



## اثر اسانس گونه‌های مختلف آویشن بر فراسنجه‌های تولید گاز، قابلیت هضم و فراسنجه‌های تخمیری شکمبه‌ای در شرایط آزمایشگاهی

مریم فریدون پور<sup>۱</sup>، جواد بیات کوهسار<sup>۲</sup>، ابراهیم غلامعلی پور علمداری<sup>۳</sup> و پونه ابراهیمی<sup>۴</sup>

۱ و ۳- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد و استادیار، دانشگاه گنبد کاووس  
۲- استادیار، دانشگاه گنبد کاووس، (نویسنده مسوول: javad\_bayat@yahoo.com)  
۴- استادیار، دانشگاه گلستان  
تاریخ دریافت: ۹۳/۳/۱۳ تاریخ پذیرش: ۹۴/۳/۱۹

### چکیده

مطالعه‌ای به منظور بررسی تأثیر اسانس گونه‌های مختلف گیاه دارویی آویشن بر فراسنجه‌های تولید گاز، قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی در شرایط آزمایشگاهی در قالب دو آزمایش انجام شد. به این منظور گونه‌های مختلف گیاه دارویی آویشن در مرحله گل‌دهی به ترتیب از مناطق: شیراز (*Zataria multiflora*)، اسفراین (*Thymus transcaspicus lamiaeae*)، شاهرود (*Thymus fallax*)، جنگل گلستان (*transcaucasicus Thymus*) و گرگان (*Thymus vulgareis*) جمع‌آوری شد. گونه‌های مختلف جمع‌آوری شده با دستگاه میکروویو در دمای ۱۱۰ درجه سلسیوس و طول موج ۴۵۰ نانومتر به مدت ۴۵ دقیقه اسانس‌گیری شدند. تیمارهای آزمایشی شامل این موارد بوده است: (۱) تیمار شاهد شامل جیره پایه با نسبت علوفه به کنسانتره ۵۰:۵۰ (بدون افزودن اسانس) (۲) تیمارهای ۲ تا ۶ شامل جیره پایه + اسانس حاصل از گونه‌های مختلف. نتایج نشان داد که افزودن اسانس گونه‌های مختلف آویشن تأثیر معنی‌داری بر پتانسیل و نرخ تولید گاز داشت ( $P < 0/05$ )، به طوری که در پایان مدت آنکوباسیون تیمار شاهد بالاترین پتانسیل تولید گاز (۳۶۹/۶ میلی لیتر به ازاء هر گرم ماده خشک) را در مقایسه با سایر تیمارها داشت. هم‌چنین اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای دارای اسانس از نظر فراسنجه‌های تخمینی نسبت به تیمار شاهد مشاهده شد ( $P < 0/05$ ). استفاده از اسانس کاهش معنی‌داری در pH محیط کشت نسبت به تیمار شاهد را موجب شد ( $P < 0/05$ ). در این آزمایش، بین تیمارهای مختلف از نظر قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ( $P > 0/05$ )، با این حال، تیمارهای دارای اسانس در مقایسه با تیمار شاهد عامل تفکیک، تولید توده میکروبی و بازده تولید توده میکروبی بالاتری داشتند ( $P < 0/05$ ). به طور کلی، می‌توان نتیجه گرفت که اسانس گونه‌های مختلف آویشن توان تغییر فرآیندهای تخمیر شکمبه‌ای را دارند، هرچند آزمایش‌های بیشتری برای تعیین دوز مناسب اسانس گونه‌های مختلف مورد نیاز است.

واژه‌های کلیدی: اسانس، تخمیر شکمبه، قابلیت هضم، شرایط آزمایشگاهی

### مقدمه

مختصین تغذیه نشخوارکنندگان، به دنبال استفاده از ترکیباتی هستند که با تغییر جمعیت و فعالیت میکرو ارگانیزم‌های شکمبه، بازده استفاده از انرژی و پروتئین خوراک را افزایش دهند. چنین هدفی با تنظیم جیره غذایی و استفاده از ترکیباتی چون آنتی‌بیوتیک‌های محرک رشد همانند یونوفورها (مونسین، لاسالوسید و ...) تا حدود قابل توجهی حاصل شده است؛ اما استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها، به دلیل باقی ماندن در شیر و گوشت و افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی، باعث افزایش نگرانی‌های عمومی شده است؛ بنابراین متخصصین به دنبال ترکیباتی جایگزین، با توانایی بهبود فرآیند تخمیر می‌باشند. از جمله این ترکیبات جایگزین می‌توان به مخمرها، اسیدهای آلی، پروبیوتیک‌ها و اسانس‌های گیاهی اشاره کرد (۷). اثرات مثبت ضد میکروبی اسانس‌های گیاهی در مقابل گروه عمده‌ای از باکتری‌ها، مخمرها و قارچ‌ها موجب شده است که محققین به دنبال بررسی توانایی این مواد برای کنترل و بهبود تخمیر در شکمبه راهکاری برای افزایش بازدهی مصرف خوراک در نظر داشتند (۴۲،۲۰). تاکنون تعداد محدودی از اسانس‌های گیاهی که مورد بررسی قرار گرفته‌اند، اثرات سودمند و قابل ملاحظه‌ای بر تخمیر شکمبه‌ای داشته‌اند. این مطالعات طیف گسترده‌ای از اسانس‌ها و

ترکیبات آن‌ها را استفاده کرده‌اند، اما نتایج متفاوتی به دست آمده است (۴۲،۲۰). اختلاف در نحوه پاسخ روغن‌های اسانسی منعکس‌کننده تفاوت در ساختمان شیمیایی آن‌هاست که بر عمل ضد میکروبی آن‌ها تأثیرگذار است (۳). ناگیوتنجر (۳۱) در ابتدا اثر اسانس‌های روغنی را بر تخمیر شکمبه‌ای از طریق روش تولید گاز در محیط آزمایشگاهی (*In vitro*) بررسی کردند. آن‌ها مشاهده کردند که اسانس مریم گلی به طور مشخص، از عمل باکتری‌های شکمبه جلوگیری می‌کند. درجه بازدارندگی آن‌ها، وابسته به ساختمان شیمیایی اسانس روغنی مورد استفاده است.

آویشن (*Thymus vulgareis*) گیاهی است از تیره نعناعیان (*lamiaceae*) که در نواحی مختلف مدیترانه و برخی نواحی آسیا می‌روید و امروزه در مناطق مختلف جهان و از جمله ایران کشت می‌شود. اسانس آویشن مایعی است زرد یا قهوه‌ای مایل به قرمز تیره با بوی مطبوع و طعم تند و پایدار و خنک کننده که از تقطیر برگ‌ها و سرشاخه‌های گل‌دار استخراج می‌شود (۲۹). آویشن دارای ۲/۶-۸/۰ درصد (معمولاً یک درصد) اسانس است که قسمت اعظم آن را فنل‌ها (۸۰-۲۰ درصد) و هیدروکربن‌های مونوترپنی (مثل:  $P-$  cymene و  $\alpha$ -terpinene) گاما) و الکل‌ها (مثل: Linalool و  $\alpha$ -terpinene) تشکیل می‌دهند که گاهی این ترکیبات تا ۸۰

انجام شد. تیمارهای آزمایشی عبارت بودند از: (۱) تیمار شاهد (جیره پایه فاقد اسانس) (۲) تیمارهای ۲ تا ۶ شامل جیره پایه به اضافه اسانس حاصل از به‌ترتیب: *Zataria multiflora*, *Thymus fallax lamiaecae* *Thymus transcaspicus* و *Thymus vulgaris* و *Thymus transcaucasicus*

