

شماره ۱۲۲، بهار ۱۳۹۸

صص: ۲۸-۱۲

مطالعه اثرات سطوح مختلف پودر دانه زیره و رازیانه بر تولید گاز

و فراسنجه‌های تخمیر شکمبه‌ای در جیره‌های با کنسانتره زیاد به روش آزمایشگاهی

مهرداد تقی زاده

دانشجوی دکتری تغذیه دام دانشگاه زابل

مصطفی یوسف الی

(نویسنده مسئول) دانشیار گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه زابل.

همیدرضا میرزا ایی

دانشیار گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه زابل

آرش آذرفر

دانشیار گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه لرستان

ایوب عزیزی

استادیار گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه لرستان

تاریخ دریافت: مرداد ۱۳۹۶ تاریخ پذیرش: اردیبهشت ۱۳۹۷

شماره تماس نویسنده مسئول: ۰۹۱۲۵۲۰۲۹۱۰

Email: m_yousefelahi@uoz.ac.ir

چکیده

این تحقیق به منظور مطالعه تأثیر سطوح مختلف پودر دانه زیره و رازیانه در جیره‌های با کنسانتره بالا به روش آزمایشگاهی (*in vitro*) صورت گرفت. تیمارهای آزمایشی عبارت بود از: ۱- شاهد (۲۵ درصد کنسانتره و ۲۵ درصد یونجه)، ۲- جیره شاهد مکمل شده با سه سطح مختلف پودر زیره و رازیانه (۸، ۱۲ و ۱۶ گرم در کیلوگرم ماده خشک خوراک) که در هر سطح نسبت‌های متفاوتی از رازیانه و زیره (۰٪/۷۵٪ زیره، ۵۰٪/۷۵٪ رازیانه + ۵۰٪/۷۵٪ زیره، ۰٪/۷۵٪ رازیانه + ۵۰٪/۷۵٪ زیره) تکرار شد، تیمارها با مایع شکمبه‌ای گرمخانه گذاری شد و سپس میزان تولید گاز اندازه گیری شد. فراسنجه‌های تولید گاز، قابلیت هضم مواد آلی، میزان تولید اسیدهای چرب کوتاه زنجیر تیمارها برآورد گردید. همچنین، غلظت نیتروژن آمونیاکی و pH تیمارها ۲۴ ساعت پس از انکوباسیون اندازه گیری شد. افزودن دانه زیره و رازیانه باعث افزایش معنی دار گاز تجمعی و پتانسیل تولید گاز (b) شد ($P < 0.05$ ، اما تأثیر معنی داری بین تیمارهای مختلف برای میانگین نرخ تولید گاز مشاهده نشد ($P > 0.05$). قابلیت هضم ماده آلی تیمارهای حاوی پودر دانه زیره و رازیانه به طور معنی داری بالاتر از تیمار شاهد بود ($P < 0.05$). میزان نیتروژن آمونیاکی با افزودن سطوح و نسبت‌های مختلف پودر زیره و رازیانه به طور معنی داری نسبت به تیمار شاهد کاهش یافت ($P < 0.05$). میانگین اسیدهای چرب زنجیر کوتاه در سطح ۸ گرم پودر زیره و رازیانه با افزایش معنی داری همراه بود ($P < 0.05$ ، ولی سطوح بالاتر پودر زیره و رازیانه (۱۲ و ۱۶ گرم در کیلوگرم ماده خشک) افزایش معنی داری در این فراسنجه نداشت. بر اساس نتایج این تحقیق می‌توان نتیجه گیری نمود که افزودن پودر زیره و رازیانه در جیره با کنسانتره زیاد می‌تواند باعث بهبود قابلیت تخمیر شکمبه، قابلیت هضم و افزایش تولید اسیدهای چرب فراد گردد که استفاده از ۸ گرم مخلوط پودر زیره و رازیانه با نسبت ۵۰٪/۵۰٪ رازیانه و ۵۰٪ زیره در کیلوگرم ماده خشک، بیشترین تأثیرات معنی دار را نشان داد.

