نشریه پژوهش‌های علوم دامی/ جلد ۲۴ شماره ۳/ سال۱۳۹۳

اثر گیاه خارمریم بر هضم‌پذیری و تخمیر میکروبی علوفه سیاه‌شور و ریخت شناسی پروتوزوآ در شتر تک‌کوهانه

ایران خدادادی[۱]، طاهره محمدآبادی[۲*]، مرتضی چاجی[۳] و محسن ساری[۲]

تاریخ دریافت: ۹۲/۰۹/۳۰ تاریخ پذیرش: ۹۳/۰۲/۰۹

[۱] دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم دامی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان
[۲] استادیارگروه علوم دامی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان
[۳] دانشیارگروه علوم دامی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان
*مسئول مکاتبه: Email: t.mohammadabadi@gmail.com

چکیده

این آزمایش به منظور مطالعه تاثیر افزودن گیاه خارمریم (۲۰، ٤٠ و ٦٠ میلی گرم در کیلوگرم) بر هضم‌پذیری و تخمیر میکروبی علوفه سیاه‌شور و گونه‌های پروتوزوآ در شتر تک‌کوهانه انجام گرفت. تخمیر و تولید گاز و فراسنجه‌های تخمیری با استفاده از تکنیک تولید گاز و قابلیت هضم به روش هضم دو مرحله‌ای با استفاده ازدو نفر شتر فیستوله شده اندازه‌گیری شد. برای بررسی پروتوزوآ، نمونه‌ها از محیط کشت برداشته شده و پس از رنگ‌آمیزی با محلول متیلن بلو، شمارش گونه‌های پروتوزوآ در محیط‌های مختلف انجام شد. آنالیز پروتوزوآ با استفاده از آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی صورت گرفت. نتایج بدست آمده نشان داد که افزودن خارمریم تا سطح ٦٠ میلی‌گرم اثر معنی‌داری بر افزایش پتانسیل تولید گاز علوفه سیاه‌شور داشت ($P<۰/۰۵$). میزان پارتیشنینگ فاکتور، توده میکروبی، راندمان توده میکروبی، ماده آلی واقعاً هضم شده و تجزیه دیواره سلولی در تیمارهای حاوی خارمریم نسبت به تیمار شاهد کاهش معنی‌داری نشان داد ($P<۰/۰۵$). غلظت نیتروژن آمونیاکی در تیمارهای حاوی خارمریم به طور معنی‌داری افزایش یافت ($P<۰/۰۵$). افزودن خارمریم باعث افزایش قابلیت هضم ماده خشک و الیاف نامحلول در شوینده خنثی نسبت به تیمار شاهد شد. جمعیت پروتوزوآ تحت تاثیر تیمارهای حاوی خارمریم کاهش معنی‌داری داشت ($P<۰/۰۵$). بر طبق نتایج تنها دو گونه *دیپلودینیوم کملی* و *اپیدینیوم ایکواداتوم* در این آزمایش مشاهده گردید. بنابراین، استفاده از گیاه خارمریم باعث بهبود ارزش تغذیه‌ای علوفه سیاه‌شور در شتر تک‌کوهانه شد.

واژگان کلیدی: پروتوزوآ، خارمریم، سیاه‌شور، شتر تک‌کوهانه، هضم‌پذیری

مقدمه

حدود ٢٦ خانواده از گونه‌های شورپسند در ایران شناسایی شده، که بیش از ۷۰ درصد آنها متعلق به تیره اسفناج می‌باشند (رضوانی‌مقدم و کوچکی ۲۰۰۳). عوامل زیادی بر ترکیب شیمیایی و ارزش غذایی گیاهان شورزیست موثر هستند (ال‌شاتناوی ۲۰۰۳). با پیشرفت

بلوغ گیاهان، مواد فیبری و خاکستر افزایش یافته در حالی که انرژی و پروتئین خام کاهش می‌یابد (کندیل و ال‌شاعر ۱۹۸۸). بنابراین بیشتر گیاهان شورزیست در فصول مرطوب حاوی مواد مغذی هستند و می‌توانند احتیاجات نگهداری حیوانات را تامین کنند (ال‌شاعر ۲۰۰٦). اما در تابستان و پاییز (فصل خشک) لازم است با مواد غذایی دیگر به ویژه با منابع دارای انرژی، مکمل شوند (ال‌شاعر ۱۹۹۷ و عتیق اله ۲۰۰۲).

سیاه‌شور با نام علمی *suaeda fruticosa*، متعلق به تیره اسفناج (*Chenopodiaceae*) و جنس *Suaedeae* می‌باشد (جوری و مهدوی ۱۳۸۸). سیاه‌شور در مقایسه با سایر گیاهان شورزیست، حاوی کمترین خاکستر و سیلیس و بالاترین عصاره اتری، کلسیم، سدیم، پتاسیم و منیزیم بوده و برای گوسفند خوشخوراک است (ال‌شاعر ۱۹۸۱). متابولیت‌های ثانویه موجود در آن شامل تانن، فلاونوئیدها، آلکالوئیدها، کومارین، استروئیدها و ساپونین می‌باشند (خان وبنو ۲۰۱۱). میزان اسیدهای چرب اشباع و غیر اشباع در دانه سیاه‌شور، به ترتیب ۲۵/۷۵ و ۷۳/٦۱ درصد است. پالمتیک (۱۷/۰٦ درصد) و استئاریک (٤/٦۱ درصد) بیشترین مقدار اسیدهای چرب اشباع و لینولئیک اسید (۷۲/۰۸ درصد) بخش اعظم اسیدهای چرب غیر اشباع آن را تشکیل می‌دهد (وبر و همکاران ۲۰۰۷).

گیاهان دارویی و عصاره آن‌ها به دلیل اثرات ضد میکروبی (بورت ۲۰۰٤) باعث دستکاری میکروفلورای دستگاه گوارش، تنظیم تخمیر شکمبه و بهبود استفاده از مواد مغذی در دام می‌شوند (پاترا و ساکسینا ۲۰۱۰). از جمله گیاهان دارویی، خارمریم با نام علمی *Silybum marianum (L.)* بوده که در رده‌بندی گیاهی در خانواده کاسنی (*Astraceae*) قرار دارد. خارمریم بومی مدیترانه است و امروزه در سرتاسر دنیا از اروپا تا آسیا و از آفریقا تا آمریکای شمالی گسترش پیدا کرده است. در ایران در مناطق گنبد کاووس، دره هراز، دشت مغان، ملاثانی، شوش، حمیدیه، رامهرمز، ایذه و کازرون پراکندگی دارد (فلاح حسینی و همکاران ۱۳۸۳). عصاره خشک آن حاوی ۱ تا ٤ درصد سیلی‌مارین که شامل فلاونوییدها از جمله سیلیبین A و B، سیلی‌دیانین، سیلی‌کریستین و دی‌هیدروسیلیبین است (اسکولز و همکاران ۱۹۹۷). همچنین بذر آن حاوی اسیدهای چرب (۲۰ تا ۳۰ درصد)، پروتئین (۲۵ تا ۳۰ درصد)، توکوفرول، استرول و موسیلاژ است (اهوازی و همکاران ۱۳۸۹). محققان گزارش کردند که گیاه خارمریم حاوی فنول و تانن نیز می‌باشد (مکرم‌شاه و همکاران ۲۰۱۱).