جیره پایه بر اساس ماده خشک شامل: علوفه (یونجه) + کنسانتره (۳۴ درصد جو، ۳۰ درصد ذرت، ۸ درصد سویا، ۱۲ درصد تخم پنبه، ۵ درصد تقاله چغندر قند، ۱۰ درصد سیوس و ۰/۳ درصد کربنات کلسیم، ۰/۲ درصد نمک و ۰/۵ درصد مکمل معدنی- ویتامینی) به نسبت ۵۰:۵۰ بود. مایع شکمبه از چهار رأس گوسفند نر نژاد دالاق (۴۵ ± ۲/۵ کیلوگرم) دارای فستولای شکمبه‌ای و قبل از خوراک صبح‌گاهی به دست آمد و با پارچه چهار لایه متقال صاف شد. حیوانات در سطح نگهداری با جیره حاوی ۷۰ درصد علوفه (یونجه) و سیلاژ ذرت به نسبت مساوی) و ۳۰ درصد کنسانتره (جو، کنجاله تخم پنبه، سیوس و مکمل) تغذیه شدند و حیوانات به آب آزادانه دسترسی داشتند. به منظور ایجاد شرایط بی‌هوازی، گاز دی‌اکسید کربن به مایع شکمبه صاف شده تزریق شد و در بن ماری با دمای ۳۸/۶ درجه سلسیوس قرار داده شد. بزاق مصنوعی مطابق روش منک و همکاران (۲۶) تهیه و با شیرابه شکمبه با نسبت ۲:۱ (مایع شکمبه: بافر) مخلوط شد. مقدار ۲۰۰ میلی‌گرم جیره پایه به همراه ۳۰ میلی‌لیتر مخلوط مایع شکمبه و بزاق مصنوعی به ویال‌های شیشه‌ای اضافه شد (۵ تکرار برای هر تیمار). میزان ۴ میکرولیتر اسانس همراه با ۴ میکرولیتر اتانول به ویال‌ها اضافه شد. سر ویال‌ها به کمک درپوش پلاستیکی و پوشش آلومینیومی به طور کامل بسته و در حمام آب گرم با دمای ۳۸/۶ درجه سلسیوس برای انکوباسیون قرار داده شد. به‌منظور تصحیح گاز تولید شده ناشی از ذرات باقی‌مانده در مایع شکمبه، پنج تکرار که بلانک نامیده می‌شود و نیز برای تصحیح اثر اتانول پنج تکرار حاوی جیره پایه همراه با ۴ میکرولیتر اتانول که تیمار شاهد است در نظر گرفته شد. فشار گاز تولید شده در زمان‌های ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۲، ۲۴، ۳۶، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت پس از انکوباسیون قرائت و به کمک رابطه تئودور و همکاران (۴۰) حجم گاز تولید شده به دست آمد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با کمک معادله ارسکوف و مکدونالد (۳۵)  $P=b(1-e^{-ct})$  و نرم‌افزار SAS (نسخه ۹/۱) انجام شد. در این معادله فراسنجه  $b$  گاز تولیدی از بخش قابل تخمیر (میلی‌لیتر)،  $c$  ثابت نرخ تولید گاز (میلی‌لیتر در ساعت)،  $t$  زمان انکوباسیون بر حسب ساعت و  $P$  میزان گاز تولیدی (میلی‌لیتر) در زمان مورد نظر می‌باشد. قابلیت هضم ماده آلی طبق روش منک و همکاران (۲۶)، انرژی قابل متابولیسم طبق روش منک و استینگاس (۲۷) و اسیدهای چرب کوتاه زنجیر با استفاده از معادله ماکار (۲۴) تخمین زده شد. آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS (نسخه ۹/۱) در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام گرفت. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵ درصد خطا استفاده شد.

درصد از ترکیبات اسانس را تشکیل می‌دهند. به‌طور طبیعی تیمول جزء اصلی فنلی در آویشن و کارواکرول نیز یک جزء فرعی است (۲۳).

فعالیت بیولوژیک اسانس‌ها به اجزای تشکیل‌دهنده آن‌ها بستگی دارد؛ زیرا این ترکیبات دارای ترکیبات متنوعی هستند که از هیدروکربن‌های نسبتاً بی‌اثر گرفته تا فنل‌های بسیار فعال می‌باشند. طالب‌زاده و همکاران (۳۹) با افزودن سطوح مختلف (صفر، ۱۵۰، ۳۰۰ و ۶۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) اسانس آویشن شیرازی کاهش حجم گاز را در ساعات‌های مختلف انکوباسیون گزارش کردند. مارتینز و همکاران (۲۵) نیز کاهش گاز تولیدی را در نتیجه استفاده از سطوح مختلف عصاره آویشن گزارش کردند. بورچرز (۶) بیان کرد که آویشن بر تخمیر میکروبی شکمبه تأثیرگذار است و باعث کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی، کاهش تولید متان و لاکتات شده و دامیناسیون را محدود می‌کند.

خواص هر اسانس با توجه به گونه، شرایط اقلیمی، زمان نمونه‌گیری و زمان برداشت اندام حاوی اسانس، تغییر می‌یابد (۸). اسانس حاصل از آویشن که در مناطق مختلف می‌روید، از نظر رنگ، طعم، ویسکوزیته و ترکیبات شیمیایی متفاوت می‌باشد (۳۰). با این‌که مطالعات زیادی در ارتباط با تأثیر افزودن اسانس گیاهان دارویی بر فراسنجه‌های تخمیری شکمبه در شرایط آزمایشگاهی و حیوان زنده انجام شده است، اما مطالعه‌ای در خصوص مقایسه تأثیر استفاده از اسانس گونه‌های مختلف یک گیاه دارویی وجود ندارد. لذا، هدف از انجام این مطالعه بررسی و مقایسه اثر اسانس حاصل از گیاه دارویی آویشن جمع‌آوری شده از مناطق مختلف ایران با شرایط اقلیمی متفاوت بر فراسنجه‌های تخمیری شکمبه و قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی در شرایط آزمایشگاهی بود.

## مواد و روش‌ها

### جمع‌آوری نمونه و تهیه اسانس

گونه‌های مختلف گیاه دارویی آویشن *Zataria multiflora*, *Thymus lamiaecae transcaspicus*, *Thymus fallax* و *Thymus transcaucasicus* به‌ترتیب از مناطق مختلف شیراز، اسفراین، شاهرود، جنگل گلستان و گرگان جمع‌آوری و در سایه خشک شدند. اسانس حاصله از برگ آن‌ها با استفاده از دستگاه میکروویو در آزمایشگاه شیمی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی گنبد کاووس به دست آمد. در هر بار اسانس‌گیری، میزان ۲۰ گرم از برگ گیاه دارویی مورد نظر در ۱۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر به مدت ۲۰ دقیقه در بالن خیس‌ساز شده پس از آن‌ها با دستگاه میکروویو با دمای ۱۱۰ درجه سلسیوس و طول موج ۴۵۰ نانومتر به مدت ۴۵ دقیقه اسانس‌گیری شد. این کار برای هر ۲۰ گرم نمونه سه بار تکرار شد.