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

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

Effect of Fennel and Cumin Seed Powder different levels on *in vitro* the gas production and on ruminal fermentation Characteristics of a high concentrate diet

By: Mehrdad Taghizadeh¹, Mostafa Yusef Elahi^{*2}, Hamidreza Miezaei³, Arash Azarfar⁴, Ayub Azizi⁵

¹ Graduate ph.D., Zabol University

² and ³ Associate Professor, Zabol University

⁴ Associate Professor, Lorestan University

⁵ Assistant Professor Lorestan University

Received: August 2017

Accepted: May 2018

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

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

مقدمه

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

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

¹ Anethole

² Fenchon

³ Estragole

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

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

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

مواد و روش‌ها

محل انجام آزمایش

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

تیمارهای آزمایشی

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

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

⁴ Paracymol

⁵ α - β Pinene

⁶ cumin aldehyde

⁷ α - β phellandrene

⁸ Eugenol

⁹ α -Terpineol

¹⁰ Myrcene



تجزیه شیمیایی جیره آزمایشی

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

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

جدول ۱- اجزا و ترکیب شیمیایی جیره پایه

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

*هر کیلو گرم از مکمل شامل ۱۹۰ گرم کلسیم، ۹۰ گرم فسفر، ۱۹ گرم منگنز، ۳ گرم مس، ۳ گرم آهن، ۲ گرم منیزیوم، ۳ گرم روی، ۱۰۰ میلی گرم کیالت، ۱۰۰ میلی گرم ید، ۱ میلی گرم سلنیوم، ۵۰۰۰۰ واحد بین المللی ویتامین A، ۱۰۰۰۰ واحد بین المللی ویتامین D_۳، ۱۰۰ میلی گرم ویتامین E بود.

آزمون تولید گاز و تعیین فراستنجه‌های تخمیر

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

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

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

$$100 \times \text{وزن نمونه اولیه (میلی گرم)} / \text{وزن بقایا (میلی گرم)} - وزن نمونه اولیه (میلی گرم) = \text{قابلیت هضم شکمبه ای ماده خشک}$$

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

$$\text{OMD} + 0.051\text{Ash} + 0.45\text{CP} = (\text{گرم در کیلو گرم}) \times 0.8893\text{GP}_{24}$$

$$\text{ME} = (\text{مکاژول در کیلو گرم ماده خشک}) \times 0.136\text{GP}_{24} + 0.057\text{CP} + 0.0029\text{CP}^2$$

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

$$0.022\text{GP}_{24} = (\text{میلی مول}) \text{ اسیدهای چرب زنجیر کوتاه} - 0.00425$$

در این روابط GP_{24} حجم گاز تولید شده در ۲۴ ساعت، ME انرژی قابل متابولیسم، Ash میزان خاکستر خام (گرم در ۱۰۰ گرم ماده خشک) و CP پروتئین خام (گرم در ۱۰۰ گرم ماده خشک) می باشد.

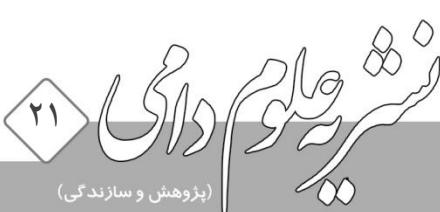
تجزیه و تحلیل آماری

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

حل گردید. محلول B جهت تنظیم pH محلول A بصورت قطره قطره روی آن افزوده و به کمک همزن مخلوط می شود تا pH محلول به روی ۶/۸ تنظیم شود. بزاق مصنوعی قبل از انجام آزمایش و به صورت تازه تهیه شده و قبل از افزودن به ویال ها، به میزان نیم ساعت با گاز دی اکسید کربن بی هوایی گردید. از هر تیمار آزمایشی میزان ۲۵۰ میلی گرم در ۶ تکرار درون بطری های شیشه ای ۱۰۰ میلی لیتری که از قبل شسته شده و در آون خشک گردیده بودند، ریخته شد. بلا فاصله به هر بطری شیشه ای میزان ۲۰ میلی لیتر بزاق مصنوعی و ۵ میلی لیتر مایع شکمبه (قبل از افزودن به بطری ها توسط گاز دی اکسید کربن به میزان نیم ساعت بی هوایی شده بود) افزوده شد. همه بطری ها به داخل بن ماری با دمای ۳۹ درجه سلسیوس انتقال داده شدند. گاز تولیدی در هر ویال در زمان های صفر، ۲، ۴، ۶، ۱۶، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت (Menke and Steingass ، 1988) به کمک دستگاه فشار سنج دیجیتال (شرکت مهندسی پزشکی رازی) ثبت گردید. در پایان، با استفاده از منحنی استاندارد اعداد فشار به حجم تبدیل شد. به منظور تعیین فراسنجه های تولید گاز از معادله $P = b(1 - e^{-ct})$ (Orskov and McDonald ، ۱۹۷۹) در این استفاده شد گاز تولیدی از بخش قابل تخمیر (میلی لیتر در ۲۵۰ میلی گرم ماده خشک خوراک)، C نرخ تولید گاز (درصد در ساعت)، t زمان انکوباسیون بر حسب ساعت و P گاز تولیدی (میلی لیتر) در زمان t می باشد.

