مقاله تحقیقی
مجله تحقیقات دامپزشکی، ۱۳۹۴، دوره ۷۰، شماره ۲، ۲۲۵-۲۱۳
Original Article
Journal of Veterinary Research. 70,2: 213-225, 2015

تأثیر جیره‌های حاوی سطوح مختلف خارمریم (*Silybum marianum*) و دانه‌هایی با سرعت تجزیه متفاوت بر قارچ‌های شکمبه گاومیش خوزستان

زینب نیک‌زاد مرتضی چاجی* خلیل میرزاده طاهره محمدآبادی محسن ساری
گروه علوم دامی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان، اهواز-ایران

(دریافت مقاله: ۲۵ آذر ماه ۱۳۹۳، پذیرش نهایی: ۲۷ فروردین ماه ۱۳۹۴)

چکیده

زمینه مطالعه: شناخت پتانسیل‌های دامی و گیاهی هر منطقه راهی برای جبران کمبود منابع علوفه‌ای و استفاده بهینه از منابع خوراکی آن کشور می‌باشد، خارمریم از جمله گیاهان دارویی است که برای دام‌های بومی خوزستان مصرف علوفه‌ای نیز دارد. **هدف:** تحقیق حاضر با هدف مطالعه تأثیر جیره‌های حاوی مقادیر مختلف خارمریم بر فعالیت قارچ‌ها و کل میکروارگانیسم‌های شکمبه گاومیش خوزستان در جیره‌های حاوی دانه با سرعت تجزیه شکمبه‌ای متفاوت انجام شد. **روش کار:** اثر جیره‌های حاوی سطوح مختلف خارمریم (۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ g/kg DM) بر کل میکروارگانیسم‌ها و قارچ‌های شکمبه‌ی گاومیش با استفاده از روش‌های مختلف مورد مطالعه قرار گرفت. **نتایج:** پتانسیل و نرخ تولید گاز جیره‌های آزمایشی توسط کل میکروارگانیسم‌ها تفاوت معنی‌داری نداشت. پتانسیل و نرخ تولید گاز جیره‌های آزمایشی توسط قارچ‌های شکمبه گاومیش تفاوت معنی‌دار داشت و در جیره‌های حاوی خارمریم افزایش یافتند ($p<0/05$). در جیره بر پایه جو افزودن خارمریم باعث افزایش عددی قابلیت هضم ماده خشک و NDF گردید در حالی که در جیره بر پایه ذرت، باعث کاهش ناچیز هضم ماده خشک و NDF شد. در محیط کشت اختصاصی قارچ‌ها، قابلیت هضم NDF، در هر دو جیره پایه در زمان ۹ روز و کل دوره تحت تأثیر جیره‌های حاوی خارمریم قرار گرفت و با افزایش سطح خارمریم، هضم NDF کاهش یافت ($p<0/05$). صرف نظر از نوع جیره پایه، قابلیت هضم NDF ($p>0/05$) و ماده خشک ($p<0/05$) در هر دو جیره پایه در زمان ۶ روز، با ازدیاد مقدار خارمریم افزایش داشت. **نتیجه‌گیری نهایی:** در کل استفاده از خارمریم اثر منفی بر میکروارگانیسم‌ها و هضم مواد مغذی توسط آنها نداشت، بنابراین نتایج نشان می‌دهد که می‌توان از خارمریم تا ۲۰٪ جیره گاومیش بدون اثرات منفی بر هضم و تخمیر توسط کل میکروارگانیسم‌ها و قارچ‌ها استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: جو، ذرت، تولید گاز، کشت اختصاصی قارچ‌های شکمبه، هضم دو مرحله‌ای

مقدمه

خارمریم از جمله گیاهان دارویی است که همواره مورد توجه بشر قرار داشته است. گیاه خارمریم با نام علمی *Silybum marianum* و نام انگلیسی milk thistle, St. Mary's thistle از خانواده Asteraceae می‌باشد. منشأ آن جنوب اروپا، شمال آفریقا و غرب آسیا می‌باشد (۱۵). در ایران این گیاه در مناطق گنبد کاووس، نوده کلاردشت، دره هراز، دشت مغان، پشت کوه، ملاثانی در خوزستان، شوش، حمیدیه، رامهرمز، ایذه و کازرون پراکندگی دارد (۱۸). گیاهی دوساله، بدون کرک، با رنگ سبز مات، خاردار است. وزن هزار دانه آن ۲۳g تا ۳۱ بوده و به صورت خودرو می‌روید و از اوایل فروردین ماه ساقه‌دهی آن آغاز می‌شود. ساقه‌دهی تا هفته اول اردیبهشت ماه ادامه دارد. مرحله گلدهی تقریباً از دهم اردیبهشت آغاز می‌گردد. کاشت خارمریم از طریق بذر نیز قابل انجام است (۲). ترکیبات مؤثر خارمریم (کمپلکس سیلی‌مارین) عمدتاً در دانه آن یافت می‌شود (۴۹). دانه‌ها حاوی حدود ۷۰ تا ۸۰٪ فلاونولیگنان‌های سیلی‌مارین و حدود ۲۰ تا ۳۰٪ ترکیبات پلی‌مریک و پلی‌فنولی اکسید شده (نظیر انواع تانن‌ها) می‌باشند (۳۱). علاوه بر این دانه‌ها حاوی بتائین، تری متیل گلایسین و اسیدهای چرب ضروری هستند که ممکن است به اثرات حفاظت از کبد و اثرات ضدالتهابی سیلی‌مارین کمک کند (۵۴). مؤثرترین جزء سیلی‌مارین، سیلیبین است که مخلوطی از دو دیاستررومر A و B می‌باشد. علاوه بر این، سیلی‌مارین حاوی مقادیر قابل توجهی از سایر فلاونولیگنان‌ها شامل سیلی‌کریستین، سیلی‌دیانین، ایزوسیلیبین، دی‌هیدروسیلی‌بین می‌باشد (۵۵) که به عنوان آنتی اکسیدان و محافظ کبدی شناخته شده است (۱،۶۲). این فلاوونوئیدها علاوه بر خاصیت آنتی‌اکسیدانی بسیار قوی، موجب تثبیت غشاء سلولی و افزایش گلوتاتیون سلولی می‌شوند که احتمالاً بر متابولیسم چربی تأثیرگذار است (۹). وجود نیترات را عامل مسمومیت با این گیاه می‌دانند. گاو و گوسفند مواد گیاهی حاوی نیترات پتاسیم را مصرف می‌کنند و توسط میکروارگانیسم‌های شکمبه شکسته می‌شود و به فرم سمی آن یعنی نیتریت تبدیل می‌شود، زیادی نیتریت جذب شده و در خون با هموگلوبین ترکیب شده و تولید مت‌هموگلوبین می‌کند (۲۹). نیتریت در شکمبه در صورتی که مقدار کافی انرژی (مانند دانه غلات) سهل التخمیر در دسترس باشد به آمونیاک تبدیل شده و در نهایت صرف تولید پروتئین میکروبی می‌شود. از آنجایی که فرآیند تبدیل نیتریت به آمونیاک و بعد از آن انرژی‌خواه می‌باشد، لذا نوع منبع کربوهیدراتی و درجه تجزیه پذیری آن (مثلا دانه جو و ذرت) می‌تواند درجه اثرگذاری که مصرف گیاهان حاوی نیترات (از جمله خارمریم) در نشخوارکنندگان می‌گذارند را تحت تأثیر قرار دهند (۲۶).

میکروارگانیسم‌های شکمبه به طور عمده از جمعیت باکتریایی

*) نویسنده مسئول: تلفن: ۰۶۱-۳۶۵۲۲۴۳۸، نمابر: ۰۶۱-۳۶۵۲۴۳۵۱ Email: chaji@ramin.ac.ir

سلولتیک، قارچ‌های بی‌هوازی و پروتوزوآها تشکیل شده است که نسبت آنها و درجه اهمیت آنها در هضم الیاف خوراک متفاوت است و بستگی به عوامل متعددی دارد. در یک مطالعه مقایسه‌ای که توسط Khejornsart و همکاران در سال ۲۰۱۱ روی گاومیش باتلاقی و گاو گوشتی جهت بررسی قارچ‌های بی‌هوازی شکمبه، باکتری‌های سلولتیک و رابطه آنها با ویژگی‌های تخمیری، انجام گردید، نتایج نشان داد که گاومیش زمانی که با کاه برنج تیمار شده با اوره و آهک، به عنوان منبع علوفه‌ای تغذیه گردید خوراک را با راندمان بیشتری مصرف کرد و تخمیر شکمبه‌ای و جمعیت میکروارگانیسم‌ها به ویژه قارچ‌ها بالاتر بود (۲۲). قارچ‌های بی‌هوازی اولین موجوداتی هستند که در شکمبه در اطراف بیومس گیاهی کلونی تشکیل می‌دهند. این قارچ‌ها می‌توانند طیف وسیعی از مواد گیاهی و محصولات فرعی کشاورزی شامل گراس‌های مناطق معتدله و گرمسیری، کاه گندم، کاه برنج، ساقه ذرت، پوسته سویا و حتی فیبر نخل و چوب را هضم کنند (۵۰). France و همکاران در سال ۱۹۹۰ پیشنهاد نمودند که باکتری‌ها قطعات گیاهی را به وسیله فرسایش سطحی هضم می‌کنند و قارچ‌ها به قطعات گیاهی نفوذ کرده، با تشکیل کلونی آنها را هضم می‌نمایند. آزمایشات Camra در سال ۲۰۰۵ نشان داد که حذف قارچ‌ها از محتوای شکمبه، کاهش معنی‌داری در تولید گاز به روش برون تنی و هضم خوراک‌های فیبری ایجاد می‌کند، لذا قارچ‌ها نقش مهمی در هضم فیبر دارند.