بر طبق آزمایشات محققان، فعالیت سلولیتیک شکمبه شترسانان بالا می‌باشد، چون میکروارگانیسم‌ها (مخصوصاً پروتوزوآی *یودیپلودینیوم* و *اپیدینیوم*)، فعالیت آنزیمی کافی جهت هیدرولیز کربوهیدرات‌ها و تخمیر الیگوساکاریدها را دارند. مطالعات نشان داده است که تانن‌های متراکم و ترکیبات پلی فنولی نسبت به دیگر متابولیت‌های گیاهی، می‌توانند جمعیت پروتوزوآ را کاهش دهند (جوبلین ۲۰۰٤). اطلاعات روی استفاده از گیاهان دارویی (مانند خارمریم) در جیره شتر محدود است، بنابراین این آزمایش برای بررسی اثرات گیاه خارمریم بر بهبود تخمیر شکمبه‌ای و قابلیت هضم علوفه سیاه‌شور در شتر تک‌کوهانه و گونه‌های مختلف پروتوزوای شکمبه، طراحی شد.

مواد و روش‌ها

گیاه کامل خارمریم از منطقه ملاثانی اهواز، در مرحله گلدهی و سیاه‌شور از شهرستان هویزه و جاده آبادان در مرحله میوه‌دهی جمع‌آوری و خشک گردید. تیمارهای آزمایشی شامل علوفه سیاه‌شور به همراه ۲۰، ٤۰ و ٦۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خارمریم بودند. در این آزمایش از دو نفر شتر تک کوهانه مجهز به فیستولای شکمبه‌ای که به مدت ۸ هفته با جیره حاوی کاه و یونجه (نسبت ٦۰:٤۰) دو بار در روز تغذیه شده بودند، استفاده شد.

تخمیر آزمایشگاهی و تولید گاز تیمارهای آزمایشی با استفاده از روش منک و استینگس (۱۹۸۸)، در

سرنگ‌های شیشه‌ای ۱۰۰ میلی‌لیتری که حاوی ۳۰۰ میلی‌گرم نمونه، ۲۰ میلی‌لیتر بزاق مصنوعی و ۱۰ میلی‌لیتر مایع شکمبه بود، اندازه گیری شد. مایع شکمبه مورد نیاز از شترهای مورد نظر قبل از خوراکدهی صبح، جمع‌آوری شد و با استفاده از پارچه متقال ٤ لایه صاف شده و با حجم مناسبی (نسبت ۱:۲) از بزاق مصنوعی مخلوط شد. سپس میزان گاز تولیدی در ساعات ۲، ٤، ۸، ١٦، ٢٤، ٤٨، ٧٢، ٩٦ و ١٢٠ساعت پس از قرار دادن شیشه‌ها در حمام آب گرم (بن ماری) ثبت گردید. برای توصیف روند تخمیر در روش تولید گاز از مدل اصلاح شده ارسکوف و مکدونالد (۱۹۷۹) استفاده شد:

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

که در این رابطه، P: حجم تولید گاز در زمان t، b: بخش دارای پتانسیل تولید گاز (میلی‌لیتر در ۳۰۰ میلی‌گرم ماده خشک)، c: نرخ تولید گاز (درصد در ساعت) و t: مدت زمان قرار دادن نمونه در حمام آب گرم می‌باشد.

برای تعیین پارتیشنینگ فاکتور (PF؛ نسبت تجزیه واقعی سوبسترا به حجم گاز تولید شده در دوره‌های زمانی انکوباسیون)، پس از پایان انکوباسیون، محتوای سرنگ‌ها با محلول شوینده خنثی به مدت یک ساعت جوشانیده شد. پس از گذشت این زمان محلول صاف شده و باقیمانده در آون (دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد، ٢٤ ساعت) و سپس کوره (٥٥٠ درجه سانتی‌گراد، ۳/٥ ساعت) قرار گرفت و PF، توده میکروبی و راندمان توده میکروبی اندازه‌گیری شدند (بلومل و همکاران ۱۹۹۷). برای محاسبه تجزیه دیواره سلولی، نمونه‌ها از محیط گاز برداشته و صاف شدند و به مدت ٢٤ ساعت در آون خشک شدند. pH محیط کشت‌ها با دستگاه pH متر (متروم مدل ٦٩١، سوییس) و غلظت نیتروژن آمونیاکی محیط‌ها با روش فنول- هیپوکلرایت و استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتری (برودریک و کنگ ۱۹۸۰) اندازه‌گیری شد. ترکیب شیمیایی سیاه شور و خارمریم با روش‌های استاندارد و الیاف نامحلول در شوینده خنثی و اسیدی (ون‌سوست و همکاران ۱۹۹۱) نیز اندازه‌گیری شد.

قابلیت هضم تیمارهای آزمایشی با روش هضم دو مرحله‌ای تلی و تری (١٩٦٣)، در لوله‌های آزمایش ۱۰۰ میلی‌لیتری که حاوی ۰/٥ گرم نمونه، ٤٠ میلی‌لیتر بزاق مصنوعی (بافر مک دوگال) و ۱۰ میلی‌لیتر مایع شکمبه بود (نسبت ۱:٤)، اندازه‌گیری شد. لوله‌های حاوی مخلوط بزاق و مایع شکمبه، در دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. پس از گذشت ٤٨ ساعت، آنزیم پپسین (مرک- M785) همراه با اسید کلریدریک به هر لوله اضافه شد. و بعد از ٤٨ ساعت (هضم شیردانی) مواد باقیمانده شسته شده و در آون (٤٨ ساعت در دمای ٦٠ درجه سانتی‌گراد) خشک گردید. قابلیت هضم ماده خشک و الیاف نامحلول در شوینده خنثی با توجه به اختلاف ماده اولیه و مواد باقیمانده در پایان آزمایش هضم، محاسبه شد.

جهت بررسی جمعیت و گونه‌های پروتوزوآها، نمونه‌ها از محیط کشت گاز در زمان‌های ۱۲، ٢٤ و ٤٨ ساعت گرفته شد و با حجم مساوی از فرمالدهید ۱۸/٥ درصد مخلوط و پس از رنگ‌آمیزی با متیلن بلو در دمای اتاق در تاریکی قرار داده شدند (ایوان و همکاران ۲۰۰۳). شمارش پروتوزوآها با استفاده از میکروسکوپ نوری اینورت با بزرگنمایی X ٤٠ (مدلNIS-Elements F 3.0) انجام شد. جنس و گونه‌های مختلف نیز بر اساس روش اگیموتو و ایمای (۱۹۸۱) تشخیص داده شدند. نتایج شمارش به صورت غلظت (تعداد در هر میلی‌لیتر از پروتوزوآهای مایع شکمبه) گزارش شدند.

تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی توسط نرم افزار آماری SAS (رویه GLM) نسخه ۹/۲ اجرا گردید. مقایسه میانگین‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ٥ درصد انجام گرفت.

$$Y_{ij}=\mu+T_j+\varepsilon_{ij}$$

Y_{ij}: نشان دهنده مقدار عددی هر مشاهده در آزمایش، μ: میانگین جامعه، T_j: نشان‌دهنده اثرات تیمار استفاده شده، ε_{ij}: خطای آزمایشی می‌باشد.

