مقاله علمی پژوهشی/نشریه پژوهش‌های علوم دامی/ جلد ۲۹ شماره ۳/ سال۱۳۹۸/ صفحات ۷۱ تا ۸۶

اثرات افزودن پودرآویشن و حبه سیر بر قابلیت هضم و میزان گاز تولیدی علوفه‌های اسپرس و یونجه در شرایط آزمایشگاهی

طناز طالبی[۱]، جمال سیف دواتی[۲*]، صیاد سیف زاده[۳]، فرزاد میرزایی آقجه قشلاق[۲]، حسین عبدی بنمار[۲] و رضا سید شریفی[۲]

تاریخ دریافت: ۹۷/۱۰/۲ تاریخ پذیرش: ۹۸/۲/۱٤

[۱] دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه محقق اردبیلی

[۲] دانشیار گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه محقق اردبیلی

[۳] دانشجوی دکتری گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه محقق اردبیلی

*مسئول مکاتبه: Email: jseifdavati@uma.ac.ir

چکیده

زمینه مطالعاتی: افزودن پودر گیاهان داروئی آویشن و حبه سیر می‌تواند بر قابلیت هضم و گاز تولیدی علوفه‌های اسپرس و یونجه در شرایط آزمایشگاهی تاثیر گذار باشد. **هدف:** این آزمایش برای بررسی تاثیر سطوح مختلف افزودن پودر آویشن و پودر حبه سیر بر قابلیت هضم و گاز تولیدی در شرایط آزمایشگاهی انجام شد. **روش کار:** در این مطالعه سطوح مختلف پودر آویشن و پودر سیر (صفر، ۱/۵ و ۳ درصد) به سرنگ‌های ۱۰۰ میلی لیتری حاوی علوفه‌های یونجه، اسپرس و مخلوط یونجه و اسپرس افزوده شد و میزان گاز تولیدی با انکوباسیون سرنگ‌ها در زمان‌های ۲، ٤، ٦، ۸، ۱۲، ۲٤، ٤۸، ۷۲ و ۹٦ ساعت بررسی و داده‌های حاصل در قالب طرح کاملا تصادفی تجزیه و تحلیل شدند. **نتایج:** افزودن ۱/۵ درصد پودر آویشن و سیر به علوفه اسپرس سبب بهبود قابلیت هضم ماده خشک، ماده آلی قابل هضم، قابلیت هضم ماده آلی در ماده خشک و انرژی متابولیسمی در مقایسه با شاهد گردید (P<۰/۰۵). همچنین افزودن ۳ درصد پودر سیر افزایش معنی داری را در قابلیت هضم ماده آلی در ماده خشک و انرژی متابولیسمی نسبت به شاهد نشان داد (P<۰/۰۵). نتایج نشان داد که افزودن ۱/۵ و ۳ درصد سیر به علوفه اسپرس کمترین میزان ماده آلی قابل هضم، اسید چرب کوتاه زنجیر، انرژی متابولیسمی، پتانسیل تولید گاز و نرخ تولید گاز در مقایسه با سایر تیمارها شد (P<۰/۰۵). همچنین نتایج نشان داد که ۳ درصد سیر در علوفه یونجه کمترین میزان ماده آلی قابل هضم، اسید چرب کوتاه زنجیر، انرژی متابولیسمی و پتانسیل تولید گاز در مقایسه با شاهد داشت (P<۰/۰۵). مخلوط یونجه و اسپرس تحت تاثیر معنی‌داری افزودن افزودنی‌های گیاهی در مقایسه با شاهد قرار نگرفت. **نتیجه گیری نهایی:** استفاده از سطوح ۱/۵ درصد آویشن و سیر سبب بهبود قابلیت هضم شد. همچنین استفاده از ۳ درصد سیر کاهش میزان گاز تولیدی و فراسنجه‌های تخمیری حاصل از تست گاز را به دنبال داشت.

واژگان کلیدی: آویشن، اسپرس، انرژی متابولیسمی، سیر، قابلیت هضم و یونجه

مقدمه

متخصصین تغذیه نشخوارکنندگان به دنبال استفاده از ترکیباتی هستند که با تغییر جمعیت و فعالیت میکروارگانیسم‌های شکمبه، بازدهی استفاده از انرژی و پروتئین خوراک را افزایش دهند. چنین هدفی با تنظیم جیره غذایی و استفاده از ترکیباتی چون

آنتی‌بیوتیک‌های محرک رشد همانند یونوفرها تا حدودی قابل توجهی حاصل شده است (فریدون پور و همکاران ۱۳۹۵). اما در سال‌های اخیر نگرانی‌ها در رابطه با مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها در تولیدات دامی افزایش یافته است، چرا که امکان مقاومت باکتری‌ها به آنتی‌بیوتیک‌ها زیاد شده است. همچنین در رابطه با این موضوع اتحادیه اروپا استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها به عنوان افزودنی خوراکی در خوراک دام‌ها به دلیل باقی ماندن اثر آن‌ها در شیر و گوشت دام را ممنوع اعلام کرده است (بنچار و همکاران ۲۰۰۷). بنابراین متخصصین به دنبال ترکیباتی جایگزین، با توانایی بهبود فرایند تخمیر می‌باشند. از جمله این ترکیبات جایگزین می‌توان به پروبیوتیک‌ها و اسیدهای آلی و گیاهان دارویی اشاره کرد (کالسامیگلیا و همکاران ۲۰۰۷). گیاهان داروئی به دلیل داشتن خاصیت ضدباکتریایی و ضد قارچی توانایی بهبود تخمیر میکروبی شکمبه را دارند (بورت و همکاران ۲۰۰٤). پاسخ‌های متفاوت در استفاده از گیاهان دارویی بیشتر مربوط به ساختمان شیمیایی آن‌ها بوده که خواص ضدمیکروبی آن‌ها را تحت تاثیر قرار می‌دهد (بنچار و همکاران ۲۰۰۷).

آویشن محتوی ۰/۸ تا ۲/٦ درصد (معمولا ۱ درصد) اسانس است که قسمت اعظم آن را فنل‌ها (۲۰ تا ۸۰ درصد)، هیدروکربن‌های مونوترپنی و الکل‌ها تشکیل می‌دهد که گاهی هر کدام از این ترکیبات تا ۸۰ درصد (یا بیشتر) از ترکیبات اسانس را تشکیل می‌دهند. به طور طبیعی تیمول جزء اصلی فنلی در آویشن است و کارواکرول نیز یک جزء فرعی است (لئونگ و همکاران ۱۹۹٦). آویشن فعالیت ضد میکروبی وسیعی را توسط جلوگیری از رشد باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی دارد (فن و همکاران ۲۰۰۱)

سیر یک بوته گیاهی از خانواده الیاسیه با نام علمی *Gallium sativum* است. اجزای فعال سیر و ترکیبات گوگردی آن شامل آلیسین (C6H10S2O)، دی. آلیل سولفاید (C6H10S) و آلیل مرکاپتان (C3H6S) می‌باشند و همچنین دارای املاح معدنی مهمی مانند سلنیوم و ویتامین‌های بتاکارتون، توکوفرول، آسکوربیک اسید و گروه ب- کپلکس است (کانگمان و همکاران ۲۰۱۰). سیر همچنین حاوی آنزیم‌های آلیناز، پراکسیداز، میراسیناز، قندهای گلوکز و ساکارز، مواد معدنی روی و ژرمانیوم، آمینواسیدهای سیستین، گلوتامین، ایزولوسین، تیامین و ویتامین‌های B_1 و B_2 بوده و به طور معمول حاوی ٦۰ درصد آب می‌باشد (کانگمان و همکاران ۲۰۱۰). سیر توانایی تغییر تخمیر شکمبه‌ای مانند کاهش در نسبت استات، افزایش در نسبت پروبیونات و بوتیرات، محدود نمودن تولید متان و کاهش در نسبت متان به اسیدهای چرب اسانسی را دارد (کالسامیگلیا و همکاران ۲۰۰۷).

با توجه به ترکیبات متنوع و اثر گذار در آویشن و سیر و نیاز به مطالعات بیشتر در رابطه با گیاهان دارویی، این مطالعه با هدف بررسی اثرات افزودن سطوح پودر آویشن و پودر سیر بر قابلیت هضم و فراسنجه‌های تخمیری علوفه‌های اسپرس و یونجه در شرایط آزمایشگاهی اجرا گردید.