تانن‌ها ترکیبات فنولیک محلول در آب هستند و قادر به چسبندگی به پروتئین‌ها و آلکالوئیدها می‌باشند (۲۶)، می‌توانند هضم در شکمبه را مختل کنند

در منطقه اهواز خارمریم توسط دام‌هایی نظیر گوسفند، شتر و گاو مورد چرا قرار می‌گیرد، اما اطلاعاتی در مورد اثر آن بر میکروارگانیسم‌های شکمبه (باکتری، قارچ و پروتوزوآ) وجود ندارد. در آزمایشات قبلی، ارزش غذایی گیاه خارمریم به صورت ترکیب در جیره برای دام (گوسفند) مورد آزمایش قرار گرفت و تا حدودی اثرات مثبت و منفی بر هضم الیاف و سایر مواد مغذی مشاهده شد و از طرفی گیاه به تنهایی اثر به شدت منفی بر توان تولید گاز داشت. لذا حدس زده می‌شود بخشی از این اثرات مربوط به تأثیر مواد موجود در خارمریم بر میکروارگانیسم‌هایی از جمله قارچ‌ها باشد. با توجه به اهمیت قارچ‌ها در گروه سلولیتیک‌های شکمبه و عدم وجود اطلاعات کافی درباره اثر جیره‌های حاوی خارمریم بر آنها آزمایش حاضر انجام گرفت. از طرفی وجود نیترات در خارمریم و تأثیر نوع منبع دانه‌ای به لحاظ سرعت هضم و تجزیه در شکمبه (دانه جو و ذرت) بر رفع آن نیز هدف دیگری بود که در آزمایش حاضر مورد توجه قرار گرفت.

مواد و روش کار

گیاه کامل خارمریم از منطقه ملاثانی واقع در خوزستان جمع‌آوری و خشک گردید و پودر آن در سه سطح ۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ g/Kg به صورت سرک به جیره پایه، حاوی دانه جو و ذرت افزوده شد (جو سرعت تخمیر بالاتری در مقایسه با ذرت دارد). جیره براساس احتیاجات استاندارد (۴۱) تهیه شد و شامل دو بخش علوفه و کنسانتره (۵۰:۵۰) بود که بخش علوفه شامل ۳۰٪ یونجه خشک و ۲۰٪ کاه و بخش کنسانتره‌ای شامل دانه جو (یا ذرت)، سبوس، پودر ماهی، جوش شیرین، نمک و کربنات کلسیم بود. اختلاف دو جیره پایه تنها در نوع دانه مورد استفاده بود (جو یا ذرت). اثر جیره‌های حاوی خارمریم بر قارچ‌ها و کل میکروارگانیسم‌های شکمبه‌ی گاومیش با استفاده از روش‌های مختلف ذیل مورد مطالعه قرار گرفت.

تولید گاز توسط کل میکروارگانیسم‌ها: تولید گاز تیمارهای آزمایشی با استفاده از روش Menk and Stingass در سال ۱۹۸۸، در سرنگ‌های شیشه‌ای ۱۰۰mL که حاوی ۳۰۰mg نمونه، ۲۰mL بزاق مصنوعی و ۱۰mL مایع شکمبه بود، اندازه گیری شد. بزاق مصنوعی با روش McDougall در سال ۱۹۴۸ تهیه گردید. به‌طور خلاصه، بزاق تازه با مخلوط کردن محلول معدنی پر نیاز (فسفات هیدروژن دی‌سدیم، فسفات دی‌هیدروژن پتاسیم و سولفات منیزیوم ۷ آبه)، بافر (کربنات هیدروژن سدیم و کربنات هیدروژن آمونیوم)، محلول معدنی کم نیاز (کلسیم دی‌کلرید ۲ آبه، منگنز دی‌کلرید ۴ آبه، کبالت دی‌کلرید ۶ آبه و آهن دی‌کلرید ۶ آبه)، ریزازورین و محلول احیاء (سولفید سدیم ۹ آبه حل شده در سدیم‌هیدروکسید) تهیه گردید. مایع شکمبه از دو رأس گاومیش مجهز به فیستولای شکمبه‌ای که به مدت ۶ هفته با جیره نگهداری (شامل یونجه خشک، کاه گندم، ختن (خوراک تفاله نیشکر)، کنجاله سویا، دانه جو، سبوس گندم، دانه ذرت، اوره، مکمل معدنی و ویتامینی (تغذیه شده بودند، قبل از خوراکدهی صبح، جمع‌آوری شد و با استفاده از پارچه متقال ۴ لایه صاف شده و با حجم مناسبی (نسبت ۱:۲) از بزاق مصنوعی مخلوط شد.

تولید گاز توسط قارچ‌های شکمبه گاومیش: برای تعیین تولید گاز قارچ‌های شکمبه، روش مورد استفاده مانند تعیین تولید گاز توسط کل میکروارگانیسم‌های شکمبه بود، با این تفاوت که به جای استفاده از مایع شکمبه کامل، بعد از صاف کردن آن، در ۱۰۰۰ دور در دقیقه برای ۵ دقیقه سانتریفیوژ شد و سپس با استفاده از آنتی بیوتیک (پنی سیلین و استرپتومایسین و کلرامفنیکل، ۰/۱mg/L) باکتری‌ها شسته شدند (۳۹). تولید گاز سرنگ‌ها در دمای ۳۹ °C در زمان‌های ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۲، ۲۴، ۳۶، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت انکوباسیون اندازه‌گیری شد. نتایج حاصل از تولید گاز جیره‌های آزمایشی توسط کل میکروارگانیسم‌ها و قارچ‌های شکمبه گاومیش با استفاده از معادله نمایی Orskov and McDonald در سال ۱۹۷۹ تحلیل شد.

آزمایش هضم‌پذیری: جهت تعیین هضم‌پذیری تیمارهای آزمایشی توسط کل جمعیت میکروبی و قارچ‌های شکمبه گاومیش، از روش هضم دو مرحله‌ای استفاده شد (۶۱). مایع شکمبه از گاومیش‌هایی که در بخش قبلی شرح داده شد اخذ گردید و قارچ‌ها با روش ذکر شده در بالا خالص‌سازی

شـدند (۳۹). در ادامه قابلیت هضم آزمایشگاهی تیمارهای آزمایشی توسط کل میکروارگانیسـم‌ها و قارچ‌های شکمبه گاومیش، در لوله‌های آزمایش ۱۰۰mL کـه حاوی ۰/۵g نمونه، ۴۰mL بـزاق مصنوعی و ۱۰mL مایع شکمبه بود (نسبت ۱:۴)، اندازه گیری شد. قابلیت هضم ماده خشک و الیاف نامحلول در شوینده خنثی با توجه به اختلاف ماده اولیه و مواد باقیمانده در پایان آزمایش هضم محاسبه گردید. الیاف نامحلول در شوینده خنثی با روش VanSoest و همکاران در سال ۱۹۹۱ اندازه‌گیری شد.

کشـت قارچ‌هـای بی‌هـوازی شـکمبه در محیط اختصاصـی قارچ‌ها: تیمارهای آزمایشی در محیط کشت اختصاصی قارچ‌های شکمبه، در دمای ۳۹°C برای ۳، ۶ و ۹ روز کشـت داده شدند. برای کشت اختصاصی قارچ‌ها از روش تغییر یافته Orpin در سـال ۱۹۷۷ اسـتفاده شد. به طور خلاصه، محیط کشـت قارچ‌های شکمبه شامل محلول نمکی ۱ (فسفات هیدروژن دی پتاسـیم در ۱L آب مقطـر حل می‌شـود) و محلول نمکی ۲ (فسـفات هیدروژن پتاسـیم، سولفات آمونیوم، کلرید سدیم و کلرید کلسیم در ۱ Lit آب مقطر حل می‌شـود)، مایع شکمبه (سانتریفیوژ شـده)، عصاره مخمر، پپتون تریپتیکاز، گلوکز، سـلوبیوز، بی کربنات سـدیم، سیستئین HCL و رزازورین ۰/۱٪ برای هر Lit محیط کشـت بود (۱۲). محیط کشـت تحت شـرایط بی‌هوازی به داخل شیشه‌های کشت منتقل گردید و بعد برای ۱۵ دقیقه در ۱۲۰°C درجه اتوکلاو شد. به این ترتیب محیط کشت اختصاصی قارچ آماده شد. ایزوله‌های قارچ تهیه شده به عنوان اینوکولانت (برای تهیه اینوکولانت قارچ‌های شکمبه، نمونه‌های کاه در شکمبه دام دارای فیستوله کیسـه گذاری شدند و به عنوان منبع قارچ‌های بی هوازی در محیط کشت قارچ‌های شکمبه تحت گاز دی اکسید کربن قرار گرفتند و بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون، ایزوله‌های قارچ حاصل شدند) در شیشه‌های کشت که محتوی محیط کشت اختصاصی قارچ به همراه نمونه‌های آزمایشی و آنتی‌بیوتیک (پنی سیلین و استرپتومایسین و کلرامفنیکل، هر کدام به مقدار ۰/۱mg/L) بودند، کشـت داده شـدند و برای بدسـت آوردن محیط کشت خالص، سه مرحله عمل کشت تکرار شد. در روزهای ۳، ۶ و ۹ رشد قارچ‌های شکمبه‌ای، از هر تیمار ۲ تکرار انتخاب، خشک و توزین شدند و ناپدید شدن ماده خشک و NDF نمونه‌ها توسط قارچ‌ها، محاسبه شد.

تجزیه و تحلیـل داده‌های حاصل از آزمایش در قالب طرح پلات‌های خرد شده (جیره پایه حاوی جو و ذرت، پلات اصلی و جیره‌های حاوی مقادیر مختلف خارمریم به عنوان پلات‌های فرعی در نظر گرفته شدند) با استفاده از نرم افزار آماری SAS (ویرایش ۹/۱) و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از روش دانکن در سطح ۵٪ انجام شد.

نتایج

تولیـد گاز توسـط کل میکروارگانیسـم‌ها: جیره‌هـای آزمایشـی اثر معنی‌داری بر پتانسـیل و نرخ تولید گاز (جدول ۱) نداشـتند ($p>0/05$). در جیره‌ی بر پایه‌ی جو بیشـترین پتانسـیل تولید گاز مربـوط به جیره حاوی ۲۰۰g خارمریم در کیلوگرم ماده خشک (۱۱۶/۷۳۷ mL) بود ($p>0/05$)، در جیره بر پایه ذرت بیشترین پتانسیل تولید گاز مربوط به جیره حاوی ۱۰۰g خارمریم بود (۱۱۷/۹۹۹ mL)، اما اختلاف آن با سایر تیمارها معنی‌دار نبود ($p>0/05$). در جیره بر پایه جو و ذرت بیشترین نرخ تولید گاز مربوط به جیره حاوی ۱۰۰g خارمریم بود ($p>0/05$).