اندازه گیری pH و غلظت نیتروژن آمونیاکی

پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون، سه ویال از هر تکرار از بن ماری خارج شده و پس از ثبت گاز تولیدی آنها، بلا فاصله پس از باز نمودن درب آنها، میزان pH هر ویال با استفاده از دستگاه pH متر (مدل ۷۴۴؛ شرکت Metrohm سوئیس) اندازه گیری شد. به منظور تعیین غلظت نیتروژن آمونیاکی، پس از سانتریفیوژ محتویات هر ویال (با ۲۰۰۰ دور در دقیقه RCF=۴۷۹) مدت ۵ دقیقه و در دمای ۴ درجه سانتی گراد، میزان ۵ میلی لیتر مایع شفاف رویی از آن برداشته شد و با یک میلی لیتر اسید کلرید ریک



نتایج و بحث

اثرات افودن تیمارها بر تولید گاز

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

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

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

P-value	SEM	تیمار														زمان (ساعت)
		۱۰	۹	۸	۷	۶	۵	۴	۳	۲	۱					
۰/۰۰۴	۰/۲۷	۳/۹ ^{abcd}	۳/۷ ^{bcd}	۳/۵ ^{cde}	۲/۸ ^e	۳/۸ ^{bcd}	۴ ^{abcd}	۴/۷ ^{ab}	۳ ^{de}	۴/۵ ^{abc}	۴/۸۹ ^a	۲				
۰/۰۰۱	۰/۴۷	۸/۷ ^{abcd}	۸/۱ ^{bcd}	۷ ^{de}	۷ ^{de}	۷/۴ ^{cde}	۷/۵ ^{cde}	۱۰/۴ ^a	۶/۸ ^e	۹ ^{abc}	۹/۷ ^{ab}	۴				
۰/۰۱۶	۰/۷۲	۱۵/۵ ^{ab}	۱۳/۳ ^{abcd}	۱۲/۳ ^d	۱۲/۵ ^{dc}	۱۲/۸ ^{bdc}	۱۲/۱ ^d	۱۶ ^a	۱۲/۸ ^{bdc}	۱۵/۳ ^{abc}	۱۴/۶ ^{abcd}	۶				
۰/۰۰۸	۰/۹۵	۲۰/۸ ^{ab}	۱۷/۹ ^{bc}	۱۶/۸ ^c	۱۸/۲ ^{bc}	۱۷/۹ ^{bc}	۱۷/۱ ^c	۲۲/۵ ^a	۱۸/۲ ^{bc}	۲۲/۳ ^a	۱۸/۲ ^{bc}	۸				
۰/۰۳	۱/۲۲	۲۸/۸ ^{abc}	۲۶/۹ ^{bc}	۲۴/۲ ^c	۲۶/۸ ^{bc}	۲۸ ^{abc}	۲۵/۵ ^c	۳۰/۳ ^{ab}	۲۸/۳ ^{abc}	۳۱/۹ ^a	۲۵/۵ ^c	۱۲				
۰/۰۶	۱/۴۱	۳۶/۸ ^{bc}	۳۶/۴ ^{bc}	۳۴/۶ ^{bc}	۳۶/۴ ^{bc}	۳۸/۲ ^{abc}	۳۵/۳۸ ^{bc}	۳۷/۹ ^{abc}	۳۹/۳ ^{ab}	۴۲/۲ ^a	۳۳/۱ ^c	۱۶				
۰/۰۱۶	۱/۴۵	۴۶/۲ ^{bc}	۴۸/۲ ^{ab}	۴۵/۹ ^{bc}	۴۷/۹ ^{ab}	۴۸/۵ ^{ab}	۴۶/۶ ^b	۴۷/۲ ^b	۵۰/۹ ^{ab}	۵۳/۱ ^a	۴۱/۲ ^c	۲۴				
۰/۰۱۳	۱/۴۲	۵۵/۸ ^{bc}	۵۷/۴ ^b	۵۵/۸ ^{bc}	۵۸/۱ ^{ab}	۵۶/۷ ^b	۵۵/۴ ^{bc}	۵۵/۸ ^{bc}	۶۰/۳ ^{ab}	۶۲/۹ ^a	۵۰/۹ ^c	۳۶				
۰/۰۲۱	۱/۴۶	۶۰/۹ ^{bcd}	۶۱/۱ ^{bed}	۶۱/۱ ^{bed}	۶۲/۸ ^{bc}	۶۲/۱ ^{bed}	۶۰/۱ ^{dc}	۶۲/۱ ^{bed}	۶۶/۱ ^{ab}	۶۸ ^a	۵۷/۲ ^d	۴۸				
۰/۰۱۶	۱/۵۲	۶۵/۲ ^c	۶۴/۷ ^c	۶۴/۱ ^c	۶۶/۴ ^{bc}	۶۶/۱ ^{bc}	۶۴/۲ ^c	۶۶/۱ ^{bc}	۷۱/۱ ^{ab}	۷۲/۳ ^a	۶۱/۴ ^c	۷۲				
۰/۰۱۸	۱/۵	۶۷/۷ ^{bc}	۶۶/۵ ^c	۶۵/۹ ^c	۶۸/۵ ^{abc}	۶۸/۶ ^{abc}	۶۶/۴ ^c	۶۸/۷ ^{abc}	۷۳/۲ ^{ab}	۷۴/۱ ^a	۶۴/۱۵ ^c	۹۶				

