



دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گیلان

نشریه پژوهش در نشخوارکنندگان

جلد دوم، شماره چهارم، ۱۳۹۳

<http://ejrr.gau.ac.ir>

## تأثیر سطوح مختلف دانه و یا عصاره شنبلیله بر فراسنجه‌های تخمیر شکمبه به روش تولید گاز در آزمایشگاه

\*فریبا فریور<sup>۱</sup>، نورمحمد تربتی‌نژاد<sup>۲</sup>، یوسف جعفری آهنگری<sup>۳</sup>، سعید حسینی<sup>۴</sup>،

آشورمحمد قره‌باش<sup>۱</sup> و مختار مهاجر<sup>۵</sup>

<sup>۱</sup>استادیار گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه گنبد، <sup>۲</sup>استاد گروه تغذیه دام و طیور، <sup>۳</sup>استاد گروه فیزیولوژی دام و طیور و <sup>۴</sup>دانشیار گروه ژنتیک و اصلاح نژاد دام و طیور دانشکده علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، <sup>۵</sup>استادیار پژوهشی بخش علوم دامی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان گلستان  
تاریخ دریافت: ۹۲/۰۷/۳۰؛ تاریخ پذیرش: ۹۳/۰۲/۱۳

### چکیده

این تحقیق به منظور بررسی اثرات سطوح مختلف دانه و یا عصاره شنبلیله بر خصوصیات تخمیر شکمبه و تولید گاز در آزمایشگاه انجام گرفت. نمونه‌های خوراک شامل یک جیره کامل مخلوط فاقد دانه و یا عصاره شنبلیله (تیمار شاهد)، چهار جیره حاوی سطوح مختلف دانه شنبلیله (دو، چهار، شش و هشت درصد ماده خشک) و چهار جیره حاوی سطوح مختلف عصاره شنبلیله (۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲ درصد ماده خشک) با مایع شکمبه انکوبه گردید. تولید گاز نمونه‌ها در زمان‌های ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۲، ۲۴، ۳۶، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت پس از انکوباسیون اندازه‌گیری و فراسنجه‌های تولید گاز، گوارش‌پذیری ماده آلی، تولید اسیدهای چرب کوتاه زنجیر و انرژی متابولیسمی آن‌ها برآورد گردید. مقادیر pH و غلظت نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه در پایان انکوباسیون اندازه‌گیری گردید. افزودن دانه شنبلیله باعث افزایش معنی‌دار تولید گاز تجمعی، پتانسیل تولید گاز و ثابت نرخ تولید گاز گردید ( $P < 0.05$ ). میانگین اسیدهای چرب زنجیر کوتاه تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای مختلف نداشت اما گوارش‌پذیری ماده

\*نویسنده مسئول: [fariba\\_farivar@yahoo.com](mailto:fariba_farivar@yahoo.com)

آلی و انرژی قابل متابولیسم تیمارهای حاوی دانه شنبلیله به‌طور معنی‌داری بالاتر از تیمار شاهد بود ( $P < 0/05$ ). افزودن دانه شنبلیله در سطوح بالاتر از چهار درصد از ماده خشک جیره موجب افزایش معنی‌داری در pH نهایی گردید ( $P < 0/05$ ) اما روند مشخصی در غلظت نیتروژن آمونیاکی در پاسخ به افزودن دانه شنبلیله مشاهده نشد. افزودن عصاره شنبلیله تا سطح یک درصد از ماده خشک جیره باعث افزایش تولید گاز تجمعی، پتانسیل تولید گاز، گوارش‌پذیری ماده آلی، اسیدهای چرب کوتاه زنجیر و انرژی قابل متابولیسم جیره‌ها گردید ( $P < 0/05$ ) ولی سطوح بالاتر آن افزایش معنی‌داری در فراسنجه‌های مذکور به‌همراه نداشت. اثر افزودن عصاره شنبلیله بر ثابت نرخ تجزیه تنها در سطح ۱/۵ درصد معنی‌دار بود ( $P < 0/05$ ). افزایش سطوح عصاره شنبلیله باعث افزایش معنی‌دار زمان تأخیر گردید ( $P < 0/05$ ). افزودن ۰/۵ درصد عصاره شنبلیله باعث افزایش معنی‌دار pH در مایع تخمیری گردید ( $P < 0/05$ ). بر اساس یافته‌های این آزمایش می‌توان نتیجه‌گیری کرد که افزودن دانه در سطوح دو تا چهار درصد از ماده خشک جیره و یا ۰/۵ تا ۱ درصد عصاره شنبلیله به جیره حیوانات نشخوارکننده می‌تواند باعث بهبود قابلیت تخمیر شکمبه، گوارش‌پذیری ماده آلی خوراک و افزایش تولید اسیدهای چرب فرار گردد.

**واژه‌های کلیدی:** شنبلیله، تولید گاز، تخمیر شکمبه، گوارش‌پذیری، نیتروژن آمونیاکی

#### مقدمه

روند تخمیر در شکمبه به‌دلیل اتلاف انرژی به‌صورت متان و اتلاف نیتروژن به‌صورت آمونیاک، عملکرد تولیدی حیوان را محدود کرده و از طرف دیگر باعث آزاد شدن آلاینده‌های زیست‌محیطی می‌گردد. در چند دهه گذشته، افزودنی‌های خوراکی مانند آنتی‌بیوتیک‌ها، یونوفرها، مهارکننده‌های تولید متان و مواد ضدپروتوزوایی به‌صورت موفقیت‌آمیزی برای کاهش این اتلاف انرژی و نیتروژن در شکمبه مورد استفاده قرار گرفته (کالسمیگلیا و همکاران، ۲۰۰۷؛ پاترا و ساکسنا، ۲۰۰۹) و باعث افزایش بازده تولید و کاهش اختلالات متابولیکی شده‌اند (چالوپا و همکاران، ۱۹۸۰). اما باقی‌ماندن برخی از این افزودنی‌ها در تولیدات دامی و نیز ایجاد مقاومت باکتریایی، مسائلی است که همواره باعث نگرانی متخصصین تغذیه بوده است (پاترا و ساکسنا، ۲۰۰۹). از طرف دیگر، استفاده از محرک‌های رشد آنتی‌بیوتیکی در خوراک حیوانات با نگرانی‌های اجتماعی روبرو شده و از سال ۲۰۰۶

استفاده از آن‌ها در اروپا ممنوع شده است (کالسمیگلیا و همکاران، ۲۰۰۷). حذف یونوفرها از خوراک حیوانات نشخوارکننده باعث افزایش ۳/۵ تا ۵ درصدی در هزینه‌های تولید می‌شود (کاردوزو و همکاران، ۲۰۰۵). بنابراین به نظر می‌رسد ارزیابی و جایگزینی افزودنی‌های خوراکی بی‌خطر برای حفظ سطح تولید کنونی بدون افزایش هزینه‌های تولید یا اختلالات متابولیکی ضروری باشد.

توجه به خصوصیات گیاهان دارویی و امکان استفاده از آن‌ها به‌عنوان افزودنی‌های خوراکی افق تازه‌ای از تحقیقات را در تغذیه دام گشوده است. مواد فیتوشیمیایی مختلفی مانند ساپونین‌ها (والدز و همکاران، ۱۹۸۶؛ والاس و همکاران، ۱۹۹۴)، روغن‌های اسانسی<sup>۱</sup> (والاس و همکاران، ۲۰۰۲؛ مکیتاش و همکاران، ۲۰۰۳؛ کالسمیگلیا و همکاران، ۲۰۰۷؛ رضایی و همکاران، ۲۰۱۰)، تانن‌ها (بیوچمین و همکاران، ۲۰۰۷؛ اسمیت و همکاران، ۲۰۰۵؛ جونز و همکاران، ۲۰۰۷؛ نوریان و روزبهان، ۲۰۱۲) و فلاونوئیدها (برودیسکو و همکاران، ۲۰۰۲؛ نوریان و روزبهان، ۲۰۱۲) از محدوده وسیعی از گونه‌های گیاهی جداسازی و از نظر اثر بر تخمیر شکمبه و بهبود قابلیت تولیدی حیوان مورد بررسی قرار گرفته‌اند. شنبلیله از جمله این گیاهان است.