تولید گاز توسـط قارچ‌ها: تأثیر جیره‌های آزمایشـی بر پتانسیل و نرخ تولید گاز توسـط قارچ‌های شـکمبه گاومیش معنی‌دار بـود ($p<0/05$). در جیره بر پایه جو بیشـترین پتانسـیل تولید گاز مربوط به جیره حاوی ۲۰۰g خارمریـم (۶۹/۵۸۳ mL) بود ($p<0/05$) و در جیره بر پایه ذرت بیشـترین پتانسـیل تولید گاز مربوط به جیره حاوی ۱۰۰g خارمریم (۶۰/۴۳ mL) بود که تفاوت معنی‌داری با سـطح ۲۰۰g نداشت. نرخ تولید گاز در جیره حاوی ۲۰۰g خارمریم بر پایه جو بیشترین مقدار بود ($p<0/05$) و در جیره بر پایه ذرت با ۱۰۰ g خارمریم بیشترین نرخ تولید گاز وجود داشت ($p<0/05$). این روند مشابه با کل میکروارگانیسم‌ها بود.

صرف نظر از سطوح خارمریم (جدول ۲) پتانسیل تولید گاز توسط کل میکروارگانیسم‌ها تفاوت معنی‌دار نداشت ($p>0/05$) و برای جیره بر پایه‌ی ذرت (۱۱۴/۷۱۳ mL) بیشـتر از جیـره بر پایه جـو (۱۰۷/۲۴۶ mL) بود. از طرفی نرخ تولید گاز توسط کل میکروارگانیسم‌ها در جیره بر پایه جو (۰/۰۴۰۵ mL/h) به طور معنی‌داری بیشـتر از جیره بر پایه ذرت (۰/۰۳۴۵ mL) بود ($p<0/05$). بـرای پتانسـیل و نرخ تولید گاز قارچ‌ها صرف نظر از سـطوح خارمریم (جدول ۲) بین جیره‌های بر پایه جو و ذرت تفاوت معنی‌دار مشاهده نشد ($p>0/05$). پتانسیل و نرخ تولید گاز در جیره بر پایه جو اندکی بیشتر از ذرت بود ($p>0/05$).

صرف نظر از نوع جیره پایه (جدول ۳)، پتانسیل و نرخ تولید گاز توسط کل میکروارگانیسـم‌ها تحت تأثیر سـطوح مختلف خارمریم قرار نگرفت ($p>0/05$). افـزودن خارمریم اثر منفی بر پتانسـیل تولید گاز توسـط کل میکروارگانیسـم‌ها نداشته و تا سطح ۲۰۰g باعث افزایش عددی تولید گاز گردید. در رابطه با نرخ تولید گاز، در مقایسه با سطح شاهد، خارمریم باعث افزایش غیرمعنی‌دار نرخ تولید گاز شـد و برای سطح ۱۰۰g بالاترین مقدار بود ($p>0/05$). پتانسیل و نرخ تولید گاز توسط قارچ‌های شکمبه گاومیش با افزایش مقدار خارمریم تا ۲۰۰g به طور معنی‌دار افزایش یافت ($p<0/05$) و جیره‌ی حاوی ۲۰۰g خارمریم بیشترین پتانسیل و بیشترین نرخ تولید گاز را نشان داد و با جیره فاقد خارمریم تفاوت معنی‌دار داشت ($p<0/05$).

قابلیت هضم مواد مغذی (جدول ۴): قابلیت هضم ماده خشک و NDF توسـط کل میکروارگانیسـم‌ها و قارچ‌ها تحت تأثیر تیمارهـا قرار نگرفت ($p>0/05$).

کل میکروارگانیسم‌ها: در جیره‌های بر پایه جو، افزایش مقدار خارمریم باعث افزایش عددی قابلیت هضم ماده خشک شد، اما اثری بر NDF نسبت

جدول ۱. فراسنجه‌های تولید گاز جیره‌های آزمایشی توسط کل میکروارگانیسم‌ها و قارچ‌های شکمبه گاومیش. SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها، در هر ستون اعداد دارای حروف غیر مشابه از نظر آماری اختلاف معنی‌داری دارند ($p<0/05$).

جیره پایه	مقدار خارمریم در جیره (g/kg DM)	کل میکروارگانیسم‌ها		قارچ	
		پتانسیل تولید گاز (mL)	ثابت نرخ تولید گاز (mL/h)	پتانسیل تولید گاز (mL)	ثابت نرخ تولید گاز (mL/h)
جو	۰	۱۰۲/۰۵۹	۰/۰۳۸۸	۴۹/۹۹۲ b	۰/۰۴۴۷۴ b
	۱۰۰	۱۰۲/۸۳۷	۰/۰۴۳۸	۴۹/۹۶۹ b	۰/۰۴۶۴ ab
	۲۰۰	۱۱۶/۷۳۷	۰/۰۳۸۴	۶۹/۵۸۳ a	۰/۰۵۰۹۸ a
ذرت	۰	۱۱۴/۹۵۳	۰/۰۳۱۲	۵۴/۹۸۹ b	۰/۰۳۹۱ c
	۱۰۰	۱۱۷/۹۹۹	۰/۰۳۷۲	۶۰/۴۰۳ ab	۰/۰۴۹۵ ab
	۲۰۰	۱۱۰/۸۰۸	۰/۰۳۵۲	۵۲/۶۵۰ b	۰/۰۴۷۲ ab
SEM		۴/۳۶۶۴	۰/۰۰۲۵	۳/۴۵۲۸	۰/۰۰۱۶
احتمال معنی‌داری		۰/۰۸۴۴	۰/۰۷	۰/۰۱۱۹	۰/۰۰۳

جدول ۲. فراسنجه‌های تولید گاز جیره‌های آزمایشی توسط کل میکروارگانیسم‌ها و قارچ‌های شکمبه گاومیش (صرف نظر از سطوح خارمریم). SEM : خطای استاندارد میانگین‌ها، در هر ستون اعداد دارای حروف غیر مشابه از نظر آماری اختلاف معنی‌داری دارند ($p<0/05$).

جیره پایه	کل میکروارگانیسم‌ها		قارچ‌ها	
	پتانسیل تولید گاز (mL)	ثابت نرخ تولید گاز (mL/h)	پتانسیل تولید گاز (mL)	ثابت نرخ تولید گاز (mL/h)
جو	۱۰۷/۲۴۶	۰/۰۴۰۵ a	۵۶/۵۱۵	۰/۰۴۷۴
ذرت	۱۱۴/۷۱۳	۰/۰۳۴۵ b	۵۶/۰۳۰	۰/۰۴۵۲
SEM	۲/۵۲۱۰	۰/۰۰۱۴۶	۱/۹۹۳۵	۰/۰۰۰۹۲
احتمال معنی‌داری	۰/۰۵۸۱	۰/۰۱۳۳	۰/۸۶۶۳	۰/۱۳

جدول ۳. فراسنجه‌های تولید گاز سطوح مختلف خارمریم (صرف نظر از نوع جیره پایه) توسط کل میکروارگانیسم‌ها و قارچ‌های شکمبه گاومیش. SEM: خطای استاندارد میانگین‌هادر هر ستون اعداد دارای حروف غیر مشابه از نظر آماری اختلاف معنی‌داری دارند ($p<0/05$).

مقدار خارمریم در جیره (g/kg DM)	کل میکروارگانیسم‌ها		قارچ‌ها	
	پتانسیل تولید گاز (mL)	ثابت نرخ تولید گاز (mL/h)	پتانسیل تولید گاز (mL)	ثابت نرخ تولید گاز (mL/h)
۰	۱۰۸/۶۱۰	۰/۰۳۵۳	۵۲/۵۰۸ b	۰/۰۴۱۹ b
۱۰۰	۱۱۰/۴۸۶	۰/۰۴۰۵	۵۵/۱۸۹ ab	۰/۰۴۷۹ a
۲۰۰	۱۱۳/۸۴۲	۰/۰۳۶۸	۶۱/۱۲۱ a	۰/۰۴۹۱ a
SEM	۳/۰۸۷۶	۰/۰۰۱۸	۲/۴۴۱۵	۰/۰۰۱۱
احتمال معنی‌داری	۰/۴۹۸۹	۰/۱۴۹۲	۰/۰۷۴۱	۰/۰۰۱۶

جدول ۴. قابلیت هضم مواد مغذی جیره‌های آزمایشی توسط کل میکروارگانیسم‌ها و قارچ‌های شکمبه گاومیش. SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها، در هر ستون اعداد دارای حروف غیر مشابه از نظر آماری اختلاف معنی‌دار دارند ($p<0/05$).

جیره پایه	مقدار خارمریم در جیره (g/kg DM)	کل میکروارگانیسم‌ها		قارچ‌ها	
		ماده خشک (٪)	الیاف نامحلول در شوینده خنثی (٪)	ماده خشک (٪)	الیاف نامحلول در شوینده خنثی (٪)
جو	۰	۶۷/۵۱	۷۹/۱۰	۶۳/۳۴	۷۲/۴۴
	۱۰۰	۷۳/۸۴	۷۹/۱۵	۶۳/۹۷	۷۲/۰۰
	۲۰۰	۷۱/۸۰	۷۸/۷۴	۷۱/۷۷	۷۹/۱۲
ذرت	۰	۷۸/۷۹	۸۴/۷۱	۶۷/۰۷	۷۹/۳۳
	۱۰۰	۷۲/۸۲	۷۸/۲۸	۶۵/۲۱	۷۶/۳۶
	۲۰۰	۷۵/۱۳	۷۶/۰۳	۶۳/۵۴	۷۶/۱۷
SEM		۳/۵۰	۳/۲۱	۲/۷۸	۲/۲۱
احتمال معنی‌داری		۰/۴۳	۰/۲۸	۰/۳۶	۰/۲۰

به جیره شـاهد نداشـت ($p>0/05$). جیره حاوی ۱۰۰g خارمریم بیشترین قابلیت هضم ماده خشک و NDF را داشت ($p>0/05$). در جیره‌های بر پایه ذرت، افزودن خارمریم به جیره باعث کاهش ناچیزی در قابلیت هضم ماده خشـک و NDF گردید ($p>0/05$) و جیره فاقد خارمریم بیشـترین قابلیت هضم ماده خشـک و NDF را نشان دادند ($p>0/05$). در جیره‌های بر پایه ذرت، جیره فاقد خارمریم بیشـترین قابلیت هضم ماده خشـک و NDF را

جدول ۵. قابلیت هضم مواد مغذی جیره‌های آزمایشی توسط کل میکروارگانیسم‌ها و قارچ‌های شکمبه گاومیش (صرف نظر از سطح خارمریم) با روش هضم دو مرحله‌ای. SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها، در هر ستون اعداد دارای حروف غیر مشابه از نظر آماری اختلاف معنی‌دار دارند ($p<0/05$).