### اندازه‌گیری فراسنجه‌های تولید گاز

آزمون تولید گاز بر اساس روش منک و استینگاس (۲۶)

### اندازه‌گیری قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی در شرایط کشت بسته

این آزمایش هم از جهت تهیه مایع شکمبه، نسبت بافر به مایع شکمبه و هم جیره پایه مشابه با آزمایش تولید گاز بوده است. مایع شکمبه پس از صاف کردن با پارچه ۴ لایه‌ای تحت شرایط بی‌هوازی به آزمایشگاه منتقل و pH آن با بافر به ۶/۸ رسانده شد. میزان ۴۰ میلی‌لیتر از بزاق مصنوعی تهیه شده به داخل ویال‌های شیشه‌ای حاوی ۵۰۰ میلی‌گرم جیره پایه بر اساس ماده خشک ریخته شد. تیمارهای آزمایشی نیز مشابه با آزمایش قبلی بود. میزان هشت میکرولیتر اسانس به همراه هشت میکرولیتر اتانول به ازاء هر گرم ماده خشک به ویال‌های شیشه‌ای و در تیمار شاهد فقط هشت میکرولیتر اتانول اضافه شد. سپس سر ویال‌ها به کمک درپوش پلاستیکی و پوشش آلومینیومی به طور کامل بسته و در بن‌ماری با دمای ۳۸/۶ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت برای انکوباسیون قرار داده شد. در پایان مدت انکوباسیون، شیشه‌ها از بن‌ماری خارج و pH نمونه‌ها با استفاده از دستگاه pH متر اندازه‌گیری شد. برای محاسبه ناپدید شدن ماده خشک، محتوای بطری‌ها با پارچه با منافذ ۴۲ میکرومتر صاف و باقی‌مانده آن در دمای ۶۰ درجه سلسیوس به مدت ۴۸ ساعت در آون خشک و قابلیت هضم ظاهری ماده خشک محاسبه گردید. سپس ماده خشک باقیمانده در داخل کوره با دمای ۵۵۰ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت قرار داده و خاکستر آن محاسبه شد. بازده تولید گاز (GP<sub>24</sub>) به‌صورت حجم گاز تولید شده پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون تقسیم بر مقدار ماده خشک تجزیه شده واقعی (گرم) محاسبه شد (۱۹). محاسبه توده میکروبی تولید شده با استفاده از معادله پیشنهادی بلومل و همکاران (۵) انجام شد:

$$PF = \frac{2}{2} (PF) - \text{نسبت ماده تجزیه شده واقعی} = \text{توده میکروبی تولید شده (میلی‌گرم به ازاء گرم ماده خشک)}$$

PF (عامل تفکیک) بنا به تعریف برابر با نسبت میلی‌گرم ماده آلی حقیقی هضم شده بر میلی‌لیتر حجم گاز خالص تولیدی می‌باشد. بازده توده میکروبی با تقسیم توده میکروبی تولید شده بر مقدار ماده آلی حقیقی قابل تخمیر در پایان زمان انکوباسیون (۲۴ ساعت) محاسبه گردید. آنالیز داده‌ها با استفاده نرم‌افزار SAS (نسخه ۹/۱) در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام گرفت. مدل آماری مورد استفاده برای تجزیه داده‌ها به صورت زیر بود:

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

در این رابطه،  $Y_{ij}$  مقدار هر مشاهده،  $\mu$  میانگین جامعه،  $T_j$  اثر تیمار و  $e_{ij}$  خطای آزمایشی است. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵ درصد خطا استفاده شد.

### نتایج و بحث

#### تأثیر افزودن اسانس گونه‌های مختلف آویشن بر فراسنجه‌های تولید گاز

تأثیر افزودن اسانس گونه‌های مختلف گیاه دارویی آویشن جمع‌آوری شده از مناطق مختلف بر پتانسیل تولید گاز، نرخ تولید گاز و فراسنجه‌های تخمینی در جدول ۱ نشان داده شده

است. نتایج نشان داد که افزودن اسانس تأثیر معنی‌داری بر پتانسیل و نرخ تولید گاز داشت ( $P < 0.05$ )، به طوری که تیمار شاهد در پایان مدت انکوباسیون بالاترین پتانسیل تولید گاز (۳۶۹/۶ میلی‌لیتر به ازاء هر گرم ماده خشک) را در مقایسه با تیمارهای دارای اسانس داشت. در بین تیمارهای دارای اسانس نیز از نظر پتانسیل تولید گاز اختلاف معنی‌داری وجود داشت ( $P < 0.05$ ). از این نظر، اسانس *Zataria multiflora* و اسانس *Thymus transcaucasicus* به ترتیب بیشترین و کمترین تأثیر را در کاهش تولید گاز داشتند. تأثیر اسانس حاصل از گونه‌های مختلف آویشن بر پتانسیل تولید گاز در پایان مدت انکوباسیون به ترتیب از بیشتر به کمتر به این صورت بوده است: تیمار ۲ (۲۷۷/۷ میلی‌لیتر)، تیمار ۶ (۲۹۷ میلی‌لیتر)، تیمار ۳ (۲۹۸ میلی‌لیتر)، تیمار ۴ (۳۰۶ میلی‌لیتر) و تیمار ۵ (۳۱۷ میلی‌لیتر).

بین تیمارهای آزمایشی از نظر فراسنجه‌های تخمینی (انرژی قابل متابولیسم، قابلیت هضم ماده آلی و اسیدهای چرب کوتاه زنجیر) اختلاف معنی‌داری وجود داشت ( $P < 0.05$ ). از این نظر، تیمار شاهد و تیمار ۲ در مقایسه با سایر تیمارها به ترتیب بالاترین و پایین‌ترین درصد قابلیت هضم ماده آلی، مقدار انرژی قابل متابولیسم و غلظت اسیدهای چرب کوتاه زنجیر را داشتند. روند تولید گاز در زمان‌های مختلف انکوباسیون (شکل ۱) نشان داد که تیمار شاهد در مقایسه با سایر تیمارها در تمام زمان‌های انکوباسیون تولید گاز بالاتری داشت ( $P < 0.05$ ). در بین تیمارهای دارای اسانس نیز اختلاف معنی‌داری وجود داشت و تیمار ۲ پائین‌ترین پتانسیل تولید گاز را در تمامی زمان‌ها در مقایسه با سایر تیمارها داشت.

در این مطالعه به طور کلی، افزودن اسانس گونه‌های مختلف آویشن بر فراسنجه‌های تولید گاز در مقایسه با تیمار شاهد تأثیر معنی‌داری داشت که موافق با نتایج بورچز (۶)، کاستلیجوس و همکاران (۹)، مارتینز و همکاران (۲۵) و طالب‌زاده و همکاران (۳۹) به‌نظر رسید. طالب‌زاده و همکاران (۳۹) با افزودن سطوح مختلف (صفر، ۱۵۰، ۳۰۰ و ۶۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) اسانس آویشن شیرازی در شرایط آزمایشگاهی کاهش حجم گاز را در ساعات‌های مختلف انکوباسیون گزارش کردند. در مطالعه مارتینز و همکاران (۲۵) نیز کاهش گاز تولیدی در سطوح مختلف عصاره آویشن گزارش شد. کاهش تولید متان در مطالعه بورچز (۶) نیز در نتیجه استفاده از اسانس آویشن گزارش شده است. کاستلیجوس و همکاران (۹) گزارش کردند که دوزهای پائین تیمول در آویشن و پونه کوهی (۵۰ میلی‌گرم در لیتر) تأثیری بر تخمیر میکروبی شکمبه به‌صورت آزمایشگاهی نداشت، اما در دوزهای بالاتر (۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر)، غلظت کل اسیدهای چرب فرار و نیتروژن آمونیاکی کاهش و نسبت اسات به پروپیونات افزایش یافت. گارسا-گونزالز و همکاران (۱۷) گزارش کردند اسانس ریواس و مونسین، باعث کاهش گاز تولیدی و کاهش تولید متان در یک محیط کشت ۲۴ ساعته شدند. در مقابل، گونزالس و همکاران (۱۷) گزارش کردند که اسانس‌های نعنای فلفلی، اسطوخودوس، نعنای