شنبلیله<sup>۲</sup> گیاهی یک ساله متعلق به خانواده لگوم‌ها و یکی از گیاهان دارویی شناخته شده است که امکان تولید و کاربرد آن در جیره نشخوارکنندگان وجود دارد (میر و همکاران، ۱۹۹۷؛ میر و همکاران، ۱۹۹۸؛ آچاریا و همکاران، ۲۰۰۶). ساپونین‌های<sup>۳</sup> استروئیدی متعددی از دانه و عصاره شنبلیله استخراج و شناسایی شده‌اند که مهم‌ترین آن‌ها دیوسژنین<sup>۴</sup> می‌باشد (آچاریا و همکاران، ۲۰۰۸). در حال حاضر اطلاعات بسیار اندکی در مورد اثرات دانه و عصاره شنبلیله در نشخوارکنندگان موجود است. مواد مؤثره این گیاه دارویی می‌تواند با حذف جمعیت پروتوزوای شکمبه‌ای (گل و همکاران، ۲۰۰۸ ب)، کاهش تولید متان (گل و همکاران، ۲۰۰۸ الف) و افزایش تجزیه‌پذیری ماده آلی در شکمبه (گل و همکاران، ۲۰۰۸ الف؛ ناصری و همکاران، ۲۰۱۲) اثرات مطلوبی بر تخمیر شکمبه‌ای داشته باشد. هدف از این تحقیق مقایسه خصوصیات تخمیر و تولید گاز جیره‌های حاوی سطوح مختلف دانه

---

#### 1- Essential Oils

#### 2- *Trigonella foenum-graecum* L.

۳- ساپونین کلمه‌ای است که به بخش آگلیکون (غیرقندی) ساپونین‌ها اطلاق می‌شود و عمدتاً ساختار استروئیدی یا تری‌ترپنوئیدی دارد و بر این اساس ساپونین‌ها را به دو دسته عمده ساپونین‌های استروئیدی و تری‌ترپنوئیدی تقسیم می‌کنند.

#### 4- Diosgenin

یا عصاره شنبلیله به منظور بررسی امکان استفاده از آن به عنوان افزودنی خوراکی برای بهبود بازده تخمیر شکمبه در تغذیه نشخوارکنندگان بوده است.

### مواد و روش‌ها

**آماده‌سازی و تعیین ترکیبات شیمیایی خوراک‌های آزمایشی:** به منظور تعیین ترکیبات شیمیایی (ماده خشک، خاکستر، پروتئین خام، چربی خام) و انرژی خام، نمونه‌های تهیه شده از دانه شنبلیله به روش انجمن رسمی شیمیدانان کشاورزی<sup>۱</sup> (۲۰۰۵) مورد تجزیه شیمیایی قرار گرفت. سپس به منظور عصاره‌گیری، حدود ۲ لیتر دی اتیل اتر به ۵۰۰ گرم دانه شنبلیله آسیاب شده افزوده شد و ظرف حاوی مخلوط به مدت ۸ ساعت روی شیکر الکتریکی قرار گرفت. پس از آن به مخلوط اجازه ته‌نشین شدن داده شد و سپس مایع رویی تخلیه و باقی‌مانده دو بار با دی اتیل اتر شستشو داده شد. سپس ۱ لیتر متانول به ظرف حاوی نمونه چربی‌زدایی شده افزوده شد و مخلوط به مدت ۸ ساعت روی شیکر الکتریکی قرار گرفت. محلول بالایی و محلول حاصل از دو نوبت شستشوی بعدی با متانول جمع‌آوری و به وسیله خشک کن چرخشی الککل آن تبخیر گردید (چاپگین و وایزمن، ۲۰۰۵). سپس، خوراک‌های آزمایشی حاوی سطوح مختلف دانه شنبلیله (صفر، ۲، ۴، ۶، ۸ درصد ماده خشک، جدول ۱) و سطوح مختلف عصاره شنبلیله (صفر، ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲ درصد ماده خشک) تهیه و پس از اندازه‌گیری ماده خشک به منظور انجام آزمایش تولید گاز با الک ۱ میلی‌متری آسیاب گردید.

**اندازه‌گیری تولید گاز در آزمایشگاه:** این آزمایش به روش هونهایم<sup>۲</sup> (منک و همکاران، ۱۹۷۹) در آزمایشگاه فیزیولوژی دام موسسه تحقیقات علوم دامی کشور انجام گرفت. سه تکرار از هر نمونه خوراک به همراه شیرابه شکمبه و محلول بافر مصنوعی (به نسبت ۱ به ۲) در شرایط بی‌هوازی در داخل سرنگ‌های شیشه‌ای مخصوص، با قطر داخلی ۳۲ و طول ۲۰۰ میلی‌متر و با حجم ۱۵۰ میلی‌لیتر، در داخل انکوباتورهای مجهز به روتور<sup>۳</sup> در دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد به مدت ۹۶ ساعت مورد تخمیر قرار گرفت. تولید گاز نمونه‌های خوراک در ساعات صفر، ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۲، ۲۴، ۳۶، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت از آغاز انکوباسیون اندازه‌گیری شد. شیرابه شکمبه از گاوهای نر تالشی (میانگین وزن ۵۴۰

1- AOAC

2- Hohenheim

3- WTB Binder-werkservice WTB Binder labortechnik GmbH, Bersstr. 14, 78532 Turtlingen

نشریه پژوهش در نشخوارکنندگان (۲)، شماره (۴) ۱۳۹۳

کیلوگرم) فیستوله‌دار مزرعه تحقیقاتی در صبح روز شروع آزمایش قبل از خوراک‌دهی تهیه گردید. گاوها در شرایط مزرعه تحقیقاتی با جیره‌ای متشکل از یونجه خشک، کاه گندم، جو و سویا در سطح احتیاجات نگهداری تغذیه می‌شدند.

**محاسبه فراسنجه‌های تولید گاز:** فراسنجه‌های تولید گاز خوراک‌های مورد مطالعه بر اساس برآزش داده‌های تولید گاز در ساعات مختلف با استفاده از نرم‌افزار مطلب<sup>۱</sup> با معادله  $P = b(1 - e^{-c(t-Lt)})$  محاسبه گردید که در این رابطه  $P =$  مقدار گاز تولیدی در زمان  $t$  (میلی‌لیتر به ازای ۲۰۰ میلی‌گرم ماده خشک)،  $b =$  پتانسیل تولید گاز (میلی‌لیتر)،  $c =$  ثابت نرخ تولید گاز از بخش نامحلول در طول زمان (میلی‌لیتر بر ساعت)،  $t =$  زمان (ساعت) و  $Lt =$  فاز تأخیر (ساعت) است (منک و استینگاس، ۱۹۸۸)

جدول ۱- اجزا و ترکیب شیمیایی جیره‌های حاوی نسبت‌های مختلف دانه شنبليله (جداول انجمن ملی تحقیقات، ۱۹۸۵).

تیمار (درصد)					شاهد	اجزای جیره (درصد)
۸	۶	۴	۲	۱۳		
۱۳	۱۳	۱۳	۱۳	۱۳	۱۳	یونجه خشک
۱۳	۱۳	۱۳	۱۳	۱۳	۱۳	کاه گندم
۳۵	۳۵	۳۵	۳۵	۳۵	۳۵	دانه جو
۵	۵/۶۶	۷/۳۱	۹/۱۵	۱۲/۲	۱۲/۲	کنجاله تخم پنبه
۱۶/۱۵	۱۳	۱۳	۱۲/۱۸	۱۳	۱۳	سیوس گندم
۸	۶	۴	۲	۰	۰	دانه شنبليله
۹	۱۳/۵۵	۱۳/۸۹	۱۴/۸۶	۱۳	۱۳	تفاله چغندر قند
۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	نمک و مکمل ویتامینی معدنی
۰/۳	۰/۳	۰/۳	۰/۳	۰/۳	۰/۳	سنگ آهک
ترکیب مواد مغذی						
۲/۶۵	۲/۶۲	۲/۶۱	۲/۶۱	۲/۶۱	۲/۶۱	انرژی قابل متابولیسم (مگا کالری بر کیلوگرم)
۱۴/۴۴	۱۴/۰۸	۱۴/۲۱	۱۴/۳۵	۱۴/۹۶	۱۴/۹۶	پروتئین خام (درصد)
۵/۹۲	۵/۹۸	۶/۰۰	۶/۰۱	۶/۰۱	۶/۰۱	خاکستر خام (درصد)
۰/۵۵	۰/۵۴	۰/۵۵	۰/۵۶	۰/۵۶	۰/۵۶	کلسیم (درصد)
۰/۴۲	۰/۴۰	۰/۴۲	۰/۴۳	۰/۴۷	۰/۴۷	فسفر (درصد)