جیره پایه	کل میکروارگانیسم‌ها		قارچ‌ها	
	ماده خشک (٪)	الیاف نامحلول در شوینده خنثی (٪)	ماده خشک (٪)	الیاف نامحلول در شوینده خنثی (٪)
جو	۷۷/۰۵	۷۸/۹۹۶	۶۶/۸۴۷	۷۴/۵۳۲
ذرت	۷۵/۵۸	۷۹/۶۷۳	۶۵/۲۷۳	۷۷/۴۷۲
SEM	۲/۰۲۲	۱/۸۵۶	۱/۹۰۳	۱/۲۷۳
احتمال معنی‌داری	۰/۱۶۴	۰/۸۰۵	۰/۵۸	۰/۱۵۲

جدول ۶. قابلیت هضم مواد مغذی سطوح مختلف خارمریم (صرف نظر از نوع جیره پایه) توسط کل میکروارگانیسم‌ها و قارچ‌های شکمبه گاومیش. SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها، در هر ستون اعداد دارای حروف غیر مشابه از نظر آماری اختلاف معنی‌دار دارند ($p<0/05$).

مقدار خارمریم در جیره (g/kg DM)	کل میکروارگانیسم‌ها		قارچ‌ها	
	ماده خشک (٪)	الیاف نامحلول در شوینده خنثی (٪)	ماده خشک (٪)	الیاف نامحلول در شوینده خنثی (٪)
۰	۷۳/۱۵۰	۸۱/۹۰۵	۶۵/۹۳۵	۷۵/۸۸۸
۱۰۰	۷۳/۳۳۰	۷۸/۷۱۵	۶۴/۵۹۰	۷۴/۱۸۵
۲۰۰	۷۳/۴۶۵	۷۷/۳۸۳	۶۷/۶۵۵	۷۷/۹۱۹
SEM	۲/۴۷۷	۲/۲۷۳	۲/۳۳۱	۱/۵۵۹
احتمال معنی‌داری	۰/۹۹۶	۰/۴۰۸	۰/۶۶۶	۰/۳۰۹

داشت ($p>0/05$).

قارچ‌های شکمبه: قابلیت هضم ماده خشک و NDF توسط قارچ‌های شکمبه (جدول ۴) تحت تأثیر افزودن خارمریم قرار نگرفت ($p>0/05$). در جیره‌های بر پایه جو، جیره حاوی ۲۰۰g خارمریم بیشترین قابلیت هضم ماده خشک و NDF ($p>0/05$) را نشان داد. نتایج تولید گاز توسط قارچ‌ها نیز مؤید این نتیجه می‌باشد (جیره بر پایه جو حاوی ۲۰۰g خارمریم بیشترین پتانسیل و نرخ تولید گاز را داشت). اما، در جیره‌های بر پایه ذرت افزودن خارمریم باعث کاهش قابلیت هضم ماده خشک و NDF گردید، هرچند معنی‌دار نبود ($p>0/05$).

صرف نظر از سطح خارمریم (جدول ۵) قابلیت هضم ماده خشک و NDF در جیره بر پایه ذرت به طور غیر معنی‌داری برای کل میکروارگانیسم‌ها و قارچ‌های شکمبه بیشتر از جیره بر پایه جو بود ($p>0/05$).

برای قابلیت هضم ماده خشک و NDF توسط کل میکروارگانیسم‌ها و قارچ‌ها صرف نظر از نوع جیره پایه (جدول ۶)، بین سطوح مختلف خارمریم تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ($p>0/05$).

کشت اختصاصی قارچ‌ها: قابلیت هضم ماده خشک در هر دو جیره پایه در زمان‌های ۳، ۶ و ۹ روز (جدول ۷) تحت تأثیر خارمریم در جیره‌ها نبودند ($p>0/05$). در جیره بر پایه جو و ذرت، هضم ماده خشک در زمان ۳ و ۹ روز با افزودن مقدار خارمریم به طور عددی کاهش یافت ($p>0/05$) و در زمان ۶ روز با افزودن خارمریم به طور جزئی افزایش داشت ($p>0/05$). بین جیره‌های بر پایه جو و ذرت، جیره فاقد خارمریم بیشترین قابلیت هضم NDF را در زمان ۳ روز ($p>0/05$) و زمان ۹ روز ($p<0/05$) نشان داد و جیره حاوی ۲۰۰g خارمریم بیشترین قابلیت NDF را در زمان ۶ روز داشت ($p>0/05$). قابلیت هضم ماده خشک برای هر دو جیره پایه (جو و ذرت) توسط قارچ‌های شکمبه گاومیش برای سطوح مختلف خارمریم صرف نظر از زمان انکوباسیون (کل دوره) تحت تأثیر سطح خارمریم قرار نگرفت ($p>0/05$)، از طرفی قابلیت هضم NDF بین جیره‌های آزمایشی تفاوت معنی‌دار را نشان داد ($p<0/05$). در جیره‌های بر پایه جو، با افزایش سطح خارمریم قابلیت هضم NDF تفاوت معنی‌داری نسبت به شاهد نداشت ($p<0/05$)، در جیره‌های بر پایه ذرت نیز اختلاف سطح ۲۰۰g با شاهد معنی‌دار نبود.

صرف نظر از سطح خارمریم (جدول ۸)، در هر سه زمان انکوباسیون تفاوت قابلیت هضم ماده خشک بین جیره بر پایه جو و ذرت (جدول ۸) معنی‌دار نبود ($p>0/05$) اما با گذشت زمان در هر دو جیره افزایش داشت و در جیره بر پایه ذرت بیشتر از جیره بر پایه جو بود. قابلیت هضم NDF در زمان ۳ و ۹ روز در جیره بر پایه ذرت بالاتر از جو بود ($p<0/05$)، اما در زمان ۶ روز اختلاف معنی‌داری بین دو جیره مشاهده نشد ($p>0/05$). صرف نظر از زمان‌های انکوباسیون (در کل دوره) نیز قابلیت هضم مواد مغذی در جیره بر پایه ذرت بیشتر از جیره بر پایه جو بود ($p<0/05$).

صرف نظر از نوع جیره پایه، تفاوت قابلیت هضم ماده خشک بین جیره‌های حاوی مقادیر مختلف خارمریم (جدول ۹) در هر سه زمان انکوباسیون معنی‌دار نبود ($p>0/05$) و با افزایش سطح خارمریم (به جز در زمان ۶ روز) کاهش عددی نشان داد. قابلیت هضم NDF با افزایش سطح خارمریم کاهش یافت ($p>0/05$) اما در زمان ۶ روز همانند هضم ماده خشک افزایش داشت ($p<0/05$). در کل دوره قابلیت هضم ماده خشک تحت تأثیر سطح خارمریم قرار گرفت ($p<0/05$) و اختلاف شاهد با سطح ۲۰۰g خارمریم معنی‌دار بود. از طرفی قابلیت هضم NDF تحت تأثیر سطح خارمریم قرار نگرفت ($p>0/05$).

بحث

تولید گاز توسط کل میکروارگانیسم‌ها: در جیره بر پایه جو و ذرت بیشترین نرخ تولید گاز مربوط به جیره حاوی ۱۰۰g خارمریم بود ($p>0/05$). بنابراین، علی‌رغم وجود ترکیبات ضدتغذیه‌ای در خارمریم نظیر تانن، اسیدهای چرب غیراشباع و غیره، نه تنها تأثیر منفی بر کل میکروارگانیسم‌ها وجود نداشت، بلکه افزایش جزئی در تولید گاز نیز مشاهده شد. افزایش مشاهده شده در تولید گاز شاید به دلیل تغییر در مواد مغذی با افزودن خارمریم باشد. Menk و همکاران در سال ۱۹۷۹ بیان نمودند که

جدول ۷. قابلیت هضم مواد مغذی جیره‌های آزمایشی در زمان‌های مختلف (۳،۶ و ۹ روز) و کل دوره (صرف نظر از زمان انکوباسیون). SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها، در هر ستون اعداد دارای حروف غیر مشابه از نظر آماری اختلاف معنی‌دار دارند (p<۰/۰۵).

ماده مغذی (روز)	جیره پایه	مقدار خارمریم در جیره (g/kg DM)	زمان انکوباسیون ۳	۶	۹	کل دوره
ماده خشک (٪)	جو	۰	۵۴/۸۰	۵۷/۸۱	۶۳/۸۳	۵۸/۸۱
		۱۰۰	۵۴/۷۵	۵۹/۱۸	۶۲/۸۰	۵۸/۹۱
		۲۰۰	۵۰/۸۱	۶۲/۳۳	۶۱/۲۳	۵۸/۱۳
	ذرت	۰	۶۳/۳۰	۵۷/۲۵	۷۱/۵۸	۶۴/۰۴
		۱۰۰	۵۶/۰۴	۶۰/۷۶	۶۹/۱۸	۶۱/۹۹
		۲۰۰	۵۴/۳۶	۵۸/۸۲	۶۲/۰۱	۵۸/۴۰
SEM			۲/۷۶	۲/۳۷	۳/۰۹	۱/۸۸
احتمال معنی‌داری			۰/۱۸	۰/۶۸	۰/۲۳	۰/۰۹
الیاف نامحلول در شوینده خنثی (٪)	جو	۰	۳۳/۰۲	۴۰/۷۱	۵۵/۸۸ [a]	۴۳/۲۰ [bc]
		۱۰۰	۳۰/۶۸	۴۱/۶۹	۴۷/۵۰ [b]	۳۷/۹۵ [c]
		۲۰۰	۳۰/۱۲	۵۲/۸۸	۳۳/۵۲ [b]	۳۸/۸۴ [bc]
	ذرت	۰	۴۷/۲۹	۴۵/۰۶۶	۶۳/۷۸ [a]	۵۲/۰۵ [a]
		۱۰۰	۳۴/۳۵	۴۲/۶۰	۵۴/۸۴ [ab]	۴۳/۹۴ [b]
		۲۰۰	۴۳/۷۳	۴۸/۰۸	۵۶/۵۴ [a]	۴۹/۳۳ [a]
SEM			۳/۶۴	۲/۸۲	۲/۵۲	۵/۱۳
احتمال معنی‌داری			۰/۰۷	۰/۱۳	۰/۰۰۱	۰/۰۰۰۱

جدول ۸. قابلیت هضم مواد مغذی جیره‌های آزمایشی توسط قارچ‌های شکمبه گاومیش (صرف نظر از سطح خارمریم) در کشت اختصاصی قارچ در زمان‌های مختلف. SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها، در هر ستون اعداد دارای حروف غیر مشابه از نظر آماری اختلاف معنی‌دار دارند (p<۰/۰۵).