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

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

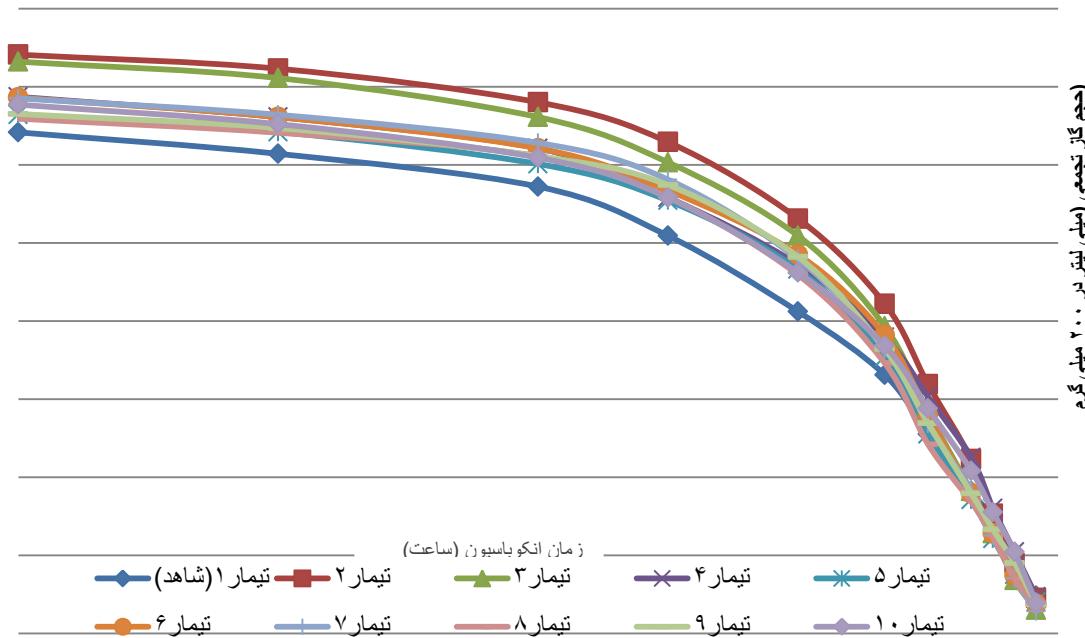
در تیمار فاقد هر گونه افروزنی (تیمار شاهد) مشاهده گردید. این نتایج با نتایج مطالعات Kilic و همکاران (۲۰۱۱) هم خوانی دارد. این محققین نشان دادند که افزودن اسانس دانه زیره به میزان ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ ppm به خوراک‌های متراکم و علوفه‌ای باعث افزایش میزان گاز تولید در شرایط آزمایشگاهی می‌گردد. از آنجایی که مقدار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

