14(4) 95-100, Winter 2023

Journal of Animal Environment
(AEJ)
Journal homepage: http://www.aejournal.ir

Original Research Paper

The Effect of Addition of Mixture of Garlic Oil and Sunflower Oil on *In Vitro* Gas Production Parameters and Protozoa Population

Golnaz Taasoli [1*], ***Shahryar Kargar*** [2]

[1] *Department of Animal Science, Chahatmahal Bakhtiari Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Shahrekord, Iran*
[2] *Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran*

Key Words
Digestion parameters
Garlic oil
In vitro gas production
Sunflower oil

Abstract

Introduction: This experiment was aimed to study the effect of mixture of garlic oil and sunflower oil in diet containing equal ratio of concentrate to forage.
Materials & Methods: The mixture of garlic oil and sunflower oil was added at 2% of diet DM. Gas production parameters, pH, N-ammonia and total protozoa population were measured and metabolizable energy (ME), short -chain fatty acid (SCFA) and organic matter digestibility (OMD) was estimated.
Results: The results showed that the mixture of garlic oil and sunflower oil increased gas production (128.64 *vs* 108.51 mL, $P<0.05$) but had no significant effect on gas production rate, half-life and lag phase. The addition of the mixture of garlic oil and sunflower oil to diet, increased OMD, SCFA and ME in compare to the control diet ($P<0.05$). The concentration of Ammonia-N, pH, total protozoa population, *Entodinium*, *Diplodinium* and *Ophryoscolex* population did not affected by the inclusion of the oil mixture.
Conclusion: It is concluded that the addition of a mixture of garlic oil and sunflower oil not only had no negative effect on rumen fermentation but also, improved some of the fermentation parameters.

* Corresponding Author's email: gtaasoli@gmail.com
Received: 24 August 2021; Reviewed: 27 September 2021; Revised: 30 November 2021; Accepted: 1 January 2022
(DOI): 10.22034/AEJ.2021.283226.2515

مقاله پژوهشی

اثر افزودن مخلوط روغن سیر و آفتابگردان بر فراسنجه‌های تولید گاز و جمعیت پروتوزوآ در شرایط برون تنی

گلناز تأسلی[۱]، شهریار کارگر[۲]*

[۱] *بخش تحقیقات علوم دامی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان چهارمحال و بختیاری، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، شهرکرد، ایران*

[۲] *گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران*

کلمات کلیدی

روغن آفتابگردان
روغن سیر
شرایط آزمایشگاهی
فراسنجه‌های هضم

چکیده

مقدمه: این پژوهش با هدف مطالعه اثر مخلوط روغن سیر و روغن آفتابگردان در جیره دارای نسبت مساوی کنسانتره به علوفه بر پویایی تخمیر در شرایط برون‌تنی انجام شد.

مواد و روش‌ها: مخلوط روغن سیر و روغن آفتابگردان در سطح ۲ درصد ماده خشک جیره استفاده شد. فراسنجه‌های تولید گاز، pH، غلظت نیتروژن آمونیاکی و جمعیت پروتوزوآ اندازه‌گیری شد. انرژی قابل متابولیسم، اسیدهای چرب کوتاه زنجیر و گوارش‌پذیری ماده آلی برآورد شد.

نتایج: نتایج نشان داد که مخلوط روغن سیر و روغن آفتابگردان باعث افزایش تولید گاز شد (۱۲۸/٦٤ در برابر ۱۰۸/۵۱ میلی‌لیتر، $P<0/05$)، اما اثری بر سرعت گاز، نیمه‌عمر تولید گاز و فاز تأخیر نداشت. افزودن مخلوط روغن سیر و روغن آفتابگردان به جیره باعث افزایش گوارش‌پذیری ماده آلی برآورد شده (۸۰/٤۰ در برابر ۷۵/۰۵ درصد)، غلظت اسیدهای چرب فرار برآورده شده (۱/٦۰ در برابر ۱/٤۷ میلی‌مول) و انرژی قابل متابولیسم برآورد شده (۱۲/۲۰ در برابر ۱۱/۳۸ مگاژول در کیلوگرم ماده خشک) در مقایسه با جیره شاهد شد ($P<0/05$). غلظت نیتروژن آمونیاکی، pH، کل جمعیت پروتوزوآ و جنس‌های انتودینیوم، دیپلودینیوم و افریواسکولکس تحت تأثیر استفاده از مخلوط روغن سیر و روغن آفتابگردان قرار نگرفتند.

بحث و نتیجه‌گیری: براساس نتایج این آزمایش، استفاده از مخلوط روغن سیر و روغن آفتابگردان در سطح ۲ درصد ماده خشک جیره نه تنها اثر منفی بر پویایی تخمیر شکمبه نداشت، بلکه باعث بهبود برخی فراسنجه‌های تخمیر شد.