1- Matlab

مقدار اسیدهای چرب زنجیرکوتاه، قابلیت هضم ماده خشک، ماده آلی، و نیز انرژی قابل سوخت و ساز با استفاده از رابطه‌های ذیل در نرم‌افزار اکسل (۲۰۰۷) برآورد شد (منک و همکاران، ۱۹۷۹؛ منک و استینگاس، ۱۹۸۸):

$$0.0425 - (\text{تولید گاز}) / 0.222 = (\text{میلی مول}) \text{ اسیدهای چرب کوتاه زنجیر}$$

$$(\text{درصد خاکستر خام}) / 0.081 + (\text{درصد چربی خام}) / 0.022 + (\text{درصد پروتئین خام}) / 0.008 = (\text{تولید گاز}) / 0.06 + 0.157 = (\text{مگاژول بر کیلوگرم}) \text{ انرژی قابل متابولیسم}$$

$$(\text{درصد خاکستر خام}) / 0.181 + (\text{درصد پروتئین خام}) / 0.0595 + (\text{تولید گاز}) / 0.991 + 9 = (\text{درصد}) \text{ قابلیت هضم ماده آلی}$$

که در این رابطه‌ها تولید گاز برابر با حجم گاز تولید شده بر حسب میلی‌لیتر به ازای ۲۰۰ میلی‌گرم ماده خشک در زمان ۲۴ ساعت تخمیر می‌باشد.

**اندازه‌گیری pH و غلظت نیتروژن آمونیاکی:** پس از پایان دوره انکوباسیون، محتویات سرنگ‌ها از میان پارچه چهار لایه، صاف گردید و بلافاصله pH آن با استفاده از دستگاه pH متر<sup>۱</sup> اندازه‌گیری شد. به‌منظور تعیین غلظت نیتروژن آمونیاکی، ۵ میلی‌لیتر مایع تخمیری صاف شده با ۱ میلی‌لیتر اسیدکلریدریک ۰/۲ نرمال مخلوط شده و لوله‌های پلاستیکی در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید (راموس و همکاران، ۲۰۰۹). اندازه‌گیری نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه به روش تقطیر بخار از اسیدبوریک و تیتراسیون با اسیدکلریدریک ۰/۱ نرمال انجام گرفت (نوسک و همکاران، ۱۹۸۷).

**تجزیه آماری داده‌ها:** نتایج مربوط به تیمارهای دانه شنبلیله و عصاره شنبلیله به‌صورت مجزا در قالب دو طرح کاملاً تصادفی هر یک با ۵ تیمار و سه تکرار مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. مدل آماری و فرضیات آزمایش به‌صورت  $Y_{ij} = \mu + T_i + \varepsilon_{ij}$  بوده که در آن،  $Y_{ij}$  مشاهده  $j$ ام؛  $\mu$ ، میانگین کل؛  $T_i$ ، اثر  $i$ امین تیمار و  $\varepsilon_{ij}$  اشتباه تصادفی می‌باشد. مقایسات میانگین‌ها با آزمون دانکن در سطح معنی‌دار کمتر از پنج درصد انجام گردید.

### نتایج و بحث

**ترکیبات شیمیایی دانه شنبلیله:** میزان پروتئین خام دانه شنبلیله در این آزمایش ۲۶/۵۷ درصد به‌دست آمد که به مقادیر گزارش شده توسط راثو و شارما (۱۹۸۷، ۲۵/۵ درصد) و ال‌امر و بسیونی (۲۰۰۵، ۲۶ درصد) نزدیک بود، اما کم‌تر از مقدار گزارش شده توسط ناصری و همکاران (۲۰۱۲، ۳۱/۴۱ درصد)

1- pH Meter CG 804, SCHOTT GERATE

و وزارت کشاورزی کانادا (۳۶ درصد) و بیش‌تر از مقدار گزارش شده توسط پتروپولوس (۲۰۰۲، ۲۳/۲ درصد)، ابوالنور و همکاران (۲۰۰۷، ۲۲/۰۱ درصد) و داشی و همکاران (۲۰۱۲، ۲۳ درصد) بود. مقدار انرژی خام مشاهده شده در این آزمایش (۴/۷۰ مگا کالری بر کیلوگرم) بیش‌تر از مقدار گزارش شده توسط الآمر و بسیونی (۲۰۰۵، ۳/۰ مگا کالری بر کیلوگرم) و داشی و همکاران (۲۰۱۲، ۳/۲۳ مگا کالری بر کیلوگرم) بود. چربی خام دانه شنبلیله در این آزمایش ۶/۱۸ درصد بود که بیش‌تر از مقادیر گزارش شده توسط الآمر و بسیونی (۲۰۰۵، ۴/۲ درصد) و داشی و همکاران (۲۰۱۲، ۵/۴)، کم‌تر از مقدار گزارش شده توسط پتروپولوس (۲۰۰۲، ۸ درصد) و ابوالنور و همکاران (۲۰۰۷، ۱۱/۵ درصد) و بسیار نزدیک به مقدار گزارش شده توسط ناصری و همکاران (۲۰۱۲، ۶/۷۲ درصد) بود.

**اثرات افزودن سطوح مختلف دانه شنبلیله:** مقادیر تولید گاز جیره‌های حاوی سطوح مختلف دانه شنبلیله در زمان‌های مختلف در جدول ۲ نشان داده شده است. افزودن دانه شنبلیله مقدار گاز تولید شده را در همه مراحل انکوباسیون به‌طور معنی‌داری افزایش داد ( $P < 0/05$ ). تولید گاز در ساعات اولیه انکوباسیون (۲ تا ۱۲ ساعت) تابعی از افزایش سطوح دانه شنبلیله بود و با افزایش سطح دانه شنبلیله افزایش معنی‌داری در تولید گاز مشاهده گردید ( $P < 0/05$ )، اما با پیشرفت انکوباسیون تفاوت بین تیمارهای حاوی سطوح مختلف دانه شنبلیله کم‌تر شده و حتی در ساعات پایانی (پس از ۴۸ ساعت)، بیش‌ترین حجم تولید گاز در تیمار حاوی ۲ درصد دانه شنبلیله مشاهده گردید و سطوح بالاتر دانه شنبلیله باعث افزایش بیش‌تر تولید گاز نگردید.

جدول ۲- میانگین تولید گاز تجمعی (میلی‌لیتر در ۲۰۰ میلی‌گرم ماده خشک) جیره‌های حاوی سطوح مختلف دانه شنبلیله در زمان‌های مختلف انکوباسیون.

خطای استاندارد	تیمار (درصد)					زمان (ساعت)	شاهد (صفر)
	۸	۶	۴	۲			
۰/۲۲	۱۳/۵۹ <sup>a</sup>	۱۳/۵۷ <sup>ab</sup>	۱۲/۹۷ <sup>b</sup>	۱۲/۹۹ <sup>b</sup>	۱۱/۷۴ <sup>c</sup>	۲	
۰/۳۴	۲۸/۵۳ <sup>a</sup>	۲۷/۹۳ <sup>a</sup>	۲۷/۳۴ <sup>a</sup>	۲۷/۴۵ <sup>a</sup>	۲۵/۰۴ <sup>b</sup>	۴	
۰/۴۱	۳۶/۸۳ <sup>a</sup>	۳۶/۳۲ <sup>a</sup>	۳۵/۶۲ <sup>b</sup>	۳۵/۹۹ <sup>ab</sup>	۳۲/۸۶ <sup>c</sup>	۶	
۰/۴۴	۴۴/۸۳ <sup>a</sup>	۴۴/۳۱ <sup>a</sup>	۴۳/۵۹ <sup>a</sup>	۴۴/۱۳ <sup>a</sup>	۴۰/۵۴ <sup>b</sup>	۸	
۰/۴۸	۵۰/۷۹ <sup>a</sup>	۵۰/۵۵ <sup>a</sup>	۴۹/۵۳ <sup>b</sup>	۵۰/۰۸ <sup>b</sup>	۴۶/۱۷ <sup>c</sup>	۱۲	
۰/۵۵	۶۱/۴۵ <sup>a</sup>	۶۱/۶۳ <sup>a</sup>	۶۰/۳۱ <sup>a</sup>	۶۱/۲۰ <sup>a</sup>	۵۶/۵۰ <sup>b</sup>	۲۴	
۰/۵۹	۷۱/۸۰ <sup>a</sup>	۷۲/۲۴ <sup>a</sup>	۷۱/۱۰ <sup>a</sup>	۷۲/۱۵ <sup>a</sup>	۶۶/۹۹ <sup>b</sup>	۴۸	
۰/۵۶	۷۴/۱۵ <sup>a</sup>	۷۵/۲۰ <sup>a</sup>	۷۴/۰۶ <sup>a</sup>	۷۵/۱۲ <sup>a</sup>	۷۰/۲۸ <sup>b</sup>	۷۲	
۰/۵۵	۷۶/۵۰ <sup>a</sup>	۷۶/۹۲ <sup>a</sup>	۷۶/۲۵ <sup>a</sup>	۷۷/۴۷ <sup>a</sup>	۷۲/۴۷ <sup>b</sup>	۹۶	

\* حروف غیرمشابه در هر سطر به معنی وجود تفاوت معنی‌دار است ( $P < 0/05$ ).