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

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

خوراک مفید بوده و می‌تواند برای قابلیت استفاده از نیتروژن خوراک کارساز باشد. در خصوص تاثیر رازیانه بر فراسنجه‌های تخمیری شکمبه، نتایج تحقیقات صورت گرفته نشان می‌دهد که استفاده از اسانس رازیانه به میزان ۱۰/۵ و ۱/۵ میلی لیتر در ۷۵ میلی لیتر مایع شکمبه بافری شده باعث افزایش معنی دار میزان گاز تجمعی در طول ۲۴ ساعت گردید (Sallam و همکاران، ۲۰۰۹) که موافق با نتایج این تحقیق می‌باشد. اما نتایج بعضی از تحقیقات ییانگر این بود که افزایش دوز مصرفی اسانس زیره باعث افزایش تولید گاز (در جیره‌ای با ۵۰٪ علوفه) گردید ولی این

نمودار ۱- مقایسه میانگین گاز تولیدی تیمارها در زمان‌های مختلف



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

اثرات افزودن تیمارها بر فراسنجه‌های تخمیر

با افزایش سطوح دانه زیره و رازیانه، در ثابت نرخ تولید گاز مشاهده نگردید ($P > 0.05$). این نتایج موافق نتایج ساکی و همکاران (۱۳۹۳) بود؛ به طوری که افزودن اسانس رازیانه باعث افزایش میزان پتانسیل تولید گاز گردید ولی با افزایش میزان

نتایج مربوط به تاثیر تیمارهای مختلف بر روی پتانسیل تولید گاز (b) و ثابت نرخ تولید گاز (c) در جدول ۳ نشان داده شده است. افزودن دانه زیره و رازیانه در همه سطوح و نسبت‌ها باعث افزایش معنی‌داری پتانسیل تولید شد ($P < 0.05$). اگرچه تاثیر معنی‌داری

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

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

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

مقایسه میانگین اسیدهای چرب زنجیر کوتاه تولید شده در طی انکوباسیون، همچنین مقایسه‌ی نیتروژن آمونیاکی، قابلیت هضم مواد آلی و انرژی قابل متابولیسم تفاوت معنی‌داری ($P < 0.05$) را در بین تیمارهای مختلف نشان داد (جدول ۳). بین میزان اسیدهای چرب زنجیر کوتاه با میزان هضم مواد و هم چنین با میزان تولید گاز رابطه مستقیم و خطی وجود دارد (Steingass و Menke، ۱۹۸۸). افزایش تولید گاز به مفهوم تجزیه بیشتر مواد آلی و تولید اسیدهای چرب بیشتر است. به دلیل افزایش گاز تولیدی حاصل از تیمارهای حاوی سطوح مختلف زیره و رازیانه میزان اسیدهای چرب فرار نیز افزایش می‌یابد. بیشترین میزان اسیدهای چرب کوتاه زنجیر متعلق به تیمار ۲ (۸ گرم پودر زیره و رازیانه با نسبت ۵۰ درصد) می‌باشد و با افزایش میزان پودر زیره و رازیانه میانگین اسیدهای چرب شکمبه نیز کاهش یافت نتایج سایر تحقیقات صورت گرفته نشان می‌دهد که میانگین کل اسیدهای چرب شکمبه با افزایش میزان انسانس‌های گیاهی کاهش می‌یابد (Macheboeuf و همکاران، ۲۰۰۸). مطابق با نتایج این تحقیق، افزودن ۱/۵ گرم از ترکیب انسانس (شامل زیره و رازیانه) به محیط کشت تخمیری باعث افزایش معنی‌دار میزان کل اسیدهای چرب زنجیر کوتاه از $116/2$ میلی مول به میزان $122/8$ میلی مول گردید (Castillejosa و همکاران، ۲۰۰۴). نتایج بعضی از تحقیقات بر روی سایر افزودنی‌های گیاهی دیگر نیز بیانگر افزایش معنی‌دار

جدول ۳- میانگین برخی فرآیندهای تخمیر در تیمارهای مختلف

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

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

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

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

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

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

در این تحقیق افروden سطوح مختلف پودر زیره را زیانه اثر معنی-داری بر pH شکمبه نداشت ($P > 0.05$). نتایج مربوط به تاثیر سطوح مختلف پودر زیره و رازیانه بر pH مایع شکمبه مطابق با نتایج تحقیقات بهرامی و همکاران (۱۳۸۹) است به طوری که این محققین تاثیر معنی-داری در نتیجه افروden دانه زیره و رازیانه در جیره‌های با کنسانتره بالا شاهده ننمودند.