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: gtaasoli@gmail.com

تاریخ دریافت: ۲ شهریور ۱٤۰۰؛ تاریخ داوری: ۵ مهر ۱٤۰۰؛ تاریخ اصلاح: ۹ آذر ۱٤۰۰؛ تاریخ پذیرش: ۱۱ دی ۱٤۰۰
(DOI): 10.22034/AEJ.2021.283226.2515

مقدمه

چربی ماده مغذی پر انرژیی می‌باشد، به‌نحوی‌که هر گرم چربی ۰/۹ کالری انرژی دارد و مقدار کمی از چربی در جیره دام انرژی خوبی در اختیار حیوان قرار می‌دهد، بنابراین منبع خوب انرژی در جیره گاوهای شیرده پرتولید و گاوهای پرواری می‌باشد (۱). امروزه در جیره نشخوارکنندگان از انواع روغن به‌خصوص روغن‌های گیاهی استفاده می‌شود. این روغن‌ها غنی از اسیدهای چرب اشباع نشده با چند پیوند دوگانه (امگا-۳ و یا امگا-۶) هستند، که اثر منفی بر تخمیر شکمبه و گوارش‌پذیری مواد غذایی دارند (۲). در حقیقت، پروفایل اسیدچرب روغن‌های گیاهی و درجه اشباع یا غیراشباع بودن این روغن‌ها می‌تواند بر جمعیت میکروبی شکمبه و در نتیجه الگوی تخمیر شکمبه تأثیرگذار باشد (۳). اگرچه بیش‌تر روغن‌های گیاهی با کاهش تولید گاز متان و نیتروژن آمونیاکی در شکمبه به کاهش اتلاف انرژی و نیتروژن کمک می‌کنند (۴)، اما اغلب آن‌ها اثر سمی بر باکتری‌های گرم مثبت و جمعیت مژک‌داران شکمبه دارند (۵، ۶) و یا با کاهش تشکیل کلونی میکروب بر روی ذرات غذایی باعث کاهش گوارش‌پذیری خوراک می‌شوند (۳، ۷). در سال‌های اخیر استفاده از منابع جدید روغن‌های گیاهی مانند روغن سیر و یا روغن هسته انار مورد توجه قرار گرفته است. روغن‌های جدید بیش‌تر با هدف افزایش میزان اسیدهای چرب ضروری در جیره نشخوارکنندگان استفاده می‌شوند تا میزان اسیدهای چرب ضروری در شیر و یا گوشت نشخوارکنندگان افزایش یابد (۸). روغن سیر از گیاه سیر (*Allium sativa*) تهیه می‌شود. ترکیب اسیدچرب این روغن متفاوت از روغن‌های معمول گیاهی است. اسیدلینولئیک و اسیدپالمتیک دو اسیدچرب عمده در روغن سیر هستند (۹). این روغن اثر ضدباکتریایی بر بسیاری از باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت دارد (۱۰). بنا بر برخی پژوهش‌ها، افزودن روغن سیر به محیط کشت پیوسته باعث کاهش میزان استات و اسیدهای چرب کوتاه شاخه‌دار و افزایش میزان پروپیونات و بوتیرات و نیتروژن اسیدآمینه‌ای (۱۱) شد. افزودن اسید پالمتیک، اسیدچرب عمده روغن سیر در محیط کشت پیوسته در مقایسه با اسیداولئیک باعث افزایش گوارش‌پذیری NDF و تولید بیش‌تر اسیدهای چرب فرار شد (۱۲). هم‌چنین استفاده از مکمل اسیدپالمیتیک در جیره گاوها در اواسط شیردهی، تولید چربی شیر، گوارش‌پذیری NDF و ماده خشک را افزایش داد (۱۲). بنابراین آزمایش حاضر با هدف مطالعه اثر روغن سیر به‌عنوان یک منبع کم‌تر شناخته شده روغن در تغذیه دام انجام شد. هم‌چنین، از آن‌جایی‌که ترکیب اسیدچرب روغن آفتابگردان مشابه روغن سیر می‌باشد، سعی شد تا در مطالعه برون‌تنی تخمیر از مخلوط هر دو روغن به یک نسبت استفاده شود. از آن‌جایی‌که یکی از روش‌های آزمایشگاهی سریع و ارزان قیمت برای ارزیابی جیره دام، استفاده از آزمون تولید گاز می‌باشد (۱۳)، بنابراین برای ارزیابی اثر روغن‌ها در آزمایش حاضر از تکنیک تولید گاز استفاده شد.