مواد و روش‌ها

آماده سازی نمونه

ابتدا نمونه‌های خوراکی (اسپرس، یونجه و مخلوط یونجه- اسپرس) و گیاه آویشن و حبه سیر را با الک ۱ میلی‌متر آسیاب کرده و۱۰ گرم نمونه علوفه اسپرس، یونجه و مخلوط یونجه-اسپرس که به هر کدام سطوح صفر (شاهد)، ۱/۵ و ۳ درصد پودرآویشن و پودر حبه سیر اضافه شده بود، تهیه شدند.

ترکیب شیمیایی نمونه‌ها

ترکیب شیمیایی اقلام خوراکی را که شامل ماده خشک، پروتئین خام، چربی خام و خاکستر بود به روش AOAC (۲۰۰۵) تعیین گردید (جدول یک). همچنین برای تعیین الیاف نامحلول در شوینده خنثی و الیاف نامحلول

در شوینده اسیدی نمونه‌ها از روش ون سوست و همکاران (۱۹۹۱) استفاده گردید (جدول یک).

برآورد قابلیت هضم مواد علوفه‌ای

اندازه گیری قابلیت هضم آزمایشگاهی علوفه یونجه، اسپرس و مخلوط ۵۰ درصد یونجه و ۵۰ درصد اسپرس در اثر استفاده از پودر آویشن و پودر حبه سیر به روش تیلی و تری اصلاح شده هولدن (۲۰۰۰) انجام گرفت. در این روش از کیسه نایلونی به جای فیلتراسیون و انکوباتور Daisy (شبیه ساز شکمبه‌ای) به جای حمام آب گرم استفاده گردید. از نمونه مواد علوفه‌ای آسیاب شده ریخته و به وسیله دستگاه دوخت پلاست بسته شد و سپس قابلیت هضم ماده آلی و ماده آلی در ماده خشک طبق رابطه‌های زیر محاسبه شدند.

DMD **(%)** = وزن خشک بقایای نمونه)/ وزن نمونه اولیه ×۱۰۰ وزن نمونه اولیه – (وزن خشک بقایای هضم شده/

ME = ۰/۰۱۵۷× DOMD

DOMD = (OM× ODM**)**

ODM (%) = قابلیت هضم ×وزن اولیه

در این معادلات ME انرژی قابل متابولیسم بر حسب مگاژول بر کیلوگرم، DOMD قابلیت هضم ماده آلی در ماده خشک با استفاده از روش تلی و تری اصلاح شده هولدن (۲۰۰۰)، OMD قابلیت هضم ماده آلی و OM ماده آلی می باشد.

اندازه گیری میزان گاز تولیدی

برای اندازه گیری میزان گاز تولیدی از روش منک و همکاران (۱۹۷۹) استفاده گردید. نمونه‌های علوفه‌ای بعد از آسیاب کردن با غربال یک میلی‌متری، مقدار ۲۰۰ میلی‌گرم از هر نمونه در داخل سرنگ‌های شیشه‌ای ۱۰۰ میلی‌لیتری مدرج مخصوص ریخته شد. شیرابه شکمبه حدود یک ساعت قبل از تغذیه صبح از دو راس گوسفند فیستولادار که دو وعده در روز به فواصل مساوی و منظم با جیره‌ای حاوی ۷۰۰ گرم علوفه خشک (یونجه و سیلاژ ذرت) و ۳۰۰ گرم در کیلوگرم مخلوط کنسانتره (جو، کنجاله تخم پنبه، سبوس و مکمل) تغذیه می شدند جمع آوری کرده و با پارچه چهار لایه مخصوص صاف گردید و در فلاسک محتوای گاز کربنیک به آزمایشگاه انتقال داده شد. مایع صاف شده و تازه و بافر تهیه شده مطابق روش منک و همکاران (۱۹۷۹) و روش تصحیح شده منک و استینگس (۱۹۸۸) به نسبت‌های ۱ (مایع شکمبه) به ۲ (بافر) با هم مخلوط شد، در حالی که جریان گاز کربنیک به داخل مخلوط ادامه داشت. مقدار ۳۰ میلی لیتر از مخلوط مایع شکمبه و محیط کشت با استفاده از پیپت مخصوص برداشته شده و در داخل هر سرنگ حاوی نمونه ریخته شده و سپس سرنگ‌ها در دمای ۳۹ درجه سلسیوس که با سرعت یک دور در دقیقه برای مخلوط کردن مداوم محتویات سرنگ‌ها چرخانده می شد، قرار داده شدند. ۳۰ میلی‌لیتر از مخلوط مایع شکمبه و بزاق مصنوعی جهت حذف خطای ناشی از گاز تولیدی در اثر عمل میکروارگانیسم‌ها روی مواد خوراکی موجود در مایع شکمبه از نمونه‌های شاهد استفاده شد. برای هر سه تکرار یک عدد سرنگ شاهد قرار داشته شد. در زمان‌های ۲، ٤، ٦، ۸، ۱۲، ۲٤، ٤۸، ۷۲ و ۹٦ ساعت پس از قرار دادن سرنگ‌ها در انکوباتور، موقعیت پیستون و میزان گاز تولیدی قرائت و ثبت گردید. حجم گاز تولیدی بر اساس وزن نمونه خوراک در هر زمان با استفاده از رابطه زیر تصحیح گردید.

$$V= (200 \times (V_t-V_b))/W$$

که در این رابطه، V حجم گاز تصحیح شده (میلی لیتر) به ازای ۲۰۰ میلی گرم ماده خشک نمونه خوراک، V_t حجم گاز تولیدی در سرنگ‌های فاقد نمونه خوراک، V_b حجم گاز تولیدی در سرنگ‌های فاقد نمونه خوراک (میلی لیتر)، W وزن ماده خوراک (میلی گرم) می‌باشد. مقدار اسیدهای چرب زنجیر کوتاه، قابلیت هضم ماده خشک، ماده آلی در ماده خشک و انرژی قابل متابولیسم با استفاده از رابطه‌های مربوطه برآورد شد (منک و استینگس ۱۹۸۸)، که در آن ME: انرژی متابولیسمی (مگاژول / کیلوگرم ماده خشک)، GP: گاز تولیدی خالص ۲٤ ساعت (میلی‌لیتر/ ۲۰۰ میلی گرم ماده

خشک)، CP: پروتئین خام (درصد ماده خشک) و EE چربی خام (درصد ماده خشک)، CA: خاکسترخام (در صد ماده خشک). همین‌طور DOM: قابلیت هضم ماده آلی (در صد ماده خشک)، SCFA: اسیدهای چرب کوتاه زنجیر (میلی‌مول).

$$SCFA\ (mmol) = -0.00425 + 0.0222\times GP$$
$$ME\ (MJ/kg\ DM) = 2.20 + 0.136\times GP + 0.057\times CP$$
$$OMD(\%) = 14.88 + 0.889\times GP + 0.45\times CP + 0.0651\times CA$$

تجزیه تحلیل آماری داده‌ها

داده‌های حاصل از روش تولید گاز در قالب طرح کاملا تصادفی به روش اندازه گیری مکرر و قابلیت هضم هولدنی در قالب طرح کاملا تصادفی با استفاده از نرم افزار SAS (۲۰۰۳) با رویه Mixed مورد بررسی قرار گرفت. مدل مورد استفاده در این رویه یک مدل مختلط شامل اثر تیمار (ماده خوراکی)، اثر زمان انکوباسیون و اثر متقابل بین تیمار و زمان به عنوان اثرات ثابت و اثر تکرار درون هر تیمار به عنوان اثر تصادفی بود. میانگین‌ها به صورت حداقل مربعات (LSMEAN) به همراه خطای استاندارد نمایش داده شدند. مدل‌های آماری به صورت زیر:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \alpha\beta_{ij} + e_{k(i)} + e_{ijk}$$
$$Y_i = \mu + \alpha_i + e_{ij}$$

می باشد، که در آن μ برابر میانگین، α_i برابر اثر تیمار iام، β_j برابر اثر زمان jام، $\alpha\beta_{ij}$ برابر اثر متقابل تیمار و زمان، خطای تصادفی حاصل از تکرار در داخل تیمار، $e_{k(i)}$ **و** e_{ij} برابر خطای باقیمانده می باشد.