جیره پایه	زمان انکوباسیون (روز) ۳		۶		۹		کل دوره	
	ماده خشک (٪)	الیاف نامحلول در شوینده خنثی (٪)	ماده خشک (٪)	الیاف نامحلول در شوینده خنثی (٪)	ماده خشک (٪)	الیاف نامحلول در شوینده خنثی (٪)	ماده خشک (٪)	الیاف نامحلول در شوینده خنثی (٪)
جو	۵۳/۴۶	b ۳۱/۲۸	۵۹/۷۷	۴۵/۰۹	۶۲/۶۲	b ۴۳/۳۲	۶۲/۶۲	b ۴۳/۳۲
ذرت	۵۷/۹۰	a ۴۱/۶۷	۵۸/۹۴	۴۵/۲۵	۶۷/۵۹	a ۵۸/۳۹	۶۷/۵۹	a ۵۸/۳۹
SEM	۱/۵۹	۲/۱۰	۱/۳۷	۱/۶۳	۱/۷۸	۱/۴۵	۱/۷۸	۱/۴۵
احتمال معنی‌داری	۰/۰۹۶	۰/۰۱۳	۰/۶۸۳	۰/۹۴۷	۰/۰۹۶	۰/۰۰۰۴	۰/۰۹۶	۰/۰۰۰۴

جدول ۹. قابلیت هضم مواد مغذی سطوح مختلف خارمریم (صرف نظر از نوع جیره پایه) توسط قارچ‌های شکمبه گاومیش در کشت اختصاصی قارچ در زمان‌های مختلف. SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها، در هر ستون اعداد دارای حروف غیر مشابه از نظر آماری اختلاف معنی‌دار دارند (p<۰/۰۵).

مقدار خارمریم در جیره (g/kg DM)	زمان انکوباسیون (روز) ۳		۶		۹		کل دوره	
	ماده خشک	الیاف نامحلول در شوینده خنثی (٪)	ماده خشک	الیاف نامحلول در شوینده خنثی (٪)	ماده خشک	الیاف نامحلول در شوینده خنثی (٪)	ماده خشک	الیاف نامحلول در شوینده خنثی (٪)
۰	۵۹/۰۹	۴۰/۱۵	۵۷/۵۳	۴۲/۸۹ [b]	۶۷/۷۰	۵۹/۸۳ [a]	۶۱/۴۳ [a]	۴۷/۱۷
۱۰۰	۵۵/۴۰	۳۲/۵۲	۵۹/۹۷	۴۲/۱۴ [b]	۶۵/۹۹	۴۸/۱۷ [b]	۶۰/۴۵ [a]	۴۰/۱۲
۲۰۰	۵۲/۵۹	۳۶/۷۵	۶۰/۵۸	۵۰/۴۸ [a]	۶۱/۶۲	۴۵/۰۳ [b]	۵۴/۵۴ [b]	۴۲/۷۳
SEM	۱/۹۵	۲/۵۸	۱/۶۸	۱/۹۹	۲/۱۸۶	۱/۷۸	۱/۹۹	۲/۹۶
احتمال معنی‌داری	۰/۱۴	۰/۱۹	۰/۴۵	۰/۰۴۶	۰/۲۱	۰/۰۰۲	۰/۰۴۲	۰/۲۵

گاز تولیدی تحت تأثیر عامل دیگری به جز ترکیب شیمیایی و خصوصیات فیزیکی مواد غذایی قرار نمی‌گیرد، اما تغییر در فعالیت میکروبی شکمبه نیز ممکن است روی نرخ تخمیر اثر بگذارد. موافق با پژوهش حاضر، Sallam و همکاران در سال ۲۰۱۱ اثر عصاره بومادران و درمنه (هم خانواده خارمریم)

(۲۵ µL، ۵۰ و ۷۵ در ۷۵ mL مایع شکمبه) را روی تخمیر شکمبه در شرایط برون‌تنی مورد مطالعه قرار دادند، نتایج نشان داد که بومادران تولید کل گاز و متان را تا سطح ۵۰µL افزایش می‌دهد. همچنین Patra و همکاران در سال ۲۰۰۶ بیان نمودند که مکمل‌کردن جیره با عصاره‌های گیاهی (آکاسیا کونوسیا، ترمینالیا بلریکا و امبلیکا آفیشنالیس)، پتانسیل تولید گاز را افزایش می‌دهد، این محققین علت این امر را افزایش قندهای محلول در واکنش‌های ترکیبی به واسطه افزودن عصاره‌های گیاهی دانستند. نتایج کلی، عدم تأثیر منفی با افزودن ۲۰۰g خارمریم به جیره بر پایه جو در مقایسه با ذرت را نشان می‌دهد. بنابراین، احتمالاً تانن موجود در خارمریم در جیره بر پایه جو تأثیر منفی بر میکروارگانیسم‌ها نداشته است. علت آن را شاید بتوان به تخمیر سریع جیره بر پایه جو نسبت داد که باعث کاهش pH شده است (۶۴) و در نتیجه کمپلکس تانن با مواد مغذی در محیط اسیدی شکسته شده است. با این حال، در جیره بر پایه ذرت افزایش خارمریم تا ۱۰۰g باعث افزایش تولید گاز شده و تا ۲۰۰g باعث کاهش ناچیز تولید گاز شده است ($p>0/05$). شاید بتوان این کاهش غیرمعنی‌دار تولید گاز نسبت به سایر جیره‌های حاوی خارمریم را به اسیدهای چرب غیراشباع مانند لینولئیک اسید موجود در خارمریم به اضافه روغن (به ویژه لینولئیک اسید) خود دانه ذرت نسبت داد. بر اساس یافته‌های محققین، افزودن چربی به جیره هضم کربوهیدرات‌های ساختمانی را کاهش می‌دهد (۲۵،۳۳). این کاهش در هضم با کاهش تولید متان، هیدروژن و اسیدهای چرب فرار همراه است (۸).

تولید گاز توسط قارچ‌ها: نرخ تولید گاز توسط قارچ‌های شکمبه در جیره حاوی ۲۰۰g خارمریم بر پایه جو بیشترین مقدار بود ($p<0/05$) و در جیره بر پایه ذرت با ۱۰۰g خارمریم بیشترین نرخ تولید گاز وجود داشت ($p<0/05$). این روند مشابه با کل میکروارگانیسم‌ها بود. Bodas و همکاران در سال ۲۰۰۹، اثر شش گیاه دارویی از جمله کاردوس پینوسفالوس (هم خانواده خارمریم) را به عنوان افزودنی بر تولید متان مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که تولید گاز تحت تأثیر تیمارها قرار نگرفت. Broudiscou و همکاران در سال ۲۰۰۰ نیز اثر ۳۳ عصاره گیاهی (که مشابه با خارمریم حاوی فلاونوئید بودند) را بر تخمیر و میکروب‌های شکمبه مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد لاوندولا آفیشنالیس و سولیدآگو ویرگور (هم خانواده خارمریم) تولید گاز را افزایش دادند. مخالف با نتایج این آزمایش، در مطالعه‌ای Sun و همکاران در سال ۲۰۱۰ اثر کاسنی (هم خانواده خارمریم) را روی قوچ‌های اخته شده بررسی نمودند، نتایج نشان داد که کاسنی باعث کاهش انتشار متان و در نتیجه تولید گاز کمتر می‌شود. محققین بیان نمودند که اجزاء سازنده روغن‌های فرار (موجود در گیاهان دارویی) تولید متان را در شکمبه کاهش می‌دهند و علت آن را این‌گونه عنوان نمودند که اجزاء سازنده روغن‌های فرار به طور انتخابی توانایی مهار پروتوزوآها را دارند. از سوی دیگر بین پروتوزوآهای شکمبه با متانوژن‌ها یک همزیستی مفید وجود دارد، لذا مهار پروتوزوآها منجر به مهار متانوژن‌ها و کاهش تولید متان می‌گردد (۱۷). تفاوت‌های موجود بین مطالعات تولید گاز ممکن است به عواملی از قبیل تفاوت در جیره‌ی پایه و نوع اسانس، عصاره یا گیاه مورد ارزیابی (همانند آزمایش حاضر) و همچنین تفاوت در مقدار سوبسترا و حجم بافر مایع شکمبه در سرنگ‌ها مربوط باشد (۵۱). بنابراین افزایش خارمریم تا سطح ۲۰۰ g در جیره بر پایه جو و تا سطح ۱۰۰g در جیره بر پایه ذرت اثر منفی بر پتانسیل تولید گاز نداشت، بلکه افزایش در تولید گاز نیز مشاهده شد ($p<0/05$) و ترکیبات ضدتغذیه‌ای موجود در خارمریم مانند تانن و اسیدهای چرب غیراشباع تخمیر در شکمبه را به طور معنی‌دار تحت تأثیر قرار نداده‌اند.

صرف نظر از سطوح خارمریم، پتانسیل و نرخ تولید گاز در جیره بر پایه جو اندکی بیشتر از ذرت بود ($p>0/05$). بالا بودن پتانسیل تولید گاز در جیره‌های بر پایه ذرت نسبت به جیره‌های بر پایه جو احتمالاً به علت الیاف بالا در دانه جو می‌باشد. منابع خوراکی که NDF پایین تری دارند، پتانسیل تولید گاز آنها بالاست و با افزایش نسبت بخش محتوای دیواره سلولی لیگنینی شده، تخمیر کمتر شده و منجر به کاهش تولید گاز می‌شود (۵۸). بالا بودن نرخ تولید گاز در جیره بر پایه جو نسبت به ذرت ($p<0/05$) نیز شاید به علت بالا بودن کربوهیدرات سهل التخمیر در جو نسبت به ذرت باشد. McCarthy و همکاران در سال ۱۹۸۹ pH شکمبه‌ای کمتر و غلظت کل اسیدهای چرب فرار بالاتر را برای گاوهای تغذیه شده با جیره‌های حاوی جو در مقایسه با جیره‌های حاوی ذرت گزارش نمودند. این پاسخ‌ها تخمیر سریع‌تر جو در شکمبه را نشان می‌دهد (۳۴) که با نتایج نرخ تولید گاز در آزمایش حاضر مطابقت دارد.