نتیجه گیری

بر اساس نتایج به دست آمده در این تحقیق، بهترین سطح زیره و رازیانه در جیره‌های با کنسانتره زیاد، ۸ گرم و به نسبت ۵۰٪ رازیانه و ۵٪ زیره می‌باشد که باعث بهبود قابلیت تخمیر شکمبه، افزایش قابلیت هضم مواد آلی و میزان اسیدهای چرب زنجیر کوتاه و همچنین کاهش نیتروژن آمونیاکی و در نتیجه بهبود قابلیت استفاده از انرژی و پروتئین جیره می‌گردد. این اثراست مثبت می-تواند به دلیل ترکیبات موثره موجود در زیره و رازیانه باشد که سبب تغییر الگوی تخمیر شکمبه در جهت افزایش بازدهی تخمیر و بهبود راندمان استفاده از مواد مغذی باشد. پیشنهاد می‌شود عملاً امکان استفاده از این سطح و نسبت از پودر زیره و رازیانه در جیره با کنسانتره زیاد مورد استفاده قرار گیرد.

اسانس باعث کاهش جمعیت میکروبی شده و در نتیجه قابلیت هضم مواد انکوبه شده به طور معنی-داری کاهش یافته است. میزان نیتروژن آمونیاکی تیمار شاهد به طور معنی-داری بیشتر از تیمارهای آزمایشی است. این کاهش در میزان نیتروژن آمونیاکی در تیمارهای پودر زیره و رازیانه می‌تواند دلالت بر کاهش فعالیت پروتولیتیکی باکتری‌ها در شکمبه و در نتیجه کاهش تجزیه پروتئین و بازچرخش نیتروژن بین باکتری و پروتزوآی شکمبه باشد (Ivan و همکاران، ۲۰۰۰). همچنین، ترکیبات موثره گیاهان دارویی می‌توانند رشد سویه‌هایی از باکتری‌ها که مقدار زیادی نیتروژن آمونیاکی تولید می‌کنند مانند (کلستریدیوم استیک لاندی^{۱۱} و پپتواسترپتوكوکوس اتروبیوس^{۱۲}) را محدود کرده و باعث کاهش ازت آمونیاکی شوند (Mcintosh و همکاران، ۲۰۰۳). این نتایج موافق با نتایج تحقیق Sallam و همکاران (۲۰۰۹) بود. این محققین گزارش نمودند که افروden سه سطح اسانس رازیانه (0.05 ، $1/5$ میلی لیتر در 75 میلی لیتر مایع شکمبه بافری شده) به طور معنی-داری باعث کاهش میزان نیتروژن آمونیاکی گردید. همچنین، نتایج مخالف با نتایج تحقیق Jahani و همکاران (۲۰۱۴) می‌باشد. که اثر معنی-داری در نتیجه استفاده از اسانس رازیانه در کاهش میزان نیتروژن آمونیاکی مشاهده ننمودند اگر چه افروden اسانس زیره به طور معنی-داری سبب کاهش معنی-دار نیتروژن آمونیاکی نسبت به تیمار شاهد گردید که این محققین دلیل این کاهش معنی-دار در میزان نیتروژن آمونیاکی را کاهش فعالیت پروتولیتیکی باکتری‌ها عنوان نموده‌اند. Busquet و همکاران (۲۰۰۶) نشان دادند که برخی از اسانس‌های گیاهی نظری اسانس رازیانه و جزء اصلی آن (آنول) به طور قابل توجهی غلظت ازت آمونیاکی را در غلظت‌های بالا مهار می‌کند، اما اثراست در دوزهای متوسط در خط مرزی بوده و در دوزهای پایین وجود ندارد. استفاده از غلظت‌های بالای اسانس (بیشتر از 0.2 گرم در کیلو گرم ماده خشک) باعث کاهش تعداد پروتزوآهای شکمبه و در نتیجه کاهش فعالیت پروتولیتیک و دامیناسیون شکمبه و کاهش غلظت ازت آمونیاکی می‌گردد و غلظت‌های