همچنین تجزیه و تحلیل داده‌های مربوط به جمعیت و ریخت شناسی پروتوزوآ با استفاده از آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با مدل آماری زیر انجام شد:

$$Y_{ij}= \mu+\alpha_i+\beta_j+(\alpha\beta_{ij})+\varepsilon_{ij}$$

در این فرمول، Y_{ij} نشان دهنده مقدار عددی هر مشاهده در آزمایش، μ میانگین جامعه، α_i اثر تیمار، β_j اثر زمان، $\alpha\beta_{ij}$ اثرات متقابل فاکتورها و ε_{ij} خطای باقیمانده می‌باشد.

نتایج و بحث

اثر خارمریم بر فراسنجه‌های تولید گاز سیاه‌شور

افزودن خارمریم تا سطح ٦٠ میلی‌گرم به علوفه سیاه‌شور باعث افزایش پتانسیل تولید گاز (جدول ۲) این تیمار نسبت به تیمار شاهد و سطح ۲۰ میلی‌گرم خارمریم شد ($P<۰/۰۵$). نرخ تولید گاز در تمام سطوح نسبت به تیمار شاهد تفاوت معنی‌داری نشان نداد.

گاز تولیدی تحت تاثیر ترکیب شیمیایی و خصوصیات فیزیکی مواد غذایی قرار می‌گیرد در حالی که تغییر در فعالیت میکروبی شکمبه ممکن است روی نرخ تخمیر اثر بگذارد (منکی و همکاران ۱۹۷۹). بنابراین تفاوت در تولید گاز آزمایش حاضر را می‌توان به تفاوت در ترکیب شیمیایی تیمار شاهد و تیمارهای حاوی خارمریم نسبت داد. مقدار پروتئین خام (CP)، الیاف نامحلول در شوینده خنثی (NDF) و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی (ADF) علوفه سیاه‌شور مورد مطالعه به ترتیب ۹/۹، ٤٩/٣ و ٣٠/٦ درصد می‌باشد (جدول ۱). همچنین توحیدی و زندی (۲۰۰۷)، مقدار CP، CF، NDF و ADF علوفه سیاه‌شور را به ترتیب ۷/۹، ۳۸/۲، ٦٧/٤ و ٤٠ درصد گزارش کردند. میزان اسیدهای چرب اشباع و غیر اشباع در دانه سیاه‌شور، به ترتیب ۲۵/۷۵ و ۷۳/٦۱ درصد می‌باشد (وبر و همکاران ۲۰۰۷). همچنین سیاه‌شور دارای ترکیبات ضد تغذیه‌ای مانند تانن و ساپونین نیز می‌باشد (خان وبنو ۲۰۱۱)، ممکن است مجموع این فاکتورها (درصد دیواره سلولی، چربی و مواد ضد تغذیه‌ای) روی تخمیر سیاه‌شور اثر گذاشته و باعث کاهش تولید گاز آن شوند. بر اساس یافته‌های محققین، افزودن چربی به جیره نیز، هضم کربوهیدرات‌های ساختمانی و به دنبال آن تولید متان را کاهش می‌دهد (مارتین و همکاران ۲۰۰۸). به دلیل ارتباط منفی بین تانن و حجم گاز تولیدی، بنابراین ترکیبات فنولی مانند تانن موجود در سیاه شور با اثر بر میکروارگانیسم‌ها و کربوهیدرات‌ها باعث مهار تخمیر و کاهش تولید گاز می‌گردند (سلام و همکاران ۲۰۱۰).

افزایش پتانسیل تولید گاز سیاه‌شور در تیمارهای حاوی خارمریم ممکن است به دلیل افزایش مواد مغذی مانند بخش کربوهیدراتی و کمتر بودن بخش دیواره سلولی خارمریم نسبت به سیاه‌شور باشد (جدول ۱). بنابراین به نظر می‌رسد بالا بودن سطح کربوهیدرات‌های محلول موجب دسترسی سریع میکروارگانیسم‌ها در ساعات اولیه انکوباسیون و افزایش تولید گاز گردد (بشارتی و همکاران ۱۳۸۷).

گزارش شده است که اثر گیاهان در دستکاری تخمیر شکمبه بسته به منبع و نوع متابولیت‌های ثانویه موجود در آن‌ها متفاوت است (سانترا و همکاران ۲۰۱۱). موافق با نتایج حاضر سلام و همکاران (۲۰۱۱)، اثر عصاره بومادران و *آرتیمیسیا جودایسه*[1] (هم خانواده خارمریم) را در سطوح ۲۵، ۵۰ و ۷۵ میکرولیتر در ۷۵ میلی‌لیتر مایع شکمبه روی تخمیر شکمبه در ٢٤ ساعت انکوباسیون در شرایط برون‌تنی مورد مطالعه قرار دادند، نتایج نشان داد که *آرتیمیسیا* در تمامی سطوح، تولید گاز و متان را افزایش می‌دهد. اما بومادران تا سطح ۵۰ میکرولیتر باعث افزایش تولید گاز شد. این محققان گزارش کردند که کاهش تولید گاز در ۷۵

[1] *Artemisiae judaica*

میکرولیتر ممکن است ناشی از متابولیت‌های ثانویه مانند ساپونین موجود در این گیاهان باشد که باعث کاهش تعداد پروتوزوآ می‌شود. سان و همکاران (۲۰۱۲) گزارش کردند کاسنی (هم خانواده خارمریم) باعث کاهش انتشار متان از قوچ‌های اخته شده می‌شود، که با یافته‌های حاصل از این آزمایش مطابقت نداشت.

جدول ۱- میانگین ترکیب شیمیایی گیاهان سیاه‌شور و خارمریم مورد استفاده در این آزمایش

	ترکیب شیمیایی (درصد)				
	ماده خشک	پروتئین خام	خاکستر	NDF	ADF
سیاه‌شور	۹۵/٤	۹/۹	۲۸/٥	٤۹/۳	۳۰/٦
خارمریم	۹٤/٥	۱۱/٤	۱۹/۲	٤٦/۱	۲٥/۳

جدول ۲- اثر سطوح مختلف خارمریم بر فراسنجه‌های تولید گاز علوفه سیاه‌شور پس از ۱۲۰ ساعت انکوباسیون

تیمار	پتانسیل تولید گاز (میلی‌لیتر در ۳۰۰ میلی گرم ماده خشک)	نرخ تولید گاز(میلی‌لیتر در ساعت)
سیاه‌شور	۲۸/٥۳[b]	۰/۰۱۳
سیاه‌شور+۲۰میلی‌گرم خارمریم	۳۰/۸٤[b]	۰/۰۱٤
سیاه‌شور+٤۰میلی‌گرم خارمریم	۳۷/۱۹[a]	۰/۰۱٤
سیاه‌شور+٦۰میلی‌گرم خارمریم	۳۸/۳۸[a]	۰/۰۱٥
SEM	۱/۲۸	۰/۰۰۰۹
احتمال معنی‌داری	۰/۰۰۰۱	۰/٤۹۷۳

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها، در هر ستون اعداد دارای حروف غیر مشابه از نظر آماری اختلاف معنی‌داری دارند (P<۰/۰٥).