صرف نظر از نوع جیره پایه، به طور خلاصه نتایج تولید گاز نشان داد افزودن خارمریم اثر منفی بر پتانسیل تولید گاز توسط کل میکروارگانیسم‌ها و قارچ‌ها نداشته و تا مقدار ۲۰۰g خارمریم باعث افزایش تولید گاز گردید. خارمریم دارای ترکیبات فلاونوئیدی و ترکیبات ضدتغذیه‌ای مانند تانن و نیترات است (۴۲). تانن‌های متراکم در گیاهان علوفه‌ای باکتری‌های دستگاه گوارش را مهار کرده و عملکرد نشخوارکنندگان را کاهش می‌دهند (۵۶). با این حال گزارش شده است جمعیت میکروبی که در معرض طیف گسترده‌ای از عوامل ضدمیکروبی قرار می‌گیرند توانایی قابل توجهی برای انطباق سریع با آنها دارند (۴)، لذا ممکن است یکی از دلایل عدم کاهش تولید گاز، سازگاری میکروارگانیسم‌ها با تانن موجود در خارمریم باشد. مخالف با آزمایش حاضر، عصاره‌ی حبوبات حاوی تانن‌های متراکم، علیه متانوژن‌ها اثر سمیت نشان دادند (۲۱). همچنین محققین عنوان کردند که در اکثر گونه‌های گیاهی حاوی تانن ارتباط بین تانن و حجم گاز تولیدی منفی می‌باشد (۲۷). اما در آزمایش حاضر افزودن ۲۰٪ خارمریم به جیره اثر منفی از این جنبه‌ها نداشت. بنابراین با توجه به نتایج آزمایش حاضر می‌توان بیان کرد تا ۲۰٪ ماده خشک جیره استفاده از خارمریم اثر منفی بر کل میکروارگانیسم‌ها و به ویژه قارچ‌ها ندارد.

قابلیت هضم مواد مغذی-کل میکروارگانیسم‌ها: در جیره‌های بر پایه ذرت، جیره‌ی فاقد خارمریم بیشترین قابلیت هضم ماده خشک و NDF را داشت ($p>0/05$). شاید بتوان علت کاهش عددی هضم ماده خشک و NDF را به اسیدهای چرب موجود در خارمریم و خود دانه ذرت نسبت داد. خارمریم حاوی ۲۸/۹٪ روغن بوده و اسیدچرب غیراشباع غالب روغن آن اسیدلینولئیک است (۳،۱۹). از طرفی Palmquist and Jenkins در سال ۱۹۸۰ اظهار داشتند که تغذیه چربی‌های محافظت نشده، به خصوص اگر غیراشباع باشند، منجر به قابلیت هضم پایین‌تر فیبر در شکمبه می‌گردند. موافق با آزمایش حاضر، Harvatine and Allen در سال ۲۰۰۶ بیان نمودند که استفاده از منابع چربی در جیره روی هضم شکمبه‌ای مؤثر است. علت دیگر کاهش ناچیز هضم را شاید بتوان به تانن خارمریم نسبت داد که با افزایش سطح خار مریم آن مقدار آنها زیادتر می‌شود (۵۲).

قارچ‌های شکمبه: شاید علت کاهش هضم ماده خشک و NDF در جیره بر پایه ذرت تانن‌های موجود در خارمریم باشد. در تحقیقی قابلیت هضم متفاوت بین علوفه‌ها را ناشی از سطوح متفاوت ترکیبات فنولیک، فعالیت تانن‌ها و محتوای دیواره سلولی بین گیاهان عنوان کردند (۵۲). اثر منفی تانن موجود در خارمریم بر جیره‌های بر پایه ذرت مشاهده شد نه جو، علت آن احتمالاً تخمیر سریع جو می‌باشد که منجر به کاهش pH در شکمبه شده و در نتیجه کمپلکس تانن با مواد مغذی شکسته می‌شود. دلیل دیگر کاهش غیر معنی‌دار قابلیت هضم ماده خشک و NDF به ویژه در جیره بر پایه ذرت شاید وجود اسیدهای چرب غیراشباع نظیر اسید لینولئیک موجود در خارمریم و خود دانه ذرت به واسطه اثر هم افزایی آنها باشند (۱۹). در صورتی که در پایان دوره پروار چربی به جیره‌ی گاوهای گوشتی افزوده شود، قابلیت هضم ماده آلی و الیاف، کاهش می‌یابد و این کاهش به دلیل اثر منفی چربی بیان شد (۶۰). با توجه به عدم تأثیر منفی در جیره بر پایه جو می‌توان اولاً فرضیه تانن را به عنوان دلیل قوی‌تر دانست. از طرفی در جیره بر پایه جو شاید با توجه به افزایش تبدیل نیترات خارمریم به نیتروژن در دسترس میکروارگانیسم‌ها و قارچ‌ها رشد آنها بهتر بوده است (۱۱). در مجموع از آنجایی که در آزمایش حاضر کاهش قابلیت هضم ماده خشک و الیاف غیرمعنی‌دار است، می‌توان گفت تأثیر منفی تانن، اسیدهای چرب غیراشباع یا سایر ترکیبات خارمریم بر قابلیت هضم قارچ‌ها و کل میکروارگانیسم‌های شکمبه ناچیز است.

صرف نظر از سطح خارمریم، قابلیت هضم ماده خشک و NDF در جیره بر پایه ذرت به طور غیر معنی‌داری برای کل میکروارگانیسم‌ها و قارچ‌های شکمبه بیشتر از جیره بر پایه جو بود. بنابر یافته‌های محققین دیواره سلولی در دانه جو بالاتر از ذرت می‌باشد (۴۶). لذا احتمالاً علت بالاتر بودن قابلیت هضم مواد مغذی (از نظر عددی) در جیره‌های بر پایه ذرت نسبت به جو بالاتر بودن میزان دیواره سلولی در دانه جو باشد. مطابق با نتایج آزمایش حاضر McCarthy و همکاران در سال ۱۹۸۹ و کاهش قابلیت هضم NDF در کل دستگاه گوارش را زمانی که در جیره گاو جو جایگزین ذرت گردید، گزارش نمودند.

برای قابلیت هضم ماده خشک و NDF توسط کل میکروارگانیسم‌ها و قارچ‌ها صرف نظر از نوع جیره پایه، بین سطوح مختلف خارمریم تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. بنابراین نتایج قابلیت هضم نشان داد که استفاده از خارمریم تا ۲۰٪ در جیره‌ی گاومیش تأثیر منفی بر قارچ‌ها و کل میکروارگانیسم‌های شکمبه ندارد.

کشت اختصاصی قارچ‌ها: اسیدهای چرب غیراشباع مانند لینولئیک اسید و ترکیبات ضد تغذیه‌ای مانند تانن موجود در خارمریم (۱۳) را شاید بتوان به عنوان دلیل کاهش قابلیت هضم ماده خشک و NDF (غیرمعنی‌دار در زمان‌های ۳ و ۶ روز و کل دوره و معنی‌دار در زمان ۹ روز برای NDF) در اثر افزودن خارمریم به جیره‌های حاوی جو و ذرت بیان نمود. موافق با آزمایش حاضر، Szumacher-Strabel در سال ۲۰۰۹ گزارش کردند دانه خارمریم دارای اسیدهای چرب است که شامل استئاریک اسید (۵/۳۰٪)، اولئیک اسید (۲۵/۵۰٪)، لینولئیک اسید (۵۲/۴۷٪) و لینولنیک اسید (۱/۷۷٪) می‌باشد و استفاده از روغن خارمریم در جیره‌های گاو و بز تخمیر در شکمبه و در نتیجه هضم ماده خشک را مختل نکرده است. همچنین Montgomery و همکاران در سال ۲۰۰۸ اثرات مکمل چربی بر هضم مواد مغذی و تخمیر شکمبه‌ای در گوساله‌ها را بررسی نمودند. آنها مشاهده کردند افزودن چربی قابلیت هضم ظاهری ماده آلی، NDF و نیتروژن خوراک یا راندمان میکروبی را تحت تأثیر قرار نداد. بر خلاف یافته‌های آزمایش حاضر، Hristov و همکاران در سال ۲۰۰۵ اثر جیره‌های حاوی روغن‌های غنی از لینولئیک اسید یا اولئیک اسید (روغن گلرنگ، به میزان ۵ ٪ ماده خشک جیره) را بر تخمیر شکمبه‌ای و قابلیت هضم مواد مغذی در گاو بررسی نمودند و گزارش کردند لینولئیک اسید قابلیت هضم NDF و ماده آلی را به طور معنی‌دار کاهش داد. علت دیگر کاهش قابلیت هضم مواد مغذی ممکن است ترکیبات فنولی (تانن) موجود در خارمریم باشد. این ترکیبات نقش مهمی را به عنوان عوامل محدودکننده تجزیه میکروبی بازی می‌کنند، عمدتاً به این علت که این مولکول‌ها توانایی مهار رشد میکروبی را به وسیله‌ی باندکردن پروتئین‌ها و پلی‌ساکاریدهایی مثل سلولز و پکتین را دارند (۶). موافق با نتایج آزمایش حاضر در بحث اثر تانن خارمریم، Imiki و همکاران در سال ۲۰۰۸ گزارش کردند در قوچ‌های تغذیه شده با سورگوم حاوی تانن کم و سایر خوراک‌های معمول، تفاوتی در قابلیت هضم NDF، ADF و خاکستر خام بین تیمارها وجود نداشت.

صرف نظر از سطح خارمریم، علت بالا بودن هضم مواد مغذی در جیره بر پایه ذرت نسبت به جو، احتمالاً مربوط به بالاتر بودن میزان NDF در دانه جو می‌باشد (۱۴). هر چه محتوی فیبر جیره بیشتر باشد قابلیت هضم الیاف نامحلول در شوینده‌ی خنثی و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی کاهش می‌یابد (۴۸). با توجه به اینکه قارچ‌ها به دلیل رشد فیلامنت‌ها به داخل بافت

گیاهی نفوذ کرده و طیف وسیعی از آنزیم‌های خارج سلولی با فعالیت بالا را ایجاد می‌کنند، بنابراین توانایی تجزیه تقریباً بالاتر از ۳۴٪ لیگنین بافت گیاهی را دارند (۳۰). برخی ترکیبات گیاه تولید زئوسپور را تحریک کرده و منجر به افزایش جمعیت آنها می‌شود. تأثیر جیره روی جمعیت قارچ‌ها یا ناشی از اثرات مستقیم مانند تأمین عامل رشد قارچ‌ها، یا به دلیل اثرات غیرمستقیم مانند رقابت میکروارگانیسم‌ها با یکدیگر است (۵).