^{۱۱}*Clostridium sticklandii*

^{۱۲}*Peptostreptococcus anaerobius*

منابع

- AOAC. (2000). Official Methods of Analysis. 17th ed. Association of Official Analytical Chemists, Gaithersburg, MD.
- Benchaar, C., Chaves, A.V., Fraser, G.R., Wang, Y., Beuchemin, K.A. and McAllister T.A. (2007). Effects of essential oils and their components on *in vitro* rumen microbial fermentation. *Canadian Journal of Animal Science*. 87: 413-419
- Benchaar, C. and Greathead, H. (2011). Essential oils and opportunities to mitigate enteric methane emissions from ruminants. *Animal Feed Science and Technology*. 166: 338-355.
- Broderick, G. and Kang, J. H. (1980). Automated simultaneous determination of ammonia and total amino acids in ruminal fluid and *in vitro* media. *Journal of Dairy Science*, 63: 64-75.
- Busquet, M., Calsamiglia, S., Ferret, A., and Kamel, C., (2006). Plant extracts affect *in vitro* rumen microbial fermentation. *Journal of Dairy Science*. 89: 761-771.
- Cardozo, P.W., Calsamiglia, S., Ferret, A. and Kamel, C. (2014). Effects of alfalfa extract anise, capsicum and a mixture of cinnamaldehyde and eugenol on ruminal fermentation and protein degradation in beef heifers fed a high concentrate diet. *Journal of Animal Science*. 84: 2801-2808.
- Castillejosa, L., Calsamiglia, S., Ferreta, A. and Losa. R. (2005). Effects of a specific blend of essential oil compounds and the type of diet on rumen microbial fermentation and nutrient flow from a continuous culture system. *Animal Feed Science and Technology*. 119: 29-41
- Jahani-Azizabadi, H., Danesh Mesgaran, M., Vakili, A. R. and Rezayazdi, K. 2014. Effect of some plant essential oils on *in vitro* ruminal methane production and on fermentation characteristics of a mid-forage diet. *Journal of Agriculture Science Technology*. 16: 1543-1554.
- امین پور، ر.، و جعفری، ا. (۱۳۸۷). زیره سبز. نشریه ترویجی سازمان جهاد کشاورزی استان اصفهان بهرامی، غ.، دانش مسگران، م. و وکیلی، س. (۱۳۸۹). تاثیر انسان‌های گیاهی بر بار اسیدی مایع شکمبه گوسفند در شرایط برون تنی. چهارمین کنگره علوم دامی ایران. صفحات: ۲۱۰-۲۱۴
- فریبور، ف.، تربتی نژاد، ن.، حسینی، س. و جعفری، ا. (۱۳۹۲). تاثیر پودر دانه شبیله به عنوان افزودنی خوراکی در جیره، بر خصوصیات تخمیر شکمبه، قابلیت هضم، عملکرد پروار، کیفیت گوشت و برخی متابولیت‌های خون گوسفند. رساله دکتری تغذیه دام، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
- ساکی، س.، وکیلی، س. و دانش مسگران، م. (۱۳۹۳). اثر انسان‌های گیاهی کاج و اکالیپتوس بر فراستجه‌های تولید گاز خوراک‌های دانه‌ای در شرایط آزمایشگاهی. ششمین کنگره علوم دامی ایران - دانشگاه تبریز
- سجادیان، م.، دانشگران، م.، وکیلی، ع.ر. و جهانی عزیزآبادی، ح. (۱۳۸۹). تاثیر انسان‌برخی از چاشنی‌های و دانه گیاهان دارویی بر فراستجه‌های تولید گاز علف خشک یونجه در شرایط آزمایشگاهی. چهارمین کنگره علوم دامی ایران - دانشگاه تهران
- حقیر السادات، ب.، برنارد، ف.، کلاتر، س. و شیخ‌ها، م. (۱۳۸۹). بررسی ترکیبات موثر و خواص آنتی اکسیدانی انسان‌گیاه دارویی زیره‌ی سیاه استان یزد. مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، دوره ۱۸ ، صفحات: ۲۹۱-۲۸۴
- مقدر، م.، ایرج منصوری، ع.، سالاری، ح. و فرهمند، آ. (۱۳۸۷). شناسایی ترکیبیهای شیمیایی و بررسی اثر ضد میکروبی انسان بذر زیره. فصلنامه علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران جلد ۲۵ ، شماره ۱ ، صفحات: ۲۰-۲۸
- نعمتی، م، هاشم زاده، ف. و اداوی، ظ. (۱۳۹۶). نقش گیاهان دارویی در تغذیه دام. اولین همایش ملی نقش گیاهان دارویی در اقتصاد مقاومتی، فریدونشهر، دانشگاه پیام نور مرکز فریدونشهر