به گونه گیاهی که از آن اسانس استخراج می‌شود، فرق می‌کند. این امر نشان‌دهنده آن است که فعالیت بیولوژیک اسانس‌ها به اجزای تشکیل‌دهنده آن‌ها بستگی دارد، زیرا این ترکیبات حاوی مواد متنوعی هستند که از هیدروکربن‌های نسبتاً بی‌اثر گرفته تا فنل‌های بسیار فعال تشکیل می‌شوند. در بین ترکیبات موجود در اسانس گیاهان دارویی، منوترپن‌های اکسیژن‌دار و به‌طور مشخص منوترپن‌های الکلی و آلدئیدی رشد و متابولیسم میکروبی‌های شکمبه را مهار می‌کنند، در حالی که منوترپن‌های هیدروکربنی فعالیت مهارکننده کمی داشته و گاهی عمل محرک فعالیت میکروارگانیسم‌های شکمبه را دارا هستند.

خواص هر اسانس بسته به نوع گونه، شرایط اقلیمی محل رویش گیاه، زمان نمونه‌گیری و همچنین زمان برداشت اندام حاوی اسانس تغییر می‌کند (۸). غلظت اسانس‌های موجود در گیاهان تحت تأثیر عواملی مانند گونه، زیرگونه، موقعیت جغرافیایی، زمان برداشت گیاه و قسمت مورد استفاده برای اسانس‌گیری قرار دارد (۱۶). علاوه بر این، عواملی مانند نور و استرس‌های حرارتی و رطوبتی نیز بر غلظت آن‌ها در گیاه تأثیرگذار می‌باشد (۱۸).

در این مطالعه، اسانس‌های مورد استفاده از گونه‌های مختلف آویشن بودند که از مناطق با شرایط اقلیمی و جغرافیایی متفاوت جمع‌آوری شده بودند. اسانس آویشن *Zataria multiflora*، از منطقه شیراز و اسانس *transcaucasicus Thymus* از منطقه جنگل گلستان به ترتیب بیشترین و کمترین تأثیر را در کاهش تولید گاز داشتند. تنوع در پاسخ اسانس‌ها، به‌طور آشکاری، منعکس‌کننده تفاوت در ساختار شیمیایی است که اثرات اسانس‌ها را بر فعالیت میکروبی شکمبه تحت تأثیر قرار می‌دهد. به نظر می‌رسد که احتمالاً شرایط اکولوژیکی گرم و نسبتاً خشک و تنش‌های محیطی منطقه جمع‌آوری گونه آویشن *Zataria multiflora* بر غلظت ترکیبات موثر موجود در اسانس تأثیر بیشتری داشته است که بیشترین تأثیر کاهش‌دهنده بر تولید گاز داشت.

ریحان، پونه و آویشن (خانواده نعناعیان)، رازیانه، شوید و زیره در شرایط برون‌تنی، تغییر معنی‌داری در الگوی تخمیر شکمبه، خصوصاً کاهش تولید متان، ایجاد نکردند و تنها تغییرات ناچیزی را موجب شدند.

فعالیت ضد میکروبی اسانس‌های گیاهی در مقابل طیف وسیعی از میکروارگانیسم‌ها، شامل باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی نشان داده شده است که به تعدادی از ترکیبات فنولیک و ترپنوئید (۱۱) اجزای شیمیایی و گروه‌های ساختاری موجود در اسانس‌های گیاهی، نسبت‌های موجود در آن‌ها و اثرات متقابل بین آن‌ها، مربوط می‌شود (۱۳). اسانس‌های گیاهی، به علت ماهیت هیدروفوبیک‌شان (آگریزشان)، نزدیکی بالایی به لیپیدهای غشای سلول باکتریایی دارند و ویژگی‌های ضد باکتریایی آن‌ها احتمالاً به ماهیت هیدروفیلیک (چربی دوست) آن‌ها بر می‌گردد. این مکانیسم به ویژگی‌های لیپوفیلیک اجزای تشکیل‌دهنده اسانس‌های گیاهی و توانایی گروه عاملی آن‌ها بستگی دارد (۱۳). اسانس‌های گیاهی به‌طور انتخابی از عمل تعدادی از پروتوزوئرها جلوگیری می‌کنند و تولید گاز متان را کاهش می‌دهند، به دلیل این که پروتوزوئرها شکمبه محیط مناسبی را برای متانوژن‌هایی که در شکمبه زیست می‌کنند، فراهم می‌کنند (۴). بنا بر مطالعه نیبولد و همکاران (۳۲) حدود ۲۵-۹ درصد تولید متان در شکمبه به واسطه حضور پروتوزوئرها می‌تواند است.

به‌طور طبیعی تیمول جزء اصلی ترکیبات فنلی در آویشن و کارواکرول نیز یک جزء فرعی است (۳۳). این ترکیبات 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-، تأثیر خود را می‌گذارند. گزارش شده است که تیمول (۴۰۰ میلی‌گرم در لیتر) یک ممانعت‌کننده قوی تولید متان در شرایط آزمایشگاهی می‌باشد، با توجه به این که بیشترین حجم گاز تولید شده در شکمبه شامل دی‌اکسید کربن و متان می‌باشد (۹). تحقیقات نشان می‌دهد توانایی کنترل اسانس روی یک گونه میکروب بسته

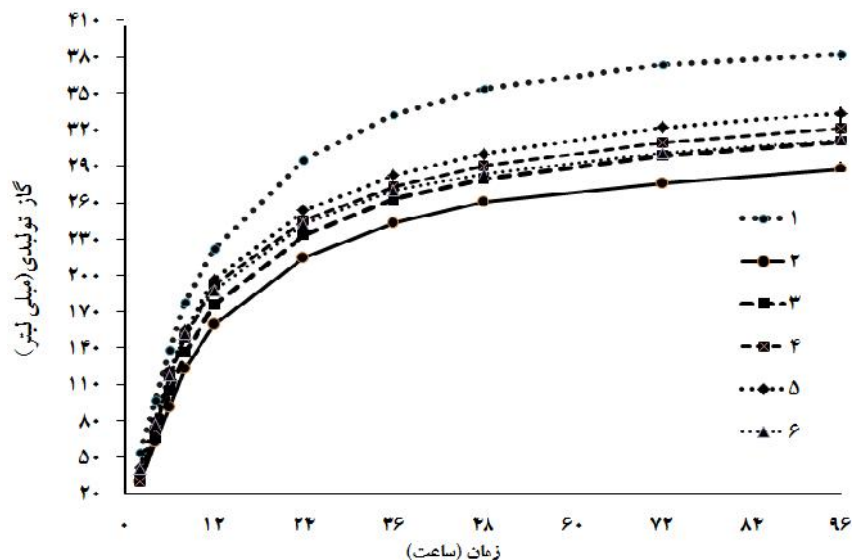
جدول ۱- تأثیر اسانس گونه‌های مختلف گیاه دارویی آویشن بر فراسنجه‌های تولید گاز

Table 1. Effect of various species of Thymus essence on gas production parameters

SCFA	ME	OMD	C	(a+b)	تیمارها
۱/۳۰۶ <sup>a</sup>	۱۰/۲۴۳ <sup>a</sup>	۶۸/۰۵ <sup>a</sup>	۰/۰۷۵۳ <sup>d</sup>	۳۶۹/۶ <sup>a</sup>	۱
۰/۹۴۹ <sup>c</sup>	۸/۰۵۲ <sup>c</sup>	۵۳/۵۸ <sup>c</sup>	۰/۰۶۶۳ <sup>c</sup>	۲۷۷/۷ <sup>a</sup>	۲
۱/۰۳۳ <sup>bc</sup>	۸/۵۶ <sup>bc</sup>	۵۶/۹۴ <sup>bc</sup>	۰/۰۶۸۶ <sup>c</sup>	۲۹۸/۴ <sup>c</sup>	۳
۱/۰۸۴ <sup>d</sup>	۸/۸۸۲ <sup>d</sup>	۵۹/۰۶ <sup>d</sup>	۰/۰۷۴۷ <sup>d</sup>	۳۰۶/۷ <sup>c</sup>	۴
۱/۱۲۱ <sup>d</sup>	۹/۱۰۵ <sup>d</sup>	۶۰/۵۴ <sup>d</sup>	۰/۰۷۵۴ <sup>d</sup>	۳۱۷/۴ <sup>d</sup>	۵
۱/۳۰۶ <sup>a</sup>	۸/۷۹۳ <sup>d</sup>	۵۸/۴۷ <sup>bc</sup>	۰/۰۷۹۷ <sup>a</sup>	۲۹۷/۱ <sup>c</sup>	۶
۰/۰۷۹	۰/۴۸۶	۳/۲۱	۰/۰۰۳۳	۴/۶۷	SEM

تیمارها: ۱- شاهد (بدون افزودنی)، تیمارهای ۲ تا ۶ شامل جیره پایه به اضافه اسانس حاصل از به‌ترتیب به این صورت است: *Thymus transcaucasicus*، *Zataria multiflora*، *Thymus fallax slamiaceae*، *Thymu stranscaucasicus* و *Thymu svulgaris* (a+b): پتانسیل تولید گاز (میلی‌لیتر در گرم ماده خشک)، C: نرخ تولید گاز (میلی‌لیتر در ساعت به ازاء گرم ماده خشک)، OMD: قابلیت هضم ماده آلی (درصد ماده خشک)، ME: انرژی قابل متابولیسم (مگاجول در کیلوگرم ماده خشک)، SCFA: اسیدهای چرب کوتاه زنجیر (میلی‌مول).

میانگین‌ها در داخل یک ستون با حروف نامشابه اختلاف معنی‌دار دارند (P < ۰/۰۵).



شکل ۱- تأثیر اسانس گونه‌های مختلف گیاه دارویی آویشن بر روند تولید گاز در زمان‌های مختلف انکوباسیون  
 Figure 1. Effect of various species of Thymus essence on gas production curves at different times of incubation  
 تیمارها: ۱- شاهد (بدون افزودنی) و تیمارهای ۲ تا ۶ شامل جیره پایه به اضافه اسانس حاصل از به ترتیب: *Thymus*, *Thymus transcaspicus*, *Thymus lamiaeae*, *Zataria multiflora*, *Thymus vulgaris* و *Thymus transcaucasicus fallax*.

پروپیونات، بوتیرات و آمونیاک محیط کشت تأثیری نداشتند، آن‌ها همچنین گزارش کردند که اسانس‌های نناع فلفلی، اسطوخودوس و پونه کوهی، باعث کاهش معنی‌داری در pH شکمبه می‌شود، در حالی که اسانس‌های ریحان، نناع و آویشن، اثر معنی‌داری بر pH شکمبه نداشتند. در مقابل، در آزمایشی اسانس آویشن باعث افزایش pH، کاهش هضم مواد غذایی و تولید اسیدهای چرب فرار شد (۷). چاوز و همکاران (۱۱) نیز نشان دادند اسانس سیر بر میانگین pH شکمبه بره‌های در حال رشد تأثیری نداشت که یافته‌های حاصل از این آزمایش نتایج آن‌ها را تأیید نکرد. کالسامیگلیا و همکاران (۷) بیان کردند که با کاهش pH، اسیدها بیش‌تر آب‌گریز می‌شوند و در نتیجه واکنش اسانس سیر با غشای سلولی صورت می‌گیرد و اثرات ضد میکروبی آن بروز می‌کند. علاوه بر این، اسکندامیس و نیکاس (۳۸) گزارش کردند که باکتری‌ها در pH پایین نسبت به اثرات اسانس‌های گیاهی حساس‌تر هستند.

نتایج مربوط به تأثیر افزودن اسانس گیاهان دارویی آویشن جمع‌آوری شده از مناطق مختلف بر قابلیت هضم ماده خشک، قابلیت هضم ماده آلی، عامل تفکیک، تولید توده میکروبی و بازده تولید توده میکروبی در شرایط آزمایشگاهی در جدول ۲ نشان داده شده است. در این آزمایش، بین تیمارهای مختلف از نظر قابلیت هضم ظاهری ماده خشک و حقیقی ماده آلی اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ( $P > 0.05$ ), اما به‌طور کلی تیمارهای دارای اسانس در مقایسه با تیمار شاهد به‌طور غیر معنی‌داری قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی پائین‌تری داشتند. بین تیمارها از نظر عامل تفکیک، توده میکروبی تولید شده و بازده تولید میکروبی اختلافات

#### تأثیر اسانس گونه‌های مختلف آویشن بر قابلیت هضم و فراسنبجه‌های تخمیری شکمبه‌ای در شرایط آزمایشگاهی

تأثیر افزودن اسانس گونه‌های مختلف گیاه دارویی آویشن جمع‌آوری شده از مناطق مختلف بر pH محیط کشت در شرایط آزمایشگاهی در جدول ۲ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که استفاده از اسانس گونه‌های مختلف آویشن کاهش معنی‌داری در pH محیط کشت در مقایسه با تیمار شاهد را موجب شد ( $P < 0.05$ ). pH شکمبه، تعادلی از غلظت اسیدهای چرب فرار عمده در شکمبه (استات، پروپیونات، بوتیرات و لاکتات)، آمونیاک، بافر شکمبه و بزاق است (۴۱). هر چه میزان تخمیر شکمبه افزایش یابد، محصولات فرعی حاصل از آن یعنی اسیدهای چرب فرار نیز افزایش یافته که باعث کاهش pH شکمبه می‌گردد. نتایج این آزمایش در توافق با نتایج دوانت و همکاران (۱۲) و کاستیلجوس و همکاران (۱۰) بود.

کاستیلجوس و همکاران (۱۰) نشان دادند که اسانس پونه کوهی همانند آویشن و میخک حتی در پائین‌ترین سطح (۵ میلی‌گرم در لیتر در مایع کشت ثابت) به افزایش ۳۹ تا ۵۹ درصدی در غلظت اسیدهای چرب فرار کل و کاهش pH منجر شد. دوانت و همکاران (۱۲) در آزمایشی با گوساله‌های نر هولشتاین - که با جیره‌های حاوی مقادیر بالایی از مواد متراکم تغذیه شدند- گزارش کردند که افزودن مخلوطی از عصاره‌های گیاهی یا مونسین، pH مایع شکمبه را کاهش می‌دهد. هم‌چنین هریستوو و همکاران (۲۰) گزارش کردند که اسانس‌های نناع فلفلی، آویشن، پونه کوهی و ریحان بر غلظت کل اسیدهای چرب فرار، نسبت مولی استات،

سوپسترای تجزیه شده به صورت حقیقی بر حسب میلی گرم به حجم گاز تولید شده در طول مدت انکوباسیون (۲۴ یا ۴۸ ساعت) تعریف می‌شود (۳۴). عامل تفکیک بالا به این معنی است که نسبت بیشتری از ماده تجزیه شده به داخل توده میکروبی وارد شده است. برای خوراک‌های متعارف دامنه عامل تفکیک بین ۲/۷۴ تا ۴/۶۵ میلی گرم در هر میلی لیتر گزارش شده است (۴).

