw), 2. Uncontrolled acidosis (100 mg barley straw + 1 g glucose), 3. Positive control (100 mg barley straw + 1 g glucose + penicillin), 4. Uncontrolled acidosis containing *Ferula assafoetida* EO, and 5. Uncontrolled acidosis containing *Artemisia aucheri* EO.

[ab] Different superscript letters within the same row indicate significant differences ($P<0.05$).

فهرست منابع

نعمتی شیرزی ف.، روزبهان ی.، کریمی ترشیزی م. ا.، و رضایی چ. ۱۳۹۱. بررسی اثر برخی گیاهان دارویی بر پارامترهای هضم شکمبه‌ای در شرایط آزمایشگاهی. علوم دامی ایران، ۴۳: ۱۹۳-۲۰۶.

یلچی ط.، تیموری یانسری ا.، رضایی م.، و چاشنی‌دل ی. ۱۳۹۶. تعیین قابلیت انحلال و توانایی تولید اسید برخی مواد خوراکی و بررسی تخمیر برون تنی آنها در شرایط طبیعی و اسیدوز القاء شده. پژوهش‌های تولیدات دامی، ۱۶: ۱۱۱-۱۲۰.

Araujoa R. C., Piresa A. V., Mourãoa G. B., Abdallab A. L and Sallamc S. M. A. 2011. Use of blanks to determine *in vitro* net gas and methane productionwhen using rumen fermentation modifiers. Animal Feed Science and Technology, 166: 155-162.

Benchaar C., McAllister T. A. and Chouinard P. Y. 2008. Digestion, ruminal fermentation, ciliate protozoal populations, and milk production from dairy cows fed cinnamaldehyde, quebracho condensed tannin, or Yucca schidigera saponin extracts. Journal of Dairy Science, 91: 4765-4777.

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.

British Pharmacopoeia. 1998. Vol. I, British Pharmacopoeia l Commission, The Stationery Office, London, pp. 570-571.

Broderick 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.

Calsamiglia S., Busquet M., Cardozo P. W., Castillejos L. and Ferret A. 2007. Invited review: Essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. Journal of Dairy Science, 90: 2580-2595.

Cardozo P. W., Calsamiglia S., Ferret A. and Kamel C. 2005. Screening for the effects of natural plant extracts at different pH on *in vitro* rumen microbial fermentation of a high-concentrate diet for beef cattle. Journal of Animal Science, 83: 2572-2579.

Dehority B. A. 2003. Rumen Microbiology. British Library Cataloguing in Publication Data.

Dorman H. J. D. and Deans S. G. 2000. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. Journal of applied microbiology, 88: 308-316.

Getachew G., Blümmel M., Makkar H. P. S. and Becker K. 1998. *In vitro* gas measuring techniques for assessment of nutritional quality of feeds. Animal Feed Science and Technology, 72: 261-281.

Grant R. and Kononoff P. J. 2007. Feeding to maximize milk protein and fat yields. Neb Guide. University of Nebraska, Lincoln. USA.

Hutton P. G., Nagaraja T. G., White C. L. and Vercoe P. E. 2010. Screening plants for the antimicrobial control of lactic acidosis in ruminant livestock. In: Vercoe, P.E., Makkar H.P.S., Schlink A.C. (Eds.), *In vitro* screening of plant resources for extra nutritional. Attributes in Ruminants: Nuclear and Related Methodologies. IAEA, Dordrecht, Netherlands, pp. 159-189.

Isman M. B. 2000. Plant essential oils for pest and disease management. Crop Protection, 19: 603-608.

Kim E. T., Moon Y. H., Min K. S., Kim C. H., Kim S. C., Ahn S. K. and Lee S. S. 2013. Changes in microbial diversity, methanogenesis and fermentation characteristics in the rumen in response to medicinal plant extracts. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences, 26: 1289-1294.

Manatbay B., Cheng Y., Mao S. and Zhu W. 2014. Effect of gynosaponin on rumen *in vitro* methanogenesis under different forage-concentrate ratios. Journal of Animal Science, 27: 1088-1097.

www.SID.ir

Archive of SID

McDonald I. 1981. A revised model for the estimation of protein degradability in the rumen. Journal of Agriculture Science, 96: 251-252.

Menke K. H. and Steingass H. 1988. Estimation of energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* production using rumen fluid. Journal of Animal Research and Development, 28: 7-55.

Min B. R., Attwood G. T., Reilly K., Sun W., Peters J. S., Barry T. N. and McNabb W. C. 2002. Lotus corniculatus condensed tannins decrease *in vivo* populations of proteolytic bacteria and affect nitrogen metabolism in the rumen of sheep. Canadian Journal of Microbiology, 48: 911-921.

Molero R., Ibara M., Calsamiglia S., Ferret A. and Losa R. 2004. Effects of a specific blend of essential oil compounds on dry matter and crude protein degradability in heifers fed diets with different forage to concentrate ratios. Animal Feed Science and Technology, 114: 91-104.

NRC. 2001. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7th ed. National Academy Press, Washington, DC. USA.

Okara E. P. 2016. Comparative evaluation of the effects of whole essential oils and their active constituent compounds on the biohydrogenation of polyunsaturated fatty acids and fermentation characteristics of rumen microbes *in vitro*. Phd thesis. University of Essex. UK.

