



دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گیلان

نشریه پژوهش در نشخوارکنندگان

جلد هفتم، شماره چهارم، ۱۳۹۸

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

۶۴-۴۵

## تعیین سطح مناسب استفاده از گیاه دارویی خرفه در جیره و اثر آن بر فعالیت هضمی و تخمیری قارچ‌ها و باکتری‌های شکمبه بره‌های پرواری

صادق میاحی<sup>۱</sup>، \*کمال شجاعیان<sup>۲</sup> و مرتضی چاجی<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup> دانشجوی دکتری و <sup>۲</sup> استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، <sup>۳</sup> دانشیار گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و صنایع

غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان

تاریخ دریافت: ۹۸/۰۵/۱۵؛ تاریخ پذیرش: ۹۸/۰۸/۱۹

### چکیده

**سابقه و هدف:** ایران رویشگاه اصلی بسیاری از گونه‌های علوفه‌ای و دارویی با ارزش تغذیه‌ای مناسب می‌باشد. این گونه‌ها در شرایط سخت محیطی نظیر بارندگی‌های کم و خشکسالی رشد کرده و می‌توانند جایگزین مناسبی برای برخی اقلام علوفه‌ای متداول نظیر علوفه یونجه باشند که اغلب شرایط بسیار مساعدی برای رشد خود نیاز دارند. پژوهش حاضر تعیین سطح مناسب جایگزینی گیاه خرفه در جیره و اثر آن بر فعالیت هضمی و تخمیری جمعیت میکروبی، میکروآگارنیسم‌ها جدا شده از شکمبه بره‌های پرواری تغذیه شده با این جیره‌های آزمایشی بود.

**مواد و روش‌ها:** تیمارهای آزمایشی شامل جیره شاهد (فاقد مکمل خرفه) و چهار جیره حاوی سطوح ۲۵، ۵۰، ۷۵، ۱۰۰ درصد خرفه به صورت جایگزین شده با یونجه بودند. از آزمایش تولید گاز برای تعیین سطح مناسب جایگزینی استفاده شد. مقدار گاز تولیدی نمونه‌ها در زمان‌های ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۰، ۱۲، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت پس از انکوباسیون ثبت و فراسنجه‌های تولید گاز، گوارش‌پذیری ماده آلی و انرژی متابولیسمی آنها برآورد گردید. قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی در شرایط کشت اختصاصی میکروآگارنیسم‌ها مورد بررسی قرار گرفت. در این مرحله جیره‌های حاوی (صفر، ۲۵، ۵۰ درصد) گیاه خرفه که از آزمایش تعیین سطح انتخاب گردیده بودند با مایع شکمبه بره‌های تغذیه شده با جیره حاوی این تیمارها مورد آزمایش قرار گرفت. داده‌های حاصل با طرح کاملاً تصادفی آنالیز شدند.

**یافته‌ها:** نتایج این پژوهش نشان داد که سطح ۱۰۰ درصد خرفه جایگزین شده با یونجه، به‌طور معنی‌داری بالاترین مقدار تولید گاز (۲۵/۸۰ میلی لیتر) را نسبت به سایر جیره‌های آزمایشی داشت و اختلاف آن با سطوح ۲۵ و ۵۰ درصد معنی‌دار نبود ( $P > 0/05$ ) بخش قابل تخمیر در تمام سطوح دارای خرفه بالاتر بوده و نسبت به شاهد اختلاف معنی‌داری داشت ( $P < 0/05$ ). قابلیت هضم ماده آلی نیز در سطوح ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد به‌طور معنی‌داری نسبت به سایر تیمارها بالاتر بود ( $P < 0/05$ ). بیشترین مقدار تولید توده خام میکروبی در تیمارهای ۵۰ درصد (۷۷/۲)، ۷۵ درصد (۷۸/۵) و ۱۰۰ درصد (۷۹/۱) مشاهده گردید و با سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری نشان دادند ( $P < 0/05$ ). تفاوت معنی‌داری بین نیتروژن آمونیاکی و pH جیره‌های آزمایشی انکوبه شده با قارچ‌ها یا باکتری‌های بی‌هوازی مشاهده نشد ( $P > 0/05$ ). جایگزینی ۵۰ درصد از یونجه با گیاه خرفه سبب ۱۱

\*نویسنده مسئول: [kshojaeian@uoz.ac.ir](mailto:kshojaeian@uoz.ac.ir)

درصد افزایش هضم یالیف نامحلول در شوینده خشتی (NDF) در جیره‌های آزمایشی انکوبه شده با باکتری‌های بی‌هوازی نسبت به شاهد شد ( $P < 0.05$ ).