نتایج و بحث

قابلیت هضم و ارزش انرژی زایی

داده‌های مربوط به اثر استفاده از پودر آویشن و سیر بر فراسنجه‌های تخمیری علوفه‌های یونجه و اسپرس و مخلوط اسپرس و یونجه به روش آزمایشگاهی هولدن در جدول ۲ ارائه شده است. نتایج نشان داد که افزودن ۱/۵ درصد پودر آویشن و سیر به علوفه اسپرس سبب بهبود قابلیت هضم ماده خشک، ماده آلی قابل هضم، قابلیت هضم ماده آلی در ماده خشک و انرژی متابولیسمی در مقایسه با گروه شاهد گردید ($P<0/05$). مکمل کردن ۳ درصد آویشن به علوفه اسپرس اثر معنی داری بر قابلیت هضم ماده خشک، ماده آلی قابل هضم، قابلیت هضم ماده آلی در ماده خشک و انرژی متابولیسمی در مقایسه با گروه شاهد ایجاد نکرد. اما اضافه کردن ۳ درصد پودر سیر افزایش معنی داری را در قابلیت هضم ماده آلی در ماده خشک و انرژی متابولیسمی نسبت به گروه شاهد نشان داد ($P<0/05$). نتایج مربوط به افزودن ۱/۵ و ۳ درصد پودر آویشن و سیر به علوفه یونجه و مخلوط یونجه و اسپرس تاثیر معنی داری را در قابلیت هضم ماده خشک، ماده آلی قابل هضم، قابلیت هضم ماده آلی در ماده خشک و انرژی متابولیسمی در مقایسه با گروه نشان نداد.

فریدون پور و همکاران (۱۳۹۵) گزارش کردند که گونه-های مختلف آویشن بر فراسنجه‌های تخمیری (قابلیت هضم ماده خشک، انرژی متابولیسمی و اسیدهای چرب کوتاه زنجیر) در شرایط آزمایشگاهی تفاوت معنی‌داری داشت. یانگ و همکاران (۲۰۰۷) نشان دادند که استفاده از دو گرم در روز سرو کوهی در جیره غذایی گاوهای هلشتاین سبب افزایش قابلیت هضم شکمبه‌ای ماده خشک گردید. در حالی که مقدار کل قابلیت هضم ماده خشک، آلی و فیبر تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت. این محققین اظهار داشتند که افزایش قابلیت هضم شکمبه‌ای، ناشی از افزایش هضم شکمبه‌ای پروتئین جیره غذایی به میزان ۱۱ درصد در مقایسه با تیمار شاهد بود. همچنین در مطالعه‌ای، قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی در گاوهای تغذیه شده با جیره‌ای مخلوط با اسانس گیاهی، به طور معنی‌داری کاهش پیدا کرد (پاترا و همکاران ۲۰۰۶). در تحقیقی کاستیجلوس و همکاران (۲۰۰۶) نشان دادند با اسانس‌های آویشن و میخک در سطوح ۵، ۵۰ و ۵۰۰ میلی گرم در لیتر مایع کشت تاثیری بر قابلیت هضم ماده خشک، ماده آلی و الیاف نامحلول در شوینده

اسیدی نداشت. در تحقیقی دیگر دریافت کردند که افزودن اسانس آویشن شیرازی به جیره بره‌های پرواری در شرایط آزمایشگاهی گوارش پذیری ماده خشک و قابلیت هضم حقیقی ماده آلی را کاهش داد (طالب زاده و همکاران ۲۰۱۲). این محققین بیان کردند با توجه به این‌که تیمول موجود در آویشن ساختار فنولی دارد احتمالا در سطوح بالای اسانس این ترکیبات همانند تانن‌ها عمل می کنند. تانن‌ها هضم بخش قابل حل خوراک (آهارونی و همکاران ۱۹۹۸) و اتصال باکتری‌ها به بخش غیرقابل حل خوراک را مهار می کنند (مک آلیسیز و همکاران ۱۹۹٤). ترکیبات همچون اگنول، تیمول و وانیلین بر فرآیند تخمیر شکمبه‌ای از طریق افزایش سیالیت و نفوذپذیری غشاء سلولی و اختلال در تولید پروتئین در غشاء سلولی که به تجزیه دیواره سلولی و خروج مواد سیتوپلاسمی به خارج از سلول منجر می‌شوند، تاثیر خود را می گذارند (کاستالیجوس و همکاران ۲۰۰٦). با توجه به موارد ذکر شده ترکیبات فعال موجود در پودر گیاهان می‌توانند با تاثیر بر نفوذپذیری غشاء میکروارگانیسم‌ها و تخریب دیواره سلولی باکتریایی تاثیرات خود را بر فراسنجه‌های تخمیری اعمال کنند. تحقیقات زیادی با گیاهان مختلف دارویی نظیر نعناع فلفلی (آگاروال و همکاران ۲۰۰۹)، اکالیپتوس (سلام و همکاران ۲۰۱۰)، آویشن (کاستیلجوس و همکاران ۲۰۰٦) و دارچین (فراسر و همکاران ۲۰۰۷) نشان داده است که افزودن پودر یا عصاره این گیاهان تخمیر میکروبی شکمبه را از طریق کاهش غلظت آمونیاک به واسطه اثر گذاری آن‌ها بر باکتری‌های تولید کننده آمونیاک و در نتیجه کاهش دآمیناسیون اسیدهای آمینه، کاهش تولید و تراکم متان، تعداد تک یاخته‌های پروتوزوئری و تغییر نسبت مولی اسیدهای چرب کوتاه زنجیر بهبود می دهند (سلام و همکاران ۲۰۱۲ و سلطان و همکاران ۲۰۱۱).

جدول ۱- اثرات افزودن پودر آویشن و سیر بر ترکیب شیمیایی یونجه و اسپرس

Table 1- Effect of adding thyme and garlic powder on the chemical composition of alfalfa and sainfoin

Experimental treatment	DM	CP	EE	Ash	NDF	ADF
Sainfoin	85.25	11.61	1.92	5.55	42.60	28.20
Sainfoin +1.5% thyme powder	84.70	10.26	1.95	5.72	40.93	30.00
Sainfoin +3% thyme powder	84.95	11.83	2.00	5.92	40.80	25.66
Sainfoin +1.5% garlic powder	84.01	10.50	1.96	5.71	40.00	23.86
Sainfoin +3% garlic powder	83.85	8.70	2.12	4.20	34.66	22.13
Alfalfa	84.65	16.34	1.35	8.72	40.53	23.46
Alfalfa +1.5% thyme powder	85.02	14.77	1.37	8.47	38.00	21.86
Alfalfa +3% thyme powder	85.22	14.98	1.40	8.96	39.80	24.06
Alfalfa +1.5% garlic powder	84.10	12.96	1.39	8.15	38.38	23.46
Alfalfa +3% garlic powder	83.22	12.46	1.44	9.35	39.20	21.80
Mixed alfalfa and sainfoin	84.88	13.61	1.30	6.90	33.53	20.46
Mixed alfalfa and sainfoin +1.5% thyme powder	84.98	13.36	1.32	6.94	37.60	27.93
Mixed alfalfa and sainfoin +3% thyme powder	85.01	13.38	1.38	7.60	36.26	27.13
Mixed alfalfa and sainfoin +1.5% garlic powder	84.11	13.33	1.42	7.51	32.66	23.60
Mixed alfalfa and sainfoin +3% garlic powder	83.88	9.70	1.48	7.49	34.73	28.46

جدول ۲- اثرات افزودن پودر آویشن و سیر بر قابلیت هضم علوفه یونجه و اسپرس به روش آزمایشگاهی هولدن

Table 2- Effects of thyme and garlic powder on alfalfa and sainfoin digestibility using holden method

Experimental treatment	Digestibility of dry matter(٪)	Digestible organic matter(٪)	Digestibility of organic matter in dry matter(٪)	Metabolism energy (MJ / kg)
Sainfoin	48.33 ^{b}	55.77^{c}	52.62^{c}	8.42^{c}
Sainfoin +1.5% thyme powder	65.20 ^{a}	70.24^{a}	66.34^{a}	10.61^{a}
Sainfoin +3% thyme powder	54.60^{ab}	60.89^{bc}	57.51^{bc}	9.20^{bc}
Sainfoin +1.5% garlic powder	61.00 ^{a}	68.98^{ab}	65.15^{ab}	10.42^{ab}
Sainfoin +3% garlic powder	57.60^{ab}	66.27^{ab}	62.59^{ab}	10.01^{ab}
SEM	3.26	2.68	2.53	0.48
P Value	0.03	0.01	0.01	0.01
Alfalfa	60.60	68.61	64.80	10.37
Alfalfa +1.5% thyme powder	69.10	75.40	71.22	11.39
Alfalfa +3% thyme powder	56.20	65.15	61.54	10.84
Alfalfa +1.5% garlic powder	62.20	69.88	66.00	10.56
Alfalfa +3% garlic powder	64.20	71.53	67.56	10.80
SEM	4.57	3.64	3.44	0.51
P Value	0.41	0.42	0.42	0.34
Mixed alfalfa and sainfoin	63.80	71.15	59.94	10.75
Mixed alfalfa and sainfoin +1.5% thyme powder	54.10	63.46	65.20	9.59
Mixed alfalfa and sainfoin +3% thyme powder	61.10	69.03	75.59	10.43
Mixed alfalfa and sainfoin +1.5% garlic powder	74.90	80.02	67.31	12.09
Mixed alfalfa and sainfoin +3% garlic powder	63.90	71.26	69.21	10.77
SEM	6.33	5.04	4.76	0.76
P-Value	0.29	0.31	0.30	0.30

Means with different superscripts (a,b,c,d,e) among treatments are significantly different (p<0.05).