Ottenstein D. M. and Bartley D. A. 1971. Separation of free acids C2–C5 in dilute aqueous solution column technology. Journal of Chromatographic Science, 9: 673-681.

Ramos S., Tejido M. L., Martínez M. E., Ranilla M. J. and Carro M. D. 2009. Microbial protein synthesis, ruminal digestion, microbial populations, and nitrogen balance in sheep fed diets varying in forage-to-concentrate ratio and type of forage. Journal of Animal Science, 87: 2924-2934.

Sachan J., Kumar R., Kumar V. and Roy D. 2013. Screening of condiments and spices as potential feed additives using *in vitro* gas production test. Indian Veterinary Journal, 90: 125-126.

Takahashi J., Nwenya B., Santoso B., Sar C., Umetsu K., Kishimoto T., Nishizaki K., Kimura K. and Hamamoto O. 2005. Mitigation of methane emission and energy recycling in animal agricultural systems. Asian-Australian Journal of Animal Science, 18: 1199-1208.

Talebzadeh R., Alipour D., Saharkhiz M. J., Azarfar A. and Malecky M. 2012. Effect of essential oils of Zataria multiflora on in vitro rumen fermentation, protozoal population, growth and enzyme activity of anaerobic fungus isolated from Mehraban sheep. Animal Feed Science and Technology, 172: 115-124.

Ultee A., Kets E. P. W. and Smid E. J. 1999. Mechanisms of action of carvacrol on the food-borne pathogen Bacillus cereus. Applied Environmental Microbiology, 65: 4606-4610.

Van Nevel C. J. and Demeyer D. I. 1977. Effect of monensin on some rumen fermentation parameters. Annales de Recherches Veterinaries, 10: 338-340.

Vasta V., Aouadi D., Brogna D. M. R., Scerra M., Luciano G., Priolo A. and Ben Salem H. 2013. Effect of the dietary supplementation of essential oils from rosemary and artemisia on muscle fatty acids and volatile compound profiles in Barbarine lambs. Meat Science, 95: 235-241.

Velkovic J. N, Pavloovic A. N., Mitic S. S., Tosic S. B., Stojanovic G. S., Kalicanin B. M, Stanovic D. M, Stonkovic M. B., Mitic M. N. and Brcanovic J. M. 2013. Evaluation of individual phenolic compounds and antioxidant properties of black, green, herbal and fruit tea infusions consumed in Serbia: Spectrophotometrical and electrochemical approaches. Journal of Food and Nutrition Research, 52: 12-24.

Wallace R. J. 2004. Antimicrobial properties of plant secondary metabolites. Proceedings of the Nutrition Society, 63: 621-629.

www.SID.ir

Archive of SID

Animal Production Research

Vol. 9, No. 3, 2020 (71-83)

University of Guilan

Research paper

Interaction of *Ferula assafoetida* and *Artemisia aucheri* essential oils with concentrate level of diet on *in vitro* fermentation kinetic and acidosis induction

S. Hasani[1], F. Fatahnia[2*], G. Taasoli[3], S. Kargar[4], F. Raouf Fard[5]

1. Graduated MSc. in Animal Nutrition, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ilam University, Ilam, Iran
2. Associate Professor, Assistant Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ilam University, Ilam, Iran
3. Assistant Professor, Department of Animal Science, Chahatmahal Bakhtiari Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Shahrekord, Iran
4. Associate Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran
5. Assistant Professor, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Shiraz Universit, Shiraz, Iran

(Received: 15-10-2019 – Accepted: 06-02-2020)

Abstract

This experiment was aimed to study the effect of *Ferula assa foetida* essential oil or *Artemisia aucheri* essential oil in diets containing different concentrate ratios (40 and 60% of DM) on *in vitro* fermentation kinetic and acidosis induction. Essential oils were added at 0.05% of diet DM. Gas production parameters, pH, N-ammonia and volatile fatty acids (VFA) concentrations and total protozoa population were measured and organic matter digestibility (OMD) was estimated. The effect of *Ferula assa foetida* and *Artemisia aucheri* essential oils on prevention of *in vitro* acidosis induction was measured. The results showed that the interaction of diets and essential oils had no significant effect on *in vitro* gas production parameters, N-ammonia concentration, pH, total VFA, acetate, propionate and valerate concentrations, total protozoa population, *Entodinium*, *Diplodinium*, and *Ophryoscolex* population. The interaction of diets and essential oils on estimated OMD was significant (92.64 *vs*. 83.1 %, $P<0.05$), and diet containing low concentrate level without essential oils had the lowest estimated OMD. Essential oils reduced gas production, total protozoa population and N-ammonia concentration ($P<0.05$). Results of Ferula and Artemisia essential oils on prevention of *in vitro* acidosis induction showed that both essential oils prevent acidosis induction. It was concluded that Ferula and Artemisia essential oils improved rumen fermentation.

Keywords: Plant essential oil, Acidosis induction, Fermentation parameters, Concentrate to forage ratio

[*]Corresponding author: ffatahnia@yahoo.com

doi: 10.22124/ar.2020.14543.1448

www.SID.ir