مقاله علمی پژوهشی/نشریه پژوهش‌های علوم دامی/ جلد ۳۲ شماره ۳/ سال۱۴۰۱/ صفحات ۱۹ تا ۳۴

DOI: 10.22034/AS.2021.43228.1596

تاثیر سطوح مختلف عصاره آویشن بر ابقاء نیتروژن، تولید گاز، جمعیت میکروبی، تعداد پروتوزوآ و برخی فراسنجه‌های خون در بره‌ها و بزغاله‌های پرواری

صفورا شه‌روان[۱]، تقی قورچی[۲*]، بهروز دستار[۲]، عبدالحکیم توغدری[۳] و مختار مهاجر[۴]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۹/۲۳ تاریخ پذیرش: ۱٤۰۰/۷/٤

[۱]دانشجوی دکتری گروه تغذیه دام و طیور دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

[۲] استاد گروه تغذیه دام و طیور دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

[۳]استادیار گروه تغذیه دام و طیور دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

[٤] استادیار مرکز تحقیقات جهاد کشاورزی استان گلستان

[*]مسئول مکاتبه:Email:ghoorchit@yahoo.com

چکیده

زمینه مطالعاتی: در طی فرآیند تخمیر شکمبه‌ای اتلاف انرژی و پروتئین رخ می‌دهد که باعث کاهش بازده خوراک می‌شود. در این رابطه راهکارهای متفاوتی ارائه شده است که از جمله آن‌ها می‌توان به استفاده از اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی مانند عصاره آویشن اشاره کرد. هدف: این پژوهش به‌منظور بررسی اثر سطوح مختلف عصاره آویشن بر ابقاء نیتروژن، تولید گاز، جمعیت میکروبی، تعداد پروتوزوآ و برخی فراسنجه‌های خون در بره‌ها و بزغاله‌های پرواری طراحی شد. **روش کار**: برای این منظور ۱۵ رأس بزغاله سه ماهه نژاد بومی استان گلستان با میانگین وزن اولیه ۱±۱۷/۳ کیلوگرم و ۱۵ رأس بره سه ماهه نژاد دالاق با میانگین وزن اولیه ۱/۵± ۲۱/٤ کیلوگرم در قالب طرح کاملا تصادفی با آرایش فاکتوریل ۳×۲ با یکی از ۳ جیره: ۱) شاهد؛ بدون عصاره آویشن، ۲) مکمل شده با ۲۵۰ میلی‌گرم عصاره آویشن، ۳) مکمل شده با ۵۰۰ میلی‌گرم عصاره آویشن به مدت ۸٤ روز و به‌صورت انفرادی تغذیه شدند. **نتایج**: نتایج آزمایش نشان داد که نیتروژن دفعی مدفوع و ادرار در تیمارهای دریافت کننده ۲۵۰ میلی‌گرم عصاره آویشن کمتر و نیتروژن ابقاء شده و هضم شده بیشتر از تیمارهای دیگر بود (P<۰/۰۱). با افزایش سطوح عصاره آویشن، روند کاهش تولید گاز و گاز متان به‌طور معنی‌داری در هر دو گونه مشاهده شد (P<۰/۰۱). در بره‌ها و بزغاله‌های دریافت کننده عصاره آویشن، با افزایش سطوح عصاره در جیره، تعداد پروتوزوآ به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (P<۰/۰۱). غلظت گلوکز خون با افزایش عصاره در جیره به‌طور معنی‌داری افزایش و غلظت نیتروژن اوره‌ای خون کاهش یافت (P<۰/۰۱). **نتیجه‌گیری نهایی**: به‌طور کلی نتایج این پژوهش نشان داد که استفاده از عصاره آویشن در جیره بره‌ها و بزغاله‌های پرواری می‌تواند به‌طور چشمگیری تولید گاز به‌خصوص گاز متان و دفع نیتروژن از طریق ادرار و مدفوع را کاهش و در نتیجه ابقا و هضم نیتروژن را افزایش دهد.

واژگان کلیدی: بره، پروار، بزغاله ، عصاره آویشن، جمعیت میکروبی، فراسنجه‌های خون

مقدمه

طی تخمیر در شکمبه تولید متان، دی‌اکسیدکربن و آمونیاک باعث اتلاف پروتئین و انرژی، آلودگی محیط

زیست و افزایش گازهای گلخانه‌ای و در نتیجه کاهش بازده خوراک می‌شود (بنچار و همکاران ۲۰۰۸ و بونتن ۲۰۰۷). گاز متان بعد از دی‌اکسیدکربن از مهمترین گازهای گلخانه‌ای در فرایند گرم شدن زمین است (رایت و کلیو ۲۰۱۱). از طرفی دیگر، بسته به مقدار جیره مصرفی، شکل‌گیری فرآیند متانوژنزیز (Methanogensis) باعث هدر روی ۲ الی ۱۵ درصد از انرژی خام مواد خوراکی مصرفی می‌گردد (آگاروال و همکاران ۲۰۰۹). به همین دلیل می‌توان در تخمیر شکمبه‌ای برای بهبود بازدهی تخمیر و استفاده از سوبسترا و بهینه‌سازی ارزش تغذیه‌ای خوراک، تغییراتی ایجاد نمود (مکینتوش و همکاران ۲۰۰۳ واناپات و همکاران ۲۰۰۸). استفاده از افزودنی‌های خوراکی در جیره از جمله راهکارهایی است که می‌توان در این زمینه اعمال نمود. بعد از ممنوع شدن استفاده از آنتی‌بیوتیک، در سال‌های اخیر، در پرورش و تغذیه نشخوارکنندگان استفاده از عصاره‌های گیاهی گسترش زیادی داشته است (هریستو و همکاران ۲۰۰۸). یکی از گزینه‌های مناسب جهت جایگزینی آنتی‌بیوتیک‌ها با هدف بهبود تخمیر شکمبه نشخوارکنندگان عصاره‌های گیاهی هستند که کاهش تجزیه پروتئین و نشاسته، مهار و کاهش تجزیه اسیدهای آمینه در شکمبه از اثرات اصلی آن‌ها در شکمبه است (بنچار و همکاران ۲۰۰۸). در نشخوارکنندگان غلظت فراسنجه‌های خونی مانند گلوکز و نیتروژن پلاسما نشان‌دهنده وضعیت تغذیه‌ای دام است (تورنر و همکاران ۲۰۰۵). بسیاری از گیاهان توانایی سنتز متابولیت‌های ثانویه (تانن، ساپونین، فنول و اسانس) را دارند که این متابولیت‌ها دارای توانایی تعدیل تخمیر شکمبه‌ای، خاصیت ضد میکروبی و تغییر فراسنجه‌های خون و در نهایت بهبود مصرف مواد مغذی هستند (هریستو و همکاران ۲۰۰۸). برای مثال در تغذیه گاوهای پرواری استفاده از گیاه حاوی ساپونین باعث کاهش نیتروژن اوره‌ای و افزایش گلوکز خون شد (لی‌لا و همکاران ۲۰۰۵). اگرچه عصاره گیاه یوکا (غنی از ساپونین) بر غلظت اوره خون گاوهای نر (حسین و چک ۱۹۹۵) و تلیسه (هریستو و همکاران ۱۹۹۹) تاثیری نداشت. فعالیت بیولوژیک اسانس‌ها به اجزای تشکیل‌دهنده آن‌ها بستگی دارد، زیرا این ترکیبات دارای ترکیبات متنوعی هستند که از هیدروکربن‌های نسبتا بی‌اثر گرفته تا فنل‌های بسیار فعال می‌باشند. یکی از اسانس‌های گیاهی که از پتانسیل زیادی برای استفاده در جیره نشخوارکنندگان برخوردار است اسانس گیاه آویشن (*Thymus Vulgaris*) می‌باشد (خرمی و همکاران ۲۰۱۵). عصاره آویشن دارای ۲/۶ – ۰/۸ درصد (معمولا یک درصد) اسانس است که قسمت اعظم آن را فنل‌ها (۸۰–۲۰ درصد) و هیدروکربن‌های مونوترپنی (مثل: P-cymen و γ-terpinen) و الکل‌ها (مثل: *Linalool* و *α -terpinen*) تشکیل می‌دهند که گاهی این ترکیبات تا ۸۰ درصد از ترکیبات عصاره را تشکیل می‌دهد. به طور طبیعی تیمول جزء اصلی فنلی در آویشن و کارواکرول نیز یک جزء فرعی است (لنگ و فوستر ۱۹۹۶).