مواد و روش‌ها

جیره‌های آزمایشی با نسبت علوفه به کنسانتره ۵۰ به ۵۰ بر اساس جداول مؤسسه تحقیقات ملی برای گاوهای شیری تنظیم شد (۱۴) که شامل جیره شاهد (بدون روغن) و جیره دارای مخلوط روغن آفتابگردان و روغن سیر بود. مخلوط روغن آفتابگردان و روغن سیر در سطح ۲ درصد ماده خشک (هر کدام به‌میزان ۱ درصد) به جیره دارای روغن اضافه شد. جدول ۱ مواد خوراکی تشکیل‌دهنده، انرژی خالص شیردهی و پروتئین خام جیره‌های آزمایش را نشان می‌دهد. در جدول ۲ ترکیب مهم‌ترین اسیدهای چرب روغن سیر و روغن آفتابگردان نشان داده شده است (۹، ۱۵).

جدول ۱: مواد خوراکی و ترکیب شیمیایی جیره‌های آزمایش (درصد از ماده خشک)

اقلام خوراکی (درصد از ماده خشک)	جیره‌های آزمایش	
	شاهد	دارای مخلوط روغن‌ها
علوفه یونجه	۲۵	۲۵
سیلاژ ذرت	۲۵	۲۵
دانه ذرت	۲۵/۹۹	۲۵/۹۹
دانه جو	۴/۲۶	۴/۲۶
کنجاله سویا	۱۳/۶۷	۱۲/۶۷
کنجاله گلوتن ذرت	۲/۹۳	۱/۹۳
مخلوط روغن سیر و آفتابگردان	--	۲
مکمل معدنی- ویتامینی [۱]	۲/۵۹	۲/۵۹
نمک	۰/۵۶	۰/۵۶
ترکیب شیمیایی		
انرژی خالص شیردهی (مگاکالری بر کیلوگرم ماده خشک)	۱/۶۱	۱/۶۱
پروتئین خام (درصد)	۱۸/۵۰	۱۷/۸۰
الیاف نامحلول در شوینده خنثی (درصد)	۲۹/۶۴	۲۹/۳۸
الیاف نامحلول در شوینده اسیدی (درصد)	۱۹/۵۲	۱۹/۳۴
کلسیم (درصد)	۰/۸۷	۰/۸۶
فسفر (درصد)	۰/۳۹	۰/۳۸

۱. هر کیلوگرم شامل ۱۴۰ گرم کلسیم، ۲۰ گرم فسفر، ۳۵ گرم منیزیم، ۴۰ میلی‌گرم کروم آلی، ۴۰ گرم گوگرد، ۱۲۰۰ میلی‌گرم منگنز، ۱۰۰۰ میلی‌گرم روی، ۸۰۰ میلی‌گرم مس، ۸ میلی‌گرم کبالت، ۱۰ میلی‌گرم ید، ۴۰۰ میلی‌گرم آهن، ۱۵ میلی‌گرم سلنیوم، ۲۰۰۰۰ میلی‌گرم نیاسین و به‌ترتیب ۳۵۰۰۰۰، ۶۰۰۰۰ و ۴۰۰۰ واحد بین المللی ویتامین A، D و E و ۶۵۰ گرم نمک های آنیونی.

جدول ۲: ترکیب اسید چرب روغن سیر و روغن آفتابگردان (میانگین ± انحراف معیار)

اسید چرب	روغن	
	سیر[1]	آفتابگردان[2]
C16:0	۲۰ ± ۴	۶/۸۴ ± ۰/۱۶
C18:0	۰/۳۸ ± ۰/۰۱	۳/۶۰ ± ۰/۱۵
C18:1	۳/۷ ± ۰/۷۰	۲۶/۳۷ ± ۲/۹۰
C18:2	۵۳/۶۰ ± ۱۰	۶۰/۵۷ ± ۳/۶۰
C18:3	۴/۵ ± ۲	۰/۶۶ ± ۰/۵۳
اسیدهای چرب اشباع شده	---	۱۰/۸۰ ± ۰/۲۳
اسیدهای چرب اشباع نشده	---	۸۸/۵۱ ± ۰/۷۵

۱. اعداد نشان‌دهنده درصد اسیدچرب در مجموع کل اسیدهای چرب می‌باشد(۹). ۲. اعداد نشان‌دهنده درصد اسیدچرب در مجموع کل اسیدهای چرب می‌باشد (۱۵).

