نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد 8، شماره 3، پاییز 1395، ص. 427-415

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 8, No. 3, Fall 2016, p. 415-427

اثر اسانس‌های گیاهی پونه کوهی، پرتقال و زیره سبز بر ترکیب شیمیایی و فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری سیلاژ ذرت در شرایط آزمایشگاهی

هادی قربانی[1]- سید علیرضا وکیلی[2*]- محسن دانش مسگران[3]

تاریخ دریافت: 1392/12/20
تاریخ پذیرش: 1393/12/20

چکیده

این پژوهش به‌منظور بررسی اثر اسانس‌های گیاهی پونه کوهی، پرتقال و زیره سبز (50، 100 و 150میلی‌گرم اسانس، به‌ازای کیلوگرم ماده خشک سیلاژ) بر ترکیب شیمیایی، فراسنجه‌های تولیدگاز، پایداری هوازی و تجزیه‌پذیری ماده خشک سیلاژ ذرت انجام‌گرفت. سیلوکردن در کیسه‌های پلاستیکی انجام شد. سیلوها در قالب طرح کاملاً تصادفی بعد از 256روز باز شدند. سیلاژهای تیمار شده با پونه 150و زیره 150، pH سیلاژ ذرت را در مقایسه با تیمار شاهد کاهش‌دادند. تیمار پونه 150 پروتئین خام بیشتری نسبت به تیمارشاهد داشت. مقدار نیتروژن آمونیاکی در تیمارهای پونه 100، پونه 150 و زیره 150 نسبت به تیمار شاهد کاهش پیدا کرد. اسانس‌های پونه 100، پونه 150 و پرتقال 150 باعث افزایش فراسنجه‌های تولید گاز از بخش قابل‌تخمیردر مقایسه با تیمار شاهد شدند. هم‌چنین اسانس‌های زیره 50، زیره 150 و پرتقال150 باعث کاهش معنی‌دار بخش قابل‌تخمیر نسبت به تیمار شاهد شدند . پونه 100 باعث افزایش، پونه 50 و پرتقال50 باعث کاهش ثابت نرخ تولید گاز شدند. پونه 100 و 150 باعث افزایش اسیدهای چرب کوتاه‌زنجیر، انرژی متابولیسمی و قابلیت هضم ماده آلی در مقایسه با تیمار شاهد شدند. زیره 100 و150 باعث کاهش قابلیت هضم ماده خشک در ماده آلی، اسیدهای چرب کوتاه‌زنجیر و قابلیت هضم ماده‌آلی در مقایسه با تیمار شاهد شدند. سیلاژهای عمل‌آوری شده با زیره 150، زیره 100، پونه 150، پونه 100 و پرتقال 150 پایداری هوازی بیشتری در مقایسه با تیمار شاهد داشتند. تجزیه‌پذیری ماده خشک سیلاژ ذرت تحت تأثیر تیمارهای مختلف در شرایط آزمایشگاهی قرار نگرفت.

واژه‌های کلیدی: اسانس‌های گیاهی، پایداری هوازی، تولید گاز، سیلاژ ذرت.

مقدمه

اساس تخمیر در سیلو دست‌یابی به‌میزان کافی اسیدلاکتیک به‌منظور جلوگیری از رشد میکروارگانیسم‌های نامطلوب موجود در توده گیاهی و هم‌چنین ممانعت از فعالیت آنزیم‌های کاتابولیکی درون‌گیاهی می‌باشد، که در نتیجه منجر به حداکثر رساندن حفظ مواد مغذی در سیلاژ می‌گردد (4). افزودنی‌های سیلو طی سال‌ها به‌منظور کاهش خطرات فرایندهای مخرب در طی پروسه سیلوکردن و هم‌چنین بهبود ارزش تغذیه‌ای سیلاژ توسعه یافته‌اند. یک افزودنی سیلو بایستی خصوصیاتی از قبیل استفاده آسان، کاهش هدررفت ماده خشک، بهبود کیفیت و سلامت سیلو، محدودکردن تخمیر ثانویه و بهبود پایداری هوازی و افزایش ارزش تغذیه‌ای از طریق افزایش بازدهی مصرف سیلو داشته باشد (30). افزودنی‌های سیلو می‌تواند شیمیایی یا بیولوژیکی باشد و می‌توان آن‌ها را به گروه‌های محرک، ممانعت‌کننده، ماده مغذی یا جاذب تقسیم‌بندی کرد (28). اسانس‌های گیاهی سال‌های زیادی به‌عنوان خوشبوکننده، طعم‌دهنده و نگه‌دارنده توسط انسان استفاده می‌شود (15)، و عموماً از طریق روش تقطیر بخار (با استفاده از آب یا الکل) استخراج می‌شوند (26). هم‌چنین استخراج اسانس در مقادیر کمتر با استفاده از روش‌های دیگری مانند استخراج به‌وسیله حلال یا استخراج با استفاده از فشار تحت گاز دی‌اکسید کربن مایع نیز انجام شده است (35). به‌طور کلی مهم‌ترین ترکیبات فعال آن‌ها در دو گروه شیمیایی ترپنوئیدها و فنیل‌پروپانوئیدها تقسیم‌بندی می‌شوند. مهم‌ترین نقش این ترکیبات خاصیت ضدعفونی کنندگی و ضدمیکروبی آن‌ها می‌باشد. به همین‌دلیل از دیرباز برای اهداف گوناگونی مانند طب سنتی و یا به‌عنوان نگه‌دارنده مواد غذایی موردتوجه بوده‌اند (11).

1- فارغ التحصیل کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد،
2- دانشیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد،
3- استاد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد.
(*- نویسنده مسئول: (Email: savakili@um.ac.ir
DOI: 10.22067/ijasr.v0i0.32965

اسانس‌های گیاهی ممکن است در تغذیه نشخوارکنندگان کاربرد داشته باشند؛ زیرا تخمیر در سیلاژ و شکمبه بستگی به فعالیت میکروبی دارد که می‌تواند به‌وسیله اسانس‌ها تحت تأثیر قرار بگیرد. تحقیقات انجام شده نشان‌دهنده اثرات اسانس‌های گیاهی بر فرایندهای مختلف در شکمبه است (7). اخیراً اثرات مثبت ضدمیکروبی اسانس‌های گیاهی موجب شده است که محققین در صدد بررسی پتانسیل این مواد برای کنترل و بهبود تخمیر در شکمبه به‌عنوان راه‌کاری برای افزایش بازدهی مصرف خوراک باشند (8 و 12). هرچند که دامنه اسانس‌های گیاهی و ترکیبات مؤثر آن‌ها بسیار گسترده است و بسیاری از آن‌ها هنوز موردپژوهش قرار نگرفته‌اند. افزون بر این، در آزمایشی که اخیراً انجام گرفت، اسانس دارچین، پونه و پرتقال موجب کاهش جمعیت مخمرها در هنگام اندازه‌گیری پایداری هوازی سیلاژ گیاه کامل جو گردید (10). هدف از این مطالعه، بررسی اثر اسانس پونه کوهی، زیره سبز و پرتقال در سه غلظت مختلف بر ترکیب و فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری سیلاژ ذرت در شرایط برون‌تنی بود

مواد و روش‌ها

آماده‌سازی سیلوهای آزمایشی

اسانس‌های گیاهی پونه کوهی، پرتقال و زیره سبز با خلوص 100درصد از شرکت گل‌قطره توس مشهد جمع‌آوری شد. گیاه کامل ذرت علوفه‌ای با حدود 30درصد ماده خشک برداشته شد، و با چاپر به قطعات 2 تا پنج سانتی‌متری خُرد شد. هریک از سطوح اسانس‌های گیاهی در مقدار 5/56 میلی‌لیتر(به‌ازای هر کیلوگرم علوفه سیلاژ) اتانول آبی حل شد (0/5 v/v اتانول و آب) و روی علوفه اسپری شد (10). تیمارها عبارت بودند از: 1- اسانس گیاهی پونه در سطح 50میلی‌گرم به‌ازای هرکیلوگرم ماده خشک سیلاژ، 2- اسانس گیاهی پونه در سطح 100 میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم ماده خشک سیلاژ، 3- اسانس گیاهی پونه در سطح 150میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم ماده خشک سیلاژ، 4- اسانس گیاهی پرتقال در سطح 50میلی‌گرم به‌ازای هرکیلوگرم ماده خشک سیلاژ، 5- اسانس گیاهی پرتقال در سطح 100میلی‌گرم به‌ازای هرکیلوگرم ماده خشک سیلاژ، 6- اسانس گیاهی پرتقال در سطح 150میلی‌گرم به‌ازای هرکیلوگرم ماده خشک سیلاژ، 7- اسانس گیاهی زیره در سطح 50میلی‌گرم به‌ازای هرکیلوگرم ماده خشک سیلاژ، 8- اسانس گیاهی زیره در سطح 100میلی‌گرم به‌ازای هرکیلوگرم ماده خشک سیلاژ، 9- اسانس گیاهی زیره در سطح 150میلی‌گرم به‌ازای هرکیلوگرم ماده خشک سیلاژ، 10- اتانول آبی در سطح 5/56میلی‌لیتر به‌ازای هر کیلوگرم علوفه تازه سیلاژ، 11- تیمار شاهد(بدون افزودنی). برای هر تیمار چهار تکرار در نظر گرفته شد، و هر یک از تکرارها در کیسه‌های پلاستیکی با گنجایش 2کیلوگرم علوفه، سیلو شدند. طریقه پُرکردن سیلوها به این‌صورت بود که بعد از ریختن هرلایه علوفه سیلویی، تیمار موردنظر با استفاده از یک سم‌پاش تک‌نازلی اسپری شده، و توسط دست مخلوط گردید. به‌منظور خروج هوای موجود در بین ذرات عمل فشرده‌سازی انجام شد. در نهایت مشخصات تیمارهای موردنظر بر روی هریک از کیسه‌ها یادداشت گردید، و سیلوها در جای تاریک و در دمای بین 18 تا 25درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند. پس از گذشت 256روز(21) ، سیلوها باز شدند و از هریک از تکرارها نمونه‌ای برای انجام آزمایش‌ها تهیه شد(21).

تعیین مؤلفه‌های شیمیایی

پس از گذشت 256روز، سیلوهای آزمایشی باز شدند و از هرسیلو نمونه‌ای برای تعیین ماده خشک (DM)، pH، ماده آلی(OM)، خاکستر (ASH)، پروتئین خام (CP) و دیواره سلولی برداشته شد. برای تعیین ماده خشک، پروتئین خام، چربی و خاکستر خام از روش‌های توصیه شده AOAC (3) استفاده شد. هم‌چنین برای تعیین الیاف نامحلول در شوینده خنثی(NDF) و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی(ADF) از روش ون سوست و همکاران (40) استفاده گردید. همی‌سلولز نیز از کسر NDF از ADF به‌دست آمد (10). به‌منظور اندازه‌گیری pH از هر سیلو نمونه 50گرمی تهیه و به هر نمونه 450 میلی‌لیتر آب‌مقطر اضافه شد. سپس به کمک مخلوط‌کُن کاملا خرد، و با استفاده از پارچه متقال صاف (31)، و pH بخش مایع با استفاده از pHمتر (Metrohm 744) اندازه‌گیری شد. جهت اندازه‌گیری نیتروژن آمونیاکی 10میلی‌لیتر از عصاره تهیه شده در مرحله قبل با 10میلی‌لیتر اسیدکلریدریک 0/2نرمال مخلوط و غلظت نیتروژن آمونیاکی آن با روش ماک و با استفاده از دستگاه (Analyzer 1030Kjeltec Auto Tecator) تعیین گردید (31).

اندازه‌گیری فراسنجه‌های تولید گاز

روش تولید گاز در شرایط آزمایشگاهی مطابق با روش ارائه شده توسط منک و استینگاس(29) انجام گرفت. هر نمونه به وزن 200میلی‌گرم به‌همراه 30میلی‌لیتر مایع شکمبه مخلوط شده با بزاق مصنوعی به نسبت 1:2، در داخل شیشه‌های100میلی‌لیتری ریخته شد. سپس در حمام آبی 39درجه سانتی‌گراد انکوباسیون شدند. دو شیشه به‌عنوان شاهد با تولید گاز مشخص در هر سری جهت کنترل داده‌ها در حمام آبی قرار گرفت. مایع شکمبه از سه گوساله نَر فیستوله گذاری شده تغذیه شده با جیره بر پایه علوفه گرفته شد و داخل حمام آبی 39درجه سانتی‌گراد قرار گرفت، سپس با پارچه تنزیب دو لایه صاف شد. مایع شکمبه صاف شده در بطری ریخته شد و داخل فلاکس 39درجه سانتی‌گراد در شرایط بی‌هوازی سریعاً به آزمایشگاه انتقال یافت. بزاق مصنوعی به‌صورت تازه برای هر سری آماده شد.

سپس گاز CO_2 به‌صورت مداوم به داخل ظرف حاوی محلول فوق دمیده شد، تا در نتیجه این عمل، رنگ محلول فوق به‌تدریج به صورتی کم‌رنگ تبدیل شد. در این مرحله مایع شکمبه گرفته شده به محلول بزاق مصنوعی با نسبت 2 به 1 اضافه شد. در حین پُرکردن شیشه‌ها، به محلول، گاز CO_2 دمیده شد، سپس در زمان‌های 2، 4، 8، 12، 24، 48، 72 و 96ساعت انکوباسیون میزان فشار گاز با فشارسنج ثبت شد و با استفاده از فرمول آزمایشگاهی به مقدار گاز تولیدی تبدیل شد. در روش تولید گاز، داده‌ها در مدل نمایی ذیل قرار داده شدند و فراسنجه‌های b و c آن‌ها تعیین شد.

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

P = حجم تولید گاز در زمان t به‌صورت تجمعی، c = ثابت نرخ تولید گاز، b = گاز تولید شده از بخش قابل‌تخمیر، t = مدت زمان انکوباسیون.

برای تخمین قابلیت هضم ماده آلی از حجم گاز تولیدی بر اساس 200میلی‌گرم ماده خشک در طول 24ساعت و رابطه زیر استفاده شد (27).

$$OMD^{1}=14/88+0/899GP+0/45CP+0/065ASH$$

OMD: قابلیت هضم ماده آلی (گرم بر کیلوگرم ماده خشک)، GP: حجم گاز تولیدی تصحیح شده برای 24ساعت (میلی‌لیتر بر 200میلی‌گرم ماده خشک)، CP: پروتئین خام (بر حسب درصد)، ASH: خاکستر خام (گرم بر کیلوگرم ماده خشک). برآورد ماده آلی قابل‌هضم در ماده خشک (DOMD) با استفاده از رابطه زیر برآورد شد(27).

$$DOMD^{2}= OMD \times \%OM$$

DOMD: ماده آلی قابل‌هضم در ماده خشک (بر حسب درصد)، OMD: قابلیت هضم ماده آلی (بر حسب درصد)، OM: ماده آلی نمونه (بر حسب درصد).

برآورد انرژی قابل متابولیسم (ME):

این پارامتر بر اساس رابطه زیر محاسبه گردید (27).

$$ME^{3}=2/20 + 0/136\ GP + 0/00574\ CP$$

ME: انرژی قابل متابولیسم (مگاژول در کیلوگرم ماده خشک)، GP: حجم گاز تولیدی در 24ساعت (میلی‌لیتر بر 200میلی‌گرم ماده خشک)، CP: پروتئین خام (گرم بر کیلوگرم ماده خشک).

برآورد اسیدهای چرب زنجیرکوتاه (SCFA):

این پارامتر با استفاده از رابطه زیر محاسبه گردید (14):

$$SCFA^{4}=0/00425+0/0222\ GP$$

SCFA: اسیدهای چرب کوتاه‌زنجیر، GP: حجم گاز تولیدی در 24 ساعت (میلی‌لیتر بر 200میلی‌گرم ماده خشک).

تعیین پایداری هوازی سیلاژها

برای تعیین پایداری هوازی هر سیلو، حدود 1/5 تا 2کیلوگرم از سیلاژها در داخل ظرف قرار داده شد، سپس روی هر ظرف با دولایه پارچه پوشانده شد (کاهش تبادل دما با محیط و جلوگیری از آلودگی). دمای سیلاژها هر سه ساعت یک‌بار اندازه‌گیری و ثبت شد، تا این‌که دمای آن 2درجه سانتی‌گراد از دمای محیط بالا رفت، سیلاژهایی که زمان بیشتری را جهت این افزایش دما نشان دادند، پایدارترند (22).

تعیین تجزیه‌پذیری به روش کیسه‌های نایلونی

تجزیه‌پذیری سیلاژ ذرت با استفاده از روش کیسه‌های نایلونی تعیین شد. ابتدا نمونه‌های مواد خوراکی با آسیاب مخصوص و با غربال 2 میلی‌متری آسیاب شدند و مقدار پنج گرم نمونه آسیاب‌شده داخل کیسه‌های نایلونی از جنس الیاف پلی‌اِستر مصنوعی به‌ابعاد 16×9سانتی‌متر و قطر منافذ 53 میکرومتر ریخته شد و سر کیسه‌ها با نخ بسته شد. کیسه‌ها به‌مدت صفر، 2، 6، 12، 24، 36، 48، 72 و 96 ساعت در شکمبه مورد انکوباسیون قرار گرفتند. کیسه‌های مربوط به زمان صفر در شکمبه قرار داده نشدند و تنها با آب سرد شسته شدند، به‌طوری‌که آب زلال از آن‌ها خارج گردید. تمام کیسه‌ها پس از خروج از شکمبه بلافاصله با آب سرد شستشو داده شدند تا سریعا فعالیت میکروبی متوقف شود. این کار تا زمان صاف شدن کامل آب خروجی ادامه یافت. سپس کیسه‌ها به‌مدت چند دقیقه با ماشین لباسشویی شستشو داده شدند و در ادامه به‌مدت 48 ساعت در دمای 65 درجه سانتی‌گراد در آون خشک شدند. میزان ناپدید شدن ماده خشک با توجه به اختلاف مقدار ماده خشک قبل و بعد از انکوباسیون در شکمبه محاسبه گردید. جهت تعیین فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری ماده خشک در نمونه‌های موردبررسی، از معادله پیشنهادی ارسکوف و مکدونالد (34) استفاده شد و برازش داده‌ها با مدل زیر و با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS (مدل غیرخطی) انجام گرفت.

$$P = a + b\ [1 - e^{-ct}]$$

در این معادله: P: مقدار ناپدید شدن ماده خشک؛ a: بخش سریع‌تجزیه؛ b: بخش کُندتجزیه؛ c: ثابت نرخ تجزیه در واحد زمان و t: زمان انکوباسیون در شکمبه (ساعت) می‌باشد. تجزیه‌پذیری مؤثر نمونه‌ها با استفاده از معادله $ED = a + [(b \times c) / (c + k)]$ و با در نظر گرفتن نرخ عبور 0/05 در ساعت محاسبه شد. اجزای این معادله عبارت‌اند از:

1- Organic matter digestibility
2- Digestibility organic matter in dry matter
3- Metabolize energy
4- Short chain fatty acids

ED: تجزیه‌پذیری مؤثر در شکمبه؛ a: بخش سریع‌تجزیه؛ b: بخش کُندتجزیه؛ c: ثابت نرخ تجزیه و k: نرخ عبور.

محاسبات و آنالیز آماری

نتایج حاصل از آزمایشات ترکیبات شیمیایی و ویژگی‌های علوفه سیلو شده با استفاده از یک مدل کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام گرفت، مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانت در سطح احتمال پنج‌درصد انجام شد. برای تجزیه و تحلیل داده‌های فراسنجه‌های تولید گاز وتجزیه‌پذیری از طرح کاملاً تصادفی و سطح احتمال یک‌درصد استفاده گردید.

$y = \mu + \alpha_i + e_{ij}$

Yij= مقدار هر مشاهده، μ= میانگین کل، αi= اثر تیمار، eij= خطای آزمایشی.

نتایج و بحث

ترکیب شیمیایی علوفه تازه ذرت

داده‌های مربوط به ترکیب شیمیایی علوفه تازه ذرت قبل از سیلوکردن در جدول 1 نشان داده شده است. مواد مغذی موجود در ترکیب شیمیایی علوفه ذرت استفاده شده در این آزمایش، با برخی از گزارشات ارائه شده هم‌خوانی دارد (23 و38). داده‌های مربوط به اثر اسانس‌های گیاهی بر ترکیب شیمیایی سیلاژ ذرت در جدول (2) نشان داده شده است. داده‌های موجود در جدول (2) نشان داد که با افزودن اسانس به سیلاژ ذرت میزان pH سیلو کاهش می‌یابد. این کاهش pH به‌دلیل وجود باکتری‌های اسیدلاکتیکی می‌باشد که تولید اسیدلاکتیک در سیلو را افزایش داده و منجر به کاهش تولید اسیداستیک و بوتریک می‌گردند (39). افزودن تلقیح‌کننده‌های باکتریایی منجر به تحریک تولید اسیدلاکتیک و در نتیجه کاهش pH سیلو می‌گردند. بنابراین مصرف خوراک، قابلیت هضم ماده آلی و ماده خشک افزایش می‌یابد (42). افزودن اسانس پونه کوهی در غلظت 150میلی‌گرم به سیلاژ ذرت باعث کاهش معنی‌دار (P<0/05) pH نسبت به تیمار شاهد شده است (جدول 2). زیره 150 نیز باعث کاهش معنی‌دار (P<0/05) pH از 3/80 به 3/74 شد. هرچند بقیه تیمارها باعث کاهشpH سیلاژ ذرت نسبت به تیمار شاهد شدند، ولی اثر معنی‌داری نداشتند. لامبرت و همکاران (24) مشاهده نمودند که ترکیب تیمول و کارواکرول فعالیت ضد باکتری بالاتری از فعالیت تک‌تک آن‌ها به تنهایی دارد. اثر مهارکنندگی اسانس پونه کوهی عمدتاً به‌دلیل عمل افزایشی ضد باکتریایی این دو ترکیب می‌باشد. فالکون و همکاران (12) گزارش کردند که تیمول باعث مهار گونه‌های پیکیا و کاندیدا می‌شود که این مخمرها به‌عنوان آغازگر فساد در سیلو شناخته شده‌اند (36). با این‌حال نتایج این آزمایش نتایج چاوس و همکاران (10) را تأیید کرد که گزارش کردند، افزودن اسانس‌های گیاهی پونه کوهی، دارچین و پرتقال در سطح 37/5 ، 75 و120میلی‌گرم به‌ازای کیلوگرم ماده خشک سیلاژ جو، مقدار pH سیلاژ جو را کاهش داد، اگرچه این اختلاف معنی‌دار نبود. نتایج این آزمایش، موافق با نتایج کانگ و همکاران (23) بود که گزارش کردند افزودن مخلوطی از اسانس‌های تجاری (شامل لیمونن، وانیلین، ائوجینول و تیمول درسطح 40 و80میلی‌گرم به‌ازای کیلوگرم ماده خشک سیلاژ ذرت) مقدار قابل‌توجهی pH سیلاژ ذرت را کاهش داد، اگرچه این اختلاف معنی‌دار نبود. از نتایج این آزمایش می‌توان نتیجه گرفت، احتمالاً چون اسانس‌های گیاهی باعث مهار میکروارگانیسم‌هایی که مسئول فساد در سیلو هستند می‌شوند، باعث کاهش pH شده‌اند. بین میزان ماده خشک، ماده آلی، چربی خام، NDF، ADF، همی‌سلولز و خاکستر سیلوی ذرت در بین تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌داری با تیمار شاهد وجود ندارد(جدول 2). چاوس و همکاران (10) هیچ تأثیر معنی‌داری از افزودن اسانس‌های گیاهی بر سیلوی جو بر پارامترهای ذکر شده پیدا نکردند. افزودن اسانس پونه کوهی به سیلوی ذرت اثر معنی‌داری (P<0/05) بر پروتئین خام نسبت به تیمار شاهد داشت (جدول 2). به‌طوری‌که در تیمار پونه کوهی 150 باعث افزایش معنی‌دار (P<0/05) پروتئین خام از 8/29 درصد به 9/24 درصد شده است.

جدول 1 - ترکیب شیمیایی علوفه تازه ذرت قبل از سیلوکردن(بر حسب درصد)

Table 1- Chemical composition of fresh whole plant corn before ensiling

ماده خشک		الیاف نامحلول در شوینده خنثی	الیاف نامحلول در شوینده اسیدی	پروتئین خام	خاکسترخام
Dry matter	pH	Neutral detergent fibre	Acid detergent fibre	Crude protein	ash
31.13	5.43	51.65	24.37	8.35	6.30

خام از 8/29درصد به 9/24درصد شده است. با این‌حال بقیه تیمارهای عمل‌آوری شده با اسانس باعث افزایش پروتئین خام نسبت به تیمار شاهدشدند ولی این افزایش معنی‌دار نبود. افزایش پروبیوتیک به سیلوی ذرت حاوی 27/91درصد ماده خشک منجر به افزایش پروتئین خام سیلو می‌گردد. پایین آمدن مقدار pH موجب مهار تجزیه پروتئین در سیلاژها می‌شود (39). اثر اسانس‌ها بر تجزیه پروتئین در

منابع پروتئینی ممکن است، به‌واسطه تأثیر بر جمعیت و فعالیت باکتری رومینوکوکوس آمیلوفیلوس انجام شود. زیرا این باکتری علاوه‌بَر فعالیت آمیلولایتیکی آن، به‌واسطه مشارکت در هضم مکمل پروتئینی، چسبیدن و کلونیزه شدن به ماده خوراکی فعالیت پروتئولایتیکی راکاهش می‌دهد (41). گونه پروتلا در تمام مراحل تجزیه پروتئین، خصوصاً در شکستن پپتیدها بسیار مؤثر هستند. والاس (41) بیان می کند که مدارکی وجود دارد که نشان می دهد اسانس‌ها اثرات مستقیمی بر فعالیت متابولیکی پروتلا دارند. بنابراین اسانس‌ها ممکن است چند نوع اثر مستقل از هم داشته باشند. آندو و همکاران (2) گزارش کرده اند که تغذیه 200گرم در روز نعناع (یعنی30گرم در کیلوگرم مجموع DM جیره غذایی) به گوساله‌های نَر اَخته شده هلشتاین تعداد کل پروتوزوآ و تعداد انتودینیوم ، ایزوتریکا و دیپلودیوم را کاهش می‌دهد. گاستافسون و بوون (16) گزارش کردند که اسانس‌ها دارای پتانسیل انعقاد بعضی از مواد تشکیل دهنده دیواره سلولی، از طریق دناتوره کردن پروتئین‌ها می‌باشند. بعضی از ترکیبات فنولی و غیرفنولیک با پروتئین‌ها و سایر مولکول‌های فعال زیستی همانند آنزیم‌ها واکنش می‌دهند (20). به‌نظر می‌رسد که احتمالاً اسانس پونه کوهی در غلظت 150میلی‌گرم به‌ازای کیلوگرم ماده خشک سیلاژ، باعث مهار فعالیت پروتئولایتیکی از طریق مهار باکتری‌های تجزیه‌کننده پروتئین می‌شود و در نتیجه باعث افزایش معنی‌دار (P<0/05) پروتئین خام نسبت به تیمار شاهد شد. افزودن اسانس پونه کوهی در غلظتهای 150 و 100میلی‌گرم به سیلوی ذرت اثر معنی‌داری (P<0/05) بر نیتروژن آمونیاکی نسبت به تیمار شاهد داشته است (جدول2). به‌طوری‌که در تیمار پونه کوهی 150 باعث کاهش معنی‌دار (P<0/05) نیتروژن آمونیاکی از 1/213 به 1/066میلی‌گرم بر دسی‌لیتر شده است. هم‌چنین پونه کوهی 100 باعث کاهش معنی‌دار (P<0/05) نیتروژن آمونیاکی از 1/213 به 1/075میلی‌گرم بر دسی‌لیتر شده است. زیره 150 نیز باعث کاهش معنی‌دار (P<0/05) نیتروژن آمونیاکی از 1/213 به 1/039میلی‌گرم بر دسی‌لیتر شد. . بوسکت و همکاران (6) گزارش کردند که وقتی اسانس پونه کوهی و تشکیل‌دهنده ترکیب اصلی آن کارواکرول در غلظت های مشابه (به‌عنوان مثال ، 3000میلی‌گرم در لیتر) مورد استفاده قرار می‌گیرند، غلظت نیتروژن آمونیاکی را در محیط کشت دوطرفه در شرایط برون‌تنی کاهش می‌دهند ، پس کارواکرول عامل اکثریت فعالیت‌های ضد میکروبی در اسانس پونه کوهی محسوب می‌شود.

جدول 2 - اثر اسانس‌های گیاهی بر ترکیب شیمیایی سیلاژ ذرت پس از 256روز سیلوکردن[1]

Table 2- Effects essential oils on composition of corn silages after 256 days ensiling[1]

Parameter پارامتر	Control شاهد	Ethanol اتانول	Oregano پونه کوهی 50	Oregano پونه کوهی 100	Oregano پونه کوهی 150	Cumin زیره سبز 50	Cumin زیره سبز 100	Cumin زیره سبز 150	sweet orange پرتقال 50	sweet orange پرتقال 100	sweet orange پرتقال 150	SEM
PH	3.80	3.77	3.79	3.75	3.74*	3.78	3.77	3.74*	3.78	3.80	3.76	0.01
Dry matter (%) ماده خشک	28.45	28.52	28.11	27.93	27.34	27.94	27.68	27.06	27.27	27.44	27.13	.0.62
Neutral detergent fibre (%) االیاف نامحلول در شوینده خنثی	47.87	47.76	49.48	48.17	49.16	48.21	48.31	49.43	48.87	48.70	49.54	0.6
Acid detergent fibre (%) االیاف نامحلول در شوینده اسیدی	22.72	22.72	22.97	23.84	23.93	23.25	23.27	24.01	24.21	23.12	23.61	0.46
Hemicellulose (%) همی‌سلولز	25.15	24.36	26.51	24.32	25.22	24.96	25.04	25.42	24.65	25.57	25.93	0.74
Organic matter (%) ماده آلی	93.72	93.54	91.94	93.26	92.21	92.90	92.17	92.41	93.30	93.81	93.86	0.68
Crude protein (%) پروتئین خام	8.29	8.27	8.44	8.90	9.24*	8.65	8.79	8.89	8.47	8.70	8.52	0.21
Ammonia-N (mg/dl) نیتروژن آمونیاکی	1.21	1.23	1.16	1.07*	1.06*	1.20	1.17	1.03*	1.22	1.18	1.26	0.03
ASH(%) خاکستر خام	6.28	6.46	8.06	6.73	7.78	7.09	7.82	7.58	6.69	6.19	6.13	0.68
Ether extract (%) چربی خام	1.57	1.62	1.58	1.70	1.66	1.73	1.56	1.70	1.61	1.68	1.77	0.08

[1] میانگین‌های با حروف غیر مشابه در هر ردیف دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند (P <0/05).

[1] Mean with different alphabets are statistically different (P< 0.05).

هارت و همکاران (17) با استفاده از محیط کشت حاوی مجموعه‌ای از میکروارگانیسم‌های شکمبه نشان دادند لیمونن، تیمول، وانیلین، گویاکول و نیز عصاره پونه کوهی غلظت نیتروژن آمونیاکی شکمبه را کاهش دادند. افزودن اسانس نعناع فلفلی به جیره گاوهای شیری در شرایط برون‌تنی نیز فاکتور فوق را کاهش داد. کاردوزو و همکاران (8) نشان دادند لیمونن، وانیلین، اوژینول، تیمول و گویاکول در شرایط برون‌تنی غلظت نیتروژن آمونیاکی را کاهش دادند. اسانس‌های گیاهی و مونزین با اثرات ممانعت‌کننده بر پرتئولیز و دی‌آمیناسیون، غلظت نیتروژن آمونیاکی را در شکمبه کاهش دادند (32).

بروچرز (5) نشان داد که افزودن تیمول به مایع شکمبه منجر به انباشتگی اسیدهای آمینه و کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی گشت. وی پیشنهاد کرد که ترکیب فوق مانع از دی‌آمیناسیون اسیدهای آمینه توسط باکتری‌های شکمبه می‌گردد. کاردوزو و همکاران (8) در آزمایشی با استفاده از یک سیستم کشت متداوم، اثر برخی از عصاره‌های طبیعی گیاهان را بر تجزیه پروتئین و تخمیر شکمبه‌ای در شرایط برون‌تنی بررسی کردند. این محققان گزارش کردند که روغن سیر باعث کاهش غلظت نیترون آمونیاکی و افزایش میزان پروتئین اسید آمینه‌ای و پپتیدی شد. این نتیجه نشان‌دهنده تأثیر ممانعت‌کنندگی روغن سیر بر عمل دی‌آمیناسیون می‌باشد. هم‌چنین در آزمایشی دیگر که فرِم و همکاران (13) انجام دادند روغن سیر سبب تغییر در جمعیت میکروبی در محیط کشت مداوم شد، به‌طوری‌که میزان گونه‌های پروتلا نسبت به کل جمعیت میکروبی کاهش یافت و از آنجایی‌که این گونه‌ها عمدتاً مسئول تجزیه پروتئین و دی‌آمیناسیون اسیدهای آمینه هستند، می‌تواند نشان‌دهنده مکانیسم عمل روغن سیر بر متابولیسم پروتئین باشد. کاهش در جمعیت باکتری‌های گونه پروتلا که وظیفه تجزیه پروتئین و دی‌آمیناسیون اسیدهای آمینه را دارند، یکی از مکانیسم‌های عمل روغن سیر بر متابولیسم پروتئین بیان شده است (13). به‌نظر می‌رسد که چون اسانس‌های گیاهی اثرات ممانعت‌کننده بر پرتئولیز و دی‌آمیناسیون دارند، احتمالاً اثرات ممانعت‌کننده آن‌ها بر فعالیت های پروتولایتیکی باعث کاهش تجزیه پروتئین سیلاژ ذرت شده، و در نتیجه باعث کاهش نیتروژن آمونیاکی نیز می‌شود.

اثر اسانس‌های گیاهی بر فراسنجه‌های تولید گاز

میانگین گاز تولید شده از بخش قابل‌تخمیر در بین تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی‌داری داشت (P<0/01) (جدول 3). بیش‌ترین میانگین گاز تولیدی از بخش قابل‌تخمیر در تیمارهای پرتقال100، پونه150 و پونه 100(به‌ترتیب 60/55، 58/85 و58/81میلی‌لیتر در ساعت)، و کمترین آن در تیمارهای پرتقال150، زیره50 و زیره 150 (به‌ترتیب 53/38، 53/03 و50/13میلی‌لیتر در ساعت) در مقایسه با شاهد (55/700میلی‌لیتر در ساعت) مشاهده شد. هم‌چنین ثابت نرخ تولید گاز به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت (P<0/01). بالاترین ثابت نرخ تولید گاز مربوط به تیمارهای پونه 100، پونه 50، پونه 150، اتانول و پرتقال 50 (به‌ترتیب 0/043، 0/036، 0/035، .0/034 و 0/033میلی‌لیتر در ساعت) و کمترین آن مربوط به تیمار های زیره100 و زیره 150 (به‌ترتیب 0/029 و 0/026میلی‌لیتر در ساعت) در مقایسه با شاهد (0/029میلی‌لیتر در ساعت) مشاهده شد.

افزودن اسانس‌های گیاهی بر سیلاژ ذرت تأثیر معنی‌داری (P<0/01) بر قابلیت هضم ماده خشک، انرژی قابل متابولیسم، اسیدهای چرب کوتاه‌زنجیر و ماده آلی قابل‌هضم در ماده خشک داشت (جدول 3). بیش‌ترین قابلیت هضم ماده خشک در تیمارهای پونه 100 و پونه 150 (به‌ترتیب 49/16 و 45/92 درصد ماده خشک) و کمترین آن در تیمارهای زیره 100 و زیره 150 (به‌ترتیب 39/47 و 38/75درصد ماده خشک) در مقایسه با شاهد (42/70 درصد ماده خشک) مشاهده شد. بیش‌ترین انرژی قابل متابولیسم در تیمارهای پونه 100 و پونه 150 (به‌ترتیب 12/42 و 12/12مگاژول در هر کیلوگرم ماده خشک) و کمترین آن در تیمارهای زیره 100 و زیره 150 (به‌ترتیب 10/48 و 10/88 مگاژول در هر کیلوگرم ماده خشک) در مقایسه با شاهد(11/10 مگاژول در هر کیلوگرم ماده خشک) مشاهده شد. بیش‌ترین میزان اسیدهای چرب کوتاه‌زنجیر در تیمارهای پونه 100 و پونه 150 (به‌ترتیب 0/83 و 0/74 میلی‌مول) و کمترین آن در تیمارهای زیره 100 و زیره 150 (به‌ترتیب 0/58 و 0/57میلی‌مول) در مقایسه با شاهد(0/67میلی‌مول) مشاهده شد.

بیش‌ترین میزان ماده آلی قابل هضم در ماده خشک در تیمار پونه 100 (45/85 درصد ماده خشک) و کمترین آن در تیمارهای زیره 100 و زیره 150 (به‌ترتیب 36/37 و 36/25درصد ماده خشک) در مقایسه با شاهد (40/02درصد ماده خشک) مشاهده شد. در آزمایش پاترا و همکاران (37) عصاره‌های رازیانه و گل میخک، که با استفاده از اتانول و یا متانول استخراج شده بودند، باعث کاهش گاز تولیدی در محیط برون‌تنی شدند. در حالی‌که عصاره سیر که با استفاده از آب استخراج شده بود، اثر افزایشی بر تولید گاز داشت. لی و همکاران (25) در آزمایشی اثر سارساپونین را بر تخمیر میکروبی شکمبه با استفاده از نشاسته ذرت و نشاسته سیب‌زمینی در شرایط برون‌تنی مورد ارزیابی قرار دادند. این محققین مشاهده نمودند، استفاده از سارساپونین در هر دو پایه خوراکی طی 24ساعت انکوباسیون کل گاز

تولیدی را افزایش و تولید متان را کاهش داد. این محققین پیشنهاد کردند که افزایش تولید گاز می‌تواند به‌علت افزایش تولید پروپیونات باشد که ناشی از تولید دی‌اکسیدکربن در اثر سنتز پروپیونات از مسیر سوکسینات:پروپیونات می‌باشد. مصرف خوراک و قابلیت هضم آلی با افزودن تلقیح‌کننده‌های میکروبی به سیلاژ ذرت افزایش می‌یابد (9).

جدول 3 - اثر اسانس‌های گیاهی بر فراسنجه‌های تولید گاز سیلاژ ذرت پس از 256 روز سیلوکردن[1]

Table 3- Effects of essential oils on gas production parameters after 256 days ensiling[1]

Parameter	Control شاهد	Ethanol اتانول	Oregano پونه کوهی			Cumin زیره سبز			sweet orange پرتقال			SEM
			50	100	150	50	100	150	50	100	150	
B[2] بخش سریع‌تجزیه	55.70	56.13	55.92	57.81**	58.85**	53.03**	54.51	50.13**	56.41	60.5[5]**	53.38**	0.30
C[3] بخش کُندتجزیه	0.029	0.034**	0.036**	0.043**	0.035**	0.031	0.026	0.029	0.033**	0.031	0.031	0.006
OMD[4] (g/kg) ثابت نرخ تجزیه	42.70	44.29	45.69	49.16**	45.92**	41.31	39.47**	38.75**	44.71	45.65	42.26	0.59
ME[5] (Mj/kg) پتانسیل تجزیه‌پذیری	11.10	11.67	11.62	12.42**	12.12**	11.08	10.88	10.48	11.50	11.78	11.16	0.16
SCFA[6] تجزیه‌پذیری مؤثر	0.671	0.708	0.742	0.830**	0.748**	0.636	0.589**	0.574**	0.720	0.744	0.661	0.01
DOMD[7] (%) ماده آلی قابل هضم در ماده خشک	40.02	40.92	42.01	45.85**	42.33	38.38	36.37**	36.25**	41.72	42.82	39.67	0.57

[1] میانگین‌های با حروف غیر مشابه در هر ردیف دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند (P <0/05).

[1] Mean with different alphabets are statistically different (P< 0.05).
[2] volume of gas produced
[3] Fractional rate constant of gas production
[4] Organic matter digestibility
[5] Metabolize energy
[6] Short chain fatty acids
[7] Digestibility organic matter in dry matter

افزودن تلقیح‌کننده باکتریایی به سیلاژ ذرت منجر به افزایش قابلیت هضم ماده آلی، کل ماده خشک و قابلیت هضم ظاهری ماده خشک شکمبه‌ای میگردد (1). افزودن تلقیح‌کننده‌های میکروبی منجر به افزایش کیفیت سیلاژ، قابلیت هضم ماده مغذی و انرژی خالص برای شیردهی می‌شود، این عمل منجر به کاهش تجزیه‌شدن پروتئین و در نتیجه افزایش قابلیت هضم ماده آلی در ماده خشک می‌شود (19). گزارش شده است که هم‌بستگی قوی بین مقدار انرژی متابولیسمی اندازه‌گیری شده، میزان گاز تولید شده در شرایط برون‌تنی با زمان انکوباسیون 24ساعته و ترکیبات شیمیایی خوراک‌ها وجود دارد (29). بالابودن قابلیت هضم ماده آلی در تیمار اسانس پونه کوهی می‌تواند احتمالاً به‌خاطر بالابودن کربوهیدرات‌های محلول در آب باشد، این کربوهیدرات‌ها می‌توانند زمینه را برای رشد میکروب‌های درون سیلو هموار کنند. در نتیجه میزان انرژی متابولیسمی نیز افزایش خواهد یافت. به‌طور کلی افزودن اسانس پونه کوهی به سیلاژ ذرت گاز بیشتری تولید کرد. هم‌چنین اسانس پونه کوهی دارای توانایی تولید گاز ، انرژی قابل متابولیسم، اسیدهای چرب کوتاه‌زنجیر، ماده آلی قابل‌هضم در ماده خشک و قابلیت هضم ماده آلی بالاتری در مقایسه با تیمار شاهد بود. به‌نظر می‌رسد که اسانس پونه کوهی توانسته است به‌خوبی از مواد مغذی در طی فرایند سیلوکردن محافظت کند. چون مقدار گاز تولید شده از یک خوراک شاخصی از قابلیت تخمیر آن خورک، و در نتیجه ارزش انرژی‌زایی آن می‌باشد. لذا ممکن است چنین استنباط شود که چون اسانس زیره سبز باعث کاهش تولید گاز و متعاقباً کاهش تخمیر خوراک می‌گردد، جهت تعدیل فرایند تخمیر مناسب نمی‌باشد.

اثرات اسانس‌های گیاهی بر پایداری هوازی سیلاژ ذرت

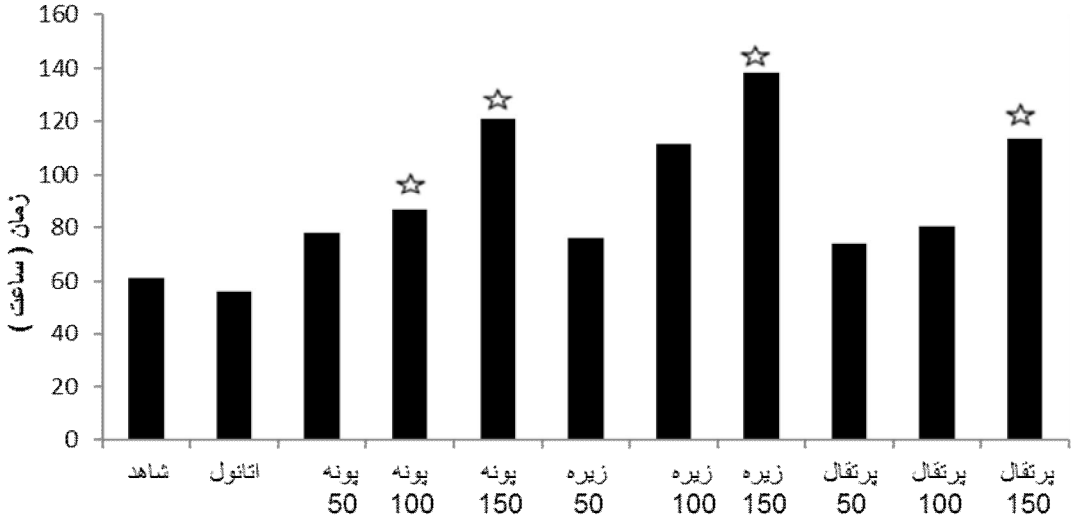
در این مطالعه دمای اولیه برای همه تیمارها مشابه بود. تیمارهای تلقیح شده با اسانس‌های گیاهی زیره 150، پونه 150، پرتقال 150، زیره 100 و پونه 100(به‌ترتیب 138، 121، 114، 112 و 87 ساعت) به‌طور معنی‌داری (P<0/05) در مقایسه با شاهد (61 ساعت) ، زمان طولانی‌تری برای افزایش 2درجه سانتی‌گرادی در دمای اولیه سیلو داشتند (شکل 1). در معرض هوا قرارگرفتن سیلوها ممکن است منجر به فساد سیلو شود. افزایش در دما، حاصل متابولیسم اسیدهای آلی و مواد مغذی باقیمانده توسط میکروارگانیسم‌های هوازی می‌باشد. تغییرات در دما می‌تواند به‌عنوان شاخصی از توسعه فساد هوازی

سیلاژها باشد. انتظار می‌رود با کاهش سریع pH در طول مراحل اولیه سیلو شدن، از رشد میکروارگانیسم‌های نامطلوب سیلویی مانند انتروباکترها و مخمرها جلوگیری شود. این داده‌ها به‌وسیله جمعیت کم مخمرها، کپک‌ها و انتروباکترهای نامطلوب بعد از چهار روز سیلو شدن نشان داده شده‌اند (18). اخیرا چاوس و همکاران (10) گزارش کردند که افزودن اسانس‌های گیاهی در مقدار 120میلی‌گرم به‌ازای کیلوگرم ماده خشک سیلاژ جو، باعث حفظ پایداری هوازی سیلاژ تا دو هفته نسبت به تیمار شاهد شد. از دلایلی که می‌توان برای عدم آلودگی سیلاژها مخصوصاً سیلاژ شاهد ذکر کرد این است که در مرحله برداشت و خُردکردن ذرت نهایت دقت به‌عمل آمده و بلافاصله پس از آن محصول سیلو گردید. هم‌چنین فشرده‌سازی در حین عملیات سیلوکردن به‌منظور خروج هوای محبوس در سیلاژ با نهایت دقت انجام شد. عدم رعایت این موارد می‌تواند به‌عنوان جایگاهی مناسب برای رشد قارچ محسوب شود.

اثرات اسانس‌های گیاهی بر تجزیه‌پذیری ماده خشک سیلاژ ذرت

همان‌طور که مشاهده می‌شود، بین فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری تیمارهای آزمایشی مورد مطالعه ، تفاوت معنی‌داری با تیمار شاهد مشاهده نمی‌شود(جدول 4). با این حال بیش‌ترین میزان تجزیه‌پذیری در بخش سریع‌تجزیه مربوط به تیمار پرتقال 100 (39/21) و کمترین میزان مربوط به تیمار پونه 150 (30/60) بوده است.

در بخش کُند تجزیه نیز بیشترین میزان مربوط به تیمار پونه 150 (51/85) بوده است که از لحاظ بخش سریع‌تجزیه کمترین میزان را داشته است. بیش‌ترین میزان ثابت نرخ تجزیه مربوط به تیمار اتانول (0/034)، و کمترین آن مربوط به تیمار پونه100 (0/023) بود. بیش‌ترین میزان پتانسیل تجزیه‌پذیری مربوط به تیمارهای پونه 100، پونه 150 و پرتقال 100 (به‌ترتیب 0/83، 0/82 و 0/81) می‌باشد، و تیمارهای پرتقال 150، زیره 150 و زیره 100 (به‌ترتیب 0/71، 0/74 و 0/77) پایین ترین پتانسیل تجزیه‌پذیری را نسبت به تیمار شاهد (0/78) داشتند، هرچند تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. بیش‌ترین درصد تجزیه‌پذیری مؤثر ماده خشک (0/05) مربوط به تیمار پرتقال 100 (0/53)، و کمترین آن برای تیمار پونه 150 (0/47) بود. در آزمایشی که توسط نیوبلد و همکاران (33) با استفاده از روش کیسه‌های نایلونی انجام شد، افزودن مخلوطی از ترکیبات فعال اسانس‌های گیاهی (کرینا) به جیره گوسفندان بالغ اثری بر ناپدیدی ماده خشک طی 96 ساعت انکوباسیون در شکمبه نداشت. با این‌حال اسانس‌های پونه 100، پونه 150 و پرتقال 100 پتانسیل تجزیه‌پذیری بیشتری نسبت به تیمار شاهد داشتند، و تیمارهای پرتقال 150، زیره 100 و زیره 150 پایین‌ترین تجزیه‌پذیری را نسبت به شاهد داشتند. داده‌های حاصل از نتایج آزمایش تولید گاز (جدول 3) نیز نشان دادند که بیش‌ترین میزان گاز تولیدی نیز مربوط به تیمار های پونه 100، پونه 150 و پرتقال 100 می‌باشد. هم‌چنین کمترین میزان گاز تولیدی نیز مربوط به تیمار های زیره 150، زیره 50 و پرتقال 150 می‌باشد.



شکل 1- اثر اسانس‌های گیاهی بر تغییرات دمایی سیلاژهای ذرت پس از 256 روز سیلوکردن

Figure 1-- Effects of essential oils onTemperature changes of corn silage.

Essential oil treatment means marked with a symbol differ from control (P<0.05).

جدول 4 - اثر اسانس‌های گیاهی بر بر فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری ماده خشک سیلاژ ذرت پس از 256 روز سیلوکردن[1]

Table 4- Effects of essential oils on degradability coefficients of dry matter after 256 days ensiling[1]

Parameter پارامتر	Control شاهد	Ethanol اتانول	Oregano پونه کوهی			Cumin زیره سبز			sweet orange پرتقال			SEM
			50	100	150	50	100	150	50	100	150	
A[2] بخش سریع‌تجزیه	35.07	31.73	36.26	37.75	30.60	36.19	31.92	32.60	35.04	39.21	34.81	0.032
B[3] بخش کُندتجزیه	44.29	46.09	41.97	48.19	51.85	41.37	45.33	42.18	43.88	42.06	36.70	0.033
C[4] ثابت نرخ تجزیه	0.025	0.029	0.024	0.023	0.024	0.025	0.028	0.034	0.024	0.027	0.033	0.005
PD[5] پتانسیل تجزیه‌پذیری	79.30	77.82	78.23	83.94	82.45	77.57	77.26	74.78	78.92	81.28	71.51	0.037
ED[6] تجزیه‌پذیری مؤثر	49.76	48.75	50.37	51.24	47.18	50.13	48.04	49.66	49.12	5359	49.54	0.022

[1] میانگین‌های با حروف غیر مشابه در هر ردیف دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند (P <0/05).

[1] Mean with different alphabets are statistically different (P< 0.05).
[2] Quickly degradable fraction
[3] Slowly degradable fraction
[4] Fractional degradation rate constant
[5] Potential degradability5
[6] Effective degradability (0.05)

بنابراین، می‌توان نتیجه گرفت که بین میزان تجزیه‌پذیری، گاز تولیدی و قابلیت هضم، رابطه مستقیم خطی وجود دارد، به‌طوری‌که با افزایش تجزیه‌پذیری در تیمار های پونه 100، پونه 150 و پرتقال 100، میزان گاز تولیدی، قابلیت هضم ماده آلی و قابلیت هضم ماده آلی در ماده خشک نیز در این تیمارها افزایش یافته است. هم‌چنین تیمارهای پونه 100 و پونه 150 (جدول3) نسبت به دیگر تیمارهای آزمایشی بیش‌ترین میزان انرژی متابولیسمی را به‌خود اختصاص داده‌اند، و این حاکی از آن است که احتمالاً تجزیه‌پذیری و قابلیت هضم بر میزان انرژی متابولیسمی نیز تأثیر می گذارد.

نتیجه‌گیری کلی

به‌طور کلی افزودن اسانس پونه کوهی به سیلاژ ذرت گاز بیشتری تولید کرد. هم‌چنین اسانس پونه کوهی دارای توانایی تولید گاز، انرژی قابل متابولیسم، اسیدهای چرب کوتاه‌زنجیر، ماده آلی قابل هضم در ماده خشک و قابلیت هضم ماده آلی بالاتری در مقایسه با تیمار شاهد بود. به‌نظر می‌رسد که اسانس پونه کوهی توانسته است به‌خوبی از مواد مغذی در طی فرایند سیلوکردن محافظت کند.

منابع

1- Aksu, T., E. Baytok, K. Akif and H. Muruz. 2006. Effect of formic acid, malasses and inuculant additives on corn silage composition, organic matter digestibility and microbial protein synthesis in sheep. Small Ruminant Research, 61:29-33.
2- 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.
3- AOAC. 1990. Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists. Vol. 1. 15th ed., Arlington, VA.
4- Bolsen, K. K., D. R. Bonilla, G. L. Huck, M. A. Young and R. A. Hart-Thakur. 1996. Effect of propionic acid bacterial inoculant on fermentation and aerobic stability of whole-plant corn silage. In: Report of progress of Kansas state university agricultural experiment station. Kansas state university, Manhattan, pp 78–81.
5- Brochers, R., 1965. Proteolytic activity of rumen fluid in vitro. Journal of Animal Science, 24: 1033-1038.
6- 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.
7- Calsamiglia, S., L. Castillejos, and M. Busquet. 2006. Alternatives to antimicrobial growth promoters in cattle. Pages 129–167 in Recent Advances in Animal Nutrition, P. C. Garnsworthy, and J. Wiseman, ed. Nottingham

University Press, Nottingham, UK.
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 Animal Science, 82: 3230–3236.
9- Chamberlain, D.G. 1982. Effect of added glucose and xylase on the fermentation of perennial ryegrass silage inoculated with Lactobacillus plantarum. Journal of the Science of Food and Agriculture, 46: 129–138.
10- Chaves, A. V., J. Baah, Y. Wang, T. A. McAllistera, and C. Benchaar. 2012. Effects of cinnamon leaf, oregano and sweet orange essential oils on fermentation and aerobic stability of barley silage. Journal of the Science of Food and Agriculture, 92: 906–915.
11- Davidson, P. M., and A. S. Naidu. 2000. Phyto-phenols. Pages 265– 293 in Natural Food Antimicrobial Systems. A. S. Naidu, ed. CRC Press, Boca Raton, FL.
12- Falcone, P., B. Speranza, M. A. Nobile, M. R. Corbo, and M. Sinigaglia. 2005. A study on the antimicrobial activity of thymol intended as a natural preservative. Journal of Food Protection, 68: 1664–1670.
13- Ferme, D., M. Banjac, S. Calsamiglia, M. Busquet, C. Kamel, and G. Avgustin. 2004. The effects of plant extracts on microbial community structure in a rumen-simulating continuous culture system as revealed by molecular profiling. Folia Microbiol. (Praha) 49:151–155.
14- Gottschalk, G. 1986. Propionate and Succinate Fermentation. In: Gottschalk, G. (Ed.) Bacterial Metabolism. pg 242-244. Springer-Verlag, New York.
15- Guenther, E., 1948. The essential Oils. D. Van Nostrand, New York.
16- Gustafson, R. H., and R. E. Bowen. 1997. Antibiotic use in animal agriculture. Journal of Applied Microbiology, 83: 531–541.
17- Hart, K.J., D.R. Y´a˜nez-Ruiz, S.M. Duval, N.R. McEwan, C.J. Newbold. 2008. Plant extracts to manipulate rumen fermentation. Animal Feed Science and Technology, 147:8–35.
18- 18-Hassant, F., A. F. Mustafa, and P. Seguin. 2007. Effects of inoculation on ensiling characteristics, chmical composition and aerobic stability of regular and brown midrib millet silages. Journal of Animal Science, 139: 125-140.
19- Ilakova, J., Knotek, S and Golecky, J 1998. Assessment of the effect of probiotic on nutritive value of grass silage. Proceedings of the 17th general meeting *of EGF*, Debrecen, Hungry. PP: 733-735.
20- Juven, B. J., J. Kanner, F. Schved, and H. Weisslowicz. 1994. Factors that interact with the antibacterial action of thyme essential oil and its active constituents. Journal of applied bacteriology, 76: 626–631.
21- Kung, Jr, L., and Ranjit, N. K. 2001. The effect of Lactobacillus buchneri and other additives on the fermentation and aerobic stability of barley silage. Journal of Dairy Science, 84: 1149−1155.
22- Kung, Jr. L., Myers, C. L., Neylon, J. M., Taylor, C. C., Lazartic, J., Mills, J. A., and Whaiter, A. G. 2004. The effects of buffered propionic acid –based additives alone or combined with microbial inoculation on the fermentation of high moisture corn and whole –crop barley. Journal of Dairy Science, 87: 1310-1316.
23- Kung Jr L, Williams P, Schmidt RJ and Hu W.2008. A blend of essential plant oils used as an additive to alter silage fermentation or used as a feed additive for lactating dairy cows. Journal of Dairy Science, 91:4793–4800.
24- Lambert, R.J.W., Skandamis, P.N., Coote, P., Nychas, G.-J.E., 2001. A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. Journal of Applied Microbiology, 91: 453–462.
25- Lee, S. E., H. J. Hwang, J. S. Ha, H. S. Jeong, and J. H. Kim. 2003. Screening of medicinal plant extracts for antioxidant activity. Life Sciences, 73:167–179.
26- Losa, R., 2001. The use of essential oils in animal nutrition. In: Feed Manufacturing in the Mediterranean Region. Improving Safety: From Feed to Food. Proceedings of the III Conference of Feed Manufacturers of the Mediterranean. Reus, Spain.
27- Makkar, H. P. S. 2004. Recent advances in the *in vitro* gas method for evaluation of nutriational quality of feed resources. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy. 33: 170-184.
28- McDonald, P., Henderson, A.R. and Heron, S.J.E., 1991. The Biochemistry of Silage.Chalcombe Publications, Marlow, UK, pp. 184-236.
29- Menke, K.H. and H. Steingass, 1988. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and gas production using rumen fluid. Animal Research and Development, 28: 7-55.
30- Merensalmi, M. and Virkki, M., 1991. The role of enzymes in the preservation and utilization of forage. Proc. 5th Int. Symp. Forage Preservation, Nitra, Czechoslovakia, January 1991, pp. 43-46.
31- Muck, R. E. 1987. Dry matter level effects on alfalfa silage quality I. Nitrogen transformations. Trans. American Society of Agricultural Engineers, 30: 7 –14.
32- Nagy, J.G., H.W. Steinhoff, and G.M. Ward. 1964. Effects of essential oils of sagebush on deer rumen microbial function. Journal of Wildlife Management, 28: 785–790.
33- 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 and Technology, 114: 105–112.
34- Orskov, E.R. and I. Mcdonald. 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation

measurements weighted according to rate of passage. Journal of Agricultural Science, 92: 499-503.
35- Packiyasothy, E.V., Kyle, S., 2002. Antimicrobial properties of some herb essential oils. Food Australia 54:384–406.
36- Pahlow, G., R. E. Muck, F. Driehuis, S. J. W. H. Oude Elferink, and S. F. Spoelstra. 2003. Microbiology of ensiling. Pages 31–94 in Silage Science and Technology. D. R. Buxton, R. E. Muck, and J. H. Harrison, ed. American Society of Agronomy, Madison, WI.
37- Patra, A.K., D.N. Kamra, Neeta 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.
38- Ranjit, N. K., C. C. Taylor, and Jr. L. Kung. 2002. Effect of *lactobacillus buchneri* 40788 on the fermentation, aerobic stability and nutritive value of maize silage. Grass and Forage Science, 57: 73-81.
39- 39-Rowghani, E.1., Zamiri, M. J.1., Khorvash, M. and Abdollahipanah, A.1. 2008.a The effects of Lactobacillus plantarum and Propionibacterium acidipropionici on corn silage fermentation, ruminal degradability and nutrient digestibility in sheep.Journal of Journal of Animal and Veterinary Advances, 7: 263-267.
40- Van Soest, P.J., J.B. Robertson and B.A. Lewis. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and non-starch polysaccharide in relation to animal nutrition. Journal of Dairy Science, 74: 3583–3597.
41- Wallace, R.J., 2004.Antimicrobial properties of plant secondary metabolites. Proceedings of the Nutrition Society, 63: 621–629.
42- Wheeler, J. L and Mulcahy, C.1989. Consequences for animal production of cyanogenesis in sorghum and hay. Tropic. Grasslands, 23: 193-202.

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 8, No. 3, Fall 2016, p. 415-427

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد 8، شماره 3، پاییز 1395، ص. 427-415

Effects of Oregano, Cumin and Sweet orange Essential oils on Chemical Composition and Degradability Coefficients Corn silage in in-vitro Condition

H. Ghorbani[1]- A. Vakili[2*]- M. Danesh Mesgaran[3]

Received: 11-03-2014
Accepted: 11-03-2015

Introduction This study was conducted to evaluate the effect of essential oils of oregano, sweet orange and cumin on chemical composition, parameters of gas production capacity, aerobic stability and degradability of dry matter corn silage carried. Secondary metabolites such as essential oils have antimicrobial properties that by adjusting ruminal fermentation in ruminants to improve the use of nutrients. Oils or extracts of medicinal plants studied could be a viable alternative to Ionophores and antibiotics. While improving energy efficiency and the use of nitrogen in the rumen and reduce the production of methane and nitrogen excretion as environmental pollutants, antibiotic resistance in human pathogens reduced to its minimum Essential oils may be used in ruminant nutrition because silage and rumen fermentation depends on the microbial activity that can be affected by essential oils. Studies show the effects of essential oils on different processes in the rumen. The positive effects of antimicrobial essential oils has led the researchers sought to evaluate the potential of these materials are for controlling and improving rumen fermentation as a method of improving feed efficiency . Given that the effective range of essential oils and their compounds are widespread and many of them have still not been studied, this study was to evaluate these essential oils on ruminal fermentation parameters.

Materials and Methods Corn forage was harvested at 30 to 31% of dry matter (DM) content and chopped with a forage harvester to a theoretical of 50, 100 and 150 mgEOkg−1 DM. To determine dry matter, crude protein, crude fat and ash from the recommended methods AOAC (1990) was used. As well as to determine neutral detergent fiber (NDF) and acid detergent fiber (ADF) of Van Sousse and colleagues Van Soest et al.,(1991) were used. ADF was also the hemicellulose length of 1–2 cm. Essential oil (EO), Cumin (CUM), Oregano (ORE) was dissolved in 0.5 v/v aqueous ethanol and sprayed onto the forage at a rate of 5.56 mL kg−1 silage. The oils were applied to the forage to achieve final concentrations fraction of NDF (Chaves et al., 2012). The concentration of ammonia nitrogen were determined using the method Mu and by device (Kjeltec Auto 1030 Analyzer Tecator). Measurement parameters gas production with the method Menke and. Steingass (1988). Estimates OMD and ME According to equations (Makkar. 2004) were determined. Estimation of short chain fatty acids according to equation Gottschalk (1986) was determined. Determine the parameters of degradability matter in samples studied was by proposed equation Orskov and I. McDonald (1979). The data was analyzed considering a completely randomized design.

Results and Discussion The pH of corn silage treated with oregano 150 and cumin 150 decreased in comparison with control treatment significantly (P<0/05). Treatment Oregano 150 had a more crude protein than the control treatment (P<0/05). Treatments Oregano 100, Oregano 150 and cumin 150 decreased ammonia nitrogen concentration compared to control treatment(P<0/05). treatments Oregano 100, Oregano 150 and sweet orange 150 increased gas production parameters part of fermentable than control treatment significantly(P<0/01). Treatments Cumin 50, cumin 150 and .sweet orange 150 decreased part of fermentable than the control treatment significantly (P<0/01). Treatments Oregano 100 was also increased rate constant of gas production (P<0/01). However Oregano 50 and sweet Orange 50 reduced gas production rate constant (P<0/01). Oregano 100 and 150, increased short-chain fatty acids, metabolizable energy and digestibility organic matter compared to the control treatment significantly (P<0/01). Cumin 100 and 150 decreased the digestibility of dry matter, organic matter, short-chain fatty acids and organic matter digestibility in comparison with control significantly (P<0/01). Silages treated with cumin 150, 100, oregano 150, 100 and orange 150 had greater

1-Graduated in Master's, College of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad,
2-Associate Professor Department of Animal Science Faculty of Agriculture of Ferdowsi University of Mashhad,
3-Professor Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad.
(*Corresponding Author Email: savakili@um.ac.ir)

aerobic stability compared to the control treatment (P<0/01). Corn silage dry matter degradation in in vitro was not affected by the different treatments. In general, the addition of Oregano essential oil to corn silage produced more gas. In general Add oregano essential oil to corn silage produced more gas. Oregano essential oil also has the ability to produce gas, energy metabolism, short-chain fatty acids, organic matter digestibility of dry matter and organic matter digestibility higher compared to the control group. It seems that the essential oil of oregano has been able to protect ensile well of nutrients in the process.

Key word: Aerobic stability, Corn silage, Essential oils, Gas production.