بهره‌وری و استفاده از ترکیبات ثانویه گیاهان در جیره می‌تواند به نوع گونه نشخوارکننده بستگی داشته باشد. به عنوان مثال، بزها که "تغذیه‌کننده واسطه‌ای و انتخابگر" هستند، قسمت‌هایی از خوراک که حاوی نسبت کمتری از این ترکیبات است را در مقایسه با گوسفندها که چراگر هستند، انتخاب می‌کنند. بنابراین گزارش شده است که بزها اغلب سطح بیشتری از ترکیبات ثانویه گیاهان (مانند ساپونین، تانن و فنول) را تحمل می کنند (روگوسیک و همکاران ۲۰۰۶). همچنین ممکن است بزها مکانیسم‌های محافظتی در برابر ترکیبات ثانویه گیاهان از جمله غلظت بیشتر پروتئین‌های خاص بزاق (مانند آمیلاز یا هیستاتین) را ایجاد کنند و در نتیجه ظرفیت بالاتری از باند شدن با این ترکیبات در بزاق را داشته باشند (لامی و همکاران ۲۰۱۱). با توجه به این سازگاری، واکنش بزها به ترکیبات ثانویه در انتشار متان و دفع نیتروژن از طریق مدفوع ممکن است ضعیف‌تر از گوسفند باشد. با این‌حال

تحقیقات کمی در شرایط *in vivo* در رابطه با مقایسه مستقیم استفاده از عصاره‌های گیاهی بین بره‌ها و بزغاله‌ها به‌ویژه در مورد انتشار متان و ابقاء نیتروژن صورت گرفته است. بنابراین هدف از مطالعه حاضر بررسی مقایسه این دو گونه و اثرات عصاره آویشن بر عملکرد و قابلیت هضم مواد مغذی در بره‌ها و بزغاله‌های پرواری بود.

مواد و روش‌ها

دام‌ها و تیمارهای آزمایشی

تعداد ۱۵ راس بره نر دالاق ۳ ماهه با میانگین وزن ۱±/۵ ۲۱/٤ کیلوگرم و ۱۵ راس بزغاله نر بومی استان گلستان ۳ ماهه با میانگین وزن ۱±/۲ ۱۷/۳ کیلوگرم در جایگاه انفرادی به‌طور تصادفی تقسیم‌بندی شدند. این آزمایش در مزرعه کشت و صنعت کیمیا دشت، روستای چپرقویمه (۲۰ کیلومتری شهرستان گنبدکاووس) به مدت ۸٤ روز در قالب طرح کاملا تصادفی با آرایش فاکتوریل ۳×۲ با سه سطح عصاره آویشن شامل صفر، ۲۵۰، ۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک و دو گونه بره و بزغاله انجام شد. جیره آزمایشی بر اساس جدول احتیاجات مواد مغذی نشخوارکنندگان کوچک (NRC ۲۰۰۷) تنظیم شد (جدول ۱)، و به صورت خوراک کاملاً مخلوط (TMR) در دو نوبت (در ساعت ۷ صبح و ۵ عصر) در اختیار دام‌ها قرار گرفت. حلال عصاره آویشن، اتانول ۷۰ درصد بود که از شرکت اسانس گیاه گرگان خریداری شد که بر اساس ترکیب فعال عمده آن (تیمول ٦۳ درصد) تهیه شده بود. مقدار مشخص شده عصاره به دو قسمت تقسیم و در دو نوبت صبح و عصر بر روی کنسانتره اسپری شد. به جهت اطمینان از مصرف کامل خوراک حاوی عصاره توسط دام، ابتدا بخش اندکی از خوراکی که باید به مصرف دام برسد را در سطل ریخته و سپس با استفاده از یک سرنگ تزریق، عصاره بر روی کنسانتره اسپری شد. پس از آن باقی خوراک مورد استفاده بره‌ها و بزغاله‌ها به آن‌ها داده شد.

تعیین ترکیبات شیمیایی خوراک

برای تعیین ماده خشک، پروتئین خام، عصاره اتری از روش‌های توصیه شده (AOAC ۲۰۰۰) استفاده شد. همچنین تعیین الیاف نامحلول در شوینده خنثی(NDF) و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی (ADF) از روش ون‌سوست (۱۹۹۱) با استفاده از دستگاه فایبرتک انجام گرفت.

Table 1- Ingredients of thyme extract (%)

Compounds	%
Thymol	55.33
Carvacrol	3.57
P-Cymene	13.47
γ-Terpinene	8.86
α-Pinene	3.08
Myrcene α- phellandrene	2.38
α- Terpinene	2.37
β-Caryophyllen	1.17

محاسبه مصرف و تعادل ازت

در روز ۸۰ دوره پروار، از هر تیمار ۳ تکرار به مدت ٤ روز نمونه‌گیری به‌عمل آمد. نمونه‌های خوراک مصرفی و مدفوع در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد خشک شده و آسیاب شدند و پس از آن نمونه‌های مدفوع هر دام در طی یک دوره با یکدیگر مخلوط شده و تا زمان تجزیه در۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. نمونه‌های ادرار نیز روزانه از هر دام در در ظرف‌های حاوی ۱۰۰ میلی‌لیتر اسید سولفوریک ۱۰ درصد (به منظور کاهش مقدار pH به کمتر از ۳، جهت جلوگیری از رشد باکتریایی) جمع‌آوری شد. در نهایت، نمونه‌های ادرار هر دام به‌طور جداگانه با هم مخلوط شد و از هر کدام یک نمونه جهت اندازه‌گیری مقدار نیتروژن دفع شده انتخاب و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد تا روز آزمایش ذخیره گردید. تعادل نیتروژن برای هر دام از اختلاف نیتروژن مصرفی و دفعی در هر روز بدست آمد، بدین صورت که نیتروژن مصرفی از اختلاف نیتروژن خوراک داده شده و باقی‌مانده آخور هر دام

تصحیح شد. نیتروژن دفعی نیز از مجموع نیتروژن دفعی مدفوع و دفعی ادرار محاسبه گردید. فرمول مورد استفاده در محاسبه ابقاء نیتروژن در ذیل آورده شده است. در نهایت تعادل نیتروژن هر تیمار از میانگین‌گیری تعادل نیتروژن دام‌های همان تیمار در هفت روز دوره جمع‌آوری بدست آمد.