آزمون تولید گاز: مایع شکمبه مورد نیاز از دو رأس گوسفند نر نژاد کردی دارای فیستولای شکمبه با میانگین وزن زنده ۵±۶۰ کیلوگرم جمع‌آوری شد. این گوسفندان در جایگاه انفرادی و با آخور و آبخوری مجزا نگه‌داری و با یک جیره کاملاً مخلوط حاوی۷۰ درصد علوفه و ۳۰ درصد کنسانتره در سطح نگه‌داری تغذیه شدند. این جیره‌حاوی ۵۵ درصد علوفه خشک یونجه، ۱۵ درصد کاه گندم، ۱۵ درصد دانه جو، ۱۰ درصد کنجاله سویا، ۵ درصد سبوس گندم بود که در دو نوبت صبح و عصر به گوسفندان داده می‌شد. نمونه مایع شکمبه قبل از خوراک نوبت صبح جمع‌آوری و با چهار لایه پارچه کتان صاف شد. بافر تهیه شده (۱۶) با نسبت دو به یک با مایع شکمبه مخلوط شد. مخلوط مایع شکمبه و بافر (۴۰ میلی‌لیتر) به ویال‌های حاوی ۲۰۰ میلی‌گرم از جیره‌های آزمایشی که با الک ۱ میلی‌متری آسیاب شده بودند، اضافه شد (۱۶). سپس ۱۵ ثانیه دی اکسیدکربن تزریق و بلافاصله درپوش لاستیکی ویال‌ها گذاشته شد و با استفاده از محافظ آلومینیومی مخصوص پرس گردید. گاز تولیدی در زمان‌های ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۲، ۲۴، ۴۸، ۷۲، ۹۶ و ۱۲۰ساعت پس از شروع انکوباسیون بافشارسنج (مدل Testo 512 Digitalmonomer, Germany) قرائت شد. برای تصحیح میزان گاز، ۴۰ میلی‌لیتر از مخلوط مایع‌شکمبه و بافر داخل سه‌ویال فاقد نمونه آزمایشی ریخته شد (بلانک). برآورد فراسنجه‌های تولید گاز از معادله زیر به‌دست آمد: (۱۷):

$$Y= a + b (1 - e^{-c(t-lag)})$$

در این معادله، Y: میزان گاز تجمعی تولید شده در زمان، a: میزان گاز تولیدی توسط بخش بالفعل قابل تخمیر خوراک، b: میزان گاز تولیدی توسط بخش بالقوه قابل تخمیر خوراک، c: سرعت کل تولید گاز (درصد در ساعت)، t: زمان و lag: فاز تأخیر می‌باشد.

آزمون تولید گاز در ۲ دوره و هر دوره با ۳ تکرار از هر تیمار انجام شد. برای اندازه‌گیری نیتروژن آمونیاکی، اسیدهای چرب فرار و شمارش جمعیت پروتوزوآ یک آزمون تولید گاز به‌مدت ۲۴ ساعت انجام شد. پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون، دو میلی‌لیتر از مایع درون ویال با پنج میلی‌لیتر محلول اسیدکلریدریک ۰/۲ نرمال رقیق شد و تا روز اندازه‌گیری در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شد. نیتروژن آمونیاکی با استفاده‌از اسپکتروفتومتر به‌روش فنول هیپوکلریت اندازه‌گیری شد (۱۸). برای شمارش جمعیت پروتوزوآ پنج میلی‌لیتر از مایع شکمبه با پنج میلی‌لیتر محلول فرمالین ۵۰ درصد رقیق شد. دو قطره رنگ سبز بریلیانت به آن اضافه و به‌خوبی تکان داده شد. ۲۴ ساعت بعد از افزودن رنگ، شمارش پروتوزوآ با استفاده از از لام نئوبار و میکروسکوپ نوری (Olympus Optical CHT, Japan) با بزرگ‌نمایی ۱۰ انجام‌شد(۱۹). انرژی قابل متابولیسم و گوارش‌پذیری ماده آلی با استفاده از رابطه‌های زیر برآورد شد (۱۶):

(رابطه ۱):

= (مگاژول در کیلوگرم ماده خشک) انرژی قابل متابولیسم

$$۲/۲ + ۰/۱۳۶ GP + ۰/۰۵۷CP$$

(رابطه ۲):

$$۱۴/۸۸ + ۰/۸۸۹ GP+۰/۰۴۵CP$$ = (درصد) گوارش‌پذیری ماده آلی

و کل اسیدهای چرب فرار با استفاده از رابطه ۳ محاسبه شد (۲۰):

(رابطه ۳):

$$۰ /۰۲۲۲ GP -۰/۰۰۴۲۵$$ =(میلی‌مول) اسیدهای چرب زنجیر کوتاه

در رابطه‌های بالا، GP، حجم گاز حاصل از ۲۴ ساعت انکوباسیون (میلی‌لیتر) و CP، پروتئین خام (درصد) است.

داده‌های مربوط به فراسنجه‌های تخمیر شکمبه (pH و غلظت نیتروژن آمونیاکی)، جمعیت پروتوزوآ و قابلیت‌هضم ماده آلی بر پایه طرح کاملاً تصادفی با رویه ساده نرم‌افزار آماری SAS (نسخه ۹/۲) و با رابطه ۴ تجزیه واریانس شدند.