گازها، اسیدهای چرب فرار و توده میکروبی محصولات نهایی هضم شکمبه‌ای هستند. هر محصول نهایی که در پایان تخمیر اندازه‌گیری شده، مستقیماً به توده مواد هضم شده بستگی دارد (۲۶). تولید گاز با تولید خالص اسیدهای چرب فرار (۳۳) و سنتز توده میکروبی (۴۰) رابطه خطی دارد. هر چند حجم خالص گاز تولید شده به ازاء هر واحد سوپسترا هضم شده نشان‌دهنده متابولیسم میکروبی است، اما نمی‌توان به تولید تجمعی گاز - که یک شاخص برای پتانسیل رشد میکروبی یک خوراک به شمار می‌آید- اتکاء کرد.

به طور کلی، اثرات اسانس‌های گیاهی بر فراسنجه‌های تخمیر شکمبه‌ای با توجه به نوع و مقدار ترکیبات اسانس استفاده شده و تفاوت‌های موجود در ساختار شیمیایی و تکنیک آزمایشگاهی مورد استفاده (کشت ثابت، کشت متداوم یک طرفه یا کشت متداوم دو طرفه) متغیر می‌باشد (۳). نتایج حاصل از این آزمایش با مشاهدات دودارو و همکاران (۱۴) مطابقت داشت از آن جایی که بیان کردند نوع و میزان اثر گیاهان دارویی به تناسب نوع و غلظت ماده مؤثر موجود در آن‌ها متفاوت است و مقدار ماده مؤثر تحت تأثیر عوامل محیطی مانند نور و حرارت قرار دارد که این عوامل موجب می‌شوند که حتی یک گونه گیاه دارویی که در محیط‌های متفاوت رشد کرده دارای مقادیر متفاوتی از مواد مؤثر باشد.

نتایج نشان داد که استفاده از اسانس گیاه دارویی آویشن بر مولفه‌های تولید گاز و فراسنجه‌های تخمیری شکمبه‌ای در شرایط آزمایشگاهی تأثیر معنی‌داری داشت. آنچه که در این مطالعه قابل ملاحظه بود، تأثیر متفاوت اسانس گونه‌های مختلف یک گیاه دارویی بر این فراسنجه‌ها بود. از آن جایی که اسانس گونه‌های مختلف یک گیاه دارویی که از مناطق با شرایط اقلیمی و آب و هوایی متفاوت پاسخ‌های متفاوتی بر فراسنجه‌های تخمیری داشت، بیان گر این است که ترکیبات مؤثره موجود در این اسانس با هم متفاوت است. همچنین تفاوت بودن پاسخ اسانس‌های گونه‌های مختلف می‌تواند بیانگر مؤثر بودن شرایط آب و هوایی، نوع خاک، طول روز، استرس‌های محیطی، شوری، گونه و ... بر ترکیبات مؤثر موجود در اسانس‌ها باشد. پیشنهاد می‌شود اثرات اسانس‌های ذکر شده در سطوح بالاتر در شرایط درون-تنی به منظور تأثیر بر جمعیت میکروبی شکمبه و تولید اسیدهای چرب فرار بررسی شود.

معنی‌داری وجود داشت ( $P < 0.05$ ). تیمار شاهد دارای بالاترین مقدار بازده تولید گاز و پائین‌ترین مقدار عامل تفکیک، توده میکروبی تولید شده و بازده تولید توده میکروبی را داشت. در بین تیمارهای دارای اسانس، تیمار ۲ پائین‌ترین بازده تولید گاز و بالاترین مقدار عامل تفکیک، توده میکروبی تولید شده و بازده تولید توده میکروبی بود. بین مقدار گاز تولیدی و توده میکروبی تولید شده هم‌بستگی منفی ( $-0.92$ ) و معنی‌داری وجود داشت ( $P < 0.001$ ). بلومل و همکاران (۴) بیان داشتند که بین تولید گاز و تولید اسیدهای چرب فرار همبستگی مثبت و با بازده توده میکروبی تولید شده، همبستگی منفی وجود داشت. در یک مطالعه مشخص شد که افزودن ۱/۵ میلی گرم بر لیتر مخلوط روغن‌های اسانسی، غلظت کل اسیدهای چرب فرار را افزایش داد، اگرچه تأثیری در هضم ماده آلی نداشت (۳۲). در این مطالعه، پیشنهاد شد که ممکن است اثر مخلوط روغن‌های اسانسی مورد استفاده بر غلظت کل اسیدهای چرب فرار، وابسته به ترکیب جیره باشد. سلام و همکاران (۳۷) 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. در آزمایشی دیگر که با گوسفند‌های اخته انجام گرفت، قابلیت هضم ماده آلی، ماده خشک، پروتئین و الیاف غیر قابل حل در شوینده خنثی تحت تأثیر افزودن روغن پونه کوهی قرار نگرفت (۴۳). در مطالعه بنچار و همکاران (۳) هیچ تغییری در نتیجه کاربرد اسانس‌های گیاهی بر مصرف خوراک، قابلیت هضم مواد مغذی و عملکرد مشاهده نشد. هر چند در آزمایشی، قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی در گاوهای تغذیه شده با جیره‌ای مخلوط با اسانس‌های گیاهی، به طور معنی‌داری کاهش پیدا کرد (۳۶). بنچار و همکاران (۳) نیز کاهش قابلیت هضم الیاف غیر قابل حل در شوینده خنثی و ماده آلی را در شرایط برون‌تنی (*In Vitro*) در نتیجه افزودن ۴۰۰ میلی گرم در لیتر اسانس پونه کوهی و ۸۰۰ میلی گرم در لیتر اسانس میخک گزارش کردند. در آزمایشی متناقض، افزودن ۲۰۰ گرم نعناع به ازاء هر روز به جیره در گاوهای نر اخته هولشتاین قابلیت هضم ماده خشک، ماده آلی، پروتئین خام و عصاره اتری تمایل به افزایش داشت (۱). نبود تأثیر یا تأثیر کاهشی اسانس گیاهان دارویی بر قابلیت هضم ماده خشک، نشان می‌دهد که سطح اسانس استفاده شده قادر به تغییر دادن فعالیت میکروبی شکمبه نبوده است (۲۱). گاز تولید شده از تخمیر بی‌هوازی یک محصول فرعی فرآیند تخمیر بوده و در واقع اتلاف انرژی است و باعث کاهش بازده تخمیر می‌شود. در واقع با کاهش تولید گاز متان بازده تخمیر خوراک نیز افزایش پیدا می‌کند.

عامل تفکیک که شاخصی از راندمان سنتز توده میکروبی در شرایط آزمایشگاهی می‌باشد (۴)، به صورت نسبی از

جدول ۲- تاثیر اسانس گونه‌های مختلف گیاه داروئی آویشن بر قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی و فراسنجه‌های تخمیری  
Table 3. Effect of various species of *Thymus* essence on digestibility, fermentation characteristics and microbial biomass production

EMB	MB	PF	Gas yield <sub>۲۴</sub>	pH	IVOMD	IVDMD	تیمارها <sup>۱</sup>
۰/۳۶۴ <sup>c</sup>	۱۳۹/۱۸ <sup>b</sup>	۳/۴۸ <sup>c</sup>	۳۸۲/۳۳ <sup>d</sup>	۶/۴۷ <sup>d</sup>	۷۵/۶۹	۷۳/۳۶	۱
۰/۴۴۷ <sup>a</sup>	۱۵۲/۷۰ <sup>a</sup>	۴/۰۴ <sup>a</sup>	۲۳۴/۲۶ <sup>c</sup>	۶/۳۵ <sup>c</sup>	۷۳/۹۳	۷۱/۰۲	۲
۰/۴۳۶ <sup>bd</sup>	۱۴۷/۸۳ <sup>a</sup>	۳/۹۰ <sup>bd</sup>	۲۴۷/۷۰ <sup>dc</sup>	۶/۳۸ <sup>dc</sup>	۷۳/۳۶	۷۰/۳۰	۳
۰/۴۲۰ <sup>bd</sup>	۱۴۲/۵۸ <sup>bd</sup>	۳/۸۰ <sup>d</sup>	۲۵۳/۵۶ <sup>dc</sup>	۶/۴۰ <sup>d</sup>	۷۳/۳۵	۷۰/۰۲	۴
۰/۴۰۶ <sup>d</sup>	۱۳۷/۰۸ <sup>bd</sup>	۳/۷۱ <sup>d</sup>	۲۵۹/۸۱ <sup>d</sup>	۶/۳۷ <sup>dc</sup>	۷۲/۹۴	۶۹/۸۸	۵
۰/۴۳۳ <sup>bd</sup>	۱۴۹/۸۳ <sup>a</sup>	۳/۸۹ <sup>bd</sup>	۲۴۰/۴۵ <sup>d</sup>	۶/۴۰ <sup>d</sup>	۷۵/۰۰	۷۲/۳۱	۶
۰/۰۰۵	۰/۰۱۸	۰/۰۰۵	۰/۰۰۰۳	۰/۰۰۰۸	۰/۴۹	۰/۳۴	P Value
۰/۰۱۱	۵/۰۰۹	۰/۱۶۶	۱۳/۹۷	۰/۰۱۶	۱/۱۳	۱/۳۷	SEM

۱- تیمارها: (۱) شاهد (بدون افزودنی) و تیمارهای ۲ تا ۶ شامل جیره پایه به اضافه اسانس حاصل از به ترتیب بدین گونه است: *Thymus s multiflora Zataria*، *Thymus vulgaris* و *Thymus transcaucasicus Thymus fallax aranscaspicu lamiaceae*

IVDMD: قابلیت هضم ماده خشک پس از ۲۴ ساعت در شرایط برون تنی (درصد)، IVOMD: قابلیت هضم ماده آلی پس از ۲۴ ساعت در شرایط برون تنی، Gas yield<sub>۲۴</sub>: بازده تولید گاز در ساعت ۲۴ انکوباسیون (میلی لیتر به ازاء گرم ماده خشک)، عامل تفکیک (میلی گرم در میلی لیتر)، MB: توده میکروبی تولید شده (میلی گرم به ازاء گرم ماده خشک) و EMB: بازده تولید توده میکروبی.  
میانگین‌ها در داخل یک ستون با حروف نامشابه اختلاف معنی دار دارند (P<۰/۰۵).

### منابع

- Ando, S., T. Nishida, M. Ishida, K. Hosoda and E. Bayaru. 2003. Effect of peppermint feeding on the digestibility, ruminal fermentation and protozoa. *Livestock Production Science*, 82: 245-248.
- Baghalian, K. and H. NaghdiBadi. 2000. Essenced plants. 1<sup>st</sup> publication. Andarz publisher, P20-213-103-104-105 (In persian).
- Benchaar, C., V. Petit, R. HBerthiaume, D.R. Ouellet, J. Chiquette and P.Y. Chouinard. 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.
- Benchaar, C., T.A. McAllister and P.Y. Chouinard. 2008. Digestion, ruminal fermentation, ciliate protozoal populations and milk production from dairy cows fed *Cinnamaldehyde*, *Quebracho Condensed Tannin*, or *Yucca schidigera*Saponin Extracts. *Journal of Dairy Science*, 91: 4765-4777.
- Blummel, M., H.P.S. Makkar and K. Becker. 1997. *In vitro* gas production: a technique revisited. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 77: 34-24.
- Borchers, R. 1965. Proteolytic activity of rumen fluid *in vitro*. *Journal of Animal Science*, 24: 1033-1038.
- Calsamiglia, S., M. Busquet, P.W. Cardozo, L. Castillejos and A. Ferret. 2007. Invited Review: Essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. *Journal of Dairy Science*, 90: 2580-2595.
- Carlton, R.R., A.I. Gray and P.G. Waterman. 1992. The antifungal activity of the leaf gland oil of sweet gale (*Myrica gale*). *Chemecology*, 3: 55-59.
- Castillejos, L., S. Calsamiglia and A. Ferret. 2006. Effect of essential oil active compounds on rumen microbial fermentation and nutrient flow in *in vitro* systems. *Journal of Dairy Science*, 89: 2649-2658.
- Castillejos, L., S. Calsamiglia, J. Martin-Tereso and H. Ter Wijlen. 2008. *In vitro* evaluation of effects of ten essential oils at three doses on ruminal fermentation of high concentrate feedlot-type diets. *Animal Feed Science Technology*, 145: 259-270.
- Chaves, A.V., K. Stanford, E.R. Dugan, L.L. MGibson, T.A. McAllister, F. Van Herk and C. Benchaar. 2008. Effects of cinnamaldehyde, garlic and juniper berry essential oils on rumen fermentation, blood metabolites, growth performance, and carcass characteristics of growing lambs. *Livestock Production Science*, 117: 215-224.
- Devant, M., A. Anglada and A. Bach. 2007. Effects of plant extract supplementation on rumen fermentation and metabolism in young Holstein bulls consuming high levels of concentrate. *Animal Feed Science Technology*, 137: 46-57.
- Dorman, H.J.D. and S.G. Deans. 2000. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*, 88: 308-316.
- Dudareva, N., E. Pichersky and J. Gershenzon. 2004. Biochemistry of plant volatiles. *Plant Physiology*, 135: 1893-1902.
- Duff, G.C., M.L. Galyean and M.E. Branine. 1995. Effects of adaptation to lasalocid, monensin or a daily rotation of lasalocid and monensin on *in vitro* fermentation of a 90-percent concentrate diet. *Journal of Animal Science*, 75: 129-134.
- Faleiro, M.L., M.G. Miguel, F. Ladeiro, R. Venancio, J.C. Tavares, A.C. Brito, J. Figueiredo, G. Barros and L.G. Pedro. 2003. Antimicrobial activity of essential oils isolated from Portuguese endemic species of *Thymus*. *Letters in Applied Microbiology*, 36: 35-40.
- Garcia-Gonzalez, R., S. Lopez, M. Fernandez and J.S. Gonzalez. 2008. Dose-response effects of *Rheum officinalis* root and *Frangulaalnus* bark on ruminal methane production *in vitro*. *Animal Feed Science Technology*, 145: 319-334.
- Gershenzon, J., M.E. McConkey and R.B. Croteau. 2000. Regulation of monoterpene accumulation in leaves of peppermint. *Plant Physiology*, 122: 205-213.
- Getachew, G., M. Blummel, H.P.S. Makkar and K. Becker. 1998. *In vitro* gas measuring techniques for assessment of nutritional quality of feeds: A review. *Animal Feed Science Technology*, 72: 261-281.