**نتیجه گیری:** به‌طور کلی، نتایج این آزمایش نشان داد که گیاه خرفه در تغذیه نشخوارکنندگان به‌طور بالقوه قادر به دستکاری فعالیت‌های تخمیری شکمبه بوده و می‌تواند به‌عنوان عامل مؤثر در تغییرات محیط و جمعیت میکروبی شکمبه مورد استفاده قرار گیرد. ترکیبات فنولی گیاه خرفه تأثیر زیادی در فعالیت‌های زیستی این گیاه دارد.

**واژه‌های کلیدی:** پروتئین میکروبی، تولید گاز، خرفه، قابلیت هضم، کشت باکتری

## مقدمه

خرفه با نام علمی *Portulaca oleracea* گیاهی علفی و یکساله از خانواده *Portulacaceae* می‌باشد (۲۰، ۲۸). گزارش شده است که عصاره اتانولی گیاه خرفه حاوی فلاونوئیدهای بالا از جمله کوئرستین، کامفرول، لوتئولین، اپی‌ژنین و غیره می‌باشد (۶۲). اما عصاره آبی آن فاقد فلاونوئیدها می‌باشد (۳۳). سطح فلاونوئیدها با توجه به بخش‌های مختلف گیاه متفاوت است، بالاترین سطح در ریشه و پس از آن ساقه و برگ وجود دارد (۶۳).

از آنجا که هزینه‌های خوراک دام‌ها بخش قابل توجهی از هزینه‌های تولید در حیوانات را در بر می‌گیرند، بهبود بازده خوراک می‌تواند مهم‌ترین عامل در جهت کاهش هزینه‌های نگهداری و پرورش دام‌ها باشد. این امر در زمان افزایش هزینه‌های خوراک یا کاهش ارزش دام نمود بیشتری دارد. بهبود بازده خوراک می‌تواند مصرف خوراک را با حفظ عملکرد حیوانی کاهش دهد (۱۸). متان تولید شده در طی تخمیر بی‌هوازی در شکمبه، باعث از دست دادن انرژی برای حیوان میزبان و موجب کاهش انتشار گازهای گلخانه‌ای به محیط زیست می‌شود (۳۷). گزارش شده است که مواد مؤثر موجود در گیاهان دارویی می‌توانند از طریق اختلال در مکانیسم‌های انتقال الکترون، تغییر در غلظت یون‌های سلولی، انتقال

پروتئین، فسفوریلاسیون و دیگر واکنش‌های آنزیمی سبب تخریب سلول باکتری‌های متانوژن (آرکایا باکتری) و همچنین تخریب سلول پروتوزوا و به دنبال آن کاهش هیدروژن تولیدی شوند (۶). گیاهان و نباتات فعال زیستی در مهار خروجی متان در شکمبه، به‌طور عمده شامل ساپونین، تانن، اسانس، ترکیبات گوگردی، فلاونوئیدها، و غیره می‌باشند (۱۶). این محصولات طبیعی نه تنها منجر به کاهش تولید متان شده، بلکه باعث بهبود تخمیر شکمبه، متابولیسم نیتروژن و بهره‌وری و سلامت شکمبه نیز می‌شوند (۴۵). شاید بتوان دلیل کاهش تولید متان را به‌حضور مقدار قابل توجهی از استوژن‌ها نسبت داد که از عوامل کاهنده متان هستند.