(رابطه ۴): $Y_{ij} = \mu + A_i + e_{ij}$

که در این رابطه Y_{ij}، متغیر وابسته، μ، میانگین جامعه، A_i، اثر جیره آزمایشی و e_{ij} ، اثر خطای آزمایشی است. داده‌های مربوط به فراسنجه‌های تولید گاز بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی و با رابطه ۵ آنالیز شد:

(رابطه ۵): $Yijk = \mu + Ai + Rj + eij$

که در این رابطه Y_{ij}، متغیر وابسته، μ، میانگین جامعه، A_i، اثر جیره آزمایشی، Rj، اثر بلوک (هر دوره آزمایش گاز) و e_{ij}، اثر خطای آزمایشی است.

نتایج

تأثیر استفاده از مخلوط روغن آفتابگردان و روغن سیر بر فراسنجه‌های تولید گاز در جدول ۳ نشان داده شده است. استفاده از مخلوط روغن آفتابگردان و روغن سیر در جیره میانگین تولید گاز را افزایش داد (P<۰/۰۵)، اما بر سایر فراسنجه‌های تولید گاز اثری نداشت. در جدول ۴ اثر مخلوط روغن آفتابگردان و روغن سیر بر فراسنجه‌های برآورده شده ارایه شده است. مخلوط روغن آفتابگردان و روغن سیر گوارش‌پذیری ماده آلی، اسیدهای چرب فرار و انرژی قابل متابولیسم را افزایش داد(P<۰/۰۵). جدول ۵ نشان می‌دهد مخلوط روغن آفتابگردان و روغن سیر بر فراسنجه‌های تخمیر و جمعیت پروتوزوآ تأثیری نداشت.

جدول ۳: اثر مخلوط روغن آفتابگردان و روغن سیر بر فراسنجه‌های تولید گاز

فراسنجه	جیره‌های آزمایش		SEM	P-Value
	شاهد	دارای مخلوط روغن‌ها		
تولید گاز (میلی‌لیتر)	۱۰۸/۵۱	۱۲۸/۶۴	۵/۸۰	۰/۰۲
نرخ تولید گاز (درصد در ساعت)	۰/۰۳۱	۰/۰۲۸	۰/۰۰۳	۰/۵۱
نیمه عمر (ساعت)	۷/۱۶	۷/۳۰	۰/۱۹	۰/۶۴
فاز تأخیر (ساعت)	۰/۴۴	۰/۴۲	۰/۱۵	۰/۹۲

جدول ۴: اثر مخلوط روغن آفتابگردان و روغن سیر بر فراسنجه‌های برآورد شده تولید گاز

فراسنجه	جیره‌های آزمایش		SEM	P-Value
	شاهد	دارای مخلوط روغن‌ها		
گوارش‌پذیری ماده آلی (درصد)	۷۵/۰۵	۸۰/۴۰	۱/۶۵	۰/۰۴
اسیدهای چرب کوتاه زنجیر (میلی‌مول/۲۰۰ میلی‌گرم ماده خشک)	۱/۴۷	۱/۶۰	۰/۰۴	۰/۰۴
انرژی قابل متابولیسم (مگاژول/ کیلوگرم ماده خشک)	۱۱/۳۸	۱۲/۲۰	۰/۲۵	۰/۰۴

جدول۵. اثر مخلوط روغن آفتابگردان و روغن سیر بر فراسنجه‌های تخمیر و جمعیت پروتوزوآ

فراسنجه	جیره‌های آزمایش		SEM	P-Value
	شاهد	دارای مخلوط روغن‌ها		
pH	۶/۶۲	۶/۶۵	۰/۰۴	۰/۶۸
نیتروژن آمونیاکی (میلی‌گرم/ دسی‌لیتر)	۳/۴۷	۳/۵۶	۰/۳۱	۰/۸۴
کل جمعیت پروتوزوآ[1]	۴/۸۰	۴/۸۸	۰/۰۶	۰/۳۹
انتودینیوم	۴/۴۴	۴/۵۹	۰/۵۱	۰/۲۹
دیپلودینیوم	۴/۵۱	۴/۱۱	۰/۴۲	۰/۵۲
افریواسکولکس	۱/۸۶	۲/۶۸	۰/۵۱	۰/۲۹

۱: جمعیت پروتوزوآ (لگاریتم بر پایه ۱۰/گرم ماده هضمی).