نیتروژن باقی مانده آخور(روز / گرم) - نیتروژن خوراک داده شده(روز / گرم) = نیتروژن مصرفی(روز / گرم)

نیتروژن ادرار (روز / گرم) + نیتروژن مدفوع (روز / گرم) = نیتروژن دفع شده (روز / گرم)

نیتروژن دفع شده (روز / گرم) - نیتروژن مصرفی (روز / گرم) = تعادل نیتروژن (روز / گرم)

Table 2- Ingredients and chemical composition of the basal experimental diet (percentage of dry matter of the diet)

Ingredients	%
Corn silage	20.0
Barley grain	45.0
Bagasse	2.0
Wheat bran	25.0
Soybean meal	4.5
Baking soda	0.5
Salt	0.5
Vitamins and Minerals premix	1.0
Oyster powder	1.5
Chemical compounds	
Metabolisable Energy (Mcal/kg)	2.70
Crude protein (%)	14.12
NDF (Neutral detergent fiber) (%)	33.00
ADF (Acid detergent fiber) (%)	17.00
Ca(%)	0.78
P(%)	0.53

1. Supplied per Kg of Diet: 2500 mg Mn; 3000 mg Fe; 4000 mg Zn; 60 mg Co; 200 mg I; 50000 mg Mg; 25 mg Se; 250000 IU Vitamin A; 50000 IU Vitamin D; 500 IU Vitamin E

اندازه‌گیری متابولیت‌های خون

برای بررسی متابولیت‌های خونی در هفته ماقبل آخر دوره پرواربندی، از دام‌ها ۳ ساعت پس از تغذیه صبح از سیاهرگ گردنی (وداج) نمونه خون گرفته شد. عمل خون‌گیری با استفاده از لوله‌های ونوجکت حاوی اتیلن‌دی‌آمین‌تترااستیک‌اسید (EDTA) صورت گرفت و بلافاصله نمونه‌ها به منظور جداسازی پلاسما در ۳۰۰۰ دور به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شده و تا روز آزمایش در فریزر در دمای۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. میزان گلوکز، تری‌گلیسرید، کلسترول، نیتروژن اوره‌ای (BUN)، لیپوپروتئین با چالی بالا (HDL) و لیپوپروتئین با چگالی پایین (LDL) با استفاده از کیت‌های شیمیایی شرکت پارس آزمون و مطابق دستورالعمل شرکت سازنده با دستگاه اسپکتوفتومتر اندازه‌گیری شد.

آزمون تولید گاز

این آزمون با استفاده از روش منکی و استینگاس (۱۹۸۸) انجام شد و از ۳ راس بره و ۳ راس بزغاله دوره شاهد به منظور گرفتن مایع شکمبه استفاده شد. سطوح عصاره در سه سطح صفر، ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم انتخاب شد. جیره پایه در این آزمایش مشابه جیره مصرفی پایه در دوره پروار بود که بعد از خشک شدن علوفه در آون به کمک آسیاب و الک یک میلی‌متری آسیاب شد. مقدار ۲۰۰ میلی‌گرم خوراک مصرفی آسیاب شده و ۳۰ میلی‌لیتر مایع شکمبه بافری شده به نسبت ۲:۱ (مایع شکمبه:بافر) در داخل هر بطری

ویتن (٤ بطری برای هر تیمار) ریخته شد و در دمای ۳۹ درجه سلسیوس گرمخانه‌گذاری شد. بعد از ۲٤ ساعت گرمخانه‌گذاری مقدار گاز تولیدی کل در هر بطری با سرنگ مدرج و گاز متان (گاز کروماتوگرافی) قرائت گردید.

شمارش جمعیت باکتریایی و پروتوزوآ

در هفته آخر و در زمان ۳ ساعت پس از خوراک‌دهی وعده صبح، نمونه مایع شکمبه با استفاده از لوله مری از گوسفندان گرفته شد سپس بلافاصله به آزمایشگاه منتقل شد. یک میلی‌لیتر مایع شکمبه با ۹ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی درون دستگاه تکان‌دهنده هموژن گردید. سپس از محلول رویی برای تهیه ادامه سری رقیق‌سازی استفاده شد. پس از ساخت سری رقیق‌سازی برای شمارش جمعیت کل باکتری‌ها، کلی‌فرم‌ها و باکتری‌های اسیدلاکتیکی یک میلی‌لیتر از مایع شکمبه به‌ترتیب بر روی محیط‌های کشت PCA، VRBA و MRSA به‌صورت بی‌هوازی کشت داده شد و به مدت ۲۳ الی ٤۸ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داه شدند (AOAC ۲۰۰۵).

جهت شمارش پروتوزوآ محلول MFS (متیل‌گرین- فرمالین- سالین) تهیه شد و ۹ میلی‌لیتر از این محلول به یک میلی‌لیتر مایع شکمبه اضافه شد و بعد از ۳۰ دقیقه شمارش پروتوزوآ به‌وسیله میکروسکوپ نوری و با لام نئوبار آینه‌دار و بزرگنمایی ٤۰× انجام شد (سدرولا ۲۰۱۵).

تجزیه و تحلیل داده‌ها

این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با آرایش فاکتوریل ۳×۲ شامل سه سطح عصاره آویشن (صفر، ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم) و دو گونه دام (بره و بزغاله) انجام شد. داده‌ها با استفاده از رویه MIXED نرم‌افزار آماری SAS (۲۰۰٤) تجزیه گردید. میانگین تیمارها توسط آزمون توکی در سطح معنی‌دار ۵ درصد مقایسه شد. اثر حیوان در مدل آماری به‌صورت تصادفی در نظر گرفته شد.

مدل آماری مورد استفاده به صورت معادله زیر بود:

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + S_j + M_n + TS_{ij} + e_{ijk}$$

Y_{ijkl}: صفت مورد نظر، μ: میانگین کل، T_i: اثر سطوح عصاره آویشن، S_j: اثر گونه، M_n: اثر حیوان، TS_{ij}: اثر متقابل i امین تیمار و j امین گونه، e_{ijkl}: خطای تصادفی

نتایج و بحث

ابقا ظاهری نیتروژن

اطلاعات مربوط به ابقا نیتروژن در جدول ۳ آمده است. همانطور که نشان داده شد اختلاف معنی‌داری در نیتروژن مصرفی از طریق استفاده از عصاره، در بین تیمارهای مختلف وجود نداشت. اما اختلاف معنی‌داری در میزان دفع نیتروژن از طریق مدفوع، ادرار، نیتروژن دفعی و ابقا شده و همچنین هضم شده تحت تاثیر عامل عصاره وجود داشت که نیتروژن دفعی مدفوع و ادرار در تیمارهای دریافت کننده ۲۵۰ میلی‌گرم عصاره آویشن کمتر و نیتروژن ابقا شده و هضم شده بیشتر از تیمارهای دیگر بود ($P<۰/۰۱$). در بین تیمارهای مختلف، پارامترهای دفع و ابقا نیتروژن دارای اثر گونه و اثر متقابل معنی‌داری بودند ($P<۰/۰۱$). متابولیسم نیتروژن به ترکیب جیره و گونه حیوان بستگی دارد (وود وارد و رید ۱۹۹۷). با توجه به اینکه محتوای جیره‌های آزمایشی تقریبا یکسان بوده است می‌توان عدم اختلاف معنی‌دار بین نیتروژن مصرفی را به این موضوع نسبت داد. در پژوهشی ال-اساوی و همکاران (۲۰۱۹) دریافتند که میزان نیتروژن مصرفی با افزودن عصاره گیاهی تحت تأثیر قرار نگرفت، در حالی که دفع نیتروژن، تعادل نیتروژن و استفاده از آن به طور قابل توجهی توسط عصاره‌های گیاهی تحت تأثیر قرار گرفت که موافق با نتایج پژوهش حاضر بود. دیکسترا و همکاران (۲۰۱۳) بیان کردند که عصاره میخک به دلیل سطح بالای اجزای فنلی فعال باعث افزایش ابقا نیتروژن در بدن دام می شود. همچنین، چودوری و همکاران (۲۰۱۸) موافق با نتایج حاضر نشان دادند که عصاره

میخک می‌تواند میزان نیتروژن دفعی را کاهش داده و ابقا نیتروژن را در نشخوارکنندگان کوچک افزایش دهد. اسمیت و همکاران (۲۰۱۵) ابقا نیتروژن بالاتری را در اثر استفاده از عصاره رزماری نسبت به تیمارهای دیگر در میش گزارش دادند و آن‌ها دلیل این امر را محافظت پروتئین در برابر تخریب شکمبه با استفاده از عصاره رزماری بیان کردند (نیوبولد و همکاران ۲۰۰٤) که باعث کاهش دفع نیتروژن از طریق ادرار و مدفوع می‌شود (تریل و همکاران ۱۹۹۲). همچنین سینز و همکاران (۲۰۱۸) در تایید یافته‌های این پژوهش، بیان کردند که بره‌ها نسبت به بزغاله‌ها ابقا نیتروژن بیشتری داشتند که احتمالاً به دلیل رشد بالقوه ژنتیکی نژادهای مربوطه مورد استفاده بود. بزها نسبت به گوسفندان قادر به مقابله با ترکیبات ثانویه گیاهان هستند و مکانیسم‌های محافظتی در برابر این ترکیبات از جمله غلظت بیشتر پروتئین‌های خاص بزاق (مانند آمیلاز یا هیستاتین) را ایجاد می‌کنند و در نتیجه ظرفیت بالاتری از باند شدن با این ترکیبات در بزاق را دارند (لام و همکاران ۲۰۱۱). با توجه به این سازگاری، واکنش بزها به ترکیبات ثانویه در دفع نیتروژن از طریق مدفوع و ادرار ممکن است ضعیف‌تر از گوسفند باشد. اما مخالف با نتایج مطالعه حاضر، پرزمالدونادو و نورتون (۱۹۹٦) گزارش کردند تفاوت عمده‌ای بین گوسفندان و بزها از نظر دفع و ابقا نیتروژن وجود ندارد.