این نتایج با پیشنهاد گل و همکاران (۲۰۰۸ الف) مبنی بر این که ساپونین‌های شنبلیله قابلیت بهبود کارایی تخمیر را دارا می‌باشند هم‌خوانی دارد. این محققین در تحقیق دیگری (گل و همکاران، ۲۰۰۸ ب) اثر دانه شنبلیله و عصاره‌های آبی و الکلی / آبی (۱:۱ و ۰/۰۵: ۰/۹۵) آن را بر تولید متان و سایر محصولات تخمیر در جیره‌های حاوی ۱۰۰ درصد علوفه و مخلوط علوفه: کنسانتره (۶۸:۳۲) در شکمبه بررسی کردند و نتیجه گرفتند که مکمل نمودن دانه شنبلیله به جیره‌های علوفه یا علوفه-کنسانتره تجزیه‌پذیری ماده آلی در شکمبه را افزایش می‌دهد اما تولید متان به ازای ماده تجزیه شده را کاهش می‌دهد و بنابراین، پیشنهاد کردند که این مکمل می‌تواند بازده تخمیر شکمبه را بهبود بخشد.

جدول ۳- میانگین فراسنجه‌های تولید گاز در جیره‌های حاوی سطوح مختلف دانه شنبلیله.

خطای استاندارد	تیمار (درصد)				شاهد	
	۸	۶	۴	۲		
۰/۵۵۲	۷۲/۹۵۲ <sup>a</sup>	۷۳/۷۱۰ <sup>a</sup>	۷۲/۷۲۸ <sup>a</sup>	۷۳/۸۶۳ <sup>a</sup>	۶۹/۰۱۳ <sup>b</sup>	پتانسیل تولید گاز (میلی‌لیتر)
۰/۰۰۱	۰/۱۰۶ <sup>a</sup>	۰/۱۰۲ <sup>ab</sup>	۰/۱۰۰ <sup>b</sup>	۰/۰۹۹ <sup>bc</sup>	۰/۰۹۶ <sup>c</sup>	ثابت نرخ تولید گاز (میلی‌لیتر در ساعت)
۰/۰۰۵	۰/۰۳۴	۰/۰۰۶	۰/۰۰۹	۰/۰۱۶	۰/۰۰۹	زمان تأخیر (ساعت)

\* حروف غیرمشابه در هر سطر به معنی وجود تفاوت معنی‌دار است ( $P < 0/05$ ).

افزودن دانه شنبلیله در همه سطوح باعث افزایش معنی‌دار پتانسیل تولید گاز گردید ( $P < 0/05$ ). هم‌چنین، با افزایش سطوح دانه شنبلیله، ثابت نرخ تجزیه نیز افزایش یافت ( $P < 0/05$ ). شاه و میر (۲۰۰۴) نیز گزارش کردند که خصوصیات تولید گاز در آزمایشگاه نشان‌گر نرخ بالاتر تجزیه‌پذیری در خوراک حاوی دانه شنبلیله (۲۰ درصد ماده خشک) نسبت به تیمار شاهد است ( $P < 0/05$ ). هم‌چنین، این محققین اعلام کردند که دانه شنبلیله باعث افزایش زمان تأخیر پیش از آغاز تجزیه شکمبه‌ای نیز می‌گردد، اما در تحقیق حاضر افزودن دانه شنبلیله به جیره اثر معنی‌داری بر این فراسنجه نداشت ( $P > 0/05$ ). این تفاوت در نتایج ممکن است مربوط به تفاوت سطوح دانه شنبلیله مورد استفاده در جیره باشد که در تحقیق شاه و میر (۲۰۰۴) بسیار بالاتر (۲۰ درصد) از سطوح مورد استفاده در تحقیق حاضر بوده است. با این وجود، نتایج تحقیق حاضر به روشنی نشان دهنده اثرات مثبت افزودن دانه



نشریه پژوهش در نشخوارکنندگان (۲)، شماره (۴) ۱۳۹۳

شنبلیله به جیره بر شاخص‌های تولید گاز در آزمایشگاه حتی در سطوح پایین (۲ تا ۴ درصد) بود. شاه و میر (۲۰۰۴) اثر مثبت دانه شنبلیله بر عملکرد گاوهای شیری را این گونه تفسیر کردند که افزودن دانه شنبلیله به جیره احتمالاً موجب بهبود بازده متابولیسم پروتئین در شکمبه و افزایش تولید پروتئین میکروبی می‌گردد. تحقیقات دیگر نیز افزایش گوارش‌پذیری ماده خشک در شکمبه و کل دستگاه گوارش و افزایش سنتز پروتئین میکروبی در شکمبه را در پاسخ به تغذیه جیره‌های حاوی ساپوزین‌ها نشان داده‌اند (گروینر و همکاران، ۱۹۸۲).

جدول ۴- میانگین برخی فراسنجه‌های تخمیر در جیره‌های حاوی سطوح مختلف دانه شنبلیله.

خطای استاندارد	تیمار (درصد)					شاهد (صفر)	خطای استاندارد
	۸	۶	۴	۲	۰		
۰/۰۱	۱/۳۶ <sup>a</sup>	۱/۳۶ <sup>a</sup>	۱/۳۳ <sup>a</sup>	۱/۳۵ <sup>a</sup>	۱/۲۵ <sup>b</sup>	اسیدهای چرب کوتاه زنجیر (میلی‌مول)	۰/۰۱
۰/۵۵	۶/۴۳ <sup>b</sup>	۱۰/۵۹ <sup>a</sup>	۸/۶۳ <sup>ab</sup>	۸/۴۱ <sup>ab</sup>	۷/۶۲ <sup>ab</sup>	نیتروژن آمونیاکی (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	۰/۵۵
۰/۰۲	۷/۱۴ <sup>a</sup>	۷/۰۳ <sup>b</sup>	۶/۹۷ <sup>bc</sup>	۶/۹۱ <sup>c</sup>	۶/۹۸ <sup>bc</sup>	pH	۰/۰۲
۰/۴۶	۷۶/۳۹ <sup>a</sup>	۷۶/۳۹ <sup>a</sup>	۷۵/۲۸ <sup>a</sup>	۷۶/۰۵ <sup>a</sup>	۷۲/۲۴ <sup>b</sup>	گوارش‌پذیری ماده آلی (درصد)	۰/۴۶
۰/۰۷	۱۱/۳۸ <sup>a</sup>	۱۱/۳۸ <sup>a</sup>	۱۱/۲۱ <sup>a</sup>	۱۱/۳۳ <sup>a</sup>	۱۰/۷۴ <sup>b</sup>	انرژی قابل متابولیسم (مگاژول بر کیلوگرم)	۰/۰۷

\* حروف غیرمشابه در هر سطر به معنی وجود تفاوت معنی‌دار است ( $P < 0.05$ ).