- Jahani-Azizabadi, H., Danesh-Mesgaran,M., Vakili, A. R. and Heravi-Moussavi, A. R. (2009). Screening the activity of medicinal plants or spices on *In vitro* ruminal methane production. *Jurnal of Dairy Science*.92: 277-278.
- Hart, K. J., Yanez- Ruiz, D. R., Duval, S. M., McEwan, N. R. and Newbold, C. J. (2008). Plant extracts to manipulate rumen fermentation. *Animal Feed Science and Technology*. 147: 8-35
- Ivan, M., Neill, L., Foster, R., Alimon, R., Rode, L.M, and Entz , T. (2000). Effects of Isotricha, Dasytricha, Entodinium, and total fauna on ruminal fermentation and duodenal flow in wethers fed different diets. *Journal of Dairy Science*. 83: 776 – 787.
- Kamara, D.N., Agarwal , N. and Chaudhary, L.C, (2006). Inhibition of ruminal methanogenesis by tropical plants containing secondary compounds. International Congress Series, 1293: 156– 163.
- Khiaosaard, R., and Zebeli, Q. (2014). Meta-analysis of the effects of essential oils and their bioactive compounds on rumen fermentation characteristics and feed efficiency in ruminants. *Journal of Animal Science*.91:1819–1830.
- Kilic, U., Boga, M., Gorgulu., M., and Şahan, Z., (2011). The effects of different compounds in some essential oils on in vitro gas production. *Journal of Animal and Feed Sciences*. 20: 626–636.
- Macheboeuf, D., Morgavi, D.P., Papon, Y. Mousset, J.L. and Arturo-Schaan, M. (2008). Dose-response effects of essential oils on *In vitro* fermentation activity of the rumen microbial population. *Animal Feed Science and Technology*. 145: 335-350.
- Mao, H.L., Wang, J.K., Zhou, Y.Y. and Liu., J.X. (2010). Effects of addition of tea saponins and soybean oil on methane production, fermentation and microbial population in the rumen of growing lambs. *Livestock Science* 129: 56–62.
- Marten, G.C., and R.F. Barnes. (1980). Prediction of energy digestibility of forages with in vitro rumen fermentation and fungal enzymes systems. P 61-71. In Pidgen, W.J., C.C. Balch, and M. Graham, (ed.) standardization of Analytical Methodology for Feeds. International Development Research Center, Ottawa.
- Mcintosh, F., Williams, P., Losa, R., Wallace, R., Beever, D. and Newbold, C. (2003). Effects of essential oils on ruminal metabolism and their protein metabolism. *Applied and Environmental Microbiology*. 69: 5011-5014
- Menke, K. and Steingass H. (1988). Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and in vitro gas production using rumen fluid. *Animal Research and Development*, 28: 7- 55.
- Patra, A.K., Kamra, D.N. and Agarwal, N. (2010). Effects of extracts of spices on rumen methanogenesis, enzyme activities and fermentation of feeds *in vitro*. *Journal of Science Food Agriculture*. 90: 511-520.
- Ramakrishna, R.R., Platel, K. and Srinivasan, K. (2003). Invitro influence of species and spice-activeprinciples.on digestive Enzymes of rat pancreasand small intestine. *Nahrung*, 47: 408-412.
- Sallam, S.M.A., Bueno, S., Brigitte, I., Godoy, P. P.B., Vitti, P. and Abdalla, D. (2009). Investigation of potential new opportunities for plant extracts on rumen microbial fermentation *in vitro*. Zaragoza : CIHEAM / FAO / NAGREF. pp: 255-260 .
- Tekeli, A. Çelik, L. and Kutlu, H. (2007). Plant Extracts; a New Rumen Moderator in Ruminant Diets. *Tekirdag. Ziraat Fakultesi Dergisi Journal of Tekirdag Agricultural Faculty*.
- Van Soest, P.J., Robertson, J.B. and Levis, B.A. (1991). Method for dietary fiber, neutral detergent fiber, and non- starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*. 74: 3583-3597.
- Ørskov, E. R. and McDonald, I. (1979). The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *Journal of Agricultural Science*, 92: 499–503.