بحث

فراسنجه‌های تولید گاز: نتیجه فعالیت تخمیری میکروارگانیسم‌های شکمبه بر روی خوراک تولید اسیدچرب و گاز می‌باشد. هم‌سو با این نتایج، افزودن روغن در سطوح پایین اثری بر فراسنجه‌های تولید گاز نداشت(۲۱، ۲۲، ۲۳). ناهم‌سو با نتایج حاضر، افزودن ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر محیط کشت روغن سیر (۱۱) و افزودن اسیداولیئک به جیره پایه دارای چاودار و کنجاله ذرت در شرایط برون‌تنی (۲۴) تولید گاز را کاهش استفاده از ۲ درصد روغن آفتابگردان در شرایط شبیه‌سازی شکمبه فاز تأخیر را افزایش داد (۲۵). کاهش تولید گاز و افزایش فاز تأخیر می‌تواند به‌دلیل کاهش تعداد و فعالیت باکتری‌های شکمبه (به‌خصوص باکتری‌های استفاده‌کننده سلولز) به‌دنبال اثر بازدارندگی اسیدهای چرب غیراشباع باشد (۲۶). ناهم‌سویی بین نتایج تولید گاز در پژوهش‌های مختلف ممکن است به‌دلیل تفاوت در جیره استفاده شده، سطح روغن و یا میزان متفاوت مکمل اسیدهای چرب در آزمایش‌ها باشد.

فراسنجه‌های برآوردشده: ناهم‌سو با آزمایش حاضر، استفاده از سطوح ۳۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر روغن سیر در محیط کشت پیوسته تأثیری بر گوارش‌پذیری حقیقی ماده آلی و غلظت کل اسیدهای چرب کوتاه زنجیر نداشت (۱۱، ۲۷). همان‌طورکه جدول ۴ نشان می‌دهد اضافه کردن مخلوط روغن آفتابگردان و روغن سیر به جیره منجر به افزایش انرژی قابل متابولیسم برآورد شده گردید. با توجه به انرژی بیش‌تر روغن‌ها این نتیجه قابل انتظار بود. ناهم‌سو با نتایج جدول ۴، افزودن ۶ درصد روغن آفتابگردان یا روغن زیتون و یا روغن کتان به جیره پر کنسانتره، تأثیری بر فراسنجه‌های برآورد شده نداشت (۲۸).

فراسنجه‌های تخمیر و جمعیت پروتوزوآ: مشابه با پژوهش حاضر، استفاده از سطوح ۳۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر روغن سیر در محیط کشت پیوسته تأثیری بر pH نداشت (۲۷). هم‌چنین، سطح ۶ درصد روغن‌های آفتابگردان، زیتون و کتان در جیره‌های دارای ۷۰ درصد کنسانتره تأثیری بر pH محیط کشت نداشت (۲۸). ناهم‌سو با پژوهش حاضر، جیره‌های مکمل شده با روغن‌های گیاهی غنی از اسیدهای چرب غیر اشباع در شرایط برون‌تنی باعث افزایش (۲۹) و افزودن ۳/۵ درصد اسید اولئیک به جیره دارای ۸۰ درصد یونجه در شرایط آزمایشگاهی باعث کاهش pH شد (۲۹). هم‌سو با پژوهش حاضر، استفاده از سطوح ۳۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر روغن سیر در محیط کشت پیوسته تأثیری بر غلظت نیتروژن آمونیاکی نداشت (۱۱). اما در پژوهش دیگری، اضافه کردن اسید اولیئک به جیره در شرایط آزمایشگاهی باعث کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی شد (۳۰).

در آزمایش حاضر کل جمعیت پروتوزوآ و نیز جمعیت جنس‌های آن تحت تأثیر استفاده از مخلوط روغن آفتابگردان و روغن سیر قرار نگرفت. هم‌سو با آزمایش حاضر، افزودن ۶ درصد روغن آفتابگردان یا روغن‌زیتون و یا روغن‌کتان به جیره پر کنسانتره، تأثیری بر جمعیت پروتوزوآ نداشت (۲۸). در شرایط درون‌تنی نیز، استفاده از ۳ درصد روغن کتان در گاو شیری اثری بر جمعیت پروتوزوآ شکمبه نداشت (۳۱). ناهم‌سو با این نتایج، افزودن اسیدلینولئیک به جیره‌های بر پایه جو در شرایط برون‌تنی، تعداد پروتوزوآ را کاهش داد (۳۲). هم‌چنین، مکمل کردن ۵ درصد روغن آفتابگردان در جیره تعداد برخی از گونه‌های پروتوزوآ را کم کرد اما اثری بر جمعیت کل پروتوزوآ نداشت (۳۳). اسیدهای چرب اثر ممانعتی بر جمعیت پروتوزوآ دارند و با افزایش تعداد پیوند دوگانه اسیدچرب این اثر ممانعتی بیش‌تر است (۲۳). اثر روغن بر پروتوزوآ بستگی به نوع روغن، میزان آن و ترکیب اسید چرب‌روغن و جیره پایه دارد. به‌همین علت بین آزمایش‌های متفاوت نتایج مختلف است. همبستگی مثبتی بین غلظت نیتروژن آمونیاکی و بدون پروتوزوآ شدن (دفونه شدن) وجود دارد (۳۴) و شواهد نشان داده است که زمانی که جمعیت پروتوزوآ پروتئولایتیک شکمبه کم می‌شود چون باکتری کم‌تری را فرو می‌بلعند نیتروژن آمونیاکی کم‌تری نیز آزاد می‌شود (۳۵). در آزمایش حاضر نیز این همبستگی مشاهده می‌شود و جدول ۵ نشان می‌دهد که نه غلظت نیتروژن آمونیاکی و نه جمعیت پروتوزوآ تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفتند.