تولید گاز و متان

مطالعات متعددی در خصوص کاهش تولید متان و نیتروژن آمونیاکی از طریق تخمیر دستگاه گوارش نشخوارکنندگان بدلیل هدرروی انرژی جیره و تاثیرات سوء زیست محیطی آن‌ها انجام شده است. لذا کاهش متان و نیتروژن دفعی به محیط زیست دارای فواید اقتصادی و محیطی است (ژانگ و یانگ ۲۰۱۲). نتایج تاثیر استفاده از عصاره آویشن بر تولید گاز و متان در جدول ٤ آورده شده است. همان‌طور که نتایج نشان می‌دهد با افزایش سطوح عصاره آویشن، روند کاهش تولید گاز و گاز متان در هر دو گونه مشاهده می‌شود. در توافق با نتایج پژوهش حاضر طالب‌زاده و همکاران (۲۰۱۲) با افزودن سطوح مختلف (صفر، ۱۵۰، ۳۰۰ و٦۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) اسانس آویشن شیرازی کاهش حجم گاز را در ساعت‌های مختلف انکوباسیون گزارش کردند. همچنین در تحقیق مارتینز و همکاران (۲۰۰٦) نیز کاهش گاز تولیدی در نتیجه استفاده از سطوح مختلف عصاره آویشن نیز گزارش شد. میرزایی و همکاران (۲۰۱۷) نشان دادند که استفاده از دو عصاره گیاهی *Zataria multiflora* (ZM) و *Eucalyptus globolus* (EG) در سطوح مختلف،در بزهای مرغز، گاز متان را نسبت به شاهد، به‌طور معنی‌داری کاهش داد. در مطالعه حاضر نتایج نشان داد که اثر گونه و اثر متقابل تیمارهای آزمایشی تفاوت معنی‌داری نداشت که موافق با نتایج سینز و همکاران (۲۰۱۸) است.

این محققین تفاوت معنی‌داری در تولید گاز و متان بین گونه‌های بره و بزغاله استفاده کننده عصاره دانه انگور مشاهده نکردند. بر اساس بررسی‌های انجام شده می‌توان نتیجه‌گیری کرد که ترکیب‌های ثانویه گیاهی مانند اسانس و ترکیبات تشکیل‌دهنده آن، ساپونین، ارگانوسولفوره‌ها و تانن می‌توانند از طریق مهار متانوژن‌ها و یا از طریق غیرمستقیم کاهش جمعیت پروتوزوآیی (دفوناسیون) و کاهش باکتری‌های سلولولیتیک سبب کاهش متان تولیدی شوند (مورگاوی و همکاران ۲۰۱۰). این ترکیبات ثانویه معمولاً از طریق اختلال در مکانیسم سلول باکتری سلولولیتیک و یا پروتوزوآ، توانایی کاهش هیدروژن تولیدی (سوبسترای تولید متان) و کاهش باکتری‌های تولید کننده متانوژن(آرکایا) را دارند (هس و همکاران ۲۰۰۳ و وانگ و همکاران ۲۰۰۰). هرچند نتایج متناقضی هم مبنی بر عدم تاثیر ترکیبات ثانویه گیاهی بر فرایند متانوژنسیس گزارش شده است که احتمالاً به خاطر تفاوت در جیره

پایه، غلظت ترکیبات ثانویه و تعداد روزهای سازگاری به کاربرده شده در آزمایش‌ها باشد.

Table 3- Apparent nitrogen balance in lambs and kids by feeding different levels of thyme extract (g/day)

Main effects	N intake	Faecal N	Urinary N	Faecal and Urinary N	Body N retention	Digested N
Thyme extract level						
Control	34.60	10.08[a]	3.89[a]	13.97[a]	20.63[b]	21.81[b]
250 Mg	34.04	6.97[b]	2.31[c]	9.28[c]	24.76[a]	22.04[a]
500 Mg	34.00	9.88[b]	3.21[b]	13.10[b]	20.91[c]	21.42[b]
SEM	0.067	0.076	0.043	0.081	0.107	0.045
P-value	0.2491	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001
Effect specie						
Lamb	35.52	7.05[b]	2.70[b]	9.75[b]	25.77[a]	22.17
Kid	35.24	9.90[a]	3.58[a]	13.48[a]	21.76[b]	22.12
SEM	0.055	0.062	0.035	0.066	0.087	0.036
P-value	0.0892	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0646
Interactions						
Lamb×Control	34.72	9.35[b]	3.11[a]	12.46[b]	22.26[b]	21.75
Lamb×250 Mg	34.49	6.62[d]	2.05[c]	8.67[d]	25.82[b]	22.30
Lamb×500 Mg	34.51	8.19[c]	2.94[b]	11.13[c]	23.38[a]	20.68
Kid×Control	34.49	10.80[a]	3.68[a]	14.48[a]	20.01[c]	21.87
Kid×250 Mg	34.58	9.32[b]	2.58[b]	11.90[c]	22.68[b]	22.42
Kid×500 Mg	34.49	11.58[a]	3.48[a]	15.06[a]	19.43[c]	20.72
SEM	0.095	0.108	0.061	0.115	0.152	0.063
P-value	0.2341	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.1571

a-d Means with different letters in a column differ significantly (P<0.05)

Table 4- Gas production and methane in lambs and kids by feeding different levels of thyme extract

Main effects	Gas production(after 24 h) (ml/200mg DM)	Methane(after 24 h) (Percentage of produced gas)
Thyme extract level		
Control	53.37[a]	86.52[a]
250 Mg	40.71[b]	81.81[b]
500 Mg	38.44[c]	79.16[c]
SEM	0.086	0.086
P-value	0.0001	0.0001
Effect specie		
Lamb	44.62	83.14
Kid	43.72	82.86
SEM	0.086	0.023
P-value	0.1527	0.3780
Interactions		
Lamb×Control	53.77	87.74
Lamb×250 Mg	41.29	82.19
Lamb×500 Mg	38.81	79.49
Kid×Control	52.98	85.31
Kid×250 Mg	40.13	81.43
Kid×500 Mg	38.07	78.84
SEM	0.122	0.040
P-value	0.1812	0.2600

[a-c] Means with different letters in a column differ significantly (P<0.05)

جمعیت میکروبی و پروتوزوآیی

واضح است که اسانس‌های گیاهی قادر به ایجاد تغییر در تخمیر شکمبه هستند. تاثیراسانس‌های گیاهی بر تخمیر شکمبه احتمالاً به خاطر فشار انتخابی به‌کار گرفته شده بر علیه جمعیت‌های میکروبی متفاوت است که سبب تفاوت تعداد باکتری‌ها و به دنبال آن