مقایسه میانگین اسیدهای چرب زنجیر کوتاه تولید شده در طی انکوباسیون، نیتروژن آمونیاکی، pH، گوارش‌پذیری ماده آلی و انرژی قابل متابولیسم تفاوت معنی‌داری ( $P < 0.05$ ) بین جیره‌های مختلف نشان داد (جدول ۴). میانگین اسیدهای چرب زنجیر کوتاه، گوارش‌پذیری ماده آلی و انرژی قابل متابولیسم همه جیره‌های حاوی دانه شنبلیله به‌طور معنی‌داری بالاتر از جیره شاهد بود ( $P < 0.05$ ). این نتایج مؤید یافته‌های ناصری و همکاران (۲۰۱۲) است که گزارش کردند افزودن دانه شنبلیله به جیره گوارش‌پذیری ماده آلی را در ۱۸ ساعت اولیه انکوباسیون افزایش می‌دهد. هرچند با ادامه انکوباسیون تا ۴۸ ساعت، این محققین اثر معنی‌داری از افزودن دانه شنبلیله بر گوارش‌پذیری مشاهده نکردند. هم‌چنین افزودن دانه شنبلیله در سطح ۸ درصد موجب افزایش معنی‌داری در pH نهایی نسبت به تیمار شاهد گردید ( $P < 0.05$ ). با وجود معنی‌دار بودن تفاوت غلظت نیتروژن آمونیاکی بین تیمارهای حاوی ۶ درصد و ۸ درصد دانه شنبلیله (۱۰/۵۹ در برابر ۶/۴۳ میلی‌گرم در دسی‌لیتر،

$P < 0/05$ )، روند مشخصی در غلظت نیتروژن آمونیاکی در پاسخ به افزودن دانه شنبلیله مشاهده نشد (جدول ۴). والدز و همکاران (۱۹۸۶) نیز گزارش کردند که افزودن سارساپونین به جیره اثری بر غلظت نیتروژن آمونیاکی شکمبه یا اوره خون نداشت. این نتیجه بر خلاف نتایج باسکت و همکاران (۲۰۰۶) بود که گزارش کردند عصاره شنبلیله باعث کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی شکمبه می‌شود. کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی شکمبه در اثر استفاده از ساپونین‌ها در تغذیه نشخوارکنندگان در تحقیقات دیگری نیز نشان داده شده است (والاس و همکاران، ۱۹۹۴؛ هریستوف و همکاران، ۱۹۹۹). حسین و چیک (۱۹۹۵) نیز گزارش کردند که عصاره یوکا می‌تواند باعث کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی شکمبه و پلاسما و نیتروژن اوره‌ای پلاسما شود. عدم مشاهده چنین اثری در تحقیق حاضر ممکن است به دلیل سطوح مورد استفاده دانه شنبلیله یا طبیعت جیره در آزمایش حاضر باشد.

**اثرات افزودن سطوح مختلف عصاره شنبلیله:** مقادیر تولید گاز جیره‌های حاوی سطوح مختلف عصاره شنبلیله در زمان‌های مختلف در جدول ۵ نشان داده شده است. در ابتدای تخمیر، روند تولید گاز بین جیره‌ها تفاوت معنی‌داری را نشان نداد، اما با پیشرفت زمان تخمیر، تفاوت تیمارهای مختلف در تولید گاز مشهودتر گردید. افزودن عصاره تا ۱ درصد باعث افزایش تولید گاز شد ( $P < 0/05$ ) ولی افزایش سطح آن به ۱/۵ درصد اثر معنی‌داری در تولید گاز به همراه نداشت و در سطح ۲ درصد حتی باعث کاهش تولید گاز نسبت به سطوح کم‌تر گردید ( $P < 0/05$ ). بر اساس این نتایج به نظر می‌رسد سطوح بالاتر از ۱/۵ درصد عصاره دانه شنبلیله در جیره ممکن است اثرات منفی بر روند تخمیر میکروبی داشته باشد. این اثر ممکن است به دلیل وجود ترکیبات ضد تغذیه‌ای مختلفی در عصاره شنبلیله باشد که در سطوح پایین‌تر میکروارگانسیم‌های شکمبه قادر به سازگاری با آن بوده و در سطوح بالاتر موجب بروز اثرات منفی در عملکرد آن‌ها می‌گردد. برخلاف نتایج حاضر باسکت و همکاران (۲۰۰۶) گزارش کردند که عصاره شنبلیله، اثری بر کل اسیدهای چرب فرار و قابلیت تخمیر جیره حاوی نسبت برابر علوفه و کنساتره ندارد و برخلاف اکثر عصاره‌های گیاهی دیگر، باعث کاهش کل اسیدهای چرب فرار حتی در دوزهای بالا (۳۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر مایع کشت) نمی‌گردد.

نشریه پژوهش در نشخوارکنندگان (۲)، شماره (۴) ۱۳۹۳

جدول ۵- میانگین تولید گاز تجمعی (میلی‌لیتر در ۲۰۰ میلی‌گرم ماده خشک) جیره‌های حاوی سطوح مختلف عصاره شنبلیله در زمان‌های مختلف انکوباسیون.

خطای استاندارد	تیمار (درصد)					زمان (ساعت)
	۲	۱/۵	۱	۰/۵	شاهد (صفر)	
۰/۱۶	۱۱/۴۴	۱۲/۳۰	۱۲/۶۲	۱۲/۳۴	۱۱/۷۴	۲
۰/۳۵	۲۵/۳۹ <sup>c</sup>	۲۷/۴۵ <sup>ab</sup>	۲۷/۵۸ <sup>a</sup>	۲۷/۰۳ <sup>b</sup>	۲۵/۰۴ <sup>c</sup>	۴
۰/۴۱	۳۴/۰۱ <sup>bc</sup>	۳۶/۴۴ <sup>a</sup>	۳۶/۳۰ <sup>a</sup>	۳۵/۳۱ <sup>ab</sup>	۳۲/۸۶ <sup>c</sup>	۶
۰/۵۴	۴۳/۴۲ <sup>c</sup>	۴۵/۹۰ <sup>a</sup>	۴۵/۱۸ <sup>b</sup>	۴۳/۲۸ <sup>c</sup>	۴۰/۵۴ <sup>d</sup>	۸
۰/۶۴	۵۰/۳۲ <sup>b</sup>	۵۲/۵۳ <sup>a</sup>	۵۱/۲۵ <sup>ab</sup>	۴۸/۷۵ <sup>b</sup>	۴۶/۱۷ <sup>c</sup>	۱۲
۰/۶۵	۶۱/۴۵ <sup>ab</sup>	۶۲/۳۱ <sup>ab</sup>	۶۲/۳۲ <sup>a</sup>	۵۹/۰۷ <sup>b</sup>	۵۶/۵۰ <sup>bc</sup>	۲۴
۰/۷۵	۷۲/۲۴ <sup>ab</sup>	۷۳/۵۲ <sup>ab</sup>	۷۳/۸۵ <sup>a</sup>	۷۰/۰۱ <sup>b</sup>	۶۶/۹۹ <sup>bc</sup>	۴۸
۰/۷۵	۷۵/۰۸ <sup>a</sup>	۷۶/۷۴ <sup>a</sup>	۷۷/۲۷ <sup>a</sup>	۷۲/۶۶ <sup>b</sup>	۷۰/۲۸ <sup>c</sup>	۷۲
۰/۷۰	۷۶/۹۷ <sup>b</sup>	۷۸/۰۸ <sup>ab</sup>	۷۹/۲۹ <sup>a</sup>	۷۵/۰۰ <sup>b</sup>	۷۲/۴۷ <sup>c</sup>	۹۶

\* حروف غیرمشابه در هر سطر به معنی وجود تفاوت معنی‌دار است ( $P < 0/05$ ).

افزایش سطح عصاره تا ۱ درصد باعث افزایش معنی‌دار پتانسیل تولید گاز گردید ( $P < 0/05$ ) اما افزایش آن به ۱/۵ و ۲ درصد باعث افزایش بیش‌تر این فراسنجه نگردید (جدول ۶). این نتایج هم‌سو با اثرات سطوح مختلف عصاره بر تولید گاز تجمعی است.