درمجموع آزمایش حاضر نشان داد که افزودن ۲ درصد مخلوط روغن آفتابگردان و روغن سیر به جیره هیچ‌گونه اثر سویی بر تخمیر شکمبه نداشت.

منابع

1. **Sutter, F., Casutt, M.M., Ossowski, D.A., Scheeder, M.R.L. and Kreuzer, M., 2000.** Comparative evaluation of rumen-protected fat, coconut oil and various oilseed supplements to fattening bulls 1. Effects on growth, carcass and meat quality. Archives of Animal Nutrition. 53: 1-23.
2. **Flachowsky, G., Wirth, R., Mockel, P. and Schneider, A., 1995.** Influence of rumen protected fat on rumen fermentation, in sacco dry matter degradability and apparent digestibility. Journal of Applied Animal Research. 8: 71-84.
3. **Jenkins, T.C., 1993.** Lipid metabolism in the rumen. Journal of Dairy Science. 76: 3851-3863.
4. **Jenkins, T.C., Wallace, R.J., Moate, P.J. and Mosley, E.E., 2008.** Board-invited review: Recent advances in biohydrogenation of unsaturated fatty acids within the rumen microbial ecosystem. Journal of Animal Science. 86: 397-412.
5. **Nagaraja, T.G., Newbold, C.J., van Nevel, C.J. and Demeyer, D.I., 2007.** Manipulation of ruminal fermentation in The rumen microbial ecosystem (eds. Hobson, P.N. and Stewart, C.S.,). 523-632.
6. **Maia, M.R.G., Chaudhary, L.C., Figueres, L. and Wallace, R.J., 2007.** Metabolism of polyunsaturated fatty acids and their toxicity to the microflora of the rumen. Antonie Van Leeuwenhoek. 91: 303-314.
7. **Stewart, C.S., 1977.** Factors affecting the cellulolytic activity of rumen contents. Applied Environmental Microbiology. 33: 497-502.
8. **Bauman, D.E., 2000.** Conjugated linoleic acid is synthesized endogenously in lactating dairy cows by $^{\Delta 9}$-desaturase. Journal of Nutrition. 130: 2285-2291.
9. **Tsiaganis, M.C., Laskari, K. and Melissari, E., 2006.** Fatty acid composition of Allium species lipids. Journal of Food Composition and Analysis. 19: 620-627.
10. **Reuter, H.D., Koch, J.P. and Lawson, L., 1996.** Therapeutic effects and applications of garlic and its preparations. 135-212 in Garlic. The Science and Therapeutic Application of *Allium sativum* L. and Related Species. Koch, H.P. and Lawson, L.D., eds. Williams & Wilkins, Baltimore, MD.
11. **Busquet, M., Calsamiglia, S., Ferret, A., Cardozo, P.W. and Kamel, C., 2005.** Effects of cinnamaldehyde and garlic oil on rumen microbial fermentation in a dual flow continuous culture. Journal of Dairy Science. 88: 2508-2516.
12. **Sears, A.P., 2020.** Rumen fermentation responses to purified palmitic, stearic, or oleic fatty acids and the impact of a palmitic acid-enriched supplement on animal performance. MSc thesis. Utah State University. Utah, USA.
13. **Aghajanzadeh-Golshani, A., Maheri Sis, N., Salamat Doust-Nobar, R., Ebrahimnezhad, Y. and Ghorbani, A., 2020.** Estimating nutritional value of wheat and barley grains by in vitro gas production technique using rumen and faeces liquor of Gezel rams. Journal of Animal Environment. 12(2): 45-52. (In Persian)
14. **NRC. 2001.** Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7th ed. National Academy Press, Washington, DC. USA.
15. **Mohammadi, T., Azizi, M.H. and Taslimi, A., 2007.** Relation of Fatty Acids Composition with Stability of Sunflower and Canola Oil Blends. Journal of food science and technology. 4(13): 67-76. (In Persian)
16. **Menke, K.H. and Steingass, H., 1988.** Estimation of energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* production using rumen fluid. Journal of Animal Research and Development. 28: 7-55.
17. **McDonald, I., 1981.** A revised model for the estimation of protein degradability in the rumen. Journal of Agriculture Science. 96: 251-252.
18. **Broderick, G.A. and Kang, J.H., 1980.** Automated simultaneous determination of ammonia and total amino acids in ruminal fluid and in vitro media. Journal of Dairy Science. 63: 64-75.
19. **Dehority, B.A., 2003.** Rumen Microbiology. British Library Cataloguing in Publication Data.
20. **Makkar, H.P.S., 2010.** *In vitro* screening of feed resources for efficiency of microbial protein synthesis. In: Vercoe, P.E., Makkar, H.P.S. and Schlink, A.C., (Eds.), *In vitro* screening of plant resources for extra nutritional. Attributes in Ruminants: Nuclear and Related Methodologies. IAEA, Dordrecht, Netherlands. 107-144.
21. **Patra, A.K., 2013.** The effect of dietary fats on methane emissions, and its other effects on digestibility, rumen fermentation and lactation performance in cattle: A meta-analysis. Livestock Science. 155: 244-254.