صرف نظر از نوع جیره پایه، افزایش قابلیت هضم NDF در سطح ۲۰۰g خارمریم در زمان ۶ شاید به دلیل افزایش تعداد قارچ‌های شکمبه‌ای در اثر تأمین مواد مورد نیاز برای رشد و تکثیر آنها باشد. تأثیر جیره روی جمعیت قارچ‌ها یا ناشی از اثرات مستقیم مانند تأمین عامل رشد قارچ‌ها، یا به دلیل اثرات غیر مستقیم مثل رقابت میکروارگانیسم‌ها با یکدیگر است (۵). با این حال در زمان ۳ و ۹ روز قابلیت هضم مواد مغذی توسط قارچ‌ها کاهش یافت. احتمالاً علت این کاهش در زمان ۳ وجود مواد ضدتغذیه‌ای (تانن یا اسیدهای چرب غیراشباع) در خارمریم (۳)، زمان بر بودن کلنی‌سازی قارچ‌ها و نیاز به زمان برای رشد آنها و از طرفی عادت کردن به مواد ضدتغذیه‌ای (۳۲) باشد. شاید کاهش معنی‌دار قابلیت هضم مواد مغذی در روز ۹ به علت کاهش مواد لازم برای رشد و تکثیر قارچ‌ها در محیط کشت باشد.

افزودن خارمریم تا ۲۰۰g در جیره بر پایه جو و ذرت تأثیر منفی بر تولید گاز و هضم پذیری مواد مغذی توسط کل میکروارگانیسم‌ها و قارچ‌ها نداشت و باعث افزایش آنها نیز گردید. بجز در کشت اختصاصی قارچ‌های شکمبه که هضم NDF در جیره حاوی ذرت بیشتر بود ($p<0/05$)، اختلاف آشکاری بین جیره‌های پایه حاوی جو و ذرت مشاهده نشد. لذا ترکیبات ضدتغذیه‌ای موجود در خارمریم مانند تانن و اسیدهای چرب غیراشباع، هضم و تخمیر در شکمبه را به طور معنی‌دار تحت تأثیر قرار ندادند. بنابراین می‌توان از خارمریم تا سطح ۲۰٪ در جیره گاومیش بدون اثر منفی بر فعالیت قارچ‌ها و کل میکروارگانیسم‌های شکمبه استفاده کرد.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله نویسندگان مراتب قدردانی خود را از دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان به سبب فراهم آوردن زمینه انجام این پژوهش اعلام می‌دارند.

References

1. Abascal, K.B.S., Herbalist, J.D., Yarnell, E.N.D.R.H. (2003) The many faces of *silybum marianum* (Milk thistle). J Altern Complement Therap. 9: 170-175.
2. Ahvazi, M., Rezvani Aghdam, A., Habibi Khaniani, B. (2010) Medicinal plants seeds (morphology, physiology and medicinal properties). University of Jahad Unit Tehran. Tehran, Iran.
3. Alirezalu, K., Hesari, J., Alirezalu, A. Mohammadi, M., Fathi-Achachlouei, V. (2011) Evaluation of physicochemical properties and fatty acid composition of milk thistle seed oil. J Food Res. (Agric. Sci.). 21: 25-33.
4. Baah, J., Ivan, M., Hristov, A.N., Koenig, K.M., Rode, L.M., McAllister, T.A. (2007) Effects of potential dietary anti-protozoal supplements on rumen fermentation and digestibility in heifers. Anim Feed Sci Technol. 137: 126–137.
5. Bahatia, S.K., Kumar, S., Sangwan, D.C. (2004) Advances in Buffalo-Cattle Nutrition and Rumen Ecosystem. International Book Distributing Co. New Delhi, India.
6. Bhat, T.K., Singh, B., Sharma, P.O. (1998) Microbial degradation of tannins- a current perspective. Biodegradation. 9: 343-357.
7. Bodas, R., Fernández, M., García-González, R., González, J.S., López, S., Wallace, R.J. (2009) Phytogenic additives to decrease in vitro ruminal methanogenesis. Options Méditerranéennes. 85: 279- 283.
8. Boggs, D.L., Bergen, W.G., Hawkins D.R. (1987) Effects of tallow supplementation and protein withdrawal on ruminal fermentation, microbial synthesis and site of digestion. J Anim Sci. 64: 970.
9. Bohm, H., Boeing, H., Hempel, J., Raab, B., Kroke, A. (1998) Flavone and anthocyanins as natural antioxidants of food and their possible role in the prevention of chronic diseases. Z-Ernahrunqswiss. 37: 147-63.
10. Broudiscou, L.P., Papon, Y., Broudiscou, A.F. (2000) Effects of dry plant extracts on fermentation and methanogenesis in continuous culture of rumen microbes. Anim Feed Sci Technol. 87: 263-277.
11. Crowley, J.W. (1985) Effects of Nitrate on Livestock. Am Soc Agric Eng. 80: 20026.
12. Davies, D.R., Theodorou, M.K., Lawrence, M.I., Trinci, A.P.J. (1993) Distribution of anaerobic fungi in the digestive tract of cattle and their survival in faeces. J Gen Microbiol. 139: 1395-1400.
13. Ebdali Mashhadi, A.R., Fathi, Gh.E. (2002) Ef-

fects of different levels of density on yield and oil grain of medical plant *silybum marianum* in Ahwaz conditions. Pajouhesh-va-Sazandegi, (In Persian). Natur Resour. 54: 28-33.

14. Foley, A.E., Hristov, A.N., Melgar, A., Ropp, J.K., Etter, R.P., Zaman, S., Hunt, C.,W., Huber, K., Price, W.J. (2006) Effect of Barley and Its Amylopectin Content on Ruminal Fermentation and Nitrogen Utilization in Lactating Dairy Cows. J Dairy Sci. 89:4321-4335.
15. Fonvik, B., Vink, M. (2008) Most Important Medicinal Plants of The world. Translators: Sfaii Khoram, Mehdi. Jafarnia, Sasan. Khosroshahi, Sara. Mashhad, Iran.
16. France, J., Theodorou, M.K., Davies, D. (1990) The use of zoospore concentrations and life cycle parameters in determining the population of anaerobic fungi in the rumen ecosystem. J Theor Biol. 147: 413-422.
17. Garcia-Gonzalez, R., Lopez, S., Fernandez, M., Gonzalez, J.S. (2008) Dose response effects of Rhem officinale root and Frangula alnus bark on ruminal methane production in vitro. Anim Feed Sci Technol. 145: 319- 334.
18. Ghahraman, A. (1983) colorful flora of Iran. Research Institute of Forests and Rangelands. 9: 1095.
19. Goli, S.A.H., Kadivar, M., Bahrami, B., Sabzalian, M.R. (2008) Physical and chemical characteristics of *Silybum marianum* seed oil. J Food Sci Technol. 4: 27-32.
20. Harvatine, J., Allen, S. (2006) Fat supplements affect fractional rates of ruminal fatty acid biohydrogenation and passage in dairy cows. J Nutr. 136: 677.
21. Hess, H.D., Monsalve, L.M., Lascano, C.E., Carulla, J.E., Diaz, T.E., Kreuzer, M. (2003) Supplementation of a tropical grass diet with forage legumes and Sapindus saponaria fruits: effects on in vitro ruminal nitrogen turnover and methanogenesis. Aust J Agric Res. 54: 703-713.
22. Ho, Y.W., Barr, D.J.S. (1995) Classification of anaerobic gut fungi from herbivores with emphasis on rumen fungi from Malaysia. J Mycologia. 87: 655–677.
23. Hristov, A.N., Kennington, L.R., McGuire, M.A., Hunt, C.W. (2005) Effect of diets containing linoleic acid- or oleic acid-rich oils on ruminal fermentation and nutrient digestibility, and performance and fatty acid composition of adipose and muscle tissues of finishing cattle. J Anim Sci. 83: 1312-1321.
24. Imiki, H., Tuncer, S.D., Aylanc, Y., Aytac, M. (2008) Determination of some digestibility of nutrients, rumen and blood metabolites of Akkaraman rams fed low-tannin sorghum and other conventional feeds. Ankara Üni. Vet Fak Derg. 55: 177-182.
25. Jenkins, T.C., Palmquist, D.L. (1984) Effect of fatty acids or calcium soaps on rumen and total nutrient digestibility of dairy rations. J Dairy Sci. 67: 978.
26. Kamra, D.N. (2005) Rumen microbial ecosystem. J Curr Sci. 89: 124-135.
27. Khazaal, K., Boza, J., Orskov, E.R. (1994) Assessment of phenolics-related anti nutritive effects in Mediterranean browse: a comparison between the use of the in vitro gas production technique with or without insoluble polyvinylpolpyrrolidone. Anim Feed Sci Technol. 49: 133-149.
28. Khejornsart, P., Wanapat, M., Rowlinson, P. (2011) Diversity of anaerobic fungi and rumen fermentation characteristic in swamp buffalo and beef cattle fed on different diets. Livet Sci. 139: 230–236.
29. Knott, S.G. (1971) Nitrite poisoning in livestock. Q Agric J. 97: 485 489.
30. Krause, D.O., Denman, S.E., Mackie, R.I., Morrison, M., Rae, A.L., Attwood, G.T., McSweency, C.S. (2003) Opportunities to improve fiber degradation in the rumen: microbiology, ecology and genomics. FEMS Microbiol Rev. 27: 663-693.
31. Kren, V., Walterova, D. (2005) Silybin and silymarin new effects and applications. Biomed Papers. 149: 29–41.
32. Maldar, M., Roozbehan, Y., Alipour, D. (2010) The Effect of adaptation to oak leaves on digestibility (in vitro) and ruminal parameters in alam-