اثر افزودن عصاره شنبلیله بر ثابت نرخ تولید گاز تنها در سطح ۱/۵ درصد معنی‌دار بود ( $P < 0/05$ ) و در سطوح پایین‌تر (۰/۵ و ۱ درصد) و بالاتر (۲ درصد) تفاوت معنی‌داری در نرخ تجزیه نسبت به تیمار شاهد مشاهده نشد (جدول ۶). افزایش سطوح عصاره شنبلیله باعث افزایش معنی‌دار زمان تأخیر پیش از آغاز تجزیه گردید. زمان تأخیر در تیمارهای حاوی ۰/۵ و ۱ درصد عصاره شنبلیله به‌طور معنی‌داری بالاتر از تیمار شاهد و در تیمارهای حاوی سطوح بالاتر به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از مقادیر آن در تیمارهای حد وسط بود ( $P < 0/05$ ). این امر ممکن است به دلیل اثر پوشانندگی فیزیکی عصاره شنبلیله بر اجزای خوراک یا اتصال شیمیایی ترکیب یا ترکیباتی از آن با سلولز، همی سلولز یا ترکیبات دیگری از خوراک باشد که دسترسی میکروارگانیسم‌های تجزیه کننده به خوراک را محدود یا آغاز تجزیه را به تأخیر انداخته باشد.

## فریبا فریور و همکاران

جدول ۶- میانگین فراسنجه‌های تولید گاز در جیره‌های حاوی سطوح مختلف عصاره شنبلیله.

خطای استاندارد	تیمار (درصد)				شاهد (صفر)	خطای
	۲	۱/۵	۱	۰/۵		
۰/۷۱۷	۷۴/۰۱۵ <sup>a</sup>	۷۴/۸۲۳ <sup>a</sup>	۷۵/۷۴۴ <sup>a</sup>	۷۱/۴۱۰ <sup>b</sup>	۶۹/۰۱۳ <sup>c</sup>	پتانسیل تولید گاز (میلی لیتر)
۰/۰۱۱	۰/۰۹۷ <sup>b</sup>	۰/۱۰۴ <sup>a</sup>	۰/۰۹۸ <sup>ab</sup>	۰/۱۰۲ <sup>ab</sup>	۰/۰۹۶ <sup>b</sup>	ثابت نرخ تولید گاز (میلی لیتر در ساعت)
۰/۰۱۷	۰/۱۴۷ <sup>a</sup>	۰/۱۳۴ <sup>a</sup>	۰/۰۴۷ <sup>b</sup>	۰/۰۳۲ <sup>b</sup>	۰/۰۰۹ <sup>c</sup>	زمان تأخیر (ساعت)

\* حروف غیرمشابه در هر سطر به معنی وجود تفاوت معنی دار است ( $P < 0/05$ ).

افزایش سطوح عصاره شنبلیله تا ۱ درصد باعث افزایش متناظر معنی داری در گوارش پذیری ماده آلی، اسیدهای چرب کوتاه زنجیر تولید شده و انرژی قابل متابولیسم جیره‌ها گردید ( $P < 0/05$ ) اما سطوح بالاتر آن باعث افزایش بیش تر این متغیرها نگردید (جدول ۷). این نتایج بر اساس نتایج حاصل از مقایسات فراسنجه‌های تولید گاز دور از انتظار نبود. افزایش تولید گاز به مفهوم تجزیه بیش تر مواد آلی و تولید اسیدهای چرب بیش تر است که در نتیجه، انرژی قابل متابولیسم بیش تری برای حیوان فراهم خواهد نمود. سطوح اسیدهای چرب کوتاه زنجیر شاخصی از انرژی قابل دسترس برای حیوان است (منک و همکاران، ۱۹۷۹). اندازه‌گیری اسیدهای چرب کوتاه زنجیر تولیدی برای مرتبط نمودن ترکیب شیمیایی خوراک به فراسنجه‌های تولید لازم است. از آنجایی که در اکثر آزمایشگاه‌های تغذیه دام امکانات اندازه‌گیری این شاخص‌ها وجود ندارد، تخمین تولید اسیدهای چرب زنجیر کوتاه و انرژی قابل متابولیسم خوراک بر اساس خصوصیات قابلیت تولید گاز نمونه‌های خوراک در آزمایشگاه می‌تواند اطلاعات مفیدی از قابلیت تخمیر و انرژی قابل دسترس خوراک‌ها فراهم نماید.

جدول ۷- میانگین برخی فراسنجه‌های تخمیر در جیره‌های حاوی سطوح مختلف عصاره شنبلیله.

خطای استاندارد	تیمار (درصد)				شاهد (صفر)	فراسنجه‌های تخمیر
	۲	۱/۵	۱	۰/۵		
۰/۱۴	۱/۳۶ <sup>a</sup>	۱/۳۸ <sup>a</sup>	۱/۳۸ <sup>a</sup>	۱/۳۱ <sup>b</sup>	۱/۲۵ <sup>c</sup>	اسیدهای چرب کوتاه زنجیر (میلی مول)
۰/۶۴	۸/۳۵ <sup>a</sup>	۹/۳۳ <sup>a</sup>	۵/۱۰ <sup>b</sup>	۹/۰۵ <sup>a</sup>	۷/۶۲ <sup>ab</sup>	نیترژن آمونیاکی (میلی گرم بر دسی لیتر)
۰/۰۲	۷/۰۳ <sup>b</sup>	۷/۰۴ <sup>b</sup>	۷/۰۸ <sup>b</sup>	۷/۱۱ <sup>a</sup>	۶/۹۸ <sup>b</sup>	pH
۰/۶۱	۷۶/۴۲ <sup>a</sup>	۷۸/۰۳ <sup>a</sup>	۷۷/۲۰ <sup>a</sup>	۷۴/۳۱ <sup>b</sup>	۷۲/۲۴ <sup>c</sup>	گوارش پذیری ماده آلی (درصد)
۰/۹۴	۱۱/۳۸ <sup>a</sup>	۱۱/۶۳ <sup>a</sup>	۱۱/۵۰ <sup>a</sup>	۱۱/۰۶ <sup>b</sup>	۱۰/۷۴ <sup>c</sup>	انرژی قابل متابولیسم (مگاژول بر کیلوگرم)

\* حروف غیرمشابه در هر سطر به معنی وجود تفاوت معنی دار است ( $P < 0/05$ ).

اثرات افزودن عصاره شنبلیله بر pH نهایی مایع تخمیری از روند خاصی تبعیت می‌کند (جدول ۷). افزودن ۰/۵ درصد عصاره شنبلیله باعث افزایش معنی‌دار pH گردید ( $P < 0/05$ ) و مقادیر pH با افزایش سطوح شنبلیله به تدریج کاهش یافت، هرچند این کاهش از نظر آماری معنی‌دار نبود. افزایش pH مشاهده شده در این تحقیق برخلاف گزارشات محققین دیگر مبنی بر کاهش pH در اثر افزودن ساپونین به جیره است (وو و همکاران، ۱۹۹۴؛ لایلا و همکاران، ۲۰۰۳؛ بسکت و همکاران، ۲۰۰۶). عصاره شنبلیله در سطح ۱ درصد باعث کاهش قابل توجه غلظت نیتروژن آمونیاکی در مایع تخمیری نسبت به تیمار شاهد گردید اما این تفاوت از نظر آماری معنی‌دار نبود (جدول ۷). بسکت و همکاران (۲۰۰۶) نیز گزارش کردند که افزودن عصاره شنبلیله باعث کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی می‌گردد. یکی از اثرات مشهود استفاده از ساپونین‌ها در تغذیه نشخوارکنندگان، کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی شکمبه است (والاس و همکاران، ۱۹۹۴؛ هریستوف و همکاران، ۱۹۹۹). این اثر می‌تواند نتیجه اثر ضد پروتوزوایی مشخص ساپونین‌ها باشد (لیو و جورجینسون، ۱۹۸۷؛ دیاز و همکاران، ۱۹۹۴؛ کلیتا و همکاران، ۱۹۹۶ و نیوبولد و همکاران، ۱۹۹۷) چرا که پروتوزوآها مهم‌ترین تولیدکننده آمونیاک در شکمبه هستند. گزارش شده است که شنبلیله می‌تواند رشد پروتوزوآهای شکمبه را تا ۵۰ درصد کاهش دهد (گل و همکاران، ۲۰۰۸ ب). هم‌چنین مائو و همکاران (۲۰۱۰) نیز مشاهده نمودند که افزودن ۳ گرم ساپونین چای به جیره باعث کاهش معنی‌دار جمعیت پروتوزوآها و تولید متان می‌شود، اما اثری بر متانوژن‌ها ندارد. در مقابل، اریاواز و دیهوریتی (۲۰۰۴) گزارش کردند که افزودن ۳۰ گرم عصاره یوکا در روز به جیره گوسفندان باعث افزایش پروتوزوآها و pH شکمبه می‌گردد، اما غلظت‌های پایین‌تر آن اثری بر پروتوزوآها یا باکتری‌های شکمبه ندارد. اثر ضد پروتوزوایی ساپونین‌ها ناشی از ایجاد ترکیب برگشت‌ناپذیر ساپونین‌ها با کلسترول غشای پروتوزوآها است (فرانسیس و همکاران، ۲۰۰۲). عدم مشاهده چنین اثری در سطوح بالاتر عصاره شنبلیله در این تحقیق می‌تواند ناشی از افزایش فعالیت اوره‌آزی باکتری‌ها در غیاب پروتوزوآها باشد.

اثرات عصاره‌ها یا گیاهان حاوی مواد ساپونین بر خصوصیات تخمیر و تجزیه شکمبه‌ای در تحقیقات دیگری نیز بررسی شده است. والدز و همکاران (۱۹۸۶) گزارش کردند که افزودن سارساپونین، ساپونین استروئیدی گیاه یوکا، به جیره باعث کاهش نسبی سرعت ناپدید شدن ماده

آلی، فیبر نامحلول در شوینده اسیدی و نیتروژن از کیسه‌های نایلونی در شکمبه می‌شود. این محققین در آزمایشات حیوانی نیز هیچ اثری از افزودن سارساپونین بر نیتروژن آمونیاکی شکمبه، اوره خون یا نسبت مولار اسیدهای چرب فرار شکمبه مشاهده نکردند. حسین و چیک (۲۰۰۵) نیز گزارش کردند که افزودن عصاره یوکا به‌ویژه در جیره‌های غنی از کنسانتره باعث کاهش کل غلظت اسیدهای چرب فرار و نسبت استات به پروپیونات می‌شود. اما گل و همکاران (۲۰۰۸ ب) گزارش کردند که افزودن ساپونین‌ها اثری بر تولید متان یا اسیدهای چرب زنجیرکوتاه ندارد.

### نتیجه‌گیری و پیشنهادات

بر اساس نتایج این آزمایش می‌توان نتیجه‌گیری کرد که افزودن دانه (در سطح ۴-۲ درصد) و یا عصاره شنبلله (در سطح ۱ درصد) به جیره حیوانات نشخوارکننده می‌تواند باعث بهبود قابلیت تخمیر شکمبه، تولید اسیدهای چرب فرار و گوارش‌پذیری ماده آلی خوراک و افزایش تولید اسیدهای چرب فرار و در نتیجه افزایش دسترسی حیوان به انرژی جیره گردد. این اثرات احتمالاً ناشی از ساپونین استروئیدی موجود در دانه و عصاره شنبلله است که با اثر بر جمعیت میکروبی شکمبه موجب تعدیل رقابت میکروارگانیسم‌ها در جهت استفاده بهتر از منابع انرژی و نیتروژنی جیره می‌گردد. انجام مطالعات بیشتر بر روی اثرات این افزودنی گیاهی بر جمعیت میکروبی و پروتوزوآها و نیز تولید متان و پروفیل اسیدهای چرب فرار و نیز مطالعات مزرعه‌ای روی عملکرد تولیدی حیوانات نشخوارکننده می‌تواند راهگشای محققین در درک بهتر ساز و کارهای احتمالی اثرات این افزودنی گیاهی باشد.

### منابع

- Acharya, S.N., Thomas, J.E. and Basu, S.K. 2006. Fenugreek: an "old world" crop for the "new world". *Biodiversity*. 7: 27-30.
- Acharya, S.N., Thomas, J.E. and Basu, S.K. 2008. Fenugreek, an alternative crop for semiarid regions of North America. *Crop Sci*. 48: 841-853.
- AOAC. 2005. *International Official Methods of Analysis*, XXI. Gaithersburg, M.D. AOAC International.
- Beauchemin, K.A., Mcginn, S.M., Martinez, T.F. and McAllister, T.A. 2007. Use of condensed tannin extract from quebracho trees to reduce methane emission from cattle. *J. Anim. Sci*. 85: 1900-1906.

- Broudiscou, I.P., Papon, Y. and Broudiscou, A.F. 2002. Effect of dry plant extracts on food degradation and the production of rumen microbial biomass in a dual outflow fermenter. *Anim. Feed Sci. Technol.* 101: 183-189.
- Busquet, M., Calsamiglia, S., Ferret, A. and Kamel, C. 2006. Plant extracts affect *in vitro* rumen microbial fermentation. *J. Dairy Sci.* 89: 761-771.
- Calsamiglia, S., Busquet, M., Cardozo, P.W., Castillejos, L. and Ferret, A. 2007. Invited Review: Essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. *J. Dairy Sci.* 90: 2580-2595.
- Cardozo, P.W., Calsamiglia, S., Ferret, A. and Kamel, C. 2005. Screening for effects of natural extracts at different pH on *in vitro* rumen fermentation of high-concentrate diet for beef cattle. *J. Anim. Sci.* 83: 2572-2579.
- Castillejos, L., Calsamiglia, S. and Ferret, A. 2006. Effect of essential oil active compounds on rumen microbial fermentation and nutrient flow in *In vitro* systems. *J. Dairy Sci.* 89: 2649-2658.
- Chalupa, W., Corbett, W. and Brethour, J.R. 1980. Effect of monensin and ampicillin on rumen fermentation. *J. Anim. Sci.* 51: 170-179.
- Chapagain, B. and Wiesman, Z. 2005. Variation in diosgenin level in seed kernels among different provenances of *Balanites aegyptiaca Del.* (Zygophyllaceae) and its correlation with oil content. *Afr. J. Biotechnol.* 4: 1209-1213.
- Diaz, A., Avendan, O.M. and Escobar, A. 1994. Evaluation of *Sapinadus saponaria* as a defaunating agent and its effects on different ruminal digestion parameters. *Livestock Res. Rural Develop.* 5: 1-10.
- Eryavuz, A. and Dehornity, B.A. 2004. Effect of *Yucca schidigera* extract on the concentration of rumen microorganisms in sheep. *Anim. Feed Sci. Technol.* 117: 215-222.
- Francis, G., Kerem, Z., Makkar, H.P.S. and Becker, K. 2002. The Biological action of saponins in animal systems: Reviews. *Br. J. Nutr.* 88: 587-605.
- Goel, G., Makkar, H.P.S. and Becker, K. 2008a. Effects of *Sesbania sesban* and *Cardus pycnocephalus* leaves and fenugreek (*Trigonella foenum-graecum L.*) seeds and their extracts on partitioning of nutrients from roughage and concentrate based feeds to methane. *Anim. Feed Sci. Technol.* 147: 72-89.
- Goel, G., Makkar, H.P.S. and Becker, K. 2008b. Changes in microbial community structure, methanogenesis and rumen fermentation in response to saponin-rich fractions from different plant materials. *J. Appl. Microbiol.* 105: 770-777.
- Grubner, M.A., Johanson, D.e., Goodall, S.R. and Benz, D.A. 1982. Sarsaponin effects on *in vitro* continuous flow fermentation of high grain diet. *Proc., W. Sect., Am. Soc. Anim. Sci.* 33: 64-65.
- Hristova, A.N., McAllister, T.A., Van Herk, F.H., Cheng, K.J., Newbold, C.J. and Cheeke, P.R. 1999. Effect of *Yucca schidigera* on ruminal fermentation and nutrient digestion in heifers. *J. Anim. Sci.* 77: 2554-2563.

- Hussain, I. and Cheek, P.R. 1995. Effect of dietary *Yucca schidigera* extract on rumen and blood profiles of steers fed concentrate- or roughage-based diets. *Anim. Feed Sci. Technol.* 51: 231-242.
- Klita, P.T., Mathison, G.W., Fenton, T.W. and Hardin, R.T. 1996. Effects of alfalfa root saponins on digestive function in sheep. *J. Anim. Sci.* 74: 1147-1156.
- Jones, G.A., McAllister, T.A., Muir, A.D. and Chung, K.J. 1994. Effect of sainfoin (*Onobrychis viciifolia Scop.*) condensed tannins on growth and proteolysis by four strain of ruminal bacterium. *Appl. Environ. Microbiol.* 60: 1374-1378.
- Lila, Z.A., Mohammed, N., Kanda, S., Kamada, T. and Itabashi, H. 2003. Effect of sarsaponin on ruminal fermentation with particular reference to methane production *in vitro*. *J. Dairy Sci.* Vol. 86: 3330-3336.
- Lu, C.D. and Jorgensen, N.A. 1987. Alfalfa saponins affect site and extent of nutrient digestion in ruminants. *J. Nutr.* 117: 919-927.
- McIntosh, F.M., Williams, P., Losa, R., Wallace, R.J., Beever, D.A. and Newbold, C.J. 2003. Effects of essential oils on ruminal microorganisms and their protein metabolism. *Appl. Environ. Microbiol.* 69: 5011-5014.
- Mao, H.L., Wang, J.K., Zhou, Y.Y. and Liu, J.X. 2010. Effect of addition of tea saponins and soybean oil on methane production, fermentation and microbial population in the rumen of growing lambs. *Livest. Sci.* 129: 56-62.
- Menke, K.H., Raab, L., Salewski, A., Steingass, H., Fritz, D. and Schneider, W. 1979. The estimation of digestibility and metabolizable energy content of ruminant feedstuff from the gas production when they incubated with rumen liquor *in vitro*. *J. Agri. Sci.* 92: 183-189.
- 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. *Anim. Res. Dev.* 28: 7-55.
- Mir, Z., Acharya, S.N., Mir, P.S., Taylor, W.G., Zaman, M.S., Mears, G.J. and Goonewardene, L.A. 1997. Nutritive composition, *in vitro* gas production and digestibility of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*) and alfalfa forages. *Can. J. Anim. Sci.* 77: 119-124.
- Mir, Z., Mir, P.S., Acharye, S.N., Zaman, M.S., Taylor, W.G., Mears, G.J., McAllister, T.A. and Goonewardene, L.A. 1998. Comparison of alfalfa and fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*) silages supplemented with barley grain on performance of growing steers. *Can. J. Anim. Sci.* 78: 343-349.
- Naseri, V., Hozhabri, F. and Kafilzadeh, F. 2013. Assessment of *In vitro* digestibility and fermentation parameters of alfalfa-based diet following direct incorporation of fenugreek seed (*Trigonella foenum*) and asparagus root (*Asparagus officinalis*). *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 97: 773-785.
- Newbold, C.J., Hassan, E.I., Wang, J., Ortega, M.E. and Wallace, R.J. 1997. Influence of foliage from African multipurpose trees on activity of rumen protozoa and bacteria. *Br. J. Nutr.* 78: 237-249.



- Nocek, J.E., Hart, S.P. and Polan, C.E. 1987. Rumen ammonia concentration as influenced by storage time, freezing and thawing, acid preservative and method of ammonia determination. *J. Dairy Sci.* 70: 601-607.
- Noorian, E. and Roozbehani, Y. 2012. Effects of *Borago officinalis* extract on *In vitro* rumen fermentation, protozoa population and reduction of methane production. *J. Iran. Agr. sci.* 43: 287-296.
- NRC. 1985. Nutrient Requirements of Sheep (Sixth Ed.). National Academy Press, Washington, D.C.
- Patra, A.K. and Saxena, J. 2009. Dietary phytochemicals as rumen modifiers: a review of the effects on microbial populations. *Antonie. van Leeuwenhoek.* 96: 363-375.
- Ramos, S., Tejido, M.L., Martínez, M.E., Ranilla, M.J. and Carro, M.D. 2009. Microbial protein synthesis, ruminal digestion, microbial populations, and nitrogen balance in sheep fed diets varying in forage-to-concentrate ratio and type of forage. *J. Anim. Sci.* 87: 2924-2934.
- Rezaei, N., Goli, S., Mazloomzade, S.A.R., Salamatdoost Nobar, R., Maheri, N., Babaei, M. and Kheiri, F. 2010. Evaluation of carnation (*Theophrastus diantus*) extract effects on degradability kinetics of soybean meal using *In vitro* gas production technique. 5<sup>th</sup> National Conference of New Innovations in Agriculture, Azad University of Esfahan (Khurasgan Unit), available at: <http://conference.khuisf.ac.ir>.
- Shah, M.A. and Mir, P.S. 2004. Effect of dietary fenugreek seed on dairy cow performance and milk characteristics. *Can. J. Anim. Sci.* 84: 725-729.
- Smith, A.H., Zoetendal, E.G. and Mackie, R.I. 2005. Bacterial mechanisms to overcome inhibitory effects of dietary tannins. *Microb. Ecol.* 50: 197-205.
- Valdez, F.R., Bush, L.J., Goetsch, A.L. and Owens, F.N. 1986. Effect of steroidal saponin on rumen fermentation and on production of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 69: 1568-1575.
- Wallace, R.J., Arthaud, L. and Newbold, C.J. 1994. Influence of *Yucca Schidigera* extract on ruminal ammonia concentration and ruminal microorganisms. *Appl. Microbiol.* 60: 1762-1767.
- Wallace, R.J., McEwan, N.R., McIntosh, F.M., Teferedegne, B. and Newbold, C.J. 2002. Natural products as manipulators of rumen fermentation. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 15: 1458-1464.
- Wu, Z., Sadik, M., Sleiman, F.T., Simas, J.M., Pessarakli, M. and Huber, J.T. 1994. Influence of yucca extract on ruminal metabolism in cow. *J. dairy Sci.* 72: 1038-1042.



Gorgan University of Agricultural  
Sciences and Natural Resources

*J. of Ruminant Research*, Vol. 2(4), 2015  
<http://ejrr.gau.ac.ir>

## Effects of different levels of fenugreek (*Trigonella Foenum greacum L*) seeds or extract on rumen fermentation characteristics by *in vitro* gas production

\*F. Farivar<sup>1</sup>, N.M. Torbatinejad<sup>2</sup>, Y. Jafari Ahangari<sup>3</sup>, S. Hasani<sup>4</sup>, A.M. Gharehbash<sup>1</sup> and M. Mohajer<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Assistant Prof., Dept. of Animal Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Gonbad University, <sup>2</sup>Professor, Dept. of Animal and Poultry Nutrition, <sup>3</sup>Professor and <sup>4</sup>Associate Prof., Dept. of Animal and Poultry Genetics, Breeding and Physiology, Faculty of Animal Science, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Iran. <sup>5</sup>Research Assistant Prof., Dept. of Animal Science, Agriculture and Natural Resources Research and Education center of Golestan, Iran.

Received: 10/22/2013; Accepted: 05/03/2014

### Abstract

This research was conducted to evaluate the effects of different levels of fenugreek seeds or extract on some *in vitro* rumen fermentation and gas production characteristics. Samples of a total mixed ration (TMR) without any additive (control treatment), 4 diets with different levels of fenugreek seeds (2, 4, 6 and 8 percent of dry matter) and 4 diets containing different levels of fenugreek extract (0.5, 1, 1.5 and 2 percent) were incubated with rumen fluid. Gas production (GP) of feed samples were measured at hours 2, 4, 6, 8, 12, 24, 48, 72 and 96 of incubation and gas production parameters, digestibility of organic matter, short chain fatty acids (SCFA) production and metabolizable energy of the samples were estimated. Final pH and ammonia-N concentration of incubation fluids were measured at the end of incubation. Addition of fenugreek seeds had significantly increased cumulative GP and GP potential and constant rate ( $P<0.05$ ). Means of SCFA were not significantly different among treatments, but rations containing fenugreek seeds had higher organic matter digestibility and metabolizable energy compared to control ( $P<0.05$ ). Addition of fenugreek seeds at levels above 4 percent significantly increased pH ( $P<0.05$ ), but the ammonia-N concentrations showed no significant trend in response to increasing levels of fenugreek seeds. Increasing levels of fenugreek extract up to 1 percent increased levels of cumulative GP, potential of GP, digestibility of organic matter and SCFA production and metabolizable energy significantly ( $P<0.05$ ), but higher levels of it had no more effect on these parameters. Constant rate of GP was significantly higher when 1.5 percent fenugreek extract was added and increasing levels of it had increasing effect on lag time ( $P<0.05$ ). Addition of 0.5 percent fenugreek extract significantly increased pH ( $P<0.05$ ). Based on results of this experiment it can be concluded that the inclusion of 2 to 4 percent of fenugreek seeds or 0.5 to 1 percent of fenugreek seed extract can improve rumen fermentation characteristics, digestibility of organic matter and SCFA production.

**Keywords:** Fenugreek (*Trigonella foenum*), Gas production, Rumen fermentation, digestibility, Ammonia-N

---

\*Corresponding author: fariba\_Farivar@yahoo.com