22. **El-Sherbiny, M., Cieslak, A., Pers-Kamczyc, E., Szczechowiak, J., Kowalczyk, D. and Szumacher Strabel, M.A., 2016.** Nano emulsified form of oil blends positively affects the fatty acid proportion in ruminal batch cultures. Journal of Dairy Science. 99(1): 399-407.

23. **Roy, A., Mandal, G.P. and Patra, A.K., 2017.** Effects of different vegetable oils on rumen fermentation and conjugated linoleic acid concentration *in vitro*. Veterinary World. 10(1): 11-16.

24. **Zhang, C.M., Guo, Y.Q., Yuan, Z.P., Wu, Y.M., Wamg, J.K., Liu, J.X. and Zhu, W.Y., 2008.** Effect of octadeca carbon fatty acids on microbial fermentation, methanogenesis and microbial flora *in vitro*. Animal Feed Science and Technology. 146: 259-269.

25. **Vargas, J.E., Andrés, S., López-Ferreras, L., Snelling, T.J., Yáñez-Ruíz, D.R., García-Estrada, C. and López, S., 2017.** Effect of sunflower and marine oils on ruminal microbiota, *in vitro* fermentation and digesta fatty acid profile. Frontiers in Microbiology, 8: 1-15.

26. **Palmquist, D.L. and Jenkins, T.C., 1980.** Fat in lactation rations: Review. Journal of Dairy Science. 63: 1-14.

27. **Busquet, M., Calsamiglia, S., Ferret, A., Cardozo, P.W. and Kamel, C., 2005.** Effect of garlic oil and four of its compounds on rumen microbial fermentation. Journal of Dairy Science. 88: 4393-4404.

28. **Vargas, J.E., Andrés, S., López-Ferreras, L., Snelling, T.J., Yáñez-Ruíz, D.R., García-Estrada, C., and López, S., 2020.** Dietary supplemental plant oils reduce methanogenesis from anaerobic microbial fermentation in the rumen. Scientific Report. 10: 1613.

29. **Jalc, D., Kisidayova, S. and Nerud, F., 2002.** Effect of plant oils and organic acids on rumen fermentation *in vitro*. Folia Microbiologica. 47: 171-177.

30. **Wu, D., Xu, L., Tang, S., Guan, L., He, Z., Guan, Y., Tan, Z., Han, X., Zhou, C., Kang, J. and Wang, M., 2016.** Influence of oleic acid on rumen fermentation and fatty acid formation *in vitro*. Plos ONE. 11(6): 1-13.

31. **Ueda, K., Ferlay, A., Chabrot, J., Loor, J.J., Chilliard, Y. and Doreau, M., 2003.** Effect of linseed oil supplementation on ruminal digestion in dairy cows fed diets with different forage: concentrate ratios. Journal of Dairy Science. 86: 3999-4007.

32. **Hristov, A.N., Ivan, M. and McAllister, T.A., 2004.** *In vitro* effects of individual fatty acids on protozoal numbers and on fermentation products in ruminal fluid from cattle fed a high-concentrate, barley-based diet. Journal of Animal Science. 82: 2693-2704.

33. **Váradyová, Z., Kišidayová, S., Siroka, P. and Jalč, D., 2007.** Fatty acid profiles of rumen fluid from sheep fed diets supplemented with various oils and effect on the rumen ciliate population. Czech Journal of Animal Science. 52: 399-406.

34. **Machmüller, A., Ossowski, D., Wanner, M. and Kreuzer, M., 1998.** Potential of various fatty feeds to reduce methane release from rumen fermentation *in vitro* (Rusitec). Animal Feed Science and Technology. 71: 117-130.

35. **Doreau, M. and Ferlay, A., 1995.** Effect of dietary lipids on nitrogen metabolism in the rumen: a review. Livestock Production Science. 43: 97-110.