فعالیت‌های متفاوت آن‌ها در هر دو محیط مایع و جامد شکمبه می‌شود (بنچار و همکاران ۲۰۰۸ و کاظمی ۲۰۲۰). در این پژوهش جمعیت میکروبی شکمبه (تعداد کل باکتری هوازی، کلی‌فرم‌ها و باکتری‌های اسید لاکتیک) در اثر افزودن عصاره آویشن کاهش پیدا کرد اما این کاهش معنی‌دار نبود. همچنین اثر گونه و اثرات متقابل نیز تحت تاثیر تیمارها قرار نگرفتند (جدول ۵). موافق با نتایج این پژوهش پورعارفی و همکاران (۱۳۹۵) دریافتند که اقزودن اسانس دارچین تاثیر معنی‌داری بر تعداد کل باکتری‌ها و باکتری‌های اسید لاکتیکی نداشت. همچنین ولیس و همکاران (۲۰۰۲) نیز تغییر چشمگیری در تعداد باکتری‌های شکمبه گوسفندان تغذیه شده با ۱۰۰ میلی‌گرم در روز از مخلوط روغن‌های اسانسی مشاهده نکردند. ون‌سلووآ و همکاران (۲۰۱۵) مشاهده کردند که جمعیت کل باکتری‌های شکمبه گوسفند، تحت تاثیر مخلوطی از گیاهان دارویی قرار نگرفتند. کاندرین و همکاران (۲۰۱۹) نشان دادند که عصاره کتان بر جمعیت باکتریایی تاثیر معنی‌داری نداشت و بین دو گونه بره و بزغاله از نظر جمعیت میکروبی تفاوت معنی‌داری دیده نشد. اما در مطالعه‌ای دیگر همین محققین دریافتند جمعیت کل باکتریایی در شکمبه بز نسبت به گوسفند بیشتر بود، مخصوصا باکتری‌های متانوژنز که این موضوع با نرخ تخمیر بالا در شکمبه بزها نسبت به تخمیر در شکمبه گوسفندان مطابقت دارد، زیرا مقدار ماده آلی هضم شده با متانوژنز ارتباط مستقیمی دارد (هوک و همکاران ۲۰۱۰). با این حال، جمعیت بالاتری از متانوژن‌ها نشان‌دهنده پتانسیل بالاتری از متانوژنز است، که منجر به تولید متان بالاتر و کاهش انرژی در حیوانات میزبان خواهد شد (کاندرین و همکاران ۲۰۱۶). پروتوزوآی مژکدار شکمبه به لحاظ متابولیکی بسیار فعال بوده، در تخمیر مواد غذایی و هضم دیگر جمعیت‌های میکروبی و همچنین در مقدار و سهم محصولات پایانی تخمیر شکمبه مانند متان (تامین کننده هیدروژن به عنوان سوبسترا برای تولید متان) نیز موثر هستند (مورگاوی و همکاران۲۰۱۰ و قورچی و سیدالموسوی ۲۰۱۸). جدول ۵ نشان می‌دهد که با افزایش سطوح عصاره آویشن در جیره، تعداد پروتوزوآ به‌طور معنی‌داری کاهش یافت ($P<0/01$). اما اثر گونه و اثرات متقابل تحت تاثیر تیمارها قرار نگرفت. در مطالعه‌ای که یسیل‌بگ و همکاران (۲۰۱۶) روی بزغاله‌های در حال رشد سانن انجام دادند، گزارش کردند که اسانس سرو کوهی در دزهای پایین (۰/٤ و ۰/۸ میلی‌گرم در کیلوگرم) تاثیری بر تعداد کل پروتوزوآ نداشت اما دز بالاتر (۲ میلی‌گرم در کیلوگرم) توانست تعداد پروتوزوآها را به‌طور معنی‌داری کاهش دهد. خرمی و همکاران (۲۰۱۵) در بررسی استفاده از اسانس‌های آویشن و دارچین (۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک) در خوراک گاوهای نر هلشتاین دریافتند که فراوانی پروتوزوآ کاهش یافت. آن‌ها بیان کردند که اثرات ضد پروتوزوآیی اسانس آویشن احتمالا به علت خاصیت آبگریزی آن است که به غشای سلولی پروتوزوآ نفوذ میکند با آن باند می‌شود و در مسیرهای متابولیک سیتوزولی تداخل ایجاد می‌کند و سبب تغییر نفوذ پذیری غشاء سلولی و در نهایت مرگ سلول می‌گردد. سیسلاک و همکاران (۲۰۱۳) گزارشاتی دارند که نشان می‌دهد تاثیر روغن‌های ضروری به ساختار آن‌ها بستگی دارد که این امر ناشی از ترکیب شیمیایی و نوع گروه عملکردی است. بنابراین اثر ضد پروتوزوآیی عصاره آویشن احتمالا به دلیل ساختار فنولیک عنصر فعال اصلی آن یعنی تیمول است. در دو تحقیقی که کاندرین و همکاران انجام دادند، دریافتند که بین بره‌ها و بزغاله‌ها از نظر تعداد پروتوزوآ تفاوت معنی‌داری وجود نداشت (کاندرین و همکاران ۲۰۱۹ و کاندرین و همکاران ۲۰۱۶) که موافق با نتایج پژوهش حاضر بود.

Table 5- Protozoa and mmicrobial population in lambs and kids by feeding different levels of thyme extract

Main effects	Protozoa ($\times 10^5$)	Total bacteria (log/ml)	Coliforms (log/ml)	Acid Lactic bacteria (log/ml)
Thyme extract level				
Control	5.69[a]	10.43	3.89	6.36
250 Mg	4.27[b]	9.15	2.31	5.49
500 Mg	3.93[c]	9.31	3.21	5.18
SEM	0.024	0.022	0.043	0.004
P-value	0.0001	0.1243	0.0844	0.3990
Effect specie				
Lamb	4.69	9.39	3.37	5.81
Kid	4.57	9.20	3.27	5.54
SEM	0.020	0.018	0.004	0.003
P-value	0.3781	0.0954	0.0862	0.4122
Interactions				
Lamb×Control	4.76	10.45	3.85	6.44
Lamb×250 Mg	4.36	9.23	3.19	5.77
Lamb×500 Mg	3.95	9.49	3.08	5.23
Kid×Control	4.62	10.41	3.64	6.28
Kid×250 Mg	4.17	9.06	3.14	5.21
Kid×500 Mg	3.91	9.13	3.02	5.14
SEM	0.035	0.031	0.008	0.006
P-value	0.1590	0.2631	0.0731	0.6811

[a-c] Means with different letters in a column differ significantly (P<0.05)

متابولیت‌های خون

اثر سطوح مختلف عصاره آویشن بر برخی از متابولیت‌های خون در جدول ٦ نشان داده شده است. غلظت گلوکز خون با افزایش عصاره در جیره به‌طور معنی‌داری افزایش و غلظت نیتروژن اوره‌ای خون کاهش یافت (P<۰/۰۱). غلظت تری‌گلیسیرید، کلسترول و لیپوپروتئین با چگالی پایین خون معنی‌دار نبود اما از نظر عددی کاهش پیدا کرد. همچنین لیپوپروتئین با چگالی بالا نیز تحت تاثیر تیمارها قرار نگرفت. نتایج نشان داد که اثر گونه و اثر متقابل تیمارهای آزمایشی تفاوت معنی‌داری نداشت. فراسنجه‌های بیوشیمیایی پلاسما و یا سرم خون دام معرف وضعیت پاتوفیزیولوژیکال و تغذیه دام بوده و لذا شاخصی برای تشخیص سلامتی دام تلقی می‌گردد. یکی از دلایلی که عصاره‌ها و ترکیبات آن‌ها می‌توانند گلوکز خون را افزایش دهند این است که عصاره‌ها به‌واسطه کاهش میکروفلور نامطلوب می‌توانند ضخامت دیواره روده را کاهش دهند و در نتجیه جذب مواد مغذی را بهبود ببخشند که افزایش گلوکز پلاسما نیز می‌تواند ناشی از بهبود جذب آن از روده باشد (بامپیدیس و همکاران ۲۰۰۵ و جامروز و همکاران ۲۰۰٦). همچنین افزایش غلظت گلوکز خون در تیمارهای دریافت‌کننده عصاره می‌تواند ناشی از افزایش غلظت پروپیونات باشد. پروپیونات پیش‌ساز اصلی برای گلوکونئوژنسیز است (باسکیت و همکاران ۲۰۰٦). علاوه بر این تأمین بیشتر گلوکز باعث کاهش کاتابولیسم اسیدهای آمینه گلوکوژنیک می‌شود و در نهایت غلظت نیتروژن اوره‌ای خون کمتر می‌گردد (محمد و همکاران ۲۰۰٤). مشابه با نتایج این پژوهش، غلظت گلوکز بیشتر و نیتروژن اوره‌ای خون کمتر در پلاسمای بره‌های پرواری استفاده کننده تیمول (زمانی و همکاران ۲۰۱۵) و در پلاسمای گاوهای نر تغذیه شده با عصاره گیاه دارویی (محمد و همکاران ۲۰۰٤) مشاهده شده است. هرچند مخالف با نتایج ما، طلاتپه و همکاران (۲۰۱٤) با آزمایشی که بر روی بزغاله‌ها انجام دادند دریافتند که نیتروژن اوره‌ای خون تحت تاثیر اسانس مرزه قرار

نگرفت اما گلوکز کاهش پیدا کرد. همچنین بیریک و همکاران (۲۰۱۶) گزارش کردند که نیتروژن اوره‌ای و گلوکز تحت تاثیر کارواکرول و تیمول در بره‌های پرواری قرار نگرفت. درباره اثرات اسانس‌های گیاهی بر کلسترول یه و لیو (۲۰۰۱) بیان کردند که ممکن است تاثیر اسانس‌ها به وجود ترکیبات ترپنوئیدی آن‌ها مانند کارواکرول، تیمول، ال‌ترپینن و پی‌سیمن مرتبط باشد، به این صورت که ساخت کلسترول واسیدهای چرب را در کبد مهار کرده و سطح کلسترول خون به‌ویژه لیپو پروتئین با چگالی پایین را کاهش می‌دهد. غلظت برخی از متابولیت‌های پلاسما مانند تری‌گلیسرید و کلسترول و لیپوپروتئین با چگالی بالا و لیپو پروتئین با چگالی پایین می‌تواند توسط استفاده از عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهی به واسطه تغییر در مصرف خوراک تحت تاثیر قرار گیرد (یانگ و همکاران۲۰۱۰). همچنین امکان دارد تفاوتی که از لحاظ عددی در بین تیمارهای آزمایشی در میزان کلسترول، لیپوپروتئین با چگالی بالا و لیپوپروتئین با چگالی پایین وجود دارد مربوط به منشا اندوژنوسی باشد، یعنی ممکن است ترکیبات خاصی در عصاره‌های گیاهی وجود داشته باشد که تولید، متابولیسم و یا جریان کلسترول کل را تحت تاثیر قرار دهد (خرمی و همکاران ۲۰۱۵).

نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که افزودن عصاره آویشن به جیره بره‌ها و بزغاله‌های پرواری می‌تواند میزان پروتوزوآی شکمبه را به‌طور معنی‌داری کاهش دهد. همچنین نیتروژن دفعی مدفوع و ادرار در تیمارهای دریافت کننده ۲۵۰ میلی‌گرم عصاره آویشن کمتر و نیتروژن ابقا شده و هضم شده بیشتر از تیمارهای دیگر بود. کاهش گاز تولیدی به‌خصوص گاز متان نیز از نتایج مثبت اثرات تغذیه‌ای و زیست محیطی عصاره آویشن در تغذیه بره‌ها و بزغاله‌ها است.

Table 6- Blood metabolites in lambs and kids by feeding different levels of thyme extract (Mg/dL)

Main effects	Glucose	Cholesterol	Triglyceride	BUN	LDL	HDL
Thyme extract level						
Control	76.36^{c}	74.68	19.54	26.14^{a}	27.29	33.15
250 Mg	83.10^{b}	71.60	18.20	19.99^{b}	23.80	36.76
500 Mg	84.41^{a}	70.52	17.81	18.15^{c}	24.26	36.61
SEM	0.091	0.153	0.113	0.140	0.160	0.188
P-value	0.0001	0.6910	0.4312	0.0001	0.0705	0.0812
Effect specie						
Lamb	80.97	71.53	19.37	22.52	25.99	38.12
Kid	81.28	72.01	18.00	21.32	24.31	37.56
SEM	0.074	0.125	0.092	0.114	0.131	0.153
P-value	0.5641	0.2800	0.6802	0.3510	0.8872	0.4933
Interactions						
Lamb×Control	81.24	73.79	18.62	24.13	26.42	35.30
Lamb×250 Mg	83.47	70.97	16.90	21.47	24.69	40.34
Lamb×500 Mg	84.21	69.82	15.48	18.98	25.15	38.73
Kid×Control	80.49	72.58	20.47	25.15	26.37	31.01
Kid×250 Mg	83.73	72.23	19.51	18.51	22.92	31.19
Kid×500 Mg	84.61	71.22	18.14	17.32	23.56	32.49
SEM	0.128	0.216	0.161	0.198	0.227	0.266
P-value	0.3551	0.4640	0.0712	0.8722	0.0921	0.0610

a-c Means with different letters in a column differ significantly (P<0.05)

سپاسگزاری

با سپاس فراوان از مسئولین مزرعه کشت و صنعت کیمیا دشت و جهاد کشاورزی استان گلستان که در ایجاد شرایط مناسب تحقیق همکاری لازم را انجام دادند و با قدردانی از اعضای محترم هیئت علمی دانشکده علوم دامی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان که در انجام این پژوهش یاری‌گر ما بودند.

منابع مورد استفاده

Agarwal N, Shekhar C, Kumar R, Chaudhar LC and Kamra DN, 2009. Effect of peppermint (*Mentha piperita*) oil on *in vitro* methanogenesis and fermentation of feed with buffalo rumen liquor. Animal Feed Science and Technology 148: 321.327.

AOAC, 2005. Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists. Washington, DC. USA. .

Bampidis VA and Christodouloa V, 2005. Effect of dietary dried *oreganom*leavels supplementation on performance and carcases characteristics of growing lambs. Animal Feed Science and Technology 121:285-295.

Benchaar C, Calsamiglia S, Chaves AV, Fraser GR, Colombatto D, McAllister TA and Beauchemin KA, 2008. A review of plant-derived essential oils in in ruminant nutrition and production. Animal Feed Science and Technology 145: 209 228.

Biricik H, Oral HH, Taluğ AM, Cengiz SS, Koyuncu M and Dikmen S, 2016. The effects of carvacrol and/or thymol on the performance, blood and rumen parameters, and carcass traits of Merino sheep. Turkish Journal Veterinary Animal Science 40: 651–659.

Bunthoeun P, 2007. Studies on manipulation of ruminal fermentation and methanogenesis by natural products, Ph. D dissertation, Iwate State University, USA.

Busquet M, Calsamiglia A, Ferret A and Kamel C, 2006. Plant extracts affect *in vitro* rumen microbial fermentation. Journal of Dairy Science 89: 761-771.

Busquet M, Calsamiglia S, Ferret A, Cardozo PW and Kamel C, 2005. Effects of cinnamaldehyde and garlic oil on rumen microbial fermentation in a dual flow continuous culture. Journal of Dairy Science 88: 2508-2516.

Candyrine SCL, Jahromi MF, Ebrahimi M, Chen WL, Rezaei S and Goh YM, Abdullah N and Liang JB, 2019. Oil supplementation improved growth and diet digestibility in goats and sheep fed fattening diet. Asian-Australasian Journal of Animal Science 32(4): 533-540.

Candyrine SCL, Liang JB and Goh YM, 2016. *In vitro* rumen fermentation characteristics of goat and sheep supplemented with polyunsaturated fatty acids. Animal Production Science 57:1607-12.

Cedrola F, Rossi F, Dias RJP, Martinelli M and Agosto M, 2015. Methods for taxonomic study of rumen ciliates (Aleolata: Ciliofora): a brief review. Zoo Science 32:8-15.

Chowdhury MR, Khan MMH, Mahfuz S U and Baset MA, 2018. Effects of dietary supplementation of spices on forage degradability, ruminal fermentation, *in vivo* digestibility, growth performance and nitrogen balance in Black Bengal goat. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition 102:591–598.

Cieslak A, Szumacher-Strabel M, Stochmal A and Oleszek W, 2013. Plant components with specific activities against rumen methanogens. Animal 7: 253–265.

Dijkstra J, Oenema O, van Groenigen JW, Spek JW, van Vuuren AM and Bannink A, 2013. Diet effects on urine composition of cattle and N_2O emissions. Journal Animal 7: 292–302.

El-Essawy AM, Abdou AR, Khattab IM and Abdel-Wahed AM 2019. Effect of addition of Anise, Clove and Thyme essential oils on Barki lambs performance, digestibility, rumen fermentation, carcass characteristics and intramuscular fatty acids. Egyptian Journal and Nutrition and Feeds 22(3): 465-477.

Ghoorchi T and Seyed Almoosavi SMM, 2018. Ruminant Nutrition Principls. Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources 310 pp.

Hess HD, Kreuzer M, Diaz TE, Lascano CE, Carulla JE, Soliva CR and Machmuller A, 2003. Saponin rich tropical fruits affect fermentation and methanogenesis in faunted and defaunated rumen fluid. Animal Feed Science and Technology 109: 79-94.

Hook SE, Wright ADG and McBride BW, 2010. Methanogens: methane producers of the rumen and mitigation strategies. Archaea (Vancouver,B.C.), Animal Production Science 1-11

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. Journal of Animal Science 77: 2554-2563.

Hristov AN, Ropp JK, Zaman S and Melgar A, 2008. Effects of essential oils on *in vitro* ruminal fermentation and ammonia release. Animal Feed Science and Technology 144: 55-64.

Hussain I and Cheeke PR, 1995. Effect of dietary *Yucca schidigera* extract on rumen and blood profiles of steers fed concentrate or roughage-based diets. Animal Feed Science and Technology 51: 231-242.

Jamroz D, Orda J, Kamel C, Williczkiewicz A, Wertelecki T and Skorupin'Ska J, 2003. The Influence of Phytogenic Extract on Performance, Nutrients Digestibility, Carcass Characteristic and Gut microbial Status in Broiler Chickens. Journal of Animal Feed Science 12(3): 583-596.

Kazemi M, 2020.Laboratory study of Balangu (*Lallemantia royleana*) essential oil effects on gas production kinetic, degradability, protozoan population, and some fermentation parameters of a balanced diet. Journal of Animal Science Research (Agricultural Science) 30:29-43.

Khorrami B, Vakili AR, Danesh Mesgaran M and Klevenhusen F, 2015. Thyme and cinnamon essential oils: Potential alternatives for monensin as a rumen modifier in beef production systems. Animal of Feed Science and Technology 200: 8-16.

Lam E, Rawel H and Schweigert FJ, 2011. The effect of tannins on Mediterranean ruminant ingestive behavior: The role of the oral cavity. Molecules 16: 2766–2784.

Leung AY and Foster S, 1996. Encyclopedia of common natural ingredients used in foods, drugs and cosmetics. A Wiley Inter Science Publication- John Wiley and Sons, Inc, 649 pp.

Lila ZA, Mohammed N, Kanda S, Kurihara M and Itabashi H, 2005. Sarsaponin effects on ruminal fermentation and microbes, methane production, digestibility and blood metabolites in steers. Asian Australasian Journal of Animal Sciences 18:1746-1751.

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.

McIntosh FM, Williams P, Losa R, Wallace RJ, Beerver DA and Newbold CJ, 2003. Effects of essential oil on ruminal microorganisms and their protein metabolism. Applied and Environmental Microbiology. 69:5011-5014.

Menke KH and Steingass H, 1988. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. Animal Research Development 28: 7.55.

Mirzaei Cheshmehgachi S, Moeini MM, Hozhabri F and Nooryan Soroor ME, 2017. Effect of essential oils of Zataria multiflora, Eucalyptus globolus and their combination on fermentation parameters using Merghoz goat rumen liquor. Iranian Journal of Applied Animal Science 7(1): 53-59.

Mohammed N, Ajisaka N, Lila K, Mikuni ZA, Hara K, Kanda S and Itabashi H, 2004. Effect of Japanese horseradish oil on methane production and ruminal fermentation *in vitro* and in steers. Journal of Animal Science 82: 1839.1846.

Morgavi DP, Forano E, Martin C and Newbold CJ, 2010. Microbial ecosystem and methanogenesis in ruminants. Animal, 4 (7): 1024-1036.

National Research Council, 2007. Nutrient Requirement of Small Ruminants. (7th ed). National Academy of Science, Washington, DC.

Newbold CJ, McIntosh FM, Williams P, Losa R and Wallace RJ, 2004. Effects of a specific blend of essential oil compounds on rumen fermentation. Animal Feed Science and Technology 114: 105–112.

Perez-Maldonado RA and Norton BW, 1996. The effects of condensed tannins from *Desmodium intortum* and *Calliandra calothyrsus* on protein and carbohydrate digestion in sheep and goats. British Journal of Nutrition 76: 515–533.

Pour Arefi A, Rahchamani R, Ghanbari F and Gharehbash AM, 2016. Effect of essential oil of cinnamon on performance, rumen microbial populations and fermentation and some blood parameters of sheep. Journal of Ruminant Research 4(1): 95-112.

Rogosic J, Pfister JA, Provenza FD, 2006. Sheep and goat preference for and nutritional value of Mediterranean maquis shrubs. Small Ruminant Research 64: 169–179.

Sinz S, Kunz C and Liesegang A, 2018. *In vitro* bioactivity of various pure flavonoids in ruminal fermentation, with special reference to methane formation. Czech Journal of Animal Science 63: 293–304.

Smeti S, Joy M, Hajji H, Alabart JL, Munoz F, Mahouachi M and Atti N, 2015. Effects of Rosmarinus officinalis L. essential oils supplementation on digestion, colostrum production of dairy ewes and lamb mortality and growth. Journal of Animal Science 86: 679–688.

Talatapeh A, Farhoomand P, Aligoo Y, Zahedi M, Ahmadi nagadehi AA and Peyvastegan S, 2014. Effect of summer savory essential oil on performance, rumen fermentation and blood parameters of west Azarbaijan native kids. Animal Science Journal (Pajouhesh & Sazandegi) 105: 179-192.

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 of Feed Science and Technology 172: 115-124.

Terril TH, Douglas GB, Foote AG, Purchas RW, Wilson GF and Barry TN, 1992. Effect of condensed tannins upon body growth, wool growth and rumen metabolism in sheep grazing sulla (*Hedysarum coronarium*) and perennial pasture. Journal Agricultural Science 119:265–273.

Turner KE, Wildeus S and Collins JR, 2005. Intake, performance, and blood parameters in young goats offered high forage diets of lespedeza or alfalfa hay. Small Ruminant Research 59: 15.23.

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

Wallace RJ, McEwan NR, McIntosh FM, Teferedegne B and Newbold CJ, 2002. Natural products as manipulators of rumen fermentation. Asian–Aust. Journal of Animal Science 15:1458–1468.

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 (13): 2231–2237.

Wang Y, McAllister TA, Yanke LJ and Cheeke PR, 2000. Effect of steroidal saponins from *Yucca schidigera* extract on ruminal microbes. Journal Applied Microbial 88: 887-896.

Wencelov M, Varadyova Z, Mihalikova K, Cobanova K, Placha I, Pristas P, Jalac D and Kisidayova S, 2015. Rumen fermentation pattern, lipid metabolism and the microbial community of sheep fed a high-concentrate diet supplemented with a mix of medicinal plants. Small Ruminant Research 125: 64-72.

Woodward A and Reed JD, 1997. Nitrogen metabolism of sheep and goats consuming Acacia brevispica and Sesbania sesban. Journal of Animal Science 75: 1130-1139.

Wright AG and Klieve, AV, 2011. Does the complexity of the rumen microbial ecology preclude-methane mitigation. Animal Feed Science and Technology 166: 248-253.

Yang WZ, Ametaj BN, He ML, Benchaar C and Beauchemin KA. 2010. Cinnamaldehyde in feedlot cattle diets: intake, growth performance, carcass characteristics, and blood metabolites. Journal of Animal Science. 88: 1082-1092.

Yeh YY and Liu L, 2001. Cholestrol-Lowering effect of garlic extracts and organosulfur compounds: human and animal studies. Journal Nutrition 131: 989-993.

Yesilbag D, Biricik H, Cetin I, Kara C, Meral Y, Cengiz SS, Orman A and Udum D, 2016. Effects of juniper essential oil on growth performance, some rumen protozoa, rumen fermentation and antioxidant blood enzyme parameters of growing Saanen kids. Journal Animal Physiology and Animal Nutrition 101(5): 1-10.

Zamani Z, Alipour D, Moghimi HR, Mortazavi SA and Zolhavarieh SM, 2015. Effect of free thymol and sustained release thymol on rumen fermentation and plasma metabolites in sheep. Animal Production Research 3(4): 75-88.

Zhang DF and Yang HJ, 2012. Combination effects of nitrocompounds, pyromellitic diimide, and 2-bromoethanesulfonate on *in vitro* ruminal methane production and fermentation of a grain-rich feed. Journal Agriculture Food Chemistry 60: 364–371.

Effect of different levels of thyme extract on nitrogen retention, gas production, microbial population, protozoa and some blood parameters in fattening lambs and kids

S Shahravan[1], T Ghoorchi[2]*, B Dastar[2], A Toghdory[3] and M Mohajer[4]

Received: December 13, 2020 Accepted: September 26,2021

[1]Ph.D student, Department of Animal and Poultry Nutrition, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Iran
[2]Professor, Department of Animal and Poultry Nutrition, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Iran
[3]Assistant Professor, Department of Animal and Poultry Nutrition, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Iran
[4]Assistant Professor, Research and Education Center for Agriculture and Natural Resources, Golestan , Iran
*Corresponding author: Email: ghoorchit@yahoo.com

پژوهش‌های علوم دامی Animal Science Research

Journal of Animal Science/vol.32 No.3/ 2022/pp 19-34
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 NC license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/2.0/)
DOI: 10.22034/AS.2021.43228.1596

Introduction: During fermentation in the rumen produce methane, carbon dioxide and ammonia, causing loss of protein and energy, environmental pollution and greenhouse gases and thereby, reduce feed efficiency (Bunthoeun 2007 and Benchaar et al. 2008). Methane gas is one of the most important greenhouse gases in the global warming process after carbon dioxide. The use of food additives in the diet, including solutions that can be applied in the field. One of the suitable options to replace antibiotics aimed at improving rumen fermentation in ruminants' plant extracts. One of the plant essential oils that has a great potential for use in ruminant diets is thyme essential oil (*Thymus Vulgaris*).

Material and methods: In this study, 15 goat kids (average initial BW of 17.3 ± 1.2 Kg, 3-month-old) and 15 Dalagh lambs (average initial BW of 21.4 ± 1.5 Kg, 3-month-old) were randomly assigned to three dietary treatments: 1) control (without thyme extract), 2) supplemented with 250 mg thyme extract and 3) supplemented with 500 mg thyme extract. Animals were kept in individual pens with self-mangers for 84 days. To calculate consumption and nitrogen balance in 80 days of fattening period, samples were taken from three replicates per treatment for four days. Nitrogen balance for each animal was obtained from the difference between nitrogen consumption and excretion per day; so that, the nitrogen consumption was corrected from the difference between the fed nitrogen and the remaining manure of each animal. Glucose, triglyceride, cholesterol, urea nitrogen (BUN), high-density lipoprotein (HDL) and low-density lipoprotein (LDL) were measured using a spectrophotometer. For measuring gas production, 200 mg of experimental diets with 3 levels of thyme essential oil (0, 250 and 500 mg) were incubated with 30 ml of buffered-rumen fluid for 24 hours. After 24 hours of incubation total gas production volume in each bottle with a calibrated syringe and methane (gas chromatography) was read. Total population of bacteria, coliforms and lactic acid bacteria and total population of protozoa were counted with five replications. This experiment was performed based on a completely randomized design with 3 × 2

factorial arrangement including three levels of thyme extract (0, 250 and 500 mg of dry matter) and two species of ruminants (sheep and goats).

Results and discussion: The results showed that there was no significant difference in nitrogen consumption through the use of extracts between different treatments. However, fecal and urinary excretion nitrogen was lower in treatments receiving 250 mg of thyme extract and retained and digested nitrogen was more than other treatments ($P < 0.01$). Examination of interactions and species effects showed that the effect of thyme extract on excreted nitrogen and nitrogen retention in lambs was different from that of goat kids; so that, excreted nitrogen was higher in goats, while nitrogen retention was lower. Nitrogen metabolism depends on the composition of the diet and the species of the animal (Woodward and Reed 1997). Sinz et al (2018) confirmed the findings of this study showed that kids retain more nitrogen than lambs, which were probably due to the growth potential of genetically related used strains. Goats are more susceptible to secondary plant compounds than sheep, the protective mechanisms against these compounds included higher concentrations of specific salivary proteins, which resulted in a higher capacity to bind to these compounds in saliva (Lam et al. 2011). With increasing levels of thyme extract, a significant decrease in gas and methane production was observed in both species ($P < 0.01$). In agreement with the results of the present study, Talebzadeh et al (2012) reported a decrease in gas volume at different incubation hours by adding different levels (0, 150, 300 and 600 µg / ml) of thyme essential oil. In the present study, the results showed that there was no significant difference between species effect and interaction of experimental treatments, which agrees with the results of Sinz et al (2018), whom did not observe a significant difference in gas and methane production between lamb and goat species using grape seed extract. Rumen microbial population (total bacteria, coliforms and lactic acid bacteria) decreased due to the addition of thyme extract in both species, but this decrease was not significant. Also, in lambs and goats receiving thyme extract, with increasing the levels of the extract in the diet, the number of protozoa decreased significantly ($P < 0.01$), so that the group receiving 500 mg of extract had the lowest number of protozoa. According to the results of this study, Pour Arefi et al (2016) found that the addition of cinnamon essential oil had no significant effect on the total number of bacteria and lactic acid bacteria. Khorrami et al (2015) in a study of the use of thyme and cinnamon essential oils (500 mg / kg dry matter) in the diet of Holstein cows found that the number of protozoa decreased. They suggested that the anti-protozoan effects of thyme essential oil may be due to its hydrophobicity, which penetrates the protozoan cell membrane, binds to it, interferes with cytosolic metabolic pathways, and alters cell membrane permeability, eventually leading to cell death. Concentrations of triglycerides, cholesterol, low-density lipoprotein and high-density lipoprotein were not affected by the use of the extract. However, blood glucose concentration increased significantly with increasing the extract in the diet and blood urea nitrogen concentration decreased ($P < 0.01$). One of the reasons that extracts and their compounds can increase blood glucose is that the extracts can reduce the thickness of the intestinal wall by reducing the undesirable microflora and thus, improve the absorption of nutrients, which can also increase the plasma glucose by improving its absorption. Similar to the results of this study, higher glucose concentration and lower blood urea nitrogen were observed in the plasma of fattening lambs using thymol (Zamani et al 2014) and in the plasma of bulls fed with medicinal plant extract (Mohammed et al 2004).

Conclusion: In general, the results of this study showed that the use of thyme extract in the diets of lambs and goats can significantly reduce gas production, especially methane gas and excretion of nitrogen through urine and feces, and thus increase nitrogen retention and digestion.

Keywords: Blood parameters, Fattening, Kids, Lambs, Microbial population, Thyme extract