اثر خارمریم بر فراسنجه های تخمینی تولید گاز سیاه‌شور

میزان ماده آلی هضم شده به ازای هر میلی‌لیتر گاز تولیدی (PF)، توده میکروبی، راندمان تولید توده میکروبی، ماده آلی واقعاً هضم شده و تجزیه دیواره سلولی (جدول ۳) در تیمارهای حاوی خارمریم نسبت به تیمار شاهد کاهش داشت (P<۰/۰٥). کم بودن این فراسنجه‌ها در جیره‌های حاوی خارمریم بیان کننده این موضوع است که بخش اعظم خارمریم صرف تولید گاز و اسیدهای چرب کوتاه زنجیر شده است (بلومل و همکاران ۲۰۰۳). خارمریم دارای خاصیت ضد میکروبی بر باکتری‌های گرم مثبت (مکرم شاه و همکاران ۲۰۱۱) هضم‌کننده فیبر که نقش اصلی را در تولید پروتئین میکروبی و هضم الیاف در جیره‌های فیبری دارند، است. موافق با نتایج آزمایش حاضر، محققان (سلام و همکاران ۲۰۱۱) در بررسی اسانس گیاه بومادران و *آرتیمیسیا جودایسه* (هم‌خانواده خارمریم) گزارش کردند که بومادران و *آرتیمیسیا جودایسه* (۲٥، ٥۰ و ۷٥ میکرولیتردر ۷٥ میلی‌لیتر مایع شکمبه) باعث کاهش مقدار PF می‌شوند.

جدول ۳- اثر سطوح مختلف خارمریم بر فراسنجه‌های تخمینی تولید گاز علوفه سیاه‌شور پس از ۱۲۰ ساعت انکوباسیون

تیمار	PF*	*توده میکروبی	** راندمان تولید توده میکروبی	*ماده آلی واقعا هضم‌شده	**تجزیه دیواره سلولی
سیاه‌شور	۱٤/٦۱[a]	۱۲۳/۲٥[a]	۸٥[a]	۱٤٤/۹٥[a]	٦۲
سیاه‌شور+۲۰میلی‌گرم خارمریم	۱۰/۰٤[b]	۹٥/۳٥[a]	۷۸[a]	۱۲۲/۱٥[a]	٥٥
سیاه‌شور+٤۰میلی‌گرم خارمریم	۸/۰۸[b]	۸٥/٦٥[a]	۷۳[a]	۱۱۷/۸۰[a]	٥۷
سیاه‌شور+٦۰میلی‌گرم خارمریم	٥/۱۹[c]	٤۲/٥۱[b]	٥۷/٦۸[b]	۷۳/۷۰[b]	٥۲
SEM	۰/۸٦	۱۳/٤۱	۰/۰٤	۱۳/۹٥	۳/٤
احتمال معنی‌داری	۰/۰۰٤۷	۰/۰۳۲۱	۰/۰۱۳۷	۰/۰٤۹۹	۰/٤٦

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها، در هر ستون اعداد دارای حروف غیر مشابه از نظر آماری اختلاف معنی‌داری دارند (P<۰/۰٥).

*: میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، **: درصد

نتایج این آزمایش نشان داد که افزودن خارمریم به علوفه سیاه‌شور تاثیر معنی‌داری بر pH مایع شکمبه (جدول ٤) نداشت. بیش از ۸٤۰ گرم بر کیلوگرم خاکستر گیاهان شورزی در شکمبه ناپدید می‌شود، این مواد معدنی آزاد شده در شکمبه روی ظرفیت بافری تاثیر می‌گذارند (امانوئل و همکاران ۱۹۹۱). بنابراین بالا بودن pH در محدوده ۷ در تمامی تیمارها را می‌توان به محتوای خاکستر موجود در سیاه‌شور (جدول ۱) نسبت داد. شوماخر-استرابل و همکاران (۲۰۰۹) گزارش کردند اسیدلینولئیک (موجود در خارمریم) موجب کاهش pH مایع شکمبه گاو، گوسفند و بز می‌شود. بوداس و همکاران (۲۰۰۹) عدم تاثیر گیاه *کاردوس پیکنوسفالوس* (هم خانواده خارمریم)، را به عنوان افزودنی بر کاهش متانوژن‌ها در محیط کشت، بر pH مشاهده نمودند.

بالاترین مقدار نیتروژن آمونیاکی (جدول ٤) مربوط به تیمار ٦۰ میلی‌گرم خارمریم و کمترین مقدار مربوط به تیمار شاهد می‌باشد (P<۰/۰٥). نتایج نشان می‌دهد که با افزایش سطح خارمریم مقدار نیتروژن آمونیاکی نسبت به تیمار شاهد افزایش پیدا کرده است. ساپونین موجود در سیاه‌شور باعث کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی می‌شود (هریستو و همکاران ۱۹۹۹) که شاید به دلیل اثرات ضد پروتوزوآیی ساپونین باشد (فرانسیس و همکاران ۲۰۰۲). پروتوزوآ نقش اولیه‌ای در تولید آمونیاک دارند. با این حال، غلظت نیتروژن آمونیاکی ممکن است افزایش (هریستو و همکاران ۱۹۹۹) یا کاهش (دونت و همکاران ۲۰۰۰) یابد که به تجزیه پروتئین و مقدار یا نوع کربوهیدرات‌های موجود برای استفاده میکروبی بستگی دارد. میزان پروتئین خام خارمریم در روزهای ۸۰ و ۱۰۰ روز از زمان رشد به ترتیب ۱۷/۱ و ۱۱/٤ درصد می‌باشد. بنابراین با افزایش سطح خارمریم میزان تجزیه پروتئین افزایش یافته اما به دلیل عدم همزمانی منبع کربوهیدراتی و پروتئین، نیتروژن موجود در محیط صرف تولید پروتئین میکروبی نشده و در محیط تجمع یافته است. موافق با نتایج حاصل از این آزمایش، سلام و همکاران (۲۰۱۱) دریافتند که استفاده از بومادران و *آرتیمیسیا جودایسه* (هم‌خانواده خارمریم) موجب افزایش غیرمعنی‌دار نیتروژن آمونیاکی می‌شوند. در مطالعه‌ای دانگ و همکاران (۲۰۱۰) عدم تأثیر *آرتیمیسیا آنوا* (هم خانواده خارمریم) همراه با جیره بز

را بر تخمیر شکمبه‌ای و نیتروژن آمونیاکی مشاهده کرد، که با نتایج این آزمایش مخالف بود.

جدول ۴- اثر افزودن سطوح مختلف خارمریم به علوفه سیاه‌شور بر فراسنجه‌های تخمیری

تیمار	pH	نیتروژن آمونیاکی (میلی‌گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر)
سیاه‌شور	۷/۲۹	۵/۶۳[d]
سیاه‌شور +۲۰میلی‌گرم خارمریم	۷/۲۹	۸/۲۷[b]
سیاه‌شور +٤۰میلی‌گرم خارمریم	۷/۲۹	۸/۷٤[b]
سیاه‌شور +٦۰میلی‌گرم خارمریم	۷/۲۸	۹/٤۸[a]
SEM	۰/۰۰٦	۰/۱۲
احتمال معنی‌داری	۰/۰٦۸۸۹	۰/۰۰۰۱

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها، در هر ستون اعداد دارای حروف غیر مشابه از نظر آماری اختلاف معنی‌داری دارند (P<۰/۰۵).

اثر خارمریم بر هضم‌پذیری آزمایشگاهی علوفه سیاه‌شور

نتایج جدول (۵) نشان داد که هیچ گونه تفاوت معنی‌داری در قابلیت هضم ماده خشک بین تیمار شاهد و تیمارهای حاوی خارمریم وجود نداشت. در حالی که قابلیت هضم الیاف نامحلول در شوینده خنثی در تمامی سطوح خارمریم نسبت به تیمار شاهد افزایش معنی‌داری داشت (P<۰/۰۵).

افزایش قابلیت هضم ماده خشک علوفه سیاه‌شور با افزودن خارمریم احتمالاً به دلیل تفاوت ترکیب شیمیایی و قابل هضم‌تر (غیرفیبری‌تر) بودن خارمریم باشد. تفاوت هضم ماده خشک علوفه‌ها در شکمبه با مقدار دیواره سلولی، دیواره سلولی بدون همی‌سلولز و میزان لیگنینی شدن دیواره سلولی ارتباط دارد (مور و همکاران ۱۹۸٦). کم بودن میزان فیبر نامحلول در شوینده خنثی (٤٦/۱) و اسیدی (۲۵/۳) خارمریم (جدول ۱) و در نتیجه بالا بودن بخش کربوهیدرات غیر الیافی در تیمارهای حاوی خارمریم نسبت به تیمار شاهد موجب سهولت هضم و تخمیر این تیمارها می‌گردد. در واقع قابلیت هضم مواد مغذی و تاثیر متقابل این مواد بر یکدیگر از عوامل اصلی در هضم خوراک‌ها شناخته می‌شوند (شریفی و خادم ۱۳۹۱). در این پژوهش احتمالاً تانن موجود در خارمریم نتوانسته با الیاف به ویژه همی‌سلولز موجود در خوراک کمپلکس تشکیل دهد زیرا در غیر این صورت احتمالاً روی قابلیت هضم NDF تاثیر منفی داشت. زیرا تانن‌های متراکم با اتصال میکروب‌ها به قطعات خوراک تداخل ایجاد کرده و به دلیل اثرات مضر بر جمعیت میکروبی، تخمیر شکمبه‌ای را تا حدی مهار می کنند (سلام و همکاران ۲۰۱۰).

مطابق با نتایج آزمایش حاضر در مطالعه‌ای استفاده از گیاهان دارویی نشان داد که قابلیت هضم NDF با بعضی از این گیاهان افزایش و با بعضی دیگر کاهش یافت (تکیپ و همکاران ۲۰۱۲). بوداس و همکاران (۲۰۰۹) گزارش کردند افزودن گیاه دارویی *کادوس پیکنوسفالوس*[1] (هم خانواده خارمریم)، باعث تحریک قابلیت هضم ماده خشک می‌شود.

[1] *Carduus pycnocephalus*

جدول ۵- اثر سطوح مختلف خارمریم بر هضم‌پذیری علوفه سیاه‌شور (درصد)

تیمار	قابلیت هضم ماده خشک	قابلیت هضم NDF
سیاه‌شور	۵۸/۱۲	۳۳/۲۱[b]
سیاه‌شور +۲۰میلی‌گرم خارمریم	٦۰/۰۰	٤٤/٥۲[a]
سیاه‌شور +٤۰میلی‌گرم خارمریم	٦۱/۲۱	٤۷/۷۱[a]
سیاه‌شور +٦۰میلی‌گرم خارمریم	٦۲/۳٥	٤۸/٤۰[a]
SEM	۰/۰۱۱	۱/٦٤
احتمال معنی‌داری	۰/۱٥۸٥	۰/۰۰۰٦

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها، در هر ستون اعداد دارای حروف غیر مشابه از نظر آماری اختلاف معنی‌داری دارند (P<۰/۰٥).

اثر افزودن خارمریم به علوفه سیاه‌شور بر جمعیت و ریخت شناسی پروتوزوآ

صرف نظر از زمان (جدول ٦)، در مقایسه با تیمار شاهد، سطوح مختلف خارمریم باعث کاهش معنی‌دار تعداد پروتوزوآ شدند (P<۰/۰٥). گونه *دیپلودینیوم کملی* دارای بیشترین تعداد در تیمار ۲۰ میلی‌گرم خارمریم (۰/۸۹×۱۰^{٤}) و کمترین تعداد در تیمار ٦۰ میلی‌گرم خارمریم (۰/٤۷×۱۰^{٤}) بود (P<۰/۰٥). تعداد گونه *اپیدینیوم ایکوداتوم*[1] تحت تاثیر تیمارهای حاوی خارمریم کاهش یافت (P<۰/۰٥). گونه *دیپلودینیوم کملی*[2] صرف نظر از تیمار تنها در زمان ۱۲ ساعت مشاهده گردید. گونه *اپیدینیوم ایکوداتوم* در تمامی زمان‌ها وجود داشت، اما تعداد آن در طول زمان، روند کاهشی نشان داد (P<۰/۰٥).

نتایج حاصل از اثر متقابل تیمارها و زمان (جدول ۷) روی تراکم پروتوزوآ در میلی‌لیتر مایع شکمبه در زمان ۱۲ ساعت اختلاف معنی‌داری را بین تیمارها نشان داد (P<۰/۰٥). گونه *دیپلودینیوم کملی* تنها در زمان ۱۲ ساعت مشاهده گردید. تراکم این گونه در تیمار ۲۰ میلی‌گرم خارمریم (۲/٦۷×۱۰^{٤}) بیشتر از سایر تیمارها بود (P<۰/۰٥). تیمارهای حاوی خارمریم باعث کاهش معنی‌دار در تعداد گونه *اپیدینیوم ایکوداتوم* در زمان ۱۲ ساعت شدند (P<۰/۰٥).

بر اساس نتایج، بیشترین تعداد پروتوزوآ در زمان ۱۲ ساعت مشاهده شده است که دلیل آن احتمالاً در دسترس بودن مواد مغذی در این زمان بوده است. اما با افزایش سطح خارمریم در زمان ۱۲ ساعت، جمعیت پروتوزوآیی کاهش معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد نشان داد.

گیاه خارمریم حاوی تانن و اسیدهای چرب غیراشباع می‌باشد. مطالعات نشان می‌دهد که افزودن ۱۰ تا ۱٥ درصد چربی به جیره نشخوارکنندگان سبب کاهش تعداد پروتوزوآی شکمبه می‌شود، این کاهش ناشی از اثر سمی اسیدهای چرب آزاد و نرخ پایین جذب پروتوزوآ نسبت به مواد جامد قابل تجزیه می‌باشد. همچنین باه و همکاران (۲۰۰۷) در بررسی اثر ساپونین، تانن و اسیدهای چرب غیراشباع روی پروتوزوآ دریافتند که این مواد باعث کاهش جمعیت پروتوزوآ می‌شوند. نتایج فوق با یافته‌های حاصل از این آزمایش موافق بود.