کلونحوسن و همکاران (۲۰۱۱) گزارش کردند که مکمل کردن جیره با دی آلیل در سولفاید موجود در سیر (جزو فعال گوگرددار سیر) منجر به افزایش قابلیت هضم الیاف نامحلول در شوینده خنثی در مقایسه با گروه شاهد می شود. این محقق بیان کردند که اثرات مثبت دی آلیل دی سولفاید موجود در سیر بر هضم الیاف نامحلول در شوینده خنثی به دلیل بهبود تخمیر بوسیله ترکیبات گوگرددار است. همچنین اظهار داشتند که دی آلیل دی سولفاید به طور ویژه باعث رشد قارچ‌های بی هوازی شکمبه شده و از این طریق باعث افزایش قابلیت هضم می شوند.

میزان گاز تولیدی

داده‌های مربوط به اثرات افزودن پودر آویشن و سیر بر میزان گاز تولیدی یونجه و اسپرس و مخلوط یونجه و اسپرس در جدول ۳ ارائه شده است. نتایج نشان داد که افزودن ۱/۵ و ۳ درصد پودر سیر به علوفه اسپرس به ترتیب در زمان‌های ٦، ٢٤ و ٤٨ ساعت و ٦، ٢٤، ٤٨، ٧٢، ٩٦ و ١٢٠ ساعت سبب کاهش میزان گاز تولیدی در مقایسه با گروه شاهد گردید (P<۰/۰۵). در حالی که استفاده از پودر آویشن در هر دو سطح تاثیر معنی داری بر میزان گاز تولیدی علوفه اسپرس نداشت.

نتایج مربوط به افزودن پودر آویشن و سیر به علوفه یونجه نشان داد که میزان گاز تولیدی در اثر افزودن ۱/۵ درصد سیر در زمان‌های ۳، ٦ و ٤٨ ساعت انکوباسیون در مقایسه با گروه شاهد کاهش یافت. هچنین این روند کاهشی میزان گاز تولیدی برای تیمار ۳ درصد سیر+علوفه یونجه در زمان‌های ۳، ٦، ۱۲، ۲٤، ٤٨، ۷۲ و ۱۲۰ ساعت نسبت به گروه شاهد ادامه داشت (P<۰/۰۵).

افزودن پودر آویشن در هر دو سطح ۱/۵ و ۳ درصد و پودر سیر در سطح ۳ درصد به مخلوط علوفه یونجه و اسپرس اثر معنی داری بر میزان گاز تولیدی در مقایسه با گروه شاهد ایجاد نکرد اما مکمل نمودن ۱/۵ درصد سیر توانست سبب افزایش میزان گاز تولیدی در زمان‌های ۳، ٤٨، ۷۲ و ۱۲۰ ساعت انکوباسیون در مقایسه با گروه شاهد شود (P<۰/۰۵). کل حجم گاز تولیدی اندازه گیری شده در شرایط آزمایشگاهی شامل گاز دی اکسید کربن و متان به طور مستقیم از متابولیسم میکروبی و غیرمستقیم از واکنش بین اسید چرب فرار با بی‌کربنات حاصل می‌شود (بیوینک و اسپولسترا ۱۹۹۲). به طور کلی در مطالعه حاضر، افزودن پودر آویشن به علوفه یونجه و اسپرس بر فراسنجه‌های تولید گاز در مقایسه با تیمارهای دیگر تاثیر معنی‌داری داشت که موافق با نتایج بوچرز (۱۹٦٥) و مارتینز و همکاران (۲۰۰٦) بود. بوچرز (۱۹٦٥) بیان کرد که آویشن بر تخمیر میکروبی شکمبه تاثیرگذار است و باعث کاهش نیتروژن آمونیاکی می شود و دآمیناسیون را محدود می کند، همچنین تولید متان و لاکتات را کاهش می دهد. فتاح نیا و همکاران (۱۳۹٤) گزارش کردند که افزودن اسانس آویشن شیرازی به جیره حاوی برخی دانه‌های غلات سبب کاهش پتانسیل کل تولید گاز و تولید گاز ۲٤ ساعته شدند. در تحقیقی دریافت کردند که افزودن اسانس آویشن شیرازی به جیره بره‌های پرواری در شرایط آزمایشگاهی میزان و نرخ تولید گاز را کاهش داد (طالب زاده و همکاران ۲۰۱۲). گنزالس و همکاران (۲۰۰۸) گزارش کردند که به کارگیری اسانس‌های نعناع فلفلی، اسطوخودوس، نعناع، ریحانه، پونه، آویشن، رازیانه، شوید و زیره در شرایط برون تنی تغییر معنی دار در الگوی تخمیر شکمبه خصوصا کاهش تولید متان ایجاد کردند. در تحقیق دیگر عدم تغییر میزان گاز با استفاده از روغن‌های اسانسی گزارش گردید (هس و همکاران ۲۰۰۱). حجت پناه منتظری (۲۰۱٤) گزارش کردند اضافه کردن ۸۰ میلی گرم روغن سیر سبب کاهش میزان گاز تولیدی پس از ۹٦ ساعت انکوباسیون گردید. همچنین در این مطالعه میزان گاز متان نیز پس از ۲٤ ساعت انکوباسیون به شدت کاهش یافت. همچنین بوسکت و همکاران (۲۰۰٥) گزارش کردند که استفاده از ۳۰۰ میلی گرم روغن سیر در فلاسک‌های تخمیر به ترتیب ۲۰ و ۷۰ درصد از کل گاز تولیدی و گاز متان را کاهش داد. احمدیار و همکاران (۱۳۸۹) گزارش کردند که افزودن ۳۰۰ الی ٤۰۰ میلی گرم در لیتر پودر سیر سبب کاهش میزان گاز تولیدی می شود. این محققین کاهش میزان گاز تولیدی را به کاهش در قابلیت هضم ماده آلی و کاهش جمعیت پروتوزوآیی که یکی از مهمترین عوامل در تولید هیدروژن هستند، نسبت داد. باکتری‌های تولید کننده متان برای استحکام غشای سلولی خود نیاز به واحدهای ایزوپرنوئیدی دارند که برای ساخت آن به آنزیمی به نام ۳-هیدروکسی ۳- متیل گلوتاریل کوآنزیم A ردوکتاز نیاز دارند. روغن اسانسی موجود در سیر باعث جلوگیری از فعالیت این آنزیم شده در نتیجه غشای سلولی باکتری متانوژن استحکام مورد نیاز را نداشته و از بین می روند. در نتیجه مهار باکتری‌های متانوژن میزان گاز متان کاهش می‌یابد (بنجار و همکاران ۲۰۱۱).

از طرفی انصاری و همکاران (۲۰۱۱) و ساحلی و همکاران (۲۰۱۸) بیان کردند که استفاده از سیر سبب افزایش میزان گاز تولیدی و قابلیت هضم سوبسترا می‌شود. کانگمون و همکاران (۲۰۱۰) گزارش کردند که

استفاده از سیر در آزمایش‌های *in vitro*، سبب افزایش میزان باکتری‌های سلولتیک می شود. منک و همکاران نیز نشان دادند که همبستگی بالایی بین میزان گاز تولیدی و رشد میکروبی وجود دارد. همچنین پاترا و همکاران (۲۰۱۱) نیز گزارش کردند که استفاده از سیر سبب افزایش میزان گاز تولیدی می‌شود. همان‌طورکه در تیمار مخلوط یونجه–اسپرس به همراه ۱/۵ درصد سیر مشاهده می‌شود. این محققین، علت افزایش میزان گاز تولیدی را در افزایش میزان قند محلول در واکنش‌های ترکیبی به واسطه افزودن عصاره‌های گیاهی دانستند. به طور کلی تفاوت‌های موجود بین مطالعات تولید گاز ممکن است به عواملی از قبیل تفاوت در جیره پایه، غلظت اسانس مورد ارزیابی، نوع روغن یا منشا آن و یا نوع تکنیک برون تنی به کار گرفته شده و همچنین در مقدار سوبسترا و حجم بافر مایع شکمبه در سرنگ‌ها مربوط باشد. (جانی و همکاران ۲۰۱۰).

جدول ۳- اثرات افزودن آویشن و سیر بر میزان گاز تولیدی (میلی لیتر به ازای ۲۰۰ میلی گرم ماده خشک) یونجه و اسپرس به روش آزمایشگاهی

Table 3- Effects of adding thyme and garlic powder to alfalfa and sainfoin *by in vit*ro gas production (ml per 200 mg DM^{-1})

Experimental treatment	Incubation time (hours)							
	3	6	12	24	48	72	96	120
Sainfoin	13.0 ^{ab}	23.3 ^{a}	37.0 ^{ab}	53.2 ^{a}	64.8^{a}	66.8^{a}	70.0 ^{a}	72.0 ^{a}
Sainfoin +1.5% thyme	9.0 ^{ab}	16.0^{ab}	28.6 ^{ab}	43.5^{ab}	52.1 ^{ab}	54.1^{ab}	57.0 ^{ab}	58.4^{ab}
Sainfoin +3% thyme	15.3 ^{a}	25.0 ^{a}	39.3 ^{a}	54.9 ^{a}	62.1^{a}	64.1 ^{ab}	66.7^{ab}	67.7^{ab}
Sainfoin +1.5% garlic	5.3 ^{b}	8.3^{b}	23.0 ^{b}	36.9 ^{b}	45.5 ^{b}	48.5^{ab}	51.4^{ab}	51.7^{b}
Sainfoin +3% garlic	5.6 ^{b}	9.3^{b}	22.3 ^{b}	35.5^{b}	43.3^{b}	45.8^{b}	50.0^{b}	50.7^{b}
SEM	2.30	3.45	4.61	4.72	5.10	5.55	5.82	5.87
P Value	0.04	0.01	0.07	0.04	0.04	0.08	0.11	0.09
Alfalfa	12.3 ^{a}	22.0 ^{a}	34.3^{a}	47.9^{a}	57.5^{a}	58.5^{a}	61.4^{a}	62.0^{a}
Alfalfa +1.5% thyme	13.3^{a}	23.6 ^{a}	36.0^{a}	49.2^{a}	58.5^{a}	60.1^{a}	63.4^{a}	64.4^{a}
Alfalfa +3% thyme	11.0 ^{a}	11.3^{ab}	28.0^{ab}	54.2^{ab}	48.8^{ab}	51.5^{ab}	54.0^{ab}	54.7^{ab}
Alfalfa +1.5% garlic	4.0^{b}	9.3^{b}	24.6^{ab}	36.2^{ab}	43.1^{b}	46.5^{ab}	49.7^{ab}	50.4^{ab}
Alfalfa +3% garlic	2.3^{b}	5.6^{b}	14.0^{b}	30.2^{b}	39.8^{b}	39.5^{b}	42.7^{b}	43.0^{b}
SEM	2.00	3.57	4.46	4.06	4.20	4.59	4.73	4.52
P Value	0.008	0.01	0.04	0.03	0.03	0.05	0.06	0.40
Mixed alfalfa and sainfoin	7.0^{bc}	9.6^{ab}	20.0^{ab}	34.2^{ab}	42.2^{b}	48.5^{b}	51.4	52.0^{b}
Mixed alfalfa and sainfoin +1.5% thyme	7.6 ^{ab}	9.3^{ab}	19.66^{ab}	34.5^{ab}	45.5^{ab}	49.8^{ab}	51.0	54.7^{ab}
Mixed alfalfa and sainfoin +3% thyme	5.6 ^{c}	7.6^{b}	17.6^{b}	31.2^{b}	42.2^{b}	47.8^{b}	56.7	52.7^{ab}
Mixed alfalfa and sainfoin +1.5% garlic	9.0^{a}	11.3^{a}	22.0^{a}	37.5^{a}	48.8^{a}	54.1^{a}	53.7	59.4^{a}
Mixed alfalfa and sainfoin +3% garlic	7.6^{ab}	10.0^{ab}	20.0^{ab}	33.5^{ab}	44.5^{ab}	50.1^{ab}	50.7	52.4^{ab}
SEM	0.51	0.69	1.00	1.41	1.43	1.57	1.78	1.98
P-Value	0.01	0.04	0.06	0.10	0.07	0.10	0.24	0.13

Means with different superscripts (a,b,c,d,e) among treatments are significantly different ($p<0.05$).

فرانسجه‌های حاصل از تست گاز

نتایج مربوط به افزودن پودر آویشن و سیر بر فراسنجه‌های تغذیه‌ای حاصل از تست گاز در جدول ٤ ارائه شده است. نتایج نشان داد که افزودن ۱/۵ و ۳ درصد پودر سیر بر علوفه اسپرس کمترین درصد ماده آلی قابل هضم، اسیدهای چرب فرار و انرژی قابل متابولیسم را در مقایسه با گروه شاهد دارد (P<۰/۰۵). در حالی که مکمل کردن ۳ درصد آویشن افزایش غیرمعنی داری در درصد ماده آلی قابل هضم، اسیدچرب‌های کوتاه زنجیر و انرژی متابولیسمی نسبت به گروه شاهد از خود نشان داد.

نتایج مربوط به افزودن پودر آویشن و سیر به علوفه یونجه نشان داد که افزودن ۱/۵ درصد سیر به علوفه یونجه کاهش معنی دار بر درصد ماده آلی قابل هضم نسبت به گروه شاهد داشت (P<۰/۰۵). همچنین افزودن ۳ درصد سیر به علوفه یونجه نیز کمترین درصد ماده آلی قابل هضم، اسیدچرب‌های کوتاه زنجیر و انرژی متابولیسمی را در مقایسه با گروه شاهد داشت (P<۰/۰۵).

ماده آلی قابل هضم، اسیدچرب‌های کوتاه زنجیر و انرژی متابولیسمی در اثر افزودن پودر سیر و آویشن به مخلوط یونجه و اسپرس نیز تحت تاثیر معنی‌دار نسبت به گروه شاهد قرار نگرفت. این تفاوت در نتایج انرژی قابل متابولیسم با دو روش هولدن و تست گاز به دلیل آن است که تولید گاز در داخل فضای محبوس و بسته سرنگ تست گاز با اثر مستقیم پودر سیر مهار شده و تخمین گاز ٢٤ ساعته را متاثر می‌سازد. چنانچه کاهش میزان گاز تولیدی ساعات ٢٤ انکوباسیون علوفه‌های یونجه و اسپرس با پودر سیر موید این مطلب است (جدول ۳).

نتایج مربوط به اثرات افزودن پودر سیر و آویشن در سطح ۳ و ۱/۵ درصد بر پتانسیل و نرخ تولید گاز در جدول ۵ نشان داده شده است. همان‌طور که مشاهده می شود استفاده از پودر سیر در علوفه اسپرس سبب کاهش پتانسیل تولید گاز در مقایسه با گروه شاهد شد. همچنین در علوفه یونجه نیز کمترین میزان پتانسیل تولید گاز مربوط به تیمار یونجه به همراه ۳ درصد سیر مشاهده گردید (P<۰/۰۵). پتانسیل تولید گاز در اثر افزودن سیر و آویشن به مخلوط یونجه و اسپرس تحت تاثیر معنی داری در مقایسه با گروه شاهد قرار نگرفت. اما به لحاظ عددی بیشترین میزان نرخ گاز تولیدی در تیمار ۱/۵ درصد سیر مشاهده گردید.

نتایج نشان داد که نرخ تولید گاز تحت تاثیر افزودنی‌های گیاهی قرار گرفت (P<۰/۰۵). به طوری که افزودن ۱/۵ درصد آویشن افزایش عددی نسبت به گروه شاهد از خود نشان داد از طرفی استفاده از سیر در هر دو سطح کمترین میزان نرخ گاز تولیدی را نسبت به گروه شاهد به خود اختصاص داد. افزودنی‌های گیاهی تاثیر معنی داری بر نرخ گاز تولیدی در علوفه یونجه و مخلوط یونجه و اسپرس در مقایسه با گروه شاهد نشان ندادند.

طاهری نیا و همکاران (۱۳۹۳) گزارش کردند که استفاده از سطوح مختلف سیر (صفر، ۱، ۲، ۳، ٤ و ۵ بر حسب ماده خشک) در جیره گوسفندان نرخ گاز تولیدی را تحت تاثیر قرار داد به طوری که استفاده پنج درصد سیر بیشترین و استفاده از ۳ درصد کمترین میزان نرخ گاز تولیدی را داشتند. همچنین در این مطالعه بیشترین پتانسیل تولید گاز مربوط به سطح دو درصد سیر در خوراک بود. فریدون پور و همکاران (۱۳۹۵) گزارش کردند که استفاده از آویشن سبب تغییر پتانسیل و نرخ گاز تولیدی گردید. به طوری که تیمار شاهد بیشترین میزان پتانسیل تولید گاز را در مقایسه با سایر تیمارها داشت. احمدیار و همکاران (۱۳۸۹) گزارش کردند که استفاده از پودر سیر سبب کاهش میزان اسیدچرب‌های فرار در ساعت‌های مختلف انکوباسیون گردید. این محققین اظهار داشتند که دلیل کاهش اسید چرب‌های فرار احتمالا به دلیل فعالیت بالای ضدمیکروبی باشد که سبب کاهش تخمیر شده که در نتیجه آن باعث کاهش

تولید اسیدچرب‌های فرار می شود. واناپات و همکاران (۲۰۰۸) نیز بیان کردند که استفاده از سطوح مختلف روغن سیر در جیره گاوشیری تاثیر معنی داری بر کل اسیدچرب فرار نداشت. اما نسبت استات به پروپیونات در گروه دریافت کننده ۸۰ گرم پودر سیر در روز کمترین مقدار را در مقایسه با گروه‌های دیگر داشت. کامل و همکاران (۲۰۰۷) گزارش کردند که آلیسین به میزان ۰/۵ میلی‌گرم به ازای هر لیتر مایع شکمبه در ساعت ٦ انکوباسیون با افزایش تولید استات و در غلظت ۵ میلی‌گرم به ازای هر لیتر مایع شکمبه باعث افزایش نسبت استات به پروپیونات شد. همچنین در ساعت ٦ انکوباسیون دی الیل دی سولفید در غلظت‌های ۰/۵، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم به ازای هر لیتر مایع شکمبه باعث افزایش استات و غلظت کل VFA و در غلظت ۵ میلی گرم به ازای هر لیتر مایع شکمبه باعث افزایش نسبت استات به پروپیونات گردید. انصاری و همکاران (۲۰۱۱) در مقایسه اثرات سیر در جایگزینی با مونسین بیان کردند که استفاده از این افزودنی‌های نتوانست میزان کل اسیدچرب‌های فرار را تحت تاثیر معنی داری قرار دهد اما اسید چرب‌های فرار به صورت انفرادی (پروپیونات و نسبت پروپیونات به استات) تحت تاثیر بیشتر مونسین و اثر کمتر سیر قرار گرفتند. دروسا و همکاران (۱۹۸٦) اظهار داشتند که استفاده از سیر سبب کاهش متان تولیدی می‌شود. مارتین و ماسی (۱۹۸۵) بیان کردند که سیر به عنوان یک مهار کننده مستقیم متان بوده و از سنتز متان جلوگیری می‌کند. دفع بیش از حد هیدروژن به واسطه مهار تولید متان، سبب افزایش غلظت دیگر دریافت‌کننده هیدروژن همچون پروپیونات می‌شود (دمیر و نوول ۱۹۷۵).

سلام و همکاران (۲۰۰۹) در آزمایشی با استفاده از تکنیک تولید گاز گزارش کردند، استفاده از سطوح ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میکرولیتر روغن اکالیپتوس تأثیری بر قابلیت هضم ماده آلی و ماده خشک نداشت. دوانت و همکاران (۲۰۰۷) گزارش کردند که استفاده از مخلوط اسانس‌های روغنی با نام تجاری بیواستار به میزان ۲/۸ گرم به ازای هر کیلوگرم ماده خشک مصرفی باعث کاهش استات و افزایش پروپیونات شده است. یانگ و همکاران (۲۰۰۷) نیز نشان دادند که استفاده از ۵ گرم در روز به ازای هر گاو و سرو کوهی به میزان ۲ گرم در روز به ازای هر گاو تاثیر بر غلظت کل اسیدچرب‌های فرار در مقایسه با گروه شاهد نداشت. کاستیلجوس و همکاران (۲۰۰٦) روغن اسانسی آویشن در مقادیر ۵۰۰ و ۵۰۰۰ میلی گرم به ازای هر لیتر مایع شکمبه باعث کاهش کل اسیدهای چرب فرار شد و در غلظت ۵۰۰ میلی گرم به ازای هر لیتر مایع شکمبه استات افزایش ولی سهم پروپیونات کاهش یافت. در غلظت‌های ۵۰۰ و ۵۰۰۰ میلی گرم به ازای هر لیتر مایع شکمبه غلظت ایزوبوتیرات و ایزو والرات نسبت به شاهد کاهش یافت.

چندین عامل ممکن است در کاهش قابلیت هضم به واسطه سیر دخیل باشند. با توجه به این‌که پروتوزوئرها ۲۵ تا ۳۰ درصد هضم الیاف در شکمبه را بر عهده دارند (ایوان و همکاران ۲۰۱۰) کاهش جمعیت پروتوزوایی شکمبه در اثر خاصیت آنتی پروتوزوایی سیر ممکن است یکی از عوامل باشد از طرفی اثر سیر خام بر هضم و پروتوزوا توسط انصاری و همکاران (۲۰۱۱) به اثبات رسیده است. روغن‌های ضروری که حاوی ترکیبات موثر زیاد (فراسر و همکاران ۲۰۰۷) و یا حتی کم (کاستیلجوس و همکاران ۲۰۰٦) می‌باشند، می‌توانند قابلیت هضم را تحت تاثیر قرار دهند علت آن حساسیت باکتری‌های فیبرولتیک به اجزای فعال تمام روغن‌های ضروری می‌باشد (بنجار و همکاران ۲۰۰۷).

جدول ۴- اثرات افزودن آویشن و سیر بر ماده آلی قابل هضم (٪)، اسید چرب کوتاه زنجیر (میلی‌مول بر ۲۰۰ میلی گرم ماده خشک)، انرژی متابولیسمی (مگاژول بر کیلوگرم ماده خشک)، پتانسیل تولید گاز (میلی لیتر در گرم ماده خشک) و نرخ تولید گاز (میلی لیتر در ساعت)

Table 4- Effects of adding thyme and garlic powder on organic matter digestibility (%), short chain fatty acid (mmol / 200 mg DM), metabolizable energy (MJ / kg DM), gas production potential (ml / g DM) and gas production rate (ml / h)

Experimental treatments	Organic matter digestibility	SCFA	Metabolizable energy	(a+b)	(c)
Sainfoin	67.80^{a}	1.17^{a}	9.8^{ab}	348.42^{a}	0.062^{ab}
sainfoin +1.5% thyme	58.6^{ab}	0.96^{ab}	8.7^{abc}	283.68^{ab}	0.059^{ab}
sainfoin +3% thyme	69.00^{a}	1.2^{a}	10.2^{a}	329.32^{ab}	0.078^{a}
Sainfoin +1.5% garlic	52.70^{b}	0.81^{b}	7.8^{c}	254.65^{b}	0.053^{b}
Sainfoin +3% garlic	50.70^{b}	0.78^{b}	7.5^{c}	246.73^{b}	0.051^{b}
SEM	4.20	0.10	0.64	27.53	0.006
P-Value	0.03	0.04	0.04	0.09	0.08
Alfalfa	65.40^{a}	1.05^{a}	9.6^{ab}	302.37^{a}	0.070
alfalfa +1.5% thyme	65.80^{a}	1.08^{a}	9.7^{a}	311.32^{a}	0.073
Alfalfa +3% thyme	57.40^{ab}	0.88^{ab}	8.6^{abc}	266.21^{ab}	0.062
Alfalfa +1.5% garlic	53.40^{b}	0.80^{ab}	7.8^{bc}	243.14^{ab}	0.068
Alfalfa +3% garlic	47.90^{b}	0.65^{b}	7.0^{c}	210.61^{b}	0.068
SEM	3.06	0.09	0.55	22.88	0.009
P-Value	0.02	0.02	0.03	0.05	0.94
Mixed alfalfa and sainfoin	51.00^{ab}	0.75^{ab}	7.52^{ab}	259.13	0.041
alfalfa + sainfoin +1.5% thyme	51.10^{ab}	0.76^{ab}	7.05^{ab}	272.07	0.039
alfalfa + sainfoin +3% thyme	48.20^{b}	0.68^{b}	7.08^{b}	264.06	0.035
alfalfa + sainfoin +1.5% garlic	54.70^{a}	0.83^{a}	8.07^{a}	291.37	0.040
alfalfa + sainfoin +3% garlic	49.5^{b}	0.74^{ab}	7.32^{b}	277.92	0.036
SEM	1.25	0.03	0.19	9.22	0.001
P-Value	0.04	0.10	0.04	0.19	0.08

Means with different superscripts (a,b,c,d,e) among treatments are significantly different ($p<0.05$).

نتیجه گیری کلی

اثر استفاده از سطوح مختلف آویشن و سیر بر ارزش غذایی و قابلیت هضم علوفه و اسپرس نشان داد که افزودن ۱/۵ درصد سیر و آویشن سبب بهبود قابلیت هضم علوفه اسپرس به روش هولدن شد. به طور کلی افزودن آویشن به علوفه در اکثر زمان‌ها، نتوانست به صورت معنی داری میزان گاز تولیدی را نسبت به گروه شاهد بهبود بخشد اما در برخی زمان‌ها افزایش عددی در میزان گاز تولیدی دیده شد. افزودن ۳ درصد سیر در اکثر زمان‌ها و ۱/۵ درصد سیر در برخی زمان‌ها سبب کاهش شدید میزان گاز تولیدی نسبت به گروه شاهد شد. همچنین نتیجه گیری می‌شود که استفاده از ۳ درصد سیر سبب کاهش فراسنجه‌های تخمیری حاصل از تست گاز (اسید چرب‌های فرار کل، انرژی متابولیسمی و قابلیت هضم) در علوفه اسپرس و یونجه شد. نتایج این مطالعه پیشنهاد می کند که افزودن گیاهان دارویی آویشن و سیر توانست فراسنجه‌های تخمیری و میزان گاز تولیدی را تغییر دهد که با توجه به میزان استفاده آن متفاوت می باشد.

منابع مورد استفاده

Aharoni Y, Gilboa N and Silanikove N, 1998. Analysis of the suppressive effect of tannins on ruminal degradation by compartmental models. Animal Feed Science Technology 71: 251-267.

Ahmadiar R and Hojibari F, 2010. The effect of different garlic products on ruminal microbial fermentation under laboratory conditions. Master's Thesis. Razi University of Kermanshah. (In Persian).

Anassori E, Dalir-Naghadeh B, Pirmohammadi R, Taghizadeh A, Asri-Rezaei S, Maham M, Farahmand-Azar S and Farhoomand P, 2011. Garlic: A potential alternative for monensin as a rumen modifier. Livestock Science 142: 276-287.

AOAC, 2005. Official method of Analysis. 18th Edition, Association of Officiating Analytical Chemists, Washington DC, Method 935.14 and 992.24.

Benchaar C and Greathead H, 2011. Essential oils and opportunities to mitigate enteric methane emissions from ruminants. Animal Feed Science and Technology 166– 167: 338– 355.

Benchaar C, Petit V, Berthiaume RH, Ouellet DR, Chiquette J and Chouinard PY, 2007. Effects of essential oils on digestion, ruminal fermentation, rumen microbial populations, milk production and milk composition in dairy cows fed alfalfa silage or corn silage. Journal of Dairy Science 90: 886-897.

Beuvink JMW and Spoelstra SF, 1992. Interactions between substrate, fermentation end-products, buffering systems and gas production upon fermentation of different carbohydrates by mixed rumen microorganisms *in vitro*. Applied Microbiology and Biotechnology 37:505-509.

Borchers R, 1965. Proteolytic activity of rumen fluid *in vitro*. Journal of Animal Science 24:1033–1038.

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

Busquet M, Calsamiglia S, Ferret A, Carro MD and Kamel C, 2005. Effect of garlic oil and four of its compounds on rumen microbial fermentation. Journal of Dairy Science 88: 4393–4404.

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

Castillejos L, Calsamiglia S and Ferret A, 2006. Effect of essential oil active compounds on rumen microbial fermentation and nutrient flow in in vitro systems. Journal Dairy Science 89: 2649–2658.

Demeyer DI and Van Nevel CJ, 1975. Methanogenesis an integrated part of carbohydrate fermentation and its control. University of New England Publishing Unit Armidale pp. 366–382.

DeRosa M, Gambacorta A and Gliozzi A, 1986. Structure, biosynthesis, and physicochemical properties of archaebacterial lipids. Microbiology Reviews 50:70-80.

Devant M, Gambacorta A and Bach A, 2007. Effects plant extracts supplementation on rumen fermentation and metabolism young Holstein bulls consuming high levels of concentrate. Journal of Animal Feed Science Technology 137: 46–57.

Fan M and Chen J, 2001. Studies on antimicrobial activity of extracts from thyme. Wei Sheng Wu Xue Bao 41: 499-504

Fattahnia F, Mohammadizadeh T, Azarfar A, Khatib Joe A and Tasley G, 2015. Effect of Zataria multiflora essential oil on rumen fermentation processes in diets containing different sources of starch and fat by gas production method. Journal of Ruminant Research 3: 37-58. (In Persian).

Fereydounpour, M, Bayat Koohsar, J, Pooralmadari E G, Ebrahimi P, 2016. Effect of essential oils of different species of thyme on gas production, digestibility and fermentation parameters in laboratory conditions. Animal Production Research 714:109-117. (In Persian).

Fraser GR, Chaves AV, Wang Y, McAllister TA, Beauchemin KA and Benchaar C, 2007. Assessment of the effects of cinnamon leaf oil on rumen microbial fermentation using two continuous culture systems. Journal Dairy Science 90: 2315-2328.

Hess HD, Machmüller A, Diaz TE and Kreuzer M, 2001. Rusitec evaluation of the potential of saponin–rich tropical fruits to manipulate rumen fermentation and to reduce methanogenesis. Proceedings of the Society of Nutrition Physiology 10: 123.

Hodjatpanah-montazeri A, Danesh Mesgaran M, Vakili A, Ghorbani B and Tabatabaie F, 2014. In vitro Effect of Garlic Oil and Turmeric Extract on Methane Production from Gas Test Medium. Annual Research Review in Biology 4: 1439:1447.

Holden LA, 2000. Comparison of methods of in vitro dry matter digestibility for ten feeds. Journal Dairy Science 82: 1791-1797.

Ivan M, Neill, L Forster R, Alimon R, Rode LM 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.

Jani A, Danesh Mesgaran M and Vakili A, 2010. Effect of peppermint oil and NFC on *in vitro* gas production parameters. Fourth Iranian Animal Science Congress, Tehran, Iran. (In Persian).

Kamel C, Greathead HMR, Tejido ML, Ranilla MJ and Carro MD, 2007. Effects of allicin and diallyl disulfide on in vitro rumen fermentation of a mixed diet. Journal of Animal Feed Science Technology 145: 351-363.

Klevenhusen F, ZeitzaDuvalb JO, Kreuzera SM and Solivaa CR, 2011. Garlic oil and its principal component di-allyl disulfide fail to mitigate methane, but improve digestibility in sheep. Animal Feed Science Technology 166: 356–363.

Kongmun P, Wanapat M, Pakdee P and Navanukraw C, 2010. Effect of coconut oil and garlic powder on *in vitro* fermentation using gas production technique. Livestock Science 127: 38-44.

Leung A and Foster S, 1996. Encyclopedia of common natural ingredients drugs and cosmetics. 2nd edition, John Willey, Editor, New York: John Willey and Sons Inc Press.

Martin SA and Macy JM, 1985. Effects of monensin, pyromellitic diimide and 2-bromoethanosulfonic acid on rumen fermentation in vitro. Journal of Animal Science 60: 544–550.

Martinez S, Madrid J, Hernandez F, Megias MD, Sotomayor JA and Jordan MJ, 2006. Effect of thyme essential oils (*Thymus hyemalis* and *Thymus zygis*) and monensin on *in vitro* ruminal degradation and volatile fatty acid production. Journal of Agricultural and Food Chemistry 54: 6598-6602.

McAllister TA, Bae HD, Jones GA and Cheng KJ, 1994. Microbial attachment and feed digestion in the rumen. Journal of Animal Science 72: 3004–3018.

Menke K and Steinggass H, 1988. Estimation of the energetic feed value from chemical analyses and in vitro gas production using rumen fluid. Animal Research and Development 28:7-55.

Menke K, Raa L, Steingass H, Fritz D and Scheider W, 1979. The estimation of the digestibility and metabolisable energy content of ruminant feeding stuffs from the gas production technique when they are incubated with rumen liquor in vitro. Journal of Agricultural Science Cambridge 93: 217-222.

Patra AK, 2011. Effects of essential oils on Rumen fermentation, microbial ecology and Ruminant production. Asian Journal of Animal and Veterinary Advances 6: 416- 428.

Patra AK, Kamra DN and Agarwal N, 2006. Effect of spices on rumen fermentation, methanogenesis and protozoa counts in in vitro gas production test. International Congress Series 1293: 176–179.

Sahli F, Darej C and Moujahed N, 2018. Potential of white garlic powder (*Allium sativum* L.) to modify *in vitro* ruminal fermentation. South African Journal of Animal Science 48: 30-41.

Sallam SMA, Bueno ICS, Brigide P, Godoy PB, Vitti, DMSS and Abdalla AL, 2009. Efficacy of eucalyptus oil on in vitro ruminal fermentation and methane production, Options Mediterraneennes. Serie A, Seminaires Mediterraneens 85: 267-272.

SAS / STAT User's Guide. Version 9.1 Edition. 2003. SAS Inst. Cary, NC.

Taherinia MH, Chaji M, Mohammadabadi T, Eslami M and Sari M, 2014. Effects of diets contain garlic powder on degradability and digestion of ruminal and intestinal of fibrous and protein feedstuffs in Arabian sheep. Journal of Ruminant Research 2:20-31. (In Persian).

Talebzadeh R, Alipour D, Saharkhiz MJ, 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 Technology 172:115- 124.

Van Soest PJ, Robertson JB and Lewis BA, 1991. Methods for dietary neutral detergent fiber, and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. Journal of Dairy Science 74: 3583-3597.

Wanapat M, Pichad K, Pawadee P and Sadudee W, 2008. Effect of supplementation of garlic powder on rumen ecology and digestibility of nutrients in ruminants. Journal of the Science of Food and Agriculture 88: 2231–2237.

Yang WZ, Benchaar C, Ametaj BN, Chaves AV, He ML and McAllister TA, 2007. Effects of garlic and juniper berry essential oils on ruminal fermentation and on the site and extent of digestion in lactating cows. Journal of Dairy Science 90: 5671-5681.

Effects of adding different levels of thyme powder and garlic cabbage powder in alfalfa, sainfoin and their mixture on digestibility and the amount of in vitro gas production

T Talebi[1], J Seifdavati[2*], S Seifzadeh[3], F Mirzaei Aghjeh Gheshlagh[2], H Abdi Benemar[2] and R Seyed Sharifi[2]

Received: December 23, 2018 Accepted: December 5, 2019

[1]Graduate student, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Iran
[2]Associate Professors, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Iran
[3]PhD Students, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Iran
[*]Correspondence: Email: jseifdavati@uma.ac.ir

پژوهش‌های علوم دامی Animal Science Researches | Journal of Animal Science/vol.29 No.3/ 2019/pp 71-86 https://animalscience.tabrizu.ac.ir | OPEN ACCESS

© 2009 Copyright by Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran.
This is an open access article under the CC BY license (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0)

Introduction: Between 2 to 12% of a ruminant's energy intake is typically lost through the enteric fermentation process. Ruminant production is associated with nitrogen loss especially in the form of ammonia from urine and manure management during composting. These contribute to greenhouse emission and environmental pollution in general. In the past few decades, feed additives such as antibiotics, ionophores, methane inhibitors, and anti-protozoa agents have been successfully used to reduce these rumen energy, nitrogen releases and metabolic disorders (Calsamiglia et al. 2007), though increase production efficiency. Therefore, ruminants' nutritionists try to use compounds that increase the efficiency of energy and protein intake by changing the population and activity of ruminal microorganisms (Fereydounpour et al. 2016). These alternative compounds are probiotics, organic acids, and medicinal plants (Calsamiglia et al. 2007). The essential oils are secondary plant metabolites, which have antimicrobial properties and can be suitable substitutes for antibiotics to alter rumen microbial activity. Also, a research has shown that the essential oils and their constituents have the potential to improve nitrogen and energy utilization in ruminants (Patra et al. 2006). Talebzadeh et al (2012) reported that the essential oil of thyme at 150, 300, 450, and 600 micrograms per ml of culture medium was used only at concentrations above 450 mg decreased the real digestibility of organic matter. Adding powdered herbs such as thyme and garlic cabbage can affect the *in vitro* digestibility and the amount of *in vitro* gas production in sainfoin and alfalfa and their mixture. Thymol is a main phenolic component in thyme and carvacrol is also a minor component (Leung and Foster 1996). These compounds are involved in oxidation and reduction reactions. Thyroid has a large antimicrobial activity by preventing the bacteria growth. Researchers reported that active compounds in garlic containing allycine, diallylsulfide, and di-allylene sulfide, which can affect ruminal harmful bacteria. Considering the various compounds and effects of thyme and garlic and the need for further studies on medicinal plants, this study carried out to investigate the effects of adding levels of thyme powder and garlic on digestibility and fermentation parameters of sainfoin and alfalfa forage in laboratory conditions.

Material and methods: A study was conducted to investigate the effect of adding different levels of thyme powder and garlic cabbage powder on digestibility and the amount of *in vitro* gas

production at three levels of 0, 1.5, and 3% for alfalfa, sainfoin and mixed alfalfa and sainfoin based on a completely randomized design. Measurement of digestibility of alfalfa forage, sainfoin and mixture of 50% alfalfa and 50% sainfoin were carried out using thyme powder and garlic cabbage powder by Holden method (2000). In this method, the nylon bag was used instead of filtration and a daisy (rumen simulator) incubator was used instead of a hot water bath. Menke et al (1979) method was used to measure the amount of gas production. The amounts of short chain fatty acids, digestibility of dry matter, organic matter in dry matter, and metabolizable energy were estimated using related equations (Menke and Steinggass 1988). The data obtained from the method of gas production analyzed in a completely randomized design with repeated measurements. Data digestibility by Holden was investigated in a completely randomized design using SAS (2003) software.

Results and discussion: The results showed that adding 1.5% thyme and garlic to sainfoin forage improved digestibility of dry matter, organic matter digestibility, digestibility of organic matter in dry matter, and metabolizable energy compared with control group ($P < 0.05$). Also, adding 3% garlic powder showed a significant increase in digestibility of organic matter in dry matter and metabolizable energy compared with the control group ($P < 0.05$). But adding 1.5% and 3% thyme and garlic powder to alfalfa and mixed alfalfa and sainfoin had not a significant effect on dry matter digestibility, organic matter digestibility, digestibility of organic matter in dry matter and metabolizable energy compared with the control group. The results showed that adding 1.5 percent of garlic powder to sainfoin was reduced the amount of produced gas compared with the control group for 6, 24, 48 hours after incubation and also adding 3 percent of garlic powder to sainfoin was decreased the amount of produced gas compared with the control group for 6, 24, 48, 72, 96 and 120 hours after incubation ($P < 0.05$). This trend was followed by the reduction of the amount of gas for treatment of 3% garlic + alfalfa at 3, 6, 12, 24, 48, 72, 120 times compared with the control group ($P < 0.05$). Feeding 1.5% of garlic powder was increased the amount of produced gas at 3, 48, 72, and 120 hours of incubation compared with the control group ($P < 0.05$). The results showed that adding 1.5 and 3% garlic powder to sainfoin forage had the lowest amount of digestible organic matter, short chain fatty acid, metabolizable energy, gas production potential and gas production rate compared with other treatments ($P < 0.05$). Also, results showed that 3% of garlic powder in alfalfa had the lowest amount of digestible organic matter, short chain fatty acid, metabolizable energy, gas production potential compared with the control group ($P < 0.05$). Adding plant additives had no significant effect on mixed of alfalfa and sainfoin compared with the control group. The essential oils that contain high levels of effective components (Fraser et al. 2007) or even low ones (Castillejos et al. 2006) can affect digestibility. This is due to the sensitivity of fibrolytic bacteria to the active components of all essential oils (Benchaar et al. 2007).

Conclusion: The effect of different levels of thyme and garlic on the nutritional value and digestibility of forage and sainfoin showed that addition of 1.5% of garlic and thyme improved the digestibility of forage by Holden method. Generally, adding thyme to forage at most of the times did not significantly improve the amount of gas produced compared with the control group, but at some times there was a numerical increase in the amount of produced gas. Adding 3% garlic at most of the times and 1.5% garlic at some of the times caused a significant reduction in the amount of produced gas compared with the control group. It can also be concluded that the use of 3% garlic reduced the fermentation parameters obtained from the gas test (total volatile fatty acid, metabolizable energy, and digestibility) in sainfoin and alfalfa. The results of this study suggest that the addition of thyme and garlic can change the fermentation parameters and the amount of gas production, which is different depending on their usage amount.

Key word: Alfalfa, Digestibility, Garlic, Metabolizable energy, Sainfoin, Thyme