20. Hristov, A.N., T.A. McAllister, F.H. Van Herk, K.J. Cheng, C.J. Newbold and P.R. Cheeke. 1999. Effect of *Yucca schidigera* on ruminal fermentation and nutrient digestion in heifers. *Journal of Animal Science*, 77: 2554-2563.
21. Jahani-Azizabadi, H., M. Danesh Mesgaran, A.R. Vakili, K. Rezayazdi and M. Hashemi. 2011. Effect of various medicinal plant essential oils obtained from semi-arid climate on rumen fermentation characteristics of a high forage diet using *in vitro* batch culture. *African Journal of Microbiology Research*, 5: 4812-4819.
22. James, T.K., A. Rahman and J.A. Douglas. 1991. Control of weeds in five herb crops. *Proc. 44<sup>th</sup> N.Z. Weed and Pest Control Conf.*: 116-120.
23. Leung, A.Y. and S. Foster, 1996. *Encyclopedia of common natural ingredients used in foods, drugs and cosmetics*. A Wiley Inter science Publication- John Wiley and Sons, Inc, 649 pp.
24. Makkar, H.P.S. 2005. *In vitro* gas methods for evaluation of feeds containing phytochemicals. *Animal Feed Science Technology*, 123: 291-302.
25. Martinez, S., J. Madrid, F. Hernandez, M.D. Megias, J.A. Sotomayor and M.J. Jordan. 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.
26. Menke, K.H., L.A. Salewski, H. Steingass, D. Fritz and W. Schneider. 1979. The estimation of the digestibility and metabolisable energy content of ruminant feeding stuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor. *The Journal of Agricultural Science*, 93: 217-222.
27. Menke, K.H. and H. Steingass. 1988. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. *Animal research and development*, 28: 7-55.
28. McGimpsey, J.A., M.H. Douglas, J.W. Van Klink, D.A. Beauregard and N.B. Perry. 1994. Seasonal variation in essential oil yield and composition from naturalized *Thymus Vulgaris L.* in Newzeeland Flavor and Fragrance Journal, 347-352.
29. Mohmeni, T.K.H. and N. Sharokhi. 1991. *Essnces of plant and their remediation effects*. Tehran University publication (In Persian).
30. Morton, J.F. 1977. *Major medicinal plants, botany, culture and uses*. Charles, C. Thomas Publisher, Bannerstone House, 431 pp.
31. Nagy, J.G. and R.P. Tengerey. 1968. Antibacterial action of essential oil of Artemisia as an ecological factor. II. Antibacterial action of volatel oil of Artemisia tiridentata (bigsagibrush) on buctria from the rumen of mule deer. *Journal of Applied Microbiology*, 16: 441-444.
32. Newbold, C.J., F.M. McIntosh, P. Williams, R. Losa and R.J. Wallace. 2004. Effects of a specific blend of essential oil compounds on rumen fermentation. *Animal Feed Science Technology*, 114: 105-112.
33. O'Hara, M. and K. Ohki. 1973. Studies of the mode of gas production in an artificial rumen and its application to the evaluation of feedstuffs. III. The mode of volatile fatty acid production, and its relation to the gas production rate. *Japanese Journal of Zootechnical science*, 44: 432-439.
34. Oliveira, J.S., J.T. Huber, J.M. Simas, C.B. Theurer and R.S. Swingle. 1995. Effect of sorghum grain processing on site and extent of digestion of starch in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 78: 1318-1327.
35. Ørskov, E.R. and I. McDonald. 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements Weighed according to the rate of passage. *The Journal of Agricultural Science*, 92: 499-503.
36. Patra, A.K., D.N. Kamra and N. Agarwal. 2006. Effect of plant extracts on *in vitro* methanogenesis, enzyme activities and fermentation of feed in rumen liquor of buffalo. *Animal Feed Science Technology*, 128: 276-291.
37. Sallam, S.M.A., I.C.S. Bueno, P. Brigide, P.B. Godoy, D.M.S. Vitti and A.L. Abdalla. 2009. Efficacy of eucalyptus oil on *in vitro* ruminal fermentation and methane production. *Options Méditerranéennes*, 85: 267- 272.
38. Skandamis, P.N. and G.J. Nychas. 2000. Development and evaluation of a model predicting the survival of *Escherichia coli* O157: H7 NCTC 12900 in homemade eggplant salad at various temperatures, pHs and oregano essential oil concentrations. *Applied and Environmental Microbiology*, 66: 1646-1653.
39. Talebzadeh, R., D. Alipour, M.J. Saharkhiz, A. Azarfar and M. Malecky. 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.
40. Theodorou, M.K., B.A. Williams, M.S. Dhanoa, A.B. McAllan and J. France. 1994. A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. *Animal Feed Science Technology*, 48: 185-197.
41. Van Soest, P.J. 1994. *Nutritional Ecology of the Ruminant*. Cornel University Press, Ithaca, New York, 374 pp.
42. Wang, Y., T.A. McAllister, C.J. Newbold, L.M. Rode, P.R. Cheeke and K.J. Cheng. 1998. Effects of *Yucca schidigera* extract on fermentation and degradation of steroidal saponins in the rumen simulation technique (RUSITEC). *Animal Feed Science Technology*, 74: 143-153.
43. Wang, C.J., S.P. Wang and H. Zhou. 2009. Influences of flavomycin, ropadiar and saponin on nutrient digestibility, rumen fermentation and methane emission from sheep. *Animal Feed Science Technology*, 148: 157-166.

## The Effects of Various Species of Thymus Essence on Gas Production Parameters, Dry Matter and Organic Matter Digestibility and Ruminal Fermentation Parameters in *In Vitro*

Maryam Fereydoonpoor<sup>1</sup>, Javad Bayatkouhsar<sup>2</sup>, Ebrahim Gholamali Pour<sup>3</sup> and Poneh Ebrahimi<sup>4</sup>

1 and 3- Gradated M.Sc. and Assistant Professor, University of Gonbab Kavus

2- Assistant Professor, University of Gonbab Kavus (Corresponding author: javad\_bayat@yahoo.com)

4- Assistant Professor, Golestan University

Received: June 3, 2014

Accepted: June 9, 2015

### Abstract

Two experiments were conducted to evaluate the effect of essence of various species of Thymus on *in vitro* gas production parameters and digestibility of dry matter and organic matter. Various species of Thymus medicinal plant was collected from different area: Shriaz (*Zataria multiflora*), Esfarayen (*Thymus transcaspicus lamiaceae*), Shahrood (*Thymus fallax*), Golestan forestry (*Thymus transcausicus*) and Gorgan (*Thymus vulgaris*). Essence of collected samples was taken by macro wave at 110 °C and 450 nm for 45 minutes. Treatments were including: 1) control containing basal diet with forage: concentrate ratio 50:50 (without essence) and treatment 2 till 6 containing basal diet and essence of various species. Results showed that adding essences from various species had significant effects on potential gas production and gas production rate ( $p < 0.05$ ) as treatment of control had highest potential gas production (396.6 ml per g dry matter) compared to other treatments. It was also observed that there were significant differences among essence containing treatments compared with control treatment on estimated parameters ( $p < 0.05$ ). The use of essence caused significant decrease in pH of culture medium compared to control treatment ( $p < 0.05$ ). In this experiment, there were no significant differences among various treatments in DM and OM digestibility ( $p < 0.05$ ). However, treatments that containing essence had higher microbial biomass production and microbial biomass production efficiency. It can be concluded that essence of different thymus varieties has the potential to affect ruminal fermentation efficiency and further researches is needed to determine the optimal doses of different thymus varieties essence.

**Keywords:** Digestibility, Essence, *In vitro*, Rumen fermentation