تنها ۲ گونه *دیپلودینیوم کملی*، *اپیدینیوم ایکوداتوم* در تیمارهای حاوی خارمریم مشاهده گردید (شکل ۱). از جمله فاکتورهایی که می‌تواند روی جنس و گونه‌های پروتوزوآی شکمبه اثر گذار باشد، مقدار و نوع خوراک مصرفی، سرعت خوردن خوراک، میزان تولید بزاق (که می‌تواند pH شکمبه را تحت تاثیر قرار دهد)، سرعت تخمیر، فشار اسمزی و ذرات در شکمبه را نام برد (هابسون و استوارت ۱۹۹۷). بر اساس گزارشات، علوفه سیاه‌شور دارای ساپونین، تانن و اسیدهای چرب

[1] *Epidinium ecudatum*
[2] *Diplodinium cameli*

غیراشباع بوده و خارمریم نیز دارای تانن و اسیدهای چرب غیراشباع می‌باشد، که تمامی این ترکیبات اثر زیادی بر کاهش جمعیت پروتوزوآ دارند (هریستو و همکاران ۲۰۰٤). بر اساس مطالعات، تجزیه باکتریایی ساپونین (تفرگن و همکاران ۱۹۹۹) و سازگاری با تانن (اسمیت و همکاران ۲۰۰۵) گزارش شده است، اما سازگاری پروتوزوآ با اسیدهای چرب غیراشباع در جیره‌های غذایی مشاهده نشده است (ایوان و همکاران ۲۰۰۳ و هریستو و جوانی ۲۰۰۵). که نهایتاً کاهش گونه‌های موجود در این آزمایش را باعث می‌شوند.

وجود گونه‌های موجود در محیط کشت را شاید بتوان به قدرت انطباق آن‌ها با مواد ضدتغذیه‌ای مرتبط دانست. محققان (باه و همکاران ۲۰۰۷) گزارش نمودند، جمعیت میکروبی توانایی قابل توجهی برای انطباق سریع با طیف گسترده‌ای از مواد ضدمیکروبی که در معرض آن قرار گرفته‌اند را دارند، هر چند ارزیابی سازگاری میکروب‌ها در دوره کوتاه ۲٤ تا ٤۸ ساعت که بطور معمول برای بررسی‌های سیستم کشت بسته به‌کار می‌رود، امکان‌پذیر نیست. یکی دیگر از عوامل وجود این گونه‌ها را می‌توان نقش آن‌ها در هضم مواد خوراکی با توجه به فیبری بودن جیره مورد استفاده در این آزمایش دانست. بر اساس گزارشات گونه *اپیدینیوم* و *دیپلودینیوم* جزو پروتوزوآهای سلولولایتیک هستند (باه و همکاران ۲۰۰۷). گونه *اپیدینیوم ایکوداتوم* از پروتوزوآهای معمول در شکمبه نشخوارکنندگان است که سهم قابل توجهی در تجزیه پلی ساکاریدهای ساختمانی دارد (دهوریتی ۲۰۰۳)، که به طور فعال به دیواره سلولی هجوم آورده و دیواره سلولی گیاهان را می‌بلعد (دهوریتی و تیراباسو ۲۰۰۱). مطابق با آزمایش حاضر، در مطالعه‌ای روی شتر، جنس‌های *انتودینیوم*، *اپیدینیوم*، *یودیپلودینیوم* و *دیپلودینیوم* مشاهده شد (قالی و همکاران ۲۰۰۵). همچنین در بررسی پروتوزوآهای مژکدار شکمبه در شترهای نژاد بلوچی و سندی، گونه‌های *دیپلودینیوم کملی*، *اپیدینیوم ایکوداتوم* و *یودیپلودینیوم مگی* مشاهده گردید (علیپور ۱۳۹۱).

جدول ۶– اثر افزودن خارمریم به علوفه سیاه‌شور بر جمعیت و گونه های پروتوزوآ (اثرات اصلی) ($\times 10^4$)

تیمار	جمعیت کل	*دیپلودینیوم کملی*	*اپیدینیوم ایکوداتوم*
سیاه‌شور	۳/۳٤^{a}	۰/٦۲^{bc}	۲/۷۳^{a}
سیاه‌شور +۲۰میلی‌گرم خارمریم	۲/۳۸^{b}	۰/۸۹^{a}	۱/٤۹^{b}
سیاه‌شور +٤۰ میلی‌گرم خارمریم	۱/۹۸^{b}	۰/٦٦^{b}	۱/۳۱^{b}
سیاه‌شور +٦۰ میلی‌گرم خامریم	۱/۹۹^{b}	۰/٤۷^{c}	۱/۵۲^{b}
SEM	۰/۱۷٤	۰/۰۵۷	۰/۱۳
احتمال معنی‌داری	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱
زمان			
۱۲	٤/۹۰^{a}	۱/۹۸	۲/۷۹^{a}
۲٤	۱/۵۱^{b}	–	۱/۵۱^{b}
٤۸	۰/۸۷^{c}	–	۰/۸۷^{c}
SEM	۰/۱۵۰	–	۰/۱۱
احتمال معنی‌داری	۰/۰۰۰۱	–	۰/۰۰۰۱

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها، در هرستون اعداد دارای حروف غیر مشابه از نظر آماری اختلاف معنی‌داری دارند ($P<0/05$).

جدول ۷- اثر افزودن خارمریم به علوفه سیاه‌شور بر جمعیت و گونه های پروتوزوآ (اثر متقابل) ($\times 10^4$)

تیمار	زمان	پروتوزوآ	*دیپلودینیوم کملی*	*اپیدینیوم/یکوداتوم*
سیاه‌شور	۱۲	۷/۴۰^{a}	۱/۸۵^{b}	۵/۵۵^{a}
	۲۴	۱/۸۰^{e}	–	۱/۸۰^{cd}
	۴۸	۰/۸۳^{f}	–	۰/۸۳^{e}
سیاه‌شور+ ۲۰ میلی‌گرم خارمریم	۱۲	۵/۳۵^{b}	۲/۶۷^{a}	۲/۶۷^{b}
	۲۴	۱/۰۵^{ef}	–	۱/۰۵^{e}
	۴۸	۰/۷۵^{f}	–	۰/۷۵^{e}
سیاه‌شور+ ۴۰ میلی‌گرم خارمریم	۱۲	۴^{c}	۲^{b}	۲^{c}
	۲۴	۱/۲۰^{ef}	–	۱/۲۰^{de}
	۴۸	۰/۷۵^{f}	–	۰/۷۵^{e}
سیاه‌شور+ ۶۰ میلی‌گرم خارمریم	۱۲	۲/۸۳^{d}	۱/۴۱^{c}	۱/۴۱^{cde}
	۲۴	^{de}	–	۲^{c}
	۴۸	۱/۱۵^{ef}	–	۱/۱۵^{de}
SEM	–	۰/۳۰	۰/۱۰	۰/۲۲
احتمال معنی‌داری	–	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها، در هر ستون اعداد دارای حروف غیر مشابه از نظر آماری اختلاف معنی‌داری دارند ($P<0/05$).

اپیدینیوم اکوداتوم (a: فرم کوداتوم b و c: فرم اکوداتوم)

دیپلودینیوم کملی فرم *مونواسپیناتوم*

شکل ۱- انواعی از گونه‌های پروتوزوآی مشاهده شده در شترهای تک‌کوهانه مورد مطالعه در این آزمایش (رنگ‌آمیزی با متیلن‌بلو)

نتیجه‌گیری کلی

با توجه به اینکه مشکلات تغذیه‌ای گیاهان شورزیست در فصول خشک بیشتر گزارش شده است. نتایج این آزمایش نشان داد که استفاده از خارمریم موجب افزایش ارزش تغذیه‌ای علوفه سیاه‌شور در تغذیه شتر می‌شود، بنابراین می‌توان با بررسی شرایط رشد خارمریم در مراتع مورد استفاده شتر امکان بهره‌برداری از این منبع را برای بهبود و احیای مراتع فراهم آورد.

