نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد ۱۰، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۷، ص. ۱۷۸-۱۶۳

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 10, No. 2, Summer 2018, p. 163-178

بررسی تاثیر pH و اسانس‌های رازیانه، کاج و اکالیپتوس بر ویژگی‌های تخمیر شکمبه‌ای در شرایط برون‌تنی

سیدعلیرضا وکیلی[1*]- سارا ساکی[2]- محسن دانش مسگران[3]- فرشته علی‌پور[4]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۰۶/۲۶
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۴/۱۹

چکیده

هدف این پژوهش بررسی تاثیر pH و اسانس‌های رازیانه، کاج و اکالیپتوس بر ویژگی‌های تخمیر شکمبه‌ای در شرایط برون‌تنی بود. چهار پایه خوراکی شامل؛ ۱۰۰ درصد علف خشک یونجه، ۱۰۰ درصد کنسانتره (جو) و مخلوط‌های علف خشک یونجه و کنسانتره به نسبت ۸۰ به ۲۰ و ۶۰ به ۴۰ درصد به‌صورت دو آزمایش در شرایط برون‌تنی به مدت ۲۴ و ۷۲ ساعت انجام شد. در آزمایش اول، مقادیر صفر، ۳ و ۳۰ میلی‌گرم بر لیتر از اسانس‌های رازیانه، کاج و اکالیپتوس به محیط کشت اضافه شد و در pHهای مختلف مورد مقایسه قرار گرفت. pH ابتدای انکوباسیون به pH=۵، pH=۶ و pH=۷ رسیده شد. بیشترین میانگین گاز تولیدی از بخش قابل تخمیر در تیمار حاوی یونجه با اسانس اکالیپتوس در pH=۷ و کمترین آن در تیمار ۶۰ به ۴۰ درصد با اسانس کاج در pH=۶ مشاهده شد. در آزمایش دوم همان شرایط آزمایش نخست اما در ۲۴ ساعت انکوباسیون برای بررسی تاثیر آن‌ها بر pH محیط کشت، غلظت نیتروژن آمونیاکی و نسبت ناپدید شدن ماده خشک بود. کمترین pH محیط کشت در انتهای انکوباسیون به تیمار ۶۰ درصد کنسانتره با اسانس‌های رازیانه، کاج و اکالیپتوس در pH=۶ و بیشترین آن به یونجه با اسانس کاج در pH=۷ بود. کمترین غلظت نیتروژن آمونیاکی به تیمار یونجه با اسانس کاج در pH=۷ و بیشترین آن به تیمار ۸۰ درصد کنسانتره با اسانس رازیانه در pH=۷ بود. کمترین نسبت ناپدید شدن ماده خشک در تیمار یونجه با اسانس کاج در pH=۷ بود. به نظر می‌رسد آزمایشات بیشتر جهت بررسی تاثیراسانس‌های طبیعی بر تخمیر شکمبه‌ای ضروری باشد.

واژه‌های کلیدی: اسیدیته، اکالیپتوس، تخمیرشکمبه‌ای، رازیانه، کاج

مقدمه

سالهاست متخصصین تغذیه دام به دنبال تغییر در جمعیت و فعالیت میکروارگانیسم‌های شکمبه به منظور بهبود بازده استفاده از پروتئین و انرژی و کاهش دفع مواد آلاینده محیط زیست می‌باشند. این هدف تا حد زیادی با تنظیم جیره غذایی مناسب واستفاده از مواد افزودنی که سبب تحریک فعالیت جمعیت خاصی از میکروارگانیسم‌های شکمبه می‌شود، حاصل شده است (۱). در چند دهه گذشته استفاده از آنتی‌بیوتیک‌های محرک رشد (مانند مونزین، لازالوسید و غیره) کاهش یافته است زیرا سازگاری میکروبی با این افزودنی‌ها برای حیوانات میزبان وجود دارد. این باعث شد تا بسیاری از کشورهای توسعه‌یافته منع مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها را در تغذیه دام فراهم کنند. استفاده از آنتی‌بیوتیک‌های محرک رشد (مانند مونزین، لازالوسید و غیره) علاوه بر اینکه سبب افزایش دفع آمونیاک و متان به محیط و کاهش بازده استفاده از مواد مغذی می‌شود، هزینه‌های تولید را نیز افزایش خواهد داد (۲). اخیراً استفاده از برخی آنتی‌بیوتیک‌های محرک رشد به دلیل باقی ماندن در گوشت و شیر دام، همچنین به علت داشتن اثرات سمی و سرطان‌زا محدود، در مواردی مردود و ممنوع شده است. در نتیجه استفاده از افزودنی‌های طبیعی خوراکی در بسیاری از کشورهای توسعه‌یافته تسریع شده است (۴). پس از اعلام ممنوعیت استفاده از آنتی‌بیوتیک‌های محرک رشد در اتحادیه اروپا، پژوهشگران به دنبال یافتن جایگزینی طبیعی برای آن‌ها، مطالعاتی را در شرایط برون‌تنی درباره اثرات اسانس‌های گیاهی

۱- دانشیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
۲- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد تغذیه دام، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
۳- استاد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد.
۴- دانشجوی دکتری تغذیه دام، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
(*- نویسنده مسئول: (Email: savakili@um.ac.ir
DOI: 10.22067/ijasr.v10i2.39506

بر تخمیر شکمبه‌ای انجام دادند (۳). اسانس‌ها ترکیباتی معطر، فرار و روغنی هستند که از گیاهان استخراج می‌شوند (۵) و دارای خواص ضد میکروبی علیه بسیاری از باکتری‌ها، مخمرها و قارچ‌ها می‌باشند (۶). به علت اینکه اسانس‌های گیاهی خصوصیات ضد میکروبی قوی دارند از آن‌ها به‌عنوان افزودنی در تغذیه دام استفاده می‌شود. اهداف این مطالعه بررسی اثر برخی اسانس‌های گیاهی و pH بر فراسنجه‌های تخمیر شکمبه‌ای با منابع خوراکی متفاوت در شرایط برون‌تنی بود.

مواد و روش‌ها

اسانس‌گیری

در این پژوهش از اسانس رازیانه (*Foeniculu vulgare*)، اکالیپتوس با (*Eucalyptus camaldulensis*) و کاج (*Pinups pumilio*) استفاده شد. جهت اسانس‌گیری از دانه‌های کاج و رازیانه و برگ گیاه اکالیپتوس استفاده شد. جهت استخراج اسانس از دستگاه کلونجر به روش تقطیر با آب استفاده گردید. بدین منظور در بالن‌های شیشه‌ای یک لیتری از نمونه‌ها (دانه‌های کاج و رازیانه کوبیده شد و برگ اکالیپتوس آسیاب گردید) به میزان ۷۰ گرم استفاده گردید و ۷۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر به هر بالن اضافه شد. بالن‌های حاوی نمونه و آب مقطر به لوله‌های شیشه‌ای مبرد متصل به هیتر با دمای ۱۰۰ درجه سلسیوس قرار داده شد. گرمادهی به مدت ۴ ساعت برای انجام تبخیر محتویات داخل بالن‌ها انجام شد. اسانس‌های هریک از نمونه‌ها که بر روی آب سرد شده‌ی حاصل از انجام عمل تبخیر جمع شده بود استخراج گردید. در نهایت هر یک از اسانس‌ها در ظروف شیشه‌ای تیره تا زمان مصرف در یخچال با دمای ۴ درجه سلسیوس نگهداری شدند.

آزمایشات برون‌تنی

مرحله اول آزمایش شامل انکوباسیون ۴ جیره پایه خوراکی؛ ۱۰۰ درصد علف خشک یونجه (ماده آلی، پروتئین خام و بخش‌های فیبری به‌ترتیب ۸۸/۹۲، ۱۵/۶۲ و ۱۶/۴۸)، ۱۰۰ درصد کنسانتره (جو) (ماده آلی، پروتئین خام و بخش‌های فیبری کنسانتره به‌ترتیب ۹۷/۰۶، ۲۶/۰۵ و ۱۲/۴۳)، مخلوط کنسانتره و علف خشک یونجه با سطوح ۸۰ به ۲۰ و ۶۰ به ۴۰ درصد کنسانتره به یونجه خشک با مقادیر صفر، ۳ و ۳۰ میلی‌گرم بر لیتر از اسانس‌های کاج، اکالیپتوس و رازیانه (۱۰ و ۲۳) با ۳۰ میلی‌لیتر مخلوط مایع شکمبه–بافر به مدت ۷۲ ساعت در pHهای مختلف (pH=۵، pH=۶ و pH=۷) بود(۱۰و ۲۳). pHها در ابتدای انکوباسیون با استفاده از NaOH و HCl در سطوح مورد نظر تنظیم شدند (۱۳و ۲۰)، برای بررسی اثرهمزمان مقادیر متفاوت اسانس‌ها و اثر pHهای مختلف بر بخش‌های مختلف تخمیری حاصل از آزمون تولید گاز که شامل: a (بخش سریع‌التخمیر) و b (بخش با پتانسیل تجزیه‌پذیری) بود و تا ساعت ۷۲ ادامه داشت، استفاده گردید.

مرحله دوم آزمایش شامل انکوباسیون ۴ جیره پایه خوراکی؛ ۱۰۰ درصد علف خشک یونجه، ۱۰۰ درصد کنسانتره (جو)، مخلوط کنسانتره و علف خشک یونجه با سطوح ۸۰ به ۲۰ و ۶۰ به ۴۰ درصد کنسانتره به یونجه خشک با مقادیر صفر، ۳ و ۳۰ میلی‌گرم بر لیتر از اسانس‌های کاج، اکالیپتوس و رازیانه (۱۰ و ۲۳) با ۳۰ میلی‌لیتر مخلوط مایع شکمبه–بافر به مدت ۲۴ ساعت و اندازه‌گیری pH محیط کشت آنها، نیتروژن آمونیاکی و نسبت ناپدید شدن ماده خشک با استفاده از روش کشت ثابت بود. به منظور تعیین میزان گاز تولیدی از ظرف‌های شیشه‌ای ۱۰۰ میلی‌لیتری و بر اساس روش منک و استینگاس (۱۷) استفاده شد. مواد خوراکی استفاده شده در آزمایش شامل یونجه خشک، کنسانتره (جو) و نسبت‌های مختلف کنسانتره به یونجه خشک ۸۰:۲۰ و ۶۰:۴۰ بود. تیمارهای آزمایشی شامل: ۱- تیمار شاهد (هر پایه خوراکی استفاده شده بدون افزودنی)، ۲- تیمار شاهد به‌علاوه اسانس رازیانه در مقادیر ۳ و ۳۰ میلی‌گرم بر لیتر در ۳۰ میلی‌لیتر مایع شکمبه–بافر در ۴ پایه خوراکی، ۳-تیمار شاهد به‌علاوه اسانس کاج در مقادیر ۳ و ۳۰ میلی‌گرم بر لیتر در ۳۰ میلی‌لیتر مایع–بافر در ۴ پایه خوراکی و ۴- تیمار شاهد به‌علاوه اسانس اکالیپتوس در مقادیر ۳ و ۳۰ میلی‌گرم بر لیتر در ۳۰ میلی‌لیتر مایع شکمبه–بافر در ۴ پایه خوراکی بود.

به منظور انجام آزمایشات برون‌تنی ابتدا خوراک‌ها به مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد خشک شد و از آسیاب دارای الک ۱ میلی‌متری استفاده شد. سپس ۲۰۰ میلی‌گرم از هر خوراک داخل هر ظرف ریخته شد و به هر ظرف ۳ و ۳۰ میکرولیتر به‌ازای هر گرم ماده خشک خوراک‌های کشت شده، اسانس گیاهان مورد استفاده در این مطالعه افزوده شد (۳ تکرار برای هر تیمار). مایع شکمبه قبل از خوراک صبحگاهی از دو بره نر فیستولاگذاری شده تغذیه شده با جیره حاوی ۴۵ درصد یونجه خشک و ۵۵ درصد مواد متراکم گرفته شد و با پارچه متقال چهار لایه صاف گردید. مایع شکمبه صاف شده به نسبت ۲:۱ با بافر مصنوعی مخلوط شد (الیورا، ۱۹۹۸) و سپس به هر ظرف ۳۰ میلی‌لیتر مخلوط مایع–بافر افزوده و ظرف‌ها در حمام آب گرم (۳۸/۶ درجه سانتی‌گراد) قرار داده شدند و تولید گاز در ساعت‌های صفر، ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۲، ۲۴، ۳۶، ۴۸ و ۷۲ ساعت اندازه‌گیری شد. از برخی سرنگ‌ها برای برآورد نیتروژن آمونیاکی و pH و DMD تا ساعت ۲۴ استفاده شد. حجم گاز تولیدی تا ۷۲ ساعت برای برآورد پارامترهای تجزیه‌پذیری a و b ثبت گردید. به منظور تعیین فراسنجه‌های تولید گاز از معادله ($P= b(1-e^{-ct})$) استفاده شد. در این معادله b: بخش با پتانسیل تجزیه‌پذیری، c: ثابت

نرخ تولید گاز در ساعت، t: زمان انکوباسیون بر حسب ساعت و P: میزان گاز تولیدی در زمان مورد نظر می‌باشد.

مدل آماری

داده‌های به‌دست آمده از این آزمایش توسط نرم‌افزار SAS (2002) با رویه ANOVA در قالب یک طرح کاملاً تصادفی مورد بررسی قرار گرفتند که مدل آماری طرح به قرار زیر بود:

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

در این مدل Y_{ij} مقدار هر مشاهده، μ میانگین کل، T_i اثر تیمار و e_{ij} خطای آزمایش است. برای مقایسه تیمارهای آزمایشی از آزمون دانت (P<۰/۰۵) استفاده گردید.

نتایج و بحث

نتایج افزودن اسانس‌های رازیانه، کاج و اکالیپتوس در مقادیر ۳ و ۳۰ میکرولیتر در ۳۰ میلی‌لیتر مایع-بافر را بر تولید گاز نمونه‌های خوراکی مختلف در جداول ۱ تا ۳ نشان داده شده است. نتایج این آزمایش نشان داد در pH=۵ آزمایش تمامی اسانس‌های استفاده شده، بخش قابل تخمیر (b) را به‌طور معنی‌داری کاهش دادند (P<۰/۰۵). همچنین در پایه‌های خوراکی ۸۰ درصد کنسانتره به ۲۰ درصد علوفه، ثابت نرخ تولید گاز به‌طور معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد افزایش پیدا کرد (P<۰/۰۵)، در حالی‌که در منبع خوراکی یونجه ثابت نرخ تولید گاز کاهش یافت. علت آن می‌تواند مربوط به این موضوع باشد که در pH=5 شرایط برای فعالیت برخی باکتری‌ها نامساعدتر گردیده و در نتیجه میزان فعالیت تخمیری این باکتری‌ها در pH مذکور کاهش یافته است. در پایه خوراکی ۶۰ درصد کنسانتره به ۴۰ درصد علوفه هیچ‌یک از اسانس‌ها بر ثابت نرخ تولید گاز اثر معنی‌داری نداشتند (P>۰/۰۵).

در pH=۶ آزمایش، تنها در پایه خوراکی یونجه تمامی اسانس‌ها، تولید گاز از بخش قابل تخمیر را افزایش دادند (P<۰/۰۵)، اما ثابت نرخ تولید گاز تحت تاثیر اسانس‌ها قرار نگرفت (P>۰/۰۵).

در pH=۷ آزمایش در پایه خوراکی یونجه، تنها اسانس اکالیپتوس موجب افزایش معنی‌دار تولید گاز از بخش قابل تخمیر شد (P<۰/۰۵). سطوح مختلف اسانس‌های رازیانه و اکالیپتوس ثابت نرخ تولید گاز را نسبت به تیمار شاهد به‌طور معنی‌داری (P<۰/۰۵) کاهش دادند، همچنین مقدار ۳ میکرولیتر اسانس کاج موجب افزایش معنی‌دار ثابت نرخ تولید گاز شد (P<۰/۰۵). در جیره بر پایه کنسانتره، اسانس کاج موجب کاهش معنی‌دار گاز تولیدی از بخش قابل تخمیر شد (P<۰/۰۵). مقدار ۳ میکرولیتر اسانس‌های کاج و اکالیپتوس ثابت نرخ تولید گاز را به‌طور معنی‌داری (P<۰/۰۵) افزایش دادند. در نسبت ۸۰ درصد کنسانتره به ۲۰ درصد علوفه، اسانس کاج موجب کاهش معنی‌دار گاز تولیدی از بخش قابل تخمیر شد (P<۰/۰۵). همچنین مقدار ۳ میکرولیتر ثابت نرخ تولید گاز را به‌طور معنی‌داری افزایش داد (P<۰/۰۵). در پایه خوراکی نسبت ۶۰ درصد کنسانتره به ۴۰ درصد علوفه مقدار ۳ میکرولیتر اسانس‌های کاج و رازیانه و مقدار ۳۰ میکرولیتر اکالیپتوس گاز تولیدی از بخش قابل تخمیر را به‌طور معنی‌داری افزایش دادند (P<۰/۰۵). مقدار ۳ میکرولیتر اسانس کاج ثابت نرخ تولید گاز را نسبت به شاهد به‌طور معنی‌داری افزایش داد (P< ۰/۰۵)، در حالی‌که مقدار ۳ میکرولیتر اکالیپتوس ثابت نرخ تولید گاز را به‌طور معنی‌داری کاهش داد (P<۰/۰۵).

استفاده از مقادیر مختلف اسانس در اغلب موارد نتیجه متفاوتی داشت به‌طوری‌که غلظت بالاتر هریک از افزودنی‌ها تولید گاز را بیشتر کاهش داد. کاهش تولید گاز احتمالاً بیانگر تاثیر این مواد طبیعی بر فعالیت میکروبی شکمبه است. اسانس‌های کاج و اکالیپتوس در pH=۵ و pH=۶ گاز تولیدی را نسبت به شاهد کاهش دادند. به‌طوری‌که در pH= ۵ تمامی اسانس‌ها در پایه خوراکی کنسانتره و نیز نسبت ۶۰ به ۴۰ درصد کنسانتره به علوفه، غلظت ۳۰ میکرولیتر کاهش گاز تولیدی را به همراه داشت. به‌علاوه در پایه خوراکی با نسبت ۸۰ به ۲۰ درصدکنسانتره به علوفه هر دو غلظت اسانس رازیانه و اکالیپتوس و غلظت ۳۰ میکرولیتر اسانس کاج، گاز تولیدی را کاهش دادند.

در pH= ۶ غلظت‌های ۳ و ۳۰ میکرولیتر اسانس‌های کاج و اکالیپتوس و ۳۰ میکرولیتر رازیانه در پایه ۶۰ به ۴۰ درصد کنسانتره به علوفه و نیز ۳۰ میکرولیتر اکالیپتوس در نسبت ۸۰ به ۲۰ درصد کنسانتره به علوفه موجب کاهش تولید گاز شدند. اما در pH=۷ غلظت ۳۰ میکرولیتر رازیانه و ۳ و ۳۰ اکالیپتوس در پایه یونجه، غلظت ۳ میکرولیتر کاج در کنسانتره، مقدار ۳۰ میکرولیتر کاج در نسبت ۸۰ به ۲۰ کنسانتره به علوفه و همچنین در نسبت ۶۰ به ۴۰ کنسانتره به علوفه مقدار ۳۰ میکرولیتر اسانس‌های کاج و اکالیپتوس و نیز ۳ میکرولیتر رازیانه، منجر به افزایش تولید گاز شدند.

از آنجایی‌که مقدار گاز تولید شده از یک خوراک شاخصی از قابلیت تخمیر آن خوراک و در نتیجه ارزش انرژی‌زایی آن خوراک می‌باشد، لذا ممکن است چنین استنباط شود که اسانس‌هایی همچون کاج و اکالیپتوس در pH=۵ و pH=۶ که موجب کاهش تولید گاز و متعاقباً کاهش تخمیر خوراک می‌شوند، جهت تعدیل فرآیند تخمیر در شکمبه مناسب نمی‌باشند، ولی در pH= ۷ می‌توانند موثر باشند. نتایج این آزمایش نشان داد که در pH=۷ میزان گاز تولیدی نسبت به سایر pHها افزایش یافته است. دلیل این افزایش را احتمالاً می‌توان شرایط مساعدتر فعالیت برخی از باکتری‌ها و افزایش فعالیت تخمیری آن‌ها دانست.

جدول ۱- اثر افزودن اسانس‌های رازیانه، کاج و اکالیپتوس بر بخش قابل تخمیر تولید گاز (b) (میلی‌لیتر بر گرم ماده آلی) در جیره‌های مختلف در pH=۵ [۱]

Table1-The effect of adding essential oils, fennel, pine and eucalyptus on fermentable portion of gas production (b) (ml/g OM) in various diets in pH=5 [1]

t		اسانس‌ها (میکرولیتر) Essential oils						
		رازیانه *Foeniculum vulgar*		کاج *Pinups pumilio*		اکالیپتوس *Eucalyptus camaldulensis*		
جیره‌های پایه Basic diets	شاهد Control	3	30	3	30	3	30	SEM[۲]
یونجه خشک Alfalfa hay	27.28^{ab}	30.3^{a}	27.36^{ab}	30.15^{a}	21.34^{b}	26.97^{ab}	29.29^{ab}	2.39
جو Barley grain	92.66^{a}	93.21^{a}	30.71^{b}	82.98^{a}	25.73^{b}	95.30^{a}	25.65^{b}	4.69
80:20	79^{a}	62.51^{b}	30.73^{c}	72.24^{ab}	27.48^{c}	62.36^{b}	27.63^{c}	3.74
60:40	57^{a}	50.53^{a}	29.54^{b}	54.88^{a}	33.21^{b}	51.44^{a}	25.27^{b}	2.84

۱- حروف متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده وجود اختلاف آماری معنی‌دار می‌باشد (P< ۰/۰۵).
۲- میانگین خطای استاندارد
۳- b: بخش قابل تخمیر تولید گاز
۴- 80:20: ۸۰ درصد دانه جو به ۲۰ درصد علف خشک یونجه
۵- 60:40، ۶۰ درصد دانه جو به ۴۰ درصد علف خشک یونجه

1- Means with different superscript letters in row are significantly different (P<0.05).
2- SEM: Standard error of the means
3- b: Fermentable portions of gas production of gas production (ml/g OM)
4- 80: 20, 80% Barley grain to 20% alfalfa hay
5- 60:40, 60% Barley grain to 40% alfalfa hay

جدول ۲- اثر افزودن اسانس‌های رازیانه، کاج و اکالیپتوس بر بخش قابل‌تخمیر تولید گاز (b) (میلی‌لیتر بر گرم ماده آلی) درجیره‌های مختلف در pH=۶ [۱]

Table 2- The effect of adding essential oils of fennel, pine and eucalyptus on fermentable portion of gas production (b) (ml/g OM) in various diets in pH =6 [1]

t		اسانس‌ها (میکرولیتر) Essential oils						
		رازیانه *Foeniculum vulgar*		کاج *Pinups pumili*		اکالیپتوس *Eucalyptus camaldulensis*		
جیره‌های پایه Basic diets	شاهد Control	3	30	3	30	3	30	SEM[۲]
علف خشک یونجه Alfalfa hay	11.9	17.14	14.81	13.36	13	12.02	12.68	1.75
دانه جو Barley grain	13.49	10.09	10.77	12.73	12.43	11.58	11.42	1.38
80:20	36^{a}	20.45^{ab}	20.02^{ab}	30.62^{a}	23.17^{ab}	26.33^{ab}	11.36^{b}	4.75
60:40	17.33^{a}	13.51^{ab}	7.14^{c}	7.32^{c}	6.10^{c}	9.46^{bc}	7.85^{c}	1.50

۱- حروف متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده وجود اختلاف آماری معنی‌دار می‌باشد (P< ۰/۰۵).
۲- میانگین خطای استاندارد
۳- b: بخش قابل تخمیر تولید گاز
۴- 80:20: ۸۰ درصد دانه جو به ۲۰ درصد علف خشک یونجه
۵- 60:40، ۶۰ درصد دانه جو به ۴۰ درصد علف خشک یونجه

1- Means with different superscript letters in row are significantly different (P<0.05).
2- SEM: Standard error of the means
3- b: Fermentable portions of gas production of gas production (ml/g OM)
4- 80: 20, 80% Barley grain to 20% alfalfa hay
5- 60:40, 60% Barley grain to 40% alfalfa hay

جدول ۳- اثر افزودن اسانس‌های رازیانه، کاج و اکالیپتوس بر بخش قابل تخمیر تولید گاز (میلی‌لیتر بر گرم ماده آلی) در جیره‌های مختلف در pH=۷ [۱]

Table3-The effect of adding essential oils of fennel, pine and eucalyptus on fermentable portion of gas production (b) (ml/g OM) in various diets in PH =7 [1]

t		اسانس‌ها (میکرولیتر) Essential oils						
		رازیانه *Foeniculum vulgar*		کاج *Pinups pumilio*		اکالیپتوس *Eucalyptus camaldulensis*		
جیره‌های‌پایه Basic diets	شاهد Control	3	30	3	30	3	30	SEM [۲]
علف خشک یونجه Alfalfa hay	46.73^{c}	60.34^{bc}	63.83^{b}	47.41^{c}	56.78^{bc}	99.27^{a}	101.35^{a}	4.51
دانه جو Barley grain	76.89^{ab}	73.21^{ab}	84.73^{a}	41.19^{c}	85.54^{a}	60.09^{b}	92.34^{a}	6.23
80:20	68.65^{ab}	73.86^{ab}	33^{abc}	57.43^{bc}	42.83^{c}	82.83^{a}	75.84^{ab}	7.04
60:40	57.87^{c}	82.15^{ab}	63.09^{bc}	58^{c}	99.21^{a}	64.72^{bc}	101.29^{a}	6.76

۱- حروف متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده وجود اختلاف آماری معنی‌دار می‌باشد (P< ۰/۰۵).
۲- میانگین خطای استاندارد
۳- b: بخش قابل تخمیر تولید گاز
۴- 80:20 : ۸۰ درصد دانه جو به ۲۰ درصد علف خشک یونجه
۵- 60:40، ۶۰ درصد دانه جو به ۴۰ درصد علف خشک یونجه

1- Means with different superscript letters in row are significantly different (P<0.05).
2- SEM: Standard error of the means
3- b: Fermentable portions of gas production of gas production (ml/g OM)
4- 80: 20, 80% Barley grain to 20% alfalfa hay
5- 60:40, 60% Barley grain to 40% alfalfa hay

نتایج افزودن اسانس‌های گیاهی رازیانه، کاج و اکالیپتوس بر pH محیط کشت، نسبت ناپدید شدن ماده خشک و نیتروژن آمونیاکی نمونه‌های خوراکی در محیط کشت ثابت در pH=۵ در پایه‌های خوراکی مختلف در جداول ۴ تا ۷ آمده است.

در pH=۵ اسانس رازیانه موجب کاهش معنی‌دار pH محیط کشت در مقایسه با تیمار شاهد شد (P<۰/۰۵). مقدار ۳۰ میکرولیتر رازیانه موجب کاهش معنی‌دار غلظت نیتروژن آمونیاکی گردید (P<۰/۰۵). درحالی‌که هیچ‌یک از اسانس‌های استفاده شده بر ناپدید شدن ماده خشک اثر معنی‌داری نداشتند (P>۰/۰۵). در کنسانتره مقدار ۳۰ میکرولیتر اسانس‌های رازیانه و کاج موجب افزایش معنی‌دار pH در مقایسه با شاهد شدند (P<۰/۰۵)، در حالی‌که مقدار ۳ میکرولیتر اسانس اکالیپتوس pH محیط کشت را به‌طور معنی‌داری کاهش داد (P<۰/۰۵). همچنین هیچ‌یک از اسانس‌ها بر غلظت نیتروژن آمونیاکی اثر معنی‌داری نداشتند (P>۰/۰۵). تنها اسانس اکالیپتوس در مقدار ۳۰ میکرولیتر موجب کاهش معنی‌دار ناپدید شدن ماده خشک گردید (P<۰/۰۵). در نسبت ۸۰ درصد کنسانتره به ۲۰ درصد علوفه، اثر اسانس‌ها بر pH محیط کشت معنی‌دار نبود (P>۰/۰۵). اسانس اکالیپتوس در مقدار ۳ میکرولیتر موجب کاهش معنی‌دار غلظت نیتروژن آمونیاکی در مقایسه با تیمار شاهد شد (P<۰/۰۵). همچنین تمامی اسانس‌ها ناپدید شدن ماده خشک را کاهش دادند اما این کاهش معنی‌دار نبود (P>۰/۰۵). در نسبت ۶۰ درصد کنسانتره به ۴۰ درصد علوفه نیز اثر معنی‌داری از اسانس‌ها بر pH محیط کشت، غلظت نیتروژن آمونیاکی و ناپدید شدن ماده خشک مشاهده نشد (P>۰/۰۵).

نتایج افزودن اسانس‌های گیاهی رازیانه، کاج و اکالیپتوس بر pH محیط کشت، نسبت ناپدید شدن ماده خشک و نیتروژن آمونیاکی نمونه‌های خوراکی در محیط کشت ثابت در pH=۶ در پایه‌های خوراکی مختلف در جداول ۸ تا ۱۱ آمده است. در این pH در پایه خوراکی یونجه اسانس اکالیپتوس در مقدار ۳۰ میکرولیتر موجب افزایش معنی‌دار pH محیط کشت شد. در حالی‌که اثر رازیانه و کاج بر pH معنی‌دار نبود. همچنین اثر هیچ‌یک از اسانس‌ها بر غلظت نیتروژن آمونیاکی و ناپدید شدن ماده خشک معنی‌دار نبود. در کنسانتره تمامی اسانس‌ها موجب افزایش pH محیط کشت و کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی و ناپدید شدن ماده خشک شدند ولی اثر آنها معنی‌دار نبود. در نسبت ۸۰ درصد کنسانتره به ۲۰ درصد علوفه مقدار ۳۰ میکرولیتر اسانس رازیانه pH محیط کشت را در مقایسه با تیمار شاهد به‌طور معنی‌داری (P<۰/۰۵) افزایش داد. اسانس کاج غلظت نیتروژن آمونیاکی را به‌طور معنی‌داری کاهش داد (P<۰/۰۵). اسانس

اکالیپتوس در هر دو مقدار افزوده شده موجب کاهش معنی‌دار (P<۰/۰۵) pH محیط کشت شد. در حالی‌که مقدار ۳۰ میکرولیتر آن موجب کاهش معنی‌دار غلظت نیتروژن آمونیاکی شد (P<۰/۰۵). در نسبت ۶۰ درصد کنسانتره به ۴۰ درصد علوفه اسانس کاج در مقدار ۳ میکرولیتر و اکالیپتوس در مقدار ۳۰ میکرولیتر pH محیط کشت را به‌طور معنی‌داری افزایش دادند (P<۰/۰۵). اسانس رازیانه غلظت نیتروژن آمونیاکی را به‌طور معنی‌داری (P<۰/۰۵) کاهش داد. همچنین اسانس‌ها بر روی ناپدید شدن ماده خشک اثر معنی‌داری نداشتند ولی باعث کاهش آن شدند. نتایج افزودن اسانس‌های گیاهی رازیانه، کاج و اکالیپتوس بر pH محیط کشت، نسبت ناپدید شدن ماده خشک و نیتروژن آمونیاکی نمونه‌های خوراکی در محیط کشت ثابت در pH=۷ در پایه‌های خوراکی مختلف در جداول ۱۲ تا ۱۵ آمده است. در پایه خوراکی یونجه اسانس رازیانه در مقدار ۳۰ میکرولیتر و کاج در مقدار ۳ میکرولیتر موجب افزایش معنی‌دار pH محیط کشت شد (P<۰/۰۵). اسانس رازیانه در هر دو مقدار افزوده شده و کاج در مقدار ۳ میکرولیتر غلظت نیتروژن آمونیاکی را به‌طور معنی‌داری کاهش داد (P<۰/۰۵). همچنین مقدار ۳۰ میکرولیتر رازیانه و اکالیپتوس باعث افزایش معنی‌دار (P<۰/۰۵) ناپدید شدن ماده خشک شد. در حالی‌که اسانس کاج آن را به‌طور معنی‌داری کاهش داد (P<۰/۰۵). در منبع خوراکی کنسانتره اسانس‌های رازیانه در مقدار ۳۰ میکرولیتر و کاج در مقدار ۳ میکرولیتر باعث افزایش معنی‌دار pH محیط کشت شدند (P<۰/۰۵). اسانس رازیانه موجب افزایش معنی‌دار (P<۰/۰۵) غلظت نیتروژن آمونیاکی نسبت به شاهد شد در حالی‌که اسانس‌های کاج و اکالیپتوس غلظت نیتروژن آمونیاکی را به‌طور معنی‌داری کاهش دادند (P<۰/۰۵). همچنین تمامی اسانس‌ها موجب کاهش معنی‌دار ناپدید شدن ماده خشک نسبت به تیمار شاهد شدند (P<۰/۰۵). در نسبت خوراکی ۸۰ درصد کنسانتره به ۲۰ درصد علوفه اسانس رازیانه بر روی pH محیط کشت اثر معنی‌داری نداشت. درحالی‌که اسانس کاج و اکالیپتوس در مقدار ۳ میکرولیتر موجب افزایش معنی‌دار (P<۰/۰۵) pH محیط کشت شدند. اسانس رازیانه در مقدار ۳ میکرولیتر موجب افزایش معنی‌دار (P<۰/۰۵) غلظت نیتروژن آمونیاکی شد در حالی‌که اسانس‌های کاج و اکالیپتوس غلظت نیتروژن آمونیاکی را نسبت به تیمار شاهد به‌طور معنی‌داری کاهش دادند (P<۰/۰۵). اسانس رازیانه در مقدار ۳۰ میکرولیتر و اکالیپتوس موجب افزایش معنی‌دار ناپدید شدن ماده خشک شدند (P<۰/۰۵)، در حالی‌که اسانس کاج موجب کاهش ناپدید شدن ماده خشک شد. در نسبت خوراکی ۶۰ درصد کنسانتره به ۴۰ درصد علوفه اسانس رازیانه در مقدار ۳۰ میکرولیتر موجب افزایش معنی‌دار pH محیط کشت شد (P<۰/۰۵) و ناپدید شدن ماده خشک را نیز به‌طور معنی‌داری (P<۰/۰۵) افزایش داد. اسانس کاج موجب افزایش معنی‌دار pH شد (P<۰/۰۵). اسانس‌های کاج و اکالیپتوس غلظت نیتروژن آمونیاکی را به‌طور معنی‌داری (P<۰/۰۵) کاهش داد. اسانس اکالیپتوس در مقدار ۳ میکرولیتر موجب افزایش معنی‌دار pH شد (P<۰/۰۵). اسانس اکالیپتوس موجب افزایش معنی‌دار ناپدید شدن ماده خشک نسبت به تیمار شاهد شد (P<۰/۰۵)، در حالی‌که اثر اسانس کاج بر روی ناپدید شدن ماده خشک معنی‌دار نبود. باسکوئیت و همکاران (۴) گزارش کردند که اسانس بادیان، میخک، زنجبیل، یوکا، چای سبز، پونه کوهی، دارچین، شنبلیله و نیز روغن سیر، سینامالدهید، کارواکرول و ایوجینول در غلظت ۳۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر طی کشت ۲۴ ساعته، pH شکمبه را افزایش داد. ایوانز و مارتین (۱۳) گزارش کردند که ۴۰۰ میلی‌گرم در لیتر تیمول، در شرایط آزمایشگاهی pH شکمبه را افزایش داد در حالی‌که در مقادیر ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرولیتر اثری بر pH شکمبه نداشت. تحقیقات آیاد و همکاران (۱) نیز نشان می‌دهد که با افزودن عصاره‌ی سیر، پیاز و لیمو ترش به جیره‌ی گوساله‌های پرواری، pH شکمبه کاهش یافت. نتایج این آزمایش با نتایج اسپانگرو و همکاران (۲۳) از مشابهت برخوردار است. آن‌ها گزارش کردند که افزودن اسانس‌های پونه، دارچین، آویشن و پوست پرتقال در مقادیر ۸، ۱۶، ۲۴ و ۳۲ میکرولیتر در pH= ۷، موجب افزایش مقدار pH در مقایسه با تیمار شاهد شده است. همچنین در pH= ۵ و pH= ۶ این آزمایش در برخی تیمارها کاهش pH محیط کشت مشاهده شد که این با نتایج اسپانگرو و همکاران (۲۳) از مشابهت برخوردار بود. آنها مشاهد کردند با افزودن مخلوطی از اسانس‌های گیاهی در pH= ۵/۵، pH محیط کشت نسبت به pH اولیه کاهش یافت. کاردوزو و همکاران (۸) و باسکوئت و همکاران (۶) مشاهده کردند که اسانس‌های ایوجینول، رازیانه و آنتول در pH= ۷ غلظت نیتروژن آمونیاکی را افزایش داد. باسکوئت و همکاران (۶) با استفاده از یک محیط کشت حاوی مجموعه‌ای از میکروارگانیزم‌های شکمبه نشان دادند که روغن سیر و ترکیبات فعال آن (دی‌آلیل سولفید، دی‌آلیل دی‌سولفید و آلیل مرکاپتان) در مقادیر ۳، ۳۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر، غلظت نیتروژن آمونیاکی را افزایش می‌دهد، در حالی‌که مقدار ۳۰۰۰ میلی‌گرم آن باعث کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی شد. این نتایج بیانگر این است که مقادیر بالای اسانس‌ها، اثرات مضر بر تخمیر میکروبی شکمبه دارند، که این فعالیت ضد میکروبی آنها را تأیید می‌کند (۵، ۱۳و ۲۱). کاستیلجوس (۱۲) بیان کرد که استفاده از تیمول و ایوجینول، وقتی که pH ثابت نگه داشته شود در مقادیر ۵، ۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر بر غلظت نیتروژن آمونیاکی تاثیری نداشت. کاردوزو و همکاران (۸) نشان دادند که افزودن روغن سیر در ۲ ساعت اولیه انکوباسیون، باعث افزایش ۲۳ درصدی در تولید ازت پپتیدی شد که این یا به دلیل تحریک پروتئولیز و یا منع از پروتئولیز است. همچنین بعد از ۸ ساعت، غلظت نیتروژن آمونیاکی ۲۵٪ کاهش یافت که این نشان‌دهنده ممانعت از دی‌آمیناسیون است. با این حال نتایج این آزمایش نتایج کاردوزو و همکاران (۱۰) را تأیید کرد که

گزارش کردند افزودن اسانس‌های رازیانه، ایوجینول و آنتول در مقادیر ۳ و ۳۰ میلی‌گرم بر لیتر غلظت نیتروژن آمونیاکی را در pH= ۷، افزایش و اسانس‌های دارچین، کاپسایسین، سینامالدهید، یوکا و نیز روغن سیر آن را کاهش داد. در حالی‌که در pH= ۵/۵ ایوجینول موجب افزایش غلظت نیتروژن آمونیاکی شد و دیگر اسانس‌ها آن را کاهش دادند. نتایج این آزمایش با نتایج باسکوئت و همکاران (۵۵) که اسانس‌های پونه و سینامالدهید در مقادیر ۰، ۳، ۰/۳، ۳۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر و نیز گروبنر و همکاران (۱۵) با مقدار ۴۵/۱ میلی‌گرم بر لیتر یوکا و نیز ریان و همکاران (۲۲) با ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر یوکا غلظت نیتروژن آمونیاکی را در pH= ۷ کاهش داد، مشابهت دارد اما با نتایج اسپانگرو و همکاران (۲۳) که مشاهده کردند با افزودن اسانس‌های پونه، دارچین، آویشن و پرتقال در هر دو سطح pH= ۷ و pH= ۵/۵ غلظت نیتروژن آمونیاکی تحت تاثیر قرار نگرفت مغایرت دارد. آیاد و همکاران (۱) گزارش کردند که استفاده از مخلوطی از عصاره‌های سیر، پیاز و لیمو ترش به جیره گوساله‌های پرواری موجب افزایش نسبت ناپدید شدن ماده خشک در شکمبه شد. کاستیلجوس و همکاران (۱۲) با استفاده از سیستم کشت مداوم مشاهده کردند که استفاده از ترکیبی از اسانس‌های گیاهی بر ناپدید شدن ماده خشک تاثیری نداشت. یانگ و همکاران (۲۵) گزارش کردند که روغن سیر و اسانس سرو کوهی قابلیت هضم ماده خشک را در شکمبه افزایش داد. در این آزمایش در اکثر تیمارها، کاهش در تولید نیتروژن آمونیاکی مشاهده شد. کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی محیط کشت در سایر تیمارهای آزمایشی در این مطالعه احتمالاً به دلیل اثرات ممانعتی اسانس‌های به‌کار رفته در این مطالعه بر باکتری‌های دارای توان بالای تولید آمونیاک و در نتیجه کاهش دآمیناسیون اسیدهای آمینه باشد. ممکن است عدم کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی در برخی از تیمارها نسبت به تیمار کنترل نشان‌دهنده کاهش میزان فعالیت پروتئولیز و افزایش فعالیت پپتیدولیزیز و آمینولیزیز میکروارگانیسم‌های شکمبه در این تیمارها باشد. نسبت ناپدید شدن ماده خشک نیز در برخی تیمارها، افزایش و در برخی کاهش یافت. این تغییرات بسته به نوع و غلظت اسانس استفاده شده از آن متغیر بود. همچنین در مواردی قابلیت هضم ماده خشک تحت تاثیر اسانس‌ها قرار نگرفت. بیوچمین و مک گین (۲۰۰۶) مشاهده کردند که کاهش تولید گاز به واسطه افزودن اسانس‌ها با ناپدید شدن سوبسترا رابطه نامطلوبی دارد. نتایج این مطالعه نیز نشان می‌دهد تولید گاز با ناپدید شدن ماده خشک کاهش یافته است.

جدول ٤- اثر افزودن مقادیر مختلف اسانس‌های رازیانه، کاج و اکالیپتوس بر فراسنجه‌های تخمیری محیط کشت با پایه خوراکی یونجه در pH=۵

Table 4-The effect of adding of essential oils of fennel, pine and eucalyptuson on fermentation parameters in Basic Feed of hay in pH=5

فراسنجه‌های تخمیری	اسانس‌ها (میکرولیتر) Essential oils								
	شاهد	رازیانه *Foeniculum vulgar*		کاج *Pinups pumili*		اکالیپتوس *Eucalyptus camaldulensis*			
	Control	3	30	3	30	3	30	SEM[1]	P-value
اسیدیته pH	5.97[ab]	5.92[abc]	5.89[abc]	5.82[bc]	6[a]	5.86[abc]	5.76	2.39	0.054
نیتروژن آمونیاکی N-NH3[2]	8.06[a]	7.82[a]	7.06[b]	7.72[a]	7.51[ab]	7.62[a]	7.58[a]	2.78	0.232
قابلیت هضم ماده خشک DMD[3]	43.33	53.33	51.67	45	46.67	51.67	3.92	1.17	1.17

۱- میانگین خطای استاندارد
۲- نیتروژن آمونیاکی
۳- ناپدیدی ماده خشک
۴- احتمال تفاوت معنی‌دار بین تیمارها (P< ۰/۰۵)
۵- میانگین‌های هر ردیف با حروف غیر مشابه دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشد (P< ۰/۰۵)

1- SEM: Standard error of the means
2- N-NH3: Ammonia nitrogen
3- DMD: dry matter disappearance
4- P-value: significant difference probability between treatments (P < 0.05)
5- Means within same row with different superscripts differ (P<0.05).

جدول ۵- اثر افزودن مقادیر مختلف اسانس‌های رازیانه، کاج و اکالیپتوس بر فراسنجه‌های تخمیری محیط کشت با پایه خوراکی کنسانتره در pH =۵

Table 5-The effect of adding of essential oils of fennel, pine and eucalyptuson on fermentation parameters in Basic Feed of concentreat in pH =5.

فراسنجه‌های تخمیری	اسانس‌ها (میکرولیتر) Essential oils								
	شاهد Control	رازیانه *Foeniculum vulgar*		کاج *Pinups pumili*		اکالیپتوس *Eucalyptus camaldulensis*		SEM	P-value
		3	30	3	30	3	30		
اسیدیته pH	5.53[c]	5.47	5.63[a]	5.51	5.62[ab]	5.39[d]	5.55	0.020	5.41
نیتروژن آمونیاکی $N\text{-}NH_3$	6.42[b]	6.73	6.23	6.40	6.96[a]	6.80	6.54	0.20	1.37
قابلیت هضم ماده خشک DMD	55[a]	50	46.67	50	46.67	51.67	45[b]	2.545	2.36

۱- میانگین خطای استاندارد
۲- نیتروژن آمونیاکی
۳- ناپدیدی ماده خشک
۴- احتمال تفاوت معنی‌دار مابین تیمارها (P< ۰/۰۵)
۵- میانگین‌های هر ردیف با حروف غیر مشابه دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشد (P< ۰/۰۵).

1- SEM: Standard error of the means
2- N-NH3: Ammonia nitrogen
3- DMD: dry matter disappearance
4- P-value: significant difference probability between treatments (P < 0.05)
5- Means within same row with different superscripts differ (P<0.05).

جدول ٦- اثر افزودن مقادیر مختلف اسانس‌های رازیانه، کاج و اکالیپتوس بر فراسنجه‌های تخمیری محیط کشت با پایه خوراکی ۸۰ به ۲۰ کنسانتره به علوفه در pH =۵

Table 6 -The effect of addition of essential oils of fennel, pine and eucalyptus on fermentation parameters in Base Feed with ratio of concentrate to forage of 80% to 20% in pH =5

فراسنجه‌های تخمیری	روغن‌های اسانسی (میکرولیت) Essential oils								
	شاهد Control	رازیانه *Foeniculum vulgar*		کاج *Pinups pumili*		اکالیپتوس Eucalyptus camaldulensis		SEM	P-value
		3	30	3	30	3	30		
اسیدیته pH	5.63	5.66	5.58	5.64	5.66	5.75	5.75	0.038	2.93
نیتروژن‌آمونیاکی $N\text{-}NH_3$	7.49[ab]	6.87	6.85	7.13	7.81	6.29[c]	6.90	0.2300	4.11
قابلیت هضم ماده خشک DMD	56.66	46.66	48.33	46	46.66	56.66	51.67	3.469	1.93

۱- میانگین خطای استاندارد
۲- نیتروژن آمونیاکی
۳- قابلیت هضم ماده خشک
۴- احتمال تفاوت معنی‌دار بین تیمارها (P< ۰/۰۵)

1- SEM: Standard error of the means
2- N-NH3: Ammonia nitrogen
3- DMD: dry matter digestibility
4- P-value: The significance level

جدول ۷- اثر افزودن مقادیر مختلف اسانس‌های رازیانه، کاج و اکالیپتوس بر فراسنجه‌های تخمیری محیط کشت با پایه خوراکی نسبت ۶۰ به ۴۰ کنسانتره به علوفه در pH=۵

Table 7-The effect of adding of essential oils of fennel, pine and eucalyptuson on fermentation parameters in Basic Feed with ratio concentrate to forage 60% to 40% in pH =5

فراسنجه‌های تخمیری	شاهد Control	اسانس‌ها (میکرولیتر) Essential oils: رازیانه *Foeniculum vulgar* 3	رازیانه 30	کاج *Pinups pumili* 3	کاج 30	اکالیپتوس *Eucalyptus camaldulensis* 3	اکالیپتوس 30	SEM	P-value
اسیدیته pH	5.74	5.67	5.71	5.75	5.81	5.70	5.60	0.019	0.133
نیتروژن آمونیاکی N-NH3	7.66	7.68	7.51	7.68	6.69	7.38	6.60	0.234	4.79
قابلیت هضم ماده خشک DMD	47	33	31.67	46.67	44	46.67	45	3.928	2.47

۱- میانگین خطای استاندارد
۲- نیتروژن آمونیاکی
۳- ناپدیدی ماده خشک
۴- احتمال تفاوت معنی‌دار بین تیمارها (P< ۰/۰۵)

1- SEM: Standard error of the means
2- N-NH3: Ammonia nitrogen
3- DMD: dry matter disappearance
4- P-value: The significance level

جدول ۸- اثر افزودن مقادیر مختلف اسانس‌های رازیانه، کاج و اکالیپتوس بر فراسنجه‌های تخمیری محیط کشت با پایه خوراکی یونجه در pH =۶

Table 8 -The effect of addition of essential oils of fennel, pine and eucalyptuson on fermentation parameters in Base Feed of hay in pH =6

فراسنجه‌های تخمیری	شاهد Control	اسانس‌ها (میکرولیتر) Essential oils: رازیانه *Foeniculmvulga* 3	رازیانه 30	کاج *Pinups pumili* 3	کاج 30	اکالیپتوس *Eucalyptus camaldulensi* 3	اکالیپتوس 30	SEM	P-value
اسیدیته pH	4.89^{bc}	4.88	4.90	4.89	4.92	4.92	4.93^{a}	0.008	3.5
نیتروژن آمونیاکی N-NH3	8.61^{a}	8/32	8/42	7.90^{b}	7.78^{b}	8.10	8.01	0.167	3.86
قابلیت هضم ماده خشک DMD	35.66	34.5	31.5	34.16	33.16	37.16	36.16	0.69	6.25

۱- میانگین خطای استاندارد
۲- نیتروژن آمونیاکی
۳- ناپدیدی ماده خشک
۴- احتمال تفاوت معنی‌دار بین تیمارها (P< ۰/۰۵)

1- SEM: Standard error of the means
2- N-NH3: Ammonia nitrogen
3- DMD: dry matter disappearance
4- P-value: The significance level

جدول ۹- اثر افزودن مقادیر مختلف اسانس‌های رازیانه، کاج و اکالیپتوس بر فراسنجه‌های تخمیری محیط کشت با پایه خوراکی کنسانتره در pH =۶

Table 9 -The effect of addition of essential oils of fennel, pine and eucalyptuson on fermentation parameters in Basic Feed of concentrate in pH =6اسانس‌ها (میکرولیتر)

فراسنجه‌های تخمیری	شاهد	اسانس‌ها (میکرولیتر) Essential oils							
		رازیانه *Foeniculu vulga*		کاج *Pinups pumili*		اکالیپتوس *Eucalyptus camaldulensi*			
	Control	3	30	3	30	3	30	SEM	P-value
اسیدیته pH	4.82	4.83	4.85	4.86	4.83	4.83	4.84	0.015	0.66
نیتروژن آمونیاکی $N\text{-}NH_3$	9.53	9.15	9.31	8.87	9.18	89.13	9.22	0.199	1.28
قابلیت هضم ماده خشک DMD	51.16	50	49.5	49.5	44.5	48.16	46	1.86	2.74

۱- میانگین خطای استاندارد
۲- نیتروژن آمونیاکی
۳- ناپدیدی ماده خشک
۴- احتمال تفاوت معنی‌دار بین تیمارها (P< ۰/۰۵)

1- SEM: Standard error of the means
2- N-NH3: Ammonia nitrogen
3- DMD: dry matter disappearance
4- P-value: The significance level

جدول ۱۰- اثر افزودن مقادیر مختلف اسانس‌های رازیانه، کاج و اکالیپتوس بر فراسنجه‌های تخمیری محیط کشت با پایه خوراکی ۸۰ به ۲۰ کنسانتره به علوفه در pH =۶

Table10 -The effect of addition of essential oils of fennel, pine and eucalyptuson on fermentation parameters in Basic Feed with concentrate to forege 80% to 20% in pH =6

فراسنجه‌های تخمیری	شاهد	**اسانس‌ها (میکرولیتر) Essential oils**							
		رازیانه *Foeniculum vulga*		کاج *Pinups pumili*		اکالیپتوس *Eucalyptus camaldulensi*			
	Control	3	30	3	30	3	30	SEM	P-value
اسیدیته pH	5.19^{ab}	5.10	4.91^{c}	5.20	5.17	4.95^{c}	4.96^{c}	0.029	0.178
نیتروژن آمونیاکی $N\text{-}NH_3$	8.88^{ab}	8.88	9.28	7.59^{d}	7.67^{d}	8.39	8.08^{cd}	0.202	8.78
قابلیت هضم ماده‌خشک DMD	47.5	42.5	41.5	47	44	38.66	39.83	1.73	4.15

جدول ۱۱- اثر افزودن مقادیر مختلف اسانس‌های رازیانه، کاج و اکالیپتوس بر فراسنجه‌های تخمیری محیط کشت با پایه خوراکی ۶۰ به ۴۰ کنسانتره به علوفه در pH =۶

Table 11 -The effect of addition of essential oils of fennel, pine and eucalyptuson on fermentation parameters in Base Feed with concentrate to forage 60% to 40% in pH =6

فراسنجه‌های تخمیری	شاهد Control	اسانس‌ها (میکرولیتر) Essential oils						SEM	P-value
		رازیانه *Foeniculum vulga*		کاج *Pinups pumili*		اکالیپتوس *Eucalyptus camaldulensi*			
		3	30	3	30	3	30		
اسیدیته pH	4.66[b]	4.67	4.67	4.70[a]	4.67	4.67	4.70[a]	0.009	3.14
نیتروژن آمونیاکی $N\text{-}NH_3$	8.86[ab]	9.39	8.98	8.57	8.78	8.68	8.24	0.309	1
قابلیت هضم ماده خشک DMD	47.5	40.5	38.83	42	40.66	42	37.16	0.78	7.61

۱- میانگین خطای استاندارد
۲- نیتروژن آمونیاکی
۳- ناپدیدی ماده خشک
۴- تفاوت معنی‌دار بین تیمارها در سطح احتمال (P< ۰/۰۵)
۵- میانگین‌های هر ردیف با حروف غیر مشابه دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشد (P< ۰/۰۵)

1- SEM: Standard error of the means
2- N-NH3: Ammonia nitrogen
3- DMD: dry matter disappearance
4- P-value: significant difference probability between treatments (P < 0.05)
5- Means within same row with different superscripts differ (P<0.05).

جدول ۱۲- اثر افزودن مقادیر مختلف اسانس‌های رازیانه، کاج و اکالیپتوس بر فراسنجه‌های محیط کشت با پایه خوراکی یونجه در pH =۷

Table12 -The effect of addition of essential oils of fennel, pine and eucalyptuson on fermentation parameters in Basic Feed hay in pH =7

فراسنجه‌های تخمیری	شاهد Control	اسانس‌ها (میکرولیتر) Essential oils						SEM	P-value
		رازیانه *Foeniculum vulga*		کاج *Pinups pumili*		اکالیپتوس *Eucalyptus camaldulensi*			
		3	30	3	30	3	30		
اسیدیته pH	6.80[c]	6.85	6.87[b]	7.22[a]	6.85	6.84	6.82	0.015	0.000
نیتروژن آمونیاکی $N\text{-}NH_3$	7.59[b]	8.39[a]	8.54[a]	5.90[c]	7.48	7.46	7.42	0.206	0.000
قابلیت هضم ماده خشک DMD	43.33[b]	54[a]	56.96[a]	20.83[d]	35.5[c]	38.16	52[a]	2.124	0.000

۱- میانگین خطای استاندارد
۲- نیتروژن آمونیاکی
۳- ناپدیدی ماده خشک
۴- تفاوت معنی‌دار بین تیمارها در سطح احتمال (P< ۰/۰۵)
۵- میانگین‌های هر ردیف با حروف غیر مشابه دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشد (P< ۰/۰۵)

1- SEM: Standard error of the means
2- N-NH3: Ammonia nitrogen
3- DMD: dry matter disappearance
4- P-value: significant difference probability between treatments (P < 0.05)
5- Means within same row with different superscripts differ (P<0.05).

جدول ۱۳- اثر افزودن مقادیر مختلف اسانس‌های رازیانه، کاج و اکالیپتوس بر فراسنجه‌های تخمیری محیط کشت با پایه خوراکی کنسانتره در pH =۷

Table 13 -The effect of addition of essential oils of fennel, pine and eucalyptuson on fermentation parameters in Basic Feed of concentrate pH =7

		اسانس‌ها (میکرولیتر) Essential oils							
		رازیانه *Foeniculum vulga*		کاج *Pinups pumili*		اکالیپتوس *Eucalyptus camaldulensi*			
فراسنجه‌های تخمیری	شاهد control	3	30	3	30	3	30	SEM	P-value
اسیدیته pH	6.72[c]	6.78	6.84[b]	7.02[a]	6.79	6.75	6.73	0.025	0.074
نیتروژن آمونیاکی $N\text{-}NH_3$	8.74[b]	9.35[a]	9.29[a]	7.52[c]	6.58[e]	7.12[d]	6.84[e]	0.094	0.000
قابلیت هضم ماده خشک DMD	46[bc]	59.66[a]	47.5	32.16[e]	45	40.66[d]	50.06	2.124	1.406

۱- میانگین خطای استاندارد
۲- نیتروژن آمونیاکی
۳- ناپدیدی ماده خشک
۴- تفاوت معنی‌دار بین تیمارها در سطح احتمال (P< ۰/۰۵)
۵- میانگین‌های هر ردیف با حروف غیر مشابه دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشد (P< ۰/۰۵)

1- SEM: Standard error of the means
2- N-NH3: Ammonia nitrogen
3- DMD: dry matter disappearance
4- P-value: significant difference probability between treatments (P < 0.05)
5- Means within same row with different superscripts differ (P<0.05).

جدول ١٤- اثر افزودن مقادیر مختلف اسانس‌های رازیانه، کاج و اکالیپتوس بر فراسنجه‌های تخمیری با پایه خوراکی ۸۰ به ۲۰ کنسانتره به علوفه در pH =7

Table 14 -The effect of addition of essential oils of fennel, pine and eucalyptuson on fermentation parameters in Basic Feed with concentrate to forege 80% to 20% in pH =7

		اسانس‌ها (میکرولیتر) Essential oils							
		رازیانه *Foeniculum vulga*		کاج *Pinups pumili*		اکالیپتوس *Eucalyptus camaldulensi*			
فراسنجه‌های محیط کشت	شاهد Control	3	30	3	30	3	30	SEM	P-value
اسیدیته pH	6.76[c]	6.84	6.85	6.96[a]	6.82	6.87[b]	6.85	0.027	5.54
نیتروژن آمونیاکی N-NH3	8.51[b]	9.90[a]	8.71	6.71[d]	6.91[d]	7.75[c]	7.78[c]	0.129	0.00
قابلیت هضم ماده خشک DMD	32.83[c]	34	39.16[b]	24.86[d]	26[d]	49.5[a]	48	1.253	0.000

۱- میانگین خطای استاندارد
۲- نیتروژن آمونیاکی
۳- ناپدیدی ماده خشک
۴- تفاوت معنی‌دار بین تیمارها در سطح احتمال (P< ۰/۰۵)
۵- میانگین‌های هر ردیف با حروف غیر مشابه دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشد (P< ۰/۰۵)

1- SEM: Standard error of the means
2- N-NH3: Ammonia nitrogen
3- DMD: dry matter disappearance
4- P-value: significant difference probability between treatments (P < 0.05)
5- Means within same row with different superscripts differ (P<0.05).

جدول ۱۵- اثر افزودن مقادیر مختلف اسانس‌های رازیانه، کاج و اکالیپتوس بر فراسنجه‌های تخمیری با پایه خوراکی نسبت ۶۰ به ۴۰ کنسانتره به علوفه pH =۷

Table 15 -The effect of addition of essential oils of fennel, pine and eucalyptuson on fermentation parameters in Base Feed with concentrate to forege 60% to 40% in pH =7

اسانس‌ها (میکرولیتر) Essential oils									
		رازیانه *Foeniculum vulga*		کاج *Pinups pumili*		اکالیپتوس *Eucalyptus camaldulensi*			
فراسنجه‌های تخمیری	شاهد Ccontrol	3	30	3	30	3	30	SEM	P-value
اسیدیته pH	6.79[c]	6.80	6.87[b]	7.15[a]	6.90b	6.090[b]	6.81	0.124	0.011
نیتروژن آمونیاکی $N\text{-}NH_3$	8.39[b]	8.77	9.20[a]	6.74[d]	7.36[c]	7.73[c]	7.52[c]	0.57	0.00
قابلیت هضم ماده خشک DMD	34.16[c]	44.83[b]	35.83	32	32.33	55[a]	50.66[a]	1.36	0.00

۱- میانگین خطای استاندارد
۲- نیتروژن آمونیاکی
۳- ناپدیدی ماده خشک
۴- تفاوت معنی‌دار بین تیمارها در سطح احتمال (P< ۰/۰۵)
۵- میانگین‌های هر ردیف با حروف غیر مشابه دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشد (P< ۰/۰۵)

1- SEM: Standard error of the means
2- N-NH3: Ammonia nitrogen
3- DMD: dry matter disappearance
4- P-value: significant difference probability between treatments (P < 0.05)
5- Means within same row with different superscripts differ (P<0.05).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که از بین اسانس‌های افزوده شده در pHهای مورد آزمایش، اسانس کاج در مقدار ۳ میکرولیتر و در موارد کمتری اسانس اکالیپتوس در مقدار ۳۰ میکرولیتر، موجب کاهش بیشتر تولید نیتروژن آمونیاکی، افزایش pH محیط کشت و نیز کاهش ناپدید شدن ماده خشک در تمام مواد خوراکی شد. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که اسانس‌های کاج و اکالیپتوس می‌توانند با کاهش هدرروی نیتروژن آمونیاکی تجزیه پروتئین میکروبی را در شکمبه کنترل کنند و بازدهی نیتروژن را در نشخوارکنندگان بهبود بخشند. از آنجایی‌که مقدار گاز تولید شده از یک خوراک شاخصی از قابلیت تخمیر آن خوراک، و در نتیجه ارزش انرژی‌زایی آن می‌باشد، لذا ممکن است چنین استنباط شود که استفاده از اسانس کاج چون باعث کاهش تولید گاز و متعاقباً کاهش تخمیر خوراک می‌گردد، جهت تعدیل فرآیند تخمیر مناسب نمی‌باشد.

منابع

1- Aiad, A. M., N. I. Bassuony, A. A. Afifi, and F. M. Abo-Donia. 2008. Adding natural juice of vegetabbales and fruitage to ruminant diets: (A) lemone, onione and garlic juice supplement to diets fed to suckling buffalo calves and its effect on digestibility, growth performance and fungi count. World Journal of Agricultural Sciences, 4(2): 149-156.
2- Bach, A., S. Calsamiglia, and M. D. Stern. 2005. Nitrogen metabolism in the rumen. Journal of Dairy Science, 88: E9-E21.
3- Burt, S. 2004. Essential Oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods-a review. International Journal of Food Microbology, 94: 223-253.
4- Busquet, M., S. Calsamiglia, A. Ferret, and C. Kamel. 2006. Plant extracts affect in vitro rumen microbial fermentation. Journal of Dairy Science, 89:761-771.
5- Busquet, M., S. Calsamiglia, A. Ferret, C. Kamel. 2004. Effects of different doses of plant extracts on rumen microbial fermentation. Journal of Dairy Science, 87: 213-213.
6- Busquet, M., S. Calsamiglia, A. Ferret, P. W. Cardozo, and C. Kamel. 2005. Effects of cinnamaldehyde and garlic oil on ruminal microbial fermentation in a dual flow continuous culture. Journal of Dairy Science, 88: 2508-2516.

7- Calsamiglia, S., L. Castillejos, and M. Busquet. 2005. Alternatives to antimicrobial growth promoters in cattle. Recent Advances in Animal Nutrition, (1): 129-167.
8- Cardozo, P. W., S. Calsamiglia, A. Ferret, and C. Kamel. 2004. Effects of natural plant extracts on protein degradation and fermentation profiles in continuous culture. Journal of Animal Science. 82: 3230-3236.
9- Cardozo, P.W., S. Calsamiglia, A. Ferret, and C. Kamel. 2006. Effect of alfalfa extract, anise, capsicum, and a mixture of cinnamaldehyde and eugenol on ruminal fermentation and protein degradation in beef heifers fed a high-cocentrate diet. Journal of Animal Science, 84: 2801-2808.
10- Cardozo, P.W., S. Calsamiglia, A. Ferret, C. Kamel. 2005. Screening for the effects of natural plant extracts at different pH on in vitro rumen microbial fermentation of a high-concentrate diet for beef cattle. Journal of Animal Science, 83: 2572-2579.
11- Carro, M. D. and M. J. Ranilla. 2002. Los antibioticos promotores del crecimiento como aditivos: Efectos sobre la produccio´n animal, situacion legal y perspectivas de futuro. Informacion Veterinaria, 238: 35-45.
12- Castillejos, L., S. Calsamiglia, A. Ferret, and R. Losa. 2007. Effects of dose and adaptation time of a specific blend of essential oils compounds on rumen fermentation. Animal Feed Science and Technology, 132: 186-201.
13- Evans, J. D. and S. A. Martin. 2000. Effects of thymol on ruminal microorganisms. Current Microbiology, 41(5): 336-340.
14- Gershenzon, J. and R. Croteau. 1991. Terpenoids in Herbivores: Their Interactions with Secondary Plant Metabolites. Vol. 1. G. A. Rosenthal, and M. R. Berenbaum, ed. Academic Press, San Diego, CA. Pages: 165-219.
15- Grobner, M. A., D. E. Johnson, S. R. Goodall, and D. A. Benz. 1982. Sarsaponin effects on in vitro continuous flow fermentation of a high grain diet. In Proceedings of the Annual Meeting. American Society for Animal Science Western Section.
16- Lila, Z. A., N. Mohammed, S. Kanda, T. Kamada, and H. ltabashi. 2003. Effect of sarsaponin on ruminal fermentation with particular reference to methane production in vitro. Journal of Dairy Science, 86: 3330-3336.
17- Menke, K. H. and Steingass, H. 1988. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and in vitro gas production using rumen fluid. Animal Research and Development, 28:7-55.
18- Nagy, J.G., H.W. Steinhoff, and G.M. Ward. 1964. Effects of essential oils of sagebush on deer rumen microbial function. Journal Wildlife Management, 28:785-790.
19- Patra, A. K. 2011. Effects of essential oils on rumen fermentation, microbial ecology and ruminant production. Asian Journal of Animal Veterinary Advance, 6: 416-428.
20- Patra, A.K., D.N. Kamra, 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 and Technology, 128: 276-291.
21- Reuter, H. D. 1996. Therapeutic effects and applications of garlic and its preparations. Garlic.
22- Ryan, J. P., T. Quinn, and B. F. Leek. 1997. Comparison of effect of Yucca schidigera plant extract (De-Odorize) and Saccharomyces cerevisiae yeast culture (Yea- Sacc1026) on pH, short chain fatty acids (SCFA) and ammonium, during fermentation of hay by sheep s ruminal fluid in vitro. Journal. Irish Veterinary Journal, 50(7): 422-429.
23- Spanghero, M., C. Zanfia, E. Fabbro, N. Scicutella, and C. Camellini. 2008. Effects of a blend of essential oils on some end products of in vitro rumen fermentation. Animal Feed Science and Technology, 145(1-4): 364-374.
24- Van Nevel, C. J. 1988. Manipulation of rumen fermentation. The rumen microbial ecosystem. Pages: 387-443.
25- Yang, W. Z., C. Benchaar, B. N. Ametaj, A. V. Chaves, M. L. He, and T. A. McAllister. 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.

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 10, No. 2, Summer 2018, p. 163-178

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد ۱۰، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۷، ص. ۱۷۸-۱۶۳

The Effect of pH and Fennel, Pine and Eucalyptus Essential Oils on Rumen Fermentation Properties (*in vitro*)

A. Vakili[1*]- S. Saki[2]- M. Danesh Mesgaran[3]- F. Alipour[4]

Received: 17-09-2014
Accepted: 10-07-2017

Introduction In the ruminant animal, rumen fermentation provides nutrients, energy and protein needed for livestock, but this process is accompanied by the loss of energy in the form of methane and protein as ammonia nitrogen. Methane released from ruminants as an environmental pollutant with 38% greenhouse gases is one of the most important reasons for global warming. On the other hand, it reduces 2 to 15 percent of the energy consumed by the livestock. Ammonia nitrogen and nitric oxide are excreted through urine and fertilizers and pollute the environment. Therefore, researchers have tried to eliminate these problems from the past to add some supplements to animal feed to improve fermentation performance. Over the past few decades, ionophors and probiotics have been marketed as methane reducers. However, the antibiotic concerns and the level of these compounds in animal products have limited their use. To solve this problem, the use of herbs, essential oils and their extracts in the replacement of antibiotics and improvement of rumen function has been suggested. Essential oils are aromatic, volatile and oily compounds extracted from plants. They have antimicrobial properties against many bacteria, yeasts, and fungi. Due to the fact that herbal essential oils have strong antimicrobial properties, they are used as additives in livestock feeding. The purpose of this study was to evaluate the effect of some essential oils and pH on rumen fermentation parameters in different diets in *in vitro.*

Materials and Methods In this study, the essential oils of Fennel (*Foeniculu vulgare*), Eucalyptus (*Eucalyptus camaldulensis*) and Pinus pumilio (*Pinus pumilio*) were used. For the extraction of pine and fennel seeds and Eucalyptus leaves were used. Water extraction was used to extract essential oils from Clevenger apparatus. For this purpose, 1Lit glass balloons (pine and fennel seeds were cut and Eucalyptus leaf grinding), 70 grams were used and 750 ml of distilled water was added to each balloon. Samples and distilled water were warmed up at 100°C. Heating was performed for 4 hours to evaporate the contents of the balloons. The essential oils of each sample were extracted on the cooled water from the evaporation procedure. Finally, each of the essential oils was stored in dark glass containers until refrigerated at 4 ° C. The first phase consisted of incubation 4 basal diet: 100% alfalfa hay, 100% concentrate (barley), mixed concentrate with alfalfa with levels of 80 to 20 and 60 to 40% of concentrates to alfalfa hay with zeros, 3 and 30 mg/l of essentiol oils pine, eucalyptus and fennel mixed with 30 ml of rumen fluid for 72 hours at pH different (5 = pH, 6 = pH and 7 = pH). The pH were set at desired levels using NaOH and HCl at the beginning of incubation to investigate the effect of essential oils and different pH on different parts fermentation, the result of test gas production (a and b) .The second experiment tested the same conditions but in the first 24 hours for examining their effects on pH medium, the concentration of ammonia nitrogen and dry matter disappearance.

Results and Discussion The highest average gas production from fermentable partion in treatment of hay with eucalyptus oil and the lowest at 7 = pH in the treatment of 60 to 40 percent with pine essential oil was observed at 6 = pH. At the end of incubation the treatment of 60% concentrate with essential oils of fennel, pine and eucalyptus in 6 = pH and highest for alfalfa with pine oil was at 7 = pH. The lowest concentration of ammonia nitrogen in the treated hay with pine essential oils 7 = pH and the highest 80 percent concentrate treatment with essential oils in fennel was 7 = pH. The disappearance of dry matter in the hay treated with essential oils of pine was 7 = pH. These results suggest that high levels of essential oils effect on rumen microbial fermentation, which confirmed the antimicrobial activity.

Conclusions The results of this study show that of the added essential oils in tested pH, pine essential oil in 3 µl and less in the amount of 30 µl of eucalyptus essential oil, resulted in further reduction of ammonia nitrogen production, increased pH of the culture medium and decreased disappearance dry matter was found in all foods. Therefore, it can be concluded that the essential oils of pine and eucalyptus can control the degradation of the

1- Associate Professor of Animal Science Department, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran.
2- MSc Graduated of Ruminant Nutrition, Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran.
3- Professor of Animal Science Department, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran
4- PhD student of Animal Science Department, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran
(*- Corresponding author email: savakili@um.ac.ir)

microbial protein in the rumen by reducing the ammonia nitrogen content and improve the nitrogen yield in ruminants. Since the amount of gas produced from an indigenous feed is due to the fermentation of that feed, and hence its energy value, it can be concluded that the use of pine essential oils, because it reduces gas production and consequently reduces feed fermentation, The fermentation process is not suitable.

Key word: Eucalyptus, Fennel, PH, Pine, Ruminal fermentation