out Goat. Iran J Anim Sci. 41: 193-297.
33. Martin, C.J., Rouel, J.P., Jouany, M., Doreau, A., Chilliard, Y. (2008) Methane output and diet digestibility in response to feeding dairy cows crude linseed, extruded linseed, or linseed oil. J Anim Sci. 86: 2642–2650.
34. McAllister, T.A., Rode, L.M., Major, D.J., Cheng, K.J., Buchanan-Smith, J.G. (1990) Effect of ruminal microbial colonization on cereal grain digestion. Can J Anim Sci. 70: 571.
35. McCarthy, R.D., Klusmeyer, T.H., Vicini, J.L., Clark, J.H., Nelson, D.R. (1989) Effects of source of protein and carbohydrate on ruminal fermentation and passage of nutrients to the small intestine of lactating cows. J Dairy Sci. 72: 2002.
36. McDougall, E.L. (1948) Studies on ruminant saliva. 1. The composition and output of sheep's saliva. J Biochem. 43: 99-106.
37. Menk, K.H., Stingass, H. (1988) Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and in vitro gas production using rumen fluid. Anim Res Dev. 28: 6-55.
38. Menke, K.H., Raab, L., Salewski, H., Fritz, D., Schneider, W. (1979) The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminal feedstuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquid in vitro. J Agric Sci. 93: 217-222.
39. Mohammadabadi, T., Danesh Mesgaran, M., Chaji, M., Tahmasebi, R. (2012) Evaluation of the effect of fat content of sunflower meal on rumen fungi growth and population by direct (quantitative competitive polymerase chain reaction) and indirect (dry matter and neutral detergent fiber disappearance) methods. Afr J Biotechnol. 11: 179-183.
40. Montgomery, S.P., Drouillard, J.S., Nagaraja, T.G., Titgemeyer, E.C., Sindt, J.J. (2008) Effects of supplemental fat source on nutrient digestion and ruminal fermentation in steers. J Anim Sci. 86: 640-650.
41. NRC. (1996) Nutrient Requirements of Beef Cattle. (7th ed.) National Academic Press. Washington DC, USA.
42. Omidbaigi, R. (2009) Production and Processing Medicinal Plants. Astan Quds Razavi. Mashhad, Iran.
43. Orpin, C.G. (1977) The rumen flagellate Piromonas communis: its life-history and invasion of plant material in the rumen. J Gen Microbiol. 99: 107-117.
44. Orskov, E.R., McDonald, I. (1979) The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. J Agric Sci. (Cambridge). 92: 499-503.
45. Palmquist, D.L., Jenkins, T.C. (1980) Fat in lactation rations: review. J Dairy Sci. 63: 1.
46. Parnian Khaje Dizaj, F., Taghizadeh, A., Moghaddam, G.A., Janmohammadi, H. (2010) Use of in vitro gas production technique for evaluation of nutritive parameters of barley and corn grain treated by different microwave irradiation times. Iran J Anim Sci Res. 21: 15-27.
47. Patra, A.K., Kamra, Neeta Agarwal, D.N. (2006) Effect of plant extracts on in vitro methanogenesis, enzyme activities and fermentation of feed in rumen liquor of buffalo. Anim Feed Sci Technol. 128: 276–291.
48. Pirmohammadi, R., Teimouri yansari, A., Afshar hamidi, B.A., Manafiazar, Gh. (2007) Effect of different fibrous and nonfiber carbohydrate levels on nutrient digestibility of total mixed ration using in vivo in buffalo. Ital J Anim Sci. 6: 476-479.
49. Rainone, F. (2005) Milk Thistle. Am Fam Physician. 72: 1285–1288.
50. Roger, V., Grenet, E., Jamot, J., Bernalier, A., Fonty, G., Gouet, P. (1992) Degradation of maize stem by two rumen fungal species, Piromyces comrnunis and caecomyces comrnunis, in pure cultures or in association with cellulolytic bacteria. Rep Nutr Dev. 32: 321-329.
51. Rymer, C., Huntington , J.A., Williams, B.A., Givens, D.I. (2005) In vitro cumulative gas production techniques: History, methodological considerations and challenges. Anim Feed Sci Technol. 123-124: 9-30.
52. Sallam, H.S.M.A., da Silva Bueno, I.C., de Go-

doy, P.B., Eduardo, F.N., Schmidt Vittib, D.M.S., Abdalla. A.L. (2010) Ruminal fermentation and tannins bioactivity of some browses using a semi-automated gas production technique. Trop Subtrop Agro-ecosyst. 12: 1-10.

53. Sallam, H.S.M.A., Abdeigaleil, S.M.A., Bueno, I.C.S., Nassera, M.E.A., Araujo, R.C., Abdalla, A.L. (2011) Effect of some essentioal oils on in vitro methan emission. Arch Anim Nutr. 65: 203-214.
54. Saller, R., Meier, R., Brignoli, R. (2001) The use of silymarin in the treatment of liver diseases. Drugs. 61: 2035-2063.
55. Simánek, V., Křen, V., Ulrichová, J., Vicar, J., Cvak, L. (2000) Silymarin: What is the name…? An appeal for the change of editorial policy. Hepatology. 32: 442-443.
56. Smith, A.H., Zoetendal, E., Mackie, R.I. (2005) Bacterial Mechanisms to Overcome Inhibitory effects of Dietary Tannins. Microbiol Ecol. 50: 197-205.
57. Sun, X.Z., Hoskin, S.O., Muetzel, S., Molan, G., Clark, H. (2011) Effects of forage chicory (*Cichorium intybus*) and perennial ryegrass (Lolium perenne) on methane emissions in vitro and from sheep. Anim Feed Sci Technol. 166: 391-397.
58. Sommart, K., Parker, D.S., Rowlinson, P., Wanapat, M. (2000) Fermentation characteristics and microbial protein synthesis in an in vitro system using cassava, rice straw and dried ruzi grass as substrates. Asian-Aust. J Anim Sci. 13: 1084-1093.
59. Szumacher-Strabel, M., Cieślak, A., Nowakowska, A. (2009) Effect of oils rich in linoleic acid on in vitro rumen fermentation parameters of sheep, goats and dairy cows. Anim Feed Sci Technol. 18: 440-452.
60. Tabatabaei, M.M. (2003) Aspects Physiology of ruminants Nutrition. Buali Sina University Publications. Hamedan, Iran.
61. Tilly, J.M.A., Terry, R.A. (1963) A two stage technique for the indigestion of forage crops. J Br Grassl Soc. 18: 104-111.
62. Tyler, V. (1993) The Honest Herbal. Pharmaceutical Products. (3th ed.) Binghamton, NY, USA.
63. Van Soest, P.J., Robertson, J.B., Lewis, B.A. (1991) Methods of dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. J Dairy Sci. 74: 3583-3597.
64. Yang, W.Z., Beauchemin, K.A., Koenig, K.M., Rode, L.M. (1997) Comparison of hull-less barley, barley, or corn for lactating cows: Effect on extent of digestion and milk production. J Dairy Sci. 80: 2475-2486.

Effect of diets containing different levels of Milk Thistle and grains with different degradation rate on rumen fungi of Khuzestan buffalo

Nikzad, Z., Chaji, M.*, Mirzadeh, Kh., Mohammadabadi, T., Sari, M.

Department of Animal Sciences, Ramin Agriculture and Natural Resources University of Khuzestan, Molasani, Ahvaz-Iran

(Received 16 December 2014, Accepted 16 April 2015)

Abstract:

BACKGROUND: Identifying the potential of livestock and forage plants of each region is a way to compensate the lack of forage, and efficient use of edible resources of the country. Milk Thistle is a medicinal plant which may be used as fodder for native livestock of Khuzestan Province. **OBJECTIVES:** The purpose of this research was to study the effects of different levels of Milk Thistle on rumen fungi and whole rumen microorganisms (WRM) of Khuzestan buffalo, with diets containing grains with different degradation rate (barley and maize). **METHODS:** The impact of diets containing different levels of Milk Thistle (0, 100 and 200 g per kg DM) on rumen fungi and WRM of buffalo was measured by different techniques. **RESULTS:** Potential and rate of gas production from experimental diets by WRM were not significantly different. This parameters by buffalo rumen fungi were significantly differed and increased in diets containing Milk Thistle ($p<0.05$). Adding Milk Thistle in the barley-based diet increased dry matter and NDF digestibility numerically while in the corn-based diet dry matter and NDF digestibility was slightly reduced. In the SRFCM, NDF digestibility, in both basal diets in 9 days and during total period was affected by diets containing Milk Thistle and decreased NDF digestibility with increasing levels of Milk Thistle ($p<0.05$). Regardless of the type of basal diet, digestibility of NDF ($p<0.05$) and dry matter ($p>0.05$) for day 6, were increased with increasing the amount of Milk Thistle. **CONCLUSIONS:** In general, the use of Milk Thistle did not have negative effect on microorganisms and digestion of nutrients by them. Therefore, results suggest that Milk Thistle could be used up to 20 percentage in buffalo diet without any negative effect on digestion and fermentation characteristics by total microorganisms and fungi.

Keyword: barley, corn, gas production, specific rumen fungi culture medium, two steps digestion

Figure Legends and Table Captions

Table 1. Gas production parameters of experimental diets by whole rumen microorganism and fungi of buffalo. SEM: Standard error of means, in each column, values by different letters are significantly different ($p<0.05$).

Table 2. Gas production parameters of experimental diets by whole rumen microorganism and fungi of buffalo (regardless the levels of milk thistle).

Table 3. Gas production parameters of different levels of milk thistle (regardless the type of basal diets) by whole rumen microorganism and fungi of buffalo. SEM: Standard error of means, in each column, values by different letters are significantly different ($p<0.05$).

Table 4. Nutrients digestibility of experimental diets by whole rumen microorganisms and fungi of buffalo.

Table 5. Nutrients digestibility of experimental diets by whole rumen microorganisms and fungi of buffalo (regardless the level of milk thistle) with two-step digestion method. SEM: Standard error of means, in each column, values by different letters are significantly different ($p<0.05$).

Table 6. Nurients digestibility of different levels of milk thistle (regardless the type of basal diets) by whole rumen microorganisms and fungi of buffalo.

Table 7. Nutrients digestibility of experimental diets in different times (3, 6 and 9 days) and whole period (regardless the times of incubation).

Table 8. Nutrients digestibility of experimental diets by rumen fungi of buffalo (regardless of levels of milk thistle) in specific rumen fungi medium culture in different times. SEM: Standard error of means, in each column, values by different letters are significantly different ($p<0.05$).

Table 9. Nutrients digestibility of different levels of milk thistle (regardless the type of basal diets) by rumen fungi of buffalo in specific rumen fungi medium culture in different times. SEM: Standard error of means, in each column, values by different letters are significantly different ($p<0.05$).

***Corresponding author's email: chaji@ramin.ac.ir, Tel: 061-36522438, Fax: 061-36524351**