منابع مورد استفاده

اهوازی م، رضوانی اقدام ع و حبیبی خانیانی ب، ۱۳۸۹. بذر گیاهان دارویی (مورفولوژی، فیزیولوژی و خواص دارویی). انتشارات جهاد دانشگاهی واحد تهران، صفحه‌های ۲۰۲-۱۳۱.

بشارتی م، تقی زاده ا، جانمحمدی ح و مقدم غ، ۱۳۸۷. تعیین تجزیه پذیری محصولات فرعی انگور با استفاده از روش تولید گاز و کیسه های نایلونی. مجله دانش کشاورزی. جلد ۱۸، شماره ۳، صفحه‌های ۱۷۳ تا ۱۸۵.

جوری م ح و مهدوی م، ۱۳۸۸. شناسایی کاربردی گیاهان مرتعی. انتشارات تهران: آییژ، چاپ اول، ٤٣٦ صفحه.

شریفی م و خادم ع ا، ۱۳۹۱. نشخوارکنندگان وپویایی شکمبه (تولید تا بیوگاز). چاپ اول، تهران انتشارات دانش‌نگار، ٤٦٤ صفحه.

علیپور د، ۱۳۹۱. تکیاخته‌های مژکدار شکمبه در شترهای نژاد سندی و بلوچی. مجله تحقیقات دامپزشکی، دوره ٦٧، شماره ۳، صفحه-های ٢٦٣-٢٥٧.

فلاح حسینی ح، همتی مقدم ا و علویان س م، ۱۳۸۳. مروری بر گیاه دارویی خارمریم. فصلنامه گیاهان دارویی، شماره ۱۱، صفحه‌های ٢٤-١٤.

Atiqur R, 2002. Utilization of *Atriplex* as a forage under grazing and cut and carry systems, for small ruminants. Proc Intr Symp on optimum resources utilization in salt-affected ecosystems in arid and semi-arid regions. Cairo, Egypt.

Baah J, Ivan M, Hristov AN, Koenig KM, Rode LM and McAllister TA, 2007. Effects of potential dietary antiprotozoal supplements on rumen fermentation and digestibility in heifers. Journal of Animal Feed Science and Technology 137: 126–137.

Blummel M, Makkar HPS and Becker K, 1997. In vitro gas production - a technique revisited. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition 77: 24-34.

Blümmel M, Karsli A and Russel JR, 2003. Influence of diet on growth yields of rumen microorganisms *in vitro* and *in vivo*: Influence on growth yields of variable carbon fluxes to fermentation products. British Journal of Nutrition 90: 1–11.

Bodas R, Fernandez M, Garcia-Gonzalez R, Gonzalez JS, Lopez S and Wallace RJ, 2009. Phytogenic additives to decrease *in vitro* ruminal methanogenesis. Options Mediterraneennes. Serie A. Seminaires Mediterraneens. N. 85: 279- 283.

Broderick GA and Kang JH, 1980. Automated simultaneous determination of ammonia and total amino acids in ruminal fluid and *in vitro* media. Journal of Dairy Science 63: 64–75.

Burt S, 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods a review. International Journal of Food Microbiology 94: 223–253.

Dehority BA and Tirabasso PA, 2001. Effect of feeding frequency on bacterial and fungal concentrations, pH, and other parameters in the rumen. Journal of Animal Science 79: 2908-2912.

Dehority BA, 2003. Rumen microbiology. British Library Cataloguing in Publication Data. First published.

Devant M, Ferret A, Gasa J, Calsamiglia S and Casals R, 2000. Effects of protein concentration and degradability on performance, ruminal fermentation, and nitrogen metabolism in rapidly growing heifers fed high-concentrate diets from 100 to 230 kg body weight. Journal of Animal Sceince 78: 1667-1676.

Dong GZ, Wang XJ, Liu ZB and Wang F, 2010. Effects of phytogenic products on in vitro rumen fermentation and methane emission in goats. Journal of Animal and Feed Sciences 19: 218–229.

El Shaer HM, 1981. Sustainable utilization of halophytic plant species as livestock fodders in Egypt. Ph.D. Thesis. Faculty of Agriculture, University of Ain Shams, Cairo, Egypt.

El Shaer HM, 1997. Practical approaches for improving utilization of feed resources under extensive production system in Sinai. Proc Inter Symp on Systems of Sheep and Goat Production, 25–27 October 1997. Bella, Italy.

El Shaer HM, 2006. Halophytes as cash crops for animal feeds in arid and semi-arid regions. Biosaline Agriculture and Salinity Tolerance in Plants. Edited by M. O ztürk, Y.Waisel, M.A. Khan and G. Gork. Birkhauser Verlag/Switzerland.

El-Shatnawi MKJ and Abdullah AY, 2003. Composition changes of *Atriplex nummularia L*. under Mediterranean arid environment. African Journal of Range Forage Science 20: 253-257.

Emanuele SM, Staples CR and Wilcox CJ, 1991. Extent and site of mineral release from six forage species incubated in mobile dacron bags. Journal of Animal Scince 69: 801–810.

Francis G, Kerem Z, Makkar HPS and Becker K, 2002. The biological action of saponins in animal systems: a review. British Journal of Nutrition 88: 587–605.

Ghali MB, Scott PT and Al Jassim RAM, 2005. Effect of diet change on population of rumen protozoa in dromedary camel. Recent Advances in Animal Nutrition in Australia, Volume 15.

Hobson PN and Stewart CS, 1997. The rumen microbial ecosystem. Elsevier Sience Publishers Ltd, London and New York.

Hristov AN, McAllister TA, Van Herk FH, Cheng KJ, Newbold CJ and Cheeke PR, 1999. Effect of *Yucca schidigera* on ruminal fermentation and nutrient digestion in heifers. In: Journal of Animal Science 77: 2554-2563.

Hristov AN, Ivan M and McAllister TA, 2004. In vitro effects of individual fatty acids on protozoal numbers and on fermentation products in ruminal fluid from cattle fed a high-concentrate, barley-based diet. Journal of Animal Science 82: 2693–2704.

Hristov AN and Jouany JP, 2005. Factors affecting the efficiency of nitrogen utilization in the rumen. pp. 117–166. In: Pfeffer, E, Hristov AN. (Eds.), Nitrogen and Phosphorus Nutrition of Cattle: Reducing the Environmental Impact of Cattle Operations. CAB International, Wallingford, UK.

Ivan M, Entz T, Mir PS, Mir Z and McAllister TA, 2003. Effects of sunflower seed supplementation and different dietary protein concentrations on the ciliate protozoa population dynamics in the rumen of sheep. Canadian Journal of Animal Science 83: 809–817.

Joblin KN, 2004. Methanogenic Archaea. In: I Planning Meeting of Project Contract Research and Training Workshop “Development and Use of Rumen Molecular Techniques for Predicting and Enhancing Productivity”. Brisbane.

Kandil HM and El Shaer HM, 1988. The utilization of *Atriplex nummularia* by goats and sheep in Sinai. Proc Inter Symp on the Constraints and Possibilities of Ruminant Production in Dry Subtropics. Cairo, Egypt.

Khan US and Bano A, 2011. Physiological and Biochemical Analysis of the Selected Halophytes of District Mardan, Pakistan. International Journal of Bioscience, Biochemistry and Bioinformatics 1: (4).

Martin CJ, Rouel J, Jouany P, Doreau M and Chilliard Y, 2008. Methane output and diet digestibility in response to feeding dairy cows crude linseed, extruded linseed, or linseed oil. Journal of Animal Science 86: 2642–2650.

Menke KH, Raab L, Salewski A, Steingass H, Fritz D and Schneider W, 1979. The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feeding-stuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor *in vitro*. Journal of Agricultural Science 93: 217-222.

Menk KH and Stingass 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: 6-55.

Moore KJ and Cherney JH, 1986. Digestion kinetics of sequentially extracted cell components of forages. Crop Science 76: 1230-1235.

Mukkarram Shah SM, Ali khan F, Hassan Shah SM, Chishti KA, Saifur Shah Pirzada SM, Khan MA and Farid A, 2011. Evaluation of Phytochemicals and Antimicrobial Activity ofWhite and Blue Capitulum and Whole Plant of Silybum Marianum. World Applied Sciences Journal 12 (8): 1139-1144.

Ogimoto K and Imai S, 1981. Atlas of rumen microbiology. Jpan Sientific Societies Press, Tokyo.

Ørskov, ER and McDonald I, 1979.The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. The Journal of Agricultural Science (Cambridge) 92: 499-503.

Patra AK and Saxena K, 2010. A new perspective on the use of plant secondary metabolites to inhibit methanogenesis in the rumen. Phytochemistry 5-10.

Rezvani Moghadam P and Koocheki AR, 2003. A comprehensive survey of halophyte sin Khorasan province of Iran. In Lieth, H. (ed.), Cash Crop Halophytes: Recent Studies 38: 189-195.

Sallam SMA, da Silva Bueno IC, de Godoy PB, Eduardo FN, Schmidt Vittib DMS and Abdalla AL, 2010. Ruminal fermentation and tannins bioactivity of some browses using a semi-automated gas production technique. Tropical and Subtropical Agroecosystems 12: 1 - 10.

Sallam SMA, Abdelgaleil SAM, Bueno ICS, Nassera MEA, Araujo RC and Abdalla AL, 2011. Effect of essential oils on ruminal fermentation, microbial population and methane emission *in vitro*. Options Mediterraneennes: Serie A. Seminaires Mediterranéens 99: 149-156.

Santra A, Saikia A and Baruah KK, 2012. Scope of rumen manipulation using medicinal plants to mitigate methane production. Journal of Pharmacognosy 3 (2): 115-120.

Schulz V, Hansel R and Tyler VE, 1997. Rational Phytotherapy: P: 306. A Physicians Guide to Herbal Medicine. Berlin: Springer.

Smith AH, Zoetendal E and Mackie PI, 2005. Bacterial mechanisms to overcome inhibitory effects of dietary tannins. Microbial Ecology 50: 197–205.

Sun XZ, Hoskin SO, Zhang GG, Molano G, Muetzel S, Pinares-Patiño CS, Clark H and Pacheco D, 2012. Sheep fed forage chicory (Cichorium intybus) or perennial ryegrass (*Lolium perenne*) has similar methane emissions. Animal Feed Science and Technology 172 (3): 217-225.

Szumacher-Strabel M, Cieślak A and Nowakowska A, 2009. Effect of oils rich in linoleic acid on in vitro rumen fermentation parameters of sheep, goats and dairy cows. Journal of Animal and Feed Sciences 18: 440-452.

Teferedegne B, McIntosh F, Osuji PO, Odenyo A, Wallace RJ and Newbold CJ, 1999. Influence of foliage from different accessions of the sub-tropical leguminous tree, *Sesbania sesban*, on ruminal protozoa in Ethiopian and Scottish sheep. Journal of Animal and Feed Sciences 78: 11–22.

Tekippe JA, Hristov AN, Heyler KS, Zheljazkov VD, Ferreira JFS, Cantrell CL and Varga GA, 2012. Effects of plants and essential oils on ruminal in vitro batch culture methane production and fermentation. Canadian Journal of Animal Science 92 (3): 395-408.

Tilly JMA and Terry RA, 1963. A two stage technique for the indigestion of forage crops. Journal of British Grassland Society 18: 104-111.

Towhidi A and Zandi M, 2007. Chemical composition *in vitro* digestibility and palatability of nine plant species for dromedary camels in the province of semnan, Iran. Egyptian Journal of Biology 9: 47-52.

Van Soest PJ, Robertson JB and Lewis BA, 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. Journal of Dairy Science 74: 3583.

Weber DJ, Ansari R, Gul B and Ajmal Khan M, 2007. Potential of halophytes as source of edible oil. Journal of Arid Environments 68: 315–321.

The effect of *silybum marianum* on digestibility and microbial fermentation of *suaeda fruticosa* and protozoa morphology in one-humped camel

I Khodadadi[1], T Mohammadabadi[2*], M Chaji[3] and M Sari[2]

Received: December 21, 2013 Accepted: April 29, 2014

[1]MSc Student, Department of Animal Science, Khuzestan Ramin Agricultural and Natural Resource University, Khozestan, Mollasani, Ahwaz, Iran
[2]Assistant Professors, Department of Animal Science, Khuzestan Ramin Agricultural and Natural Resource University, Khozestan, Mollasani, Ahwaz, Iran
[3]Associated Professor, Department of Animal Science, Khuzestan Ramin Agricultural and Natural Resource University, Khozestan, Mollasani, Ahwaz, Iran
[*]Corresponding author: t.mohammadabadi@gmail.com

Abstract

This experiment was conducted to study the effect of adding of *Silybum Marianum* plant (20, 40 and 60 mg/kg) on digestibility and microbial fermentation of *Suaeda Fruticosa* forage and protozoa species in the one-humped camel. Fermentation and gas production and estimated parameters were measured by gas production technique and in *vitro* digestibility was measured by two-stage digestion using two fistulated camels. To investigate the protozoa, samples were removed from the culture and after staining with methylene blue solution, protozoa enumeration and morphology were conducted in different environments. Protozoa analysis was conducted using factorial experiment and completely randomized design. The obtained results showed that the addition of *Silybum Marianum* to level 60 mg had significant effect on gas production potential of *Suaeda* forage ($P<0.05$). Partationing factors, microbial biomass, efficiency of microbial biomass, organic matter actually degradable and cell wall degradability was significantly decreased in treatments containing *Silybum Marianum* in compared with control ($P<0.05$). Ammonia nitrogen concentrations was significantly increased in treatments containing *Silybum Marianum* ($P<0.05$). Adding *Silybum Marianum* increases the digestibility of dry matter and neutral detergent insoluble fibers in comparison to control. Protozoa populations significantly decreased by treatments containing *Silybum Marianum* ($P<0.05$). According to the result, two species observed in this experiment were *Diplodinium Cameli* and *Epidinium ecudatum*. Therefore, using *Silybum Marianum* plant caused to improve the nutritional value of *Suaeda* forage in the one-humped camel.

Key Words: Digestibility, One-humped camel, Protozoa, *Silybum Marianum*, *Suaeda Fruticosa*