مطالعات سی هوپچ (۱۹۹۹) نشان داد که فلاونوئیدها ممکن است به‌طور مستقیم با میکروارگانیزم‌های شکمبه، در تعامل مثبت و یا منفی باشند. فلاونوئیدها می‌توانند وضعیت انرژی زیستی غشاء باکتری را تغییر دهند (۵۱). برای روشن شدن این مسئله، بررسی تغییرات جمعیت‌های میکروبی شکمبه و مکانیسم کاهش متانوژن‌ها از عصاره خرفه به‌عنوان افزودنی استفاده شد (۱۶). ایجاد رابطه بین بازده خوراک و پروفایل‌های الگوی میکروبی شکمبه حیوان می‌تواند انتخاب گیاهان جهت پرورش موثر را، بدون نیاز به جمع‌آوری داده‌های مصرف خوراک

برای نشخوارکنندگان بود.

### مواد و روش‌ها

این آزمایش در پائیز سال ۱۳۹۶ در ایستگاه آموزشی - تحقیقاتی و آزمایشگاه‌های دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، انجام شد.

**آنالیز شیمیایی:** کلیه مراحل آماده‌سازی جهت تعیین ترکیبات شیمیایی خوراک آزمایشی شامل ماده خشک، خاکستر، پروتئین خام و چربی خام با روش‌های پیشنهادی سازمان انجمن علمی (۲۰۰۵) AOAC و همچنین میزان الیاف محلول در شوینده اسیدی و میزان الیاف محلول در شوینده خنثی با روش ون سوست (۱۹۹۴) انجام شد (۶۰ و ۵). سپس، خوراک‌های آزمایشی حاوی سطوح مختلف گیاه خرفه شاهد (بدون خرفه)، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد خرفه جایگزین شده با یونجه تهیه و پس از اندازه‌گیری ماده خشک با ال‌ک ۱ میلی‌متری آسیاب گردید.

**تعیین سطح مناسب گیاه خرفه در جیره:** در این مرحله مقدار سطوح مناسب خرفه در جیره گوسفند عربی در آزمایشگاه با استفاده از تکنیک تولید گاز تعیین شد (۳۶).

**اندازه‌گیری میزان گاز تولیدی:** این آزمایش در آزمایشگاه تغذیه پیشرفته گروه علوم دامی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان انجام شد. دام‌ها در جایگاه ویژه با قابلیت تغذیه کنترل شده و در محیط باز نگهداری شدند. مایع شکمبه قبل از خوراک‌دهی صبح از شکمبه گوسفند از طریق لوله معدی تهیه شد، سپس محتویات شکمبه به وسیله چهار لایه پارچه متقال صاف شده، بلافاصله به آزمایشگاه انتقال یافت.

حیوان و صرف زمان تسهیل نماید (۱۸). به طور خلاصه، نتایج حاصل از آزمایش روی گیاه خرفه نشان می‌دهد که عصاره این گیاه با دارا بودن پتانسیل نسبتاً بالایی برای دستکاری مطلوب تخمیر شکمبه‌ای، به عنوان عامل مناسب دستکاری شکمبه مورد استفاده قرار گیرد (۱۶).

میکروگانسیم‌های شکمبه نقش مهمی در هضم غذای مصرف شده در دام‌های نشخوارکننده ایفا می‌کنند و این امر بر بازده استفاده از غذا تأثیر می‌گذارد (۱۸). ایران رویشگاه اصلی بسیاری از گونه‌های دارویی با ارزش می‌باشد. این گونه‌ها در شرایط غیر طبیعی و یا بارندگی‌های کم و خشکسالی، می‌توانند جایگزین مناسبی برای برخی اقلام گران قیمت جیره‌های خوراکی دام‌ها بخصوص علوفه‌هایی همانند یونجه باشند. بهبود مدیریت بقایای گیاهی، خردکردن آنها و جلوگیری از سوزاندن کاه و کلش‌ها و بقایای گیاهی می‌تواند به عنوان راهکارهایی برای استفاده بهینه از ضایعات مزارع مورد استفاده قرار گیرند. گونه‌های مختلف گیاه خرفه تحت نام‌های متفاوت حتی در مناطقی با شرایط آب و هوایی مثل خشکی، شوره‌زار و کمبود مواد مغذی نیز رشد می‌کند (۱۶). روچفرت و همکاران (۲۰۰۸) در مطالعه‌ای بیان کردند که ترکیبات شیمیایی موجود در قسمت‌های مختلف این گیاه شامل کربوهیدرات، پروتئین، سطوح بالای مواد معدنی، اسیدهای چرب شامل لینولنیک اسید، لینولئیک اسید، پالمیتیک اسید، اولئیک اسید و استئاریک اسید (۴۵، ۴۰) این گیاه را نسبت به گیاه یونجه برای تغذیه دام برتر کرده است. با توجه به مطالب ذکر شده، به نظر می‌رسد که خرفه به علت دارا بودن ارزش تغذیه‌ای بالا قابلیت استفاده در تغذیه دام، طیور و آبزیان را نیز دارد (۱۷). هدف از پژوهش حاضر بررسی تأثیر استفاده از گیاه خرفه بر فعالیت میکروبی شکمبه به منظور تعیین ارزش تغذیه‌ای آن

جدول ۱: اجزاء خوراکی و ترکیب شیمیایی جیره‌های آزمایشی مورد استفاده

**Table 1. Components ingredients and chemical composition of test diets used**

مقدار خرفه جایگزین شده در جیره (درصد)					Components diet
The amount of Purslane replaced in the diet					
100(%)	75(%)	50(%)	25(%)	Contral	
0	7.5	15	22.5	30	علوفه یونجه (Alfalfa Fodder)
30	22.5	15	7.5	0	گیاه خرفه (Purslane plant)
10	10	10	10	10	سر شاخه نیشکر (Cane lops)
10.8	10.8	10.8	10.8	10.8	دانه جو (Barley grian)
30	30	30	30	30	دانه ذرت (Cron grian)
5	5	5	5	5	کنجاله کنجد (Sesame meal)
12.50	12.50	12.50	12.50	12.50	سبوس گندم (Wheat bran)
1.20	1.20	1.20	1.20	1.20	مکمل <sup>۱</sup> (Completed)
0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	نمک (Salt)
0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	آهک (Lime)
ترکیب شیمیایی جیره (Chemical composition of diet)					
2.49	2.48	2.48	2.47	2.47	انرژی متابولیسمی (مگا کالری در کیلوگرم) (ME (Mcal/Kg))
15.86	15.46	15.07	14.67	14.28	پروتئین خام (درصد) (Crude protein(%))
86.83	87.53	87.87	88.43	88.01	ماده خشک (درصد) (Dry matter(%))
3.12	3.03	2.89	2.87	2.73	چربی خام (درصد) (Ether extract(%))
33.72	33.67	33.66	33.47	33.43	فیبر نامحلول در شوینده خنثی (درصد) (Neutral detergent fiber (%))
24.59	24.47	24.23	24.44	24.43	فیبر نامحلول در شوینده اسیدی (درصد) (Acid detergent fiber (%))

<sup>۱</sup> ویتامین A (IU) ۵۰۰/۰۰۰ (در کیلوگرم)، ویتامین D3 (IU) ۱۰۰/۰۰۰ - (در کیلوگرم)، ویتامین E (mg) ۱۰۰ (در کیلوگرم)، کلسیم (mg) ۱۹۶/۰۰۰ (در کیلوگرم)، سدیم (mg) ۵۰/۰۰۰ (در کیلوگرم)، منیزیم (mg) ۱۸/۰۰۰، آهن (mg) ۳/۰۰۰، مس (mg) ۳۰۰ (در کیلوگرم)، منگنز (mg) ۲/۰۰۰ (در کیلوگرم)، روی (mg) ۳/۰۰۰ (در کیلوگرم)، کبالت (mg) ۱۰۰ (در کیلوگرم)، ید (mg) ۱۰۰ (در کیلوگرم)، سلنیوم ۰/۱ (mg) (در کیلوگرم)، آنتی اکسیدان (mg) ۴۰۰ (در کیلوگرم)، کریبر (gr) تا ۱ کیلوگرم.

مدت ۲۴ ساعت) با غربال یک میلی‌متر آسیاب شد. در ادامه سه تکرار از هر نمونه خوراک (۰/۲ گرم) به همراه مایع شکمبه و محلول بافر مصنوعی (به نسبت

ابتدا نمونه‌های آزمایشی شامل جیره شاهد و جیره‌های آزمایشی حاوی مقادیر مختلف گیاه خرفه پس از خشک شدن در آون (در دمای ۹۰ درجه سلسیوس به

تجزیه آماری داده‌ها پژوهش حاضر در قالب طرح کاملاً تصادفی و با استفاده از نرم‌افزار SAS (۲۰۰۴) رویه GLM و مقایسه میانگین آنها با آزمون دانکن (۱۹۵۵) در سطح خطای ۵ درصد صورت گرفت (۱۶ و ۴۸).

اندازه‌گیری قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی در شرایط کشت اختصاصی: در این مرحله جیره‌های حاوی (صفر، ۲۵، ۵۰ درصد) گیاه خرفه که از آزمایش تعیین سطح انتخاب گردید با مایع شکمبه بره‌های تغذیه شده با جیره حاوی این تیمارها مورد آزمایش قرار گرفت.

اثر خرفه بر قابلیت هضم و تخمیر آزمایشگاهی جیره به عنوان یک منبع الیافی توسط میکروارگانیزم‌ها شکمبه

هضم در محیط کشت اختصاصی باکتری: در این بخش از آزمایش از سه جیره شامل جیره شاهد (بدون خرفه) و جیره‌های حاوی سطوح منتخب گیاه خرفه (سطوح منتخب آزمایش تعیین سطح ۲۵ و ۵۰ درصد) استفاده شد. این آزمایش در محیط کشت اختصاصی باکتری‌های شکمبه انجام گرفت. ابتدا شیشه‌های کشت حاوی ۱ گرم نمونه آزمایشی به مدت ۱۵ دقیقه و در دمای ۱۲۰ درجه سلسیوس توسط اتوکلاو استریل شدند. مایع شکمبه سانتریفیوژ شده (دور ۱۰۰۰ rpm ۱۰ دقیقه) و مایع شفاف رویی آن تحت شرایط بی‌هوازی به محیط کشت اختصاصی باکتری‌ها که حاوی سلوبیوز، سولفید سدیم، کربنات سدیم، قارچ‌کش (بنومیل و متالاکسیل)، سیستین-هیدروکلریک، پیتون، تریپتیکار و مخلوط عصاره مخمر بود، اضافه شد. میزان ۳۶ میلی لیتر از این محلول به عنوان محیط کشت و ۴ میلی لیتر مایع شکمبه به هر شیشه کشت تلقیح گردید. سپس نمونه‌ها در انکوباتور ۳۹ درجه سلسیوس به مدت ۴۸، ۷۲ ساعت کشت داده شدند. در پایان هر یک از

۱ به ۲) در شرایط بی‌هوازی در داخل ویال‌های شیشه‌ای، درون انکوباتور در دمای ۳۹ درجه سانتیگراد به مدت ۹۶ ساعت مورد تخمیر قرار گرفتند. مقدار گاز تولیدی در زمان‌های ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۰، ۱۲، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت پس از انکوباسیون ثبت گردید. برای اندازه‌گیری مقدار گاز تولیدی ناشی از تخمیر در درون ویال‌ها از فشارسنج با حساسیت بالا که به یک نمایشگر وصل شده بود استفاده گردید (۹). برای حذف خطای ناشی از گاز تولیدی در اثر عمل میکروارگانیزم‌ها روی مواد خوراکی موجود در مایع شکمبه از نمونه‌های شاهد (بدون اضافه کردن ماده خوراکی و حاوی ۳۰ میلی‌لیتر از مخلوط مایع شکمبه و بزاق مصنوعی) استفاده شد. برای تعیین پارامترهای تخمیر از قبیل عامل تفکیک و بازدهی تولید توده میکروبی، ۳ تکرار در هر تیمار در نظر گرفته شد. محتوای هر بطری به مدت ۲۰ دقیقه در ۱۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد و بقیه جمع‌آوری و خشک شدند. قابلیت هضم ماده خشک (DMD) به وسیله تفاوت وزن اولیه با وزن بعد از انکوباسیون محاسبه شد (۳۱). انرژی قابل متابولیسم با استفاده از معادله منک و استینگس، محاسبه شد

در نهایت برای محاسبه فاکتورهای مذکور از رابطه‌های زیر استفاده شد:

$$ME = 2.20 + 0.136 GP + 0.057 CP + 0.0029 CP$$

میلی لیتر گاز تولید شده / ماده‌ی آلی هضم شده‌ی

واقعی PF:

$$MP \text{ (mg/g DM)} = TDOM \text{ (mg)} - (\text{ml gas} \times 2/2\text{mg/ml})$$

در معادلات فوق، ME انرژی قابل متابولیسم (مگاژول بر کیلوگرم ماده خشک)، CP مقدار پروتئین خام (گرم در ۱۰۰ گرم ماده خشک)، GP نرخ خالص تولید گاز به ازای ۲۰۰ گرم نمونه بعد از ۲۴ ساعت، PF عامل تفکیک (میلی گرم به ازای میلی لیتر)، TDOM ماده آلی واقعا تجزیه شده می‌باشد.

شامل محلول نمکی ۱ ( فسفات هیدروژن دی پتاسیم در لیتر آب مقطر)، مایع شکمه (سانتریفیوژ شده)، عصاره مخمر، پپتون، تریپتیکار، گلوکز، سلوبیوز، بی‌کربنات سدیم، سیستین- هیدروکلریک و رزازورین ۰/۱ درصد برای هر لیتر محیط کشت بود. محیط کشت تحت شرایط بی‌هوازی به داخل شیشه‌های کشت منتقل گردید و سپس به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۱۲۰ درجه سلسیوس اتوکلاو شد. ایزوله‌های قارچ تهیه شده به‌عنوان اینوکولانت در شیشه‌های کشت که محتوی محیط کشت اختصاصی قارچ به همراه نمونه‌های آزمایشی و آنتی‌بیوتیک (پنی‌سیلین، استرپتومایسن، و کلرامفنیکل، هر کدام به مقدار ۰/۱ گرم در لیتر) بودند، کشت داده شدند و برای بدست آوردن محیط کشت خالص سه مرحله عمل کشت تکرار شد. در روزهای ۱، ۳ و ۶ رشد قارچ‌های شکمبه‌ای، ناپدید شدن ماده خشک و نیتروژن آمونیاکی نمونه‌ها توسط قارچ‌ها محاسبه شد (۴۴). این بخش از آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی اجرا گردید. و از مدل آماری زیر برای تجزیه تحلیل داده ها استفاده شد:

زمان‌های مذکور، به منظور تعیین قابلیت هضم ماده خشک و میزان نیتروژن آمونیاکی ۳ تکرار به ازای هر تیمار در نظر گرفته شد. بعد از ثبت pH (pH متر WTW 1110) در هر زمان، از مایع کشت برای تعیین غلظت نیتروژن آمونیاکی نمونه‌گیری شد. سپس، محتوی شیشه‌ها فیلتر شد و بقایا پس از خشک شدن درون آون (ممرت، آلمان، ۹۰ درجه ۲۴ ساعت) توزین شدند. ناپدید شدن ماده خشک، الیاف خام محلول در شوینده خنثی، الیاف خام محلول در شوینده اسیدی، دیواره سلولی قابل هضم و خاکستر توسط باکتری‌ها از تفاوت مقدار اولیه و نهایی محاسبه شد (۳۸).

**هضم در محیط کشت اختصاصی قارچ:** تیمارهای آزمایشی (با اندازه ذرات یک میلی‌متر، ۹ تکرار به ازای هر تیمار) در محیط کشت اختصاصی قارچ‌های شکمبه در دمای ۳۹ درجه سلسیوس به مدت ۱، ۳ و ۶ روز کشت داده شدند. در پایان هر یک از زمان‌های مذکور، به منظور تعیین قابلیت هضم ماده خشک و غلظت نیتروژن آمونیاکی ۳ تکرار به ازای هر تیمار در نظر گرفته شد. محیط کشت قارچ‌های شکمبه

جدول ۲: آنالیز ترکیبات شیمیایی گیاه خرفه مورد استفاده

Table 2. Analysis of the chemical composition of the *purslane* plant used

علوفه بونجه Fodder Alfalfa	گیاه کامل خرفه Complete plant purslane	ترکیب شیمیایی Chemical composition
95.32	7.43	ماده خشک (درصد) (Dry matter(%))
9.93	25.23	خاکستر (درصد ماده خشک)(Ash(%))
90.07	74.77	ماده آلی (درصد) (%)
17	22.26	پروتئین خام (درصد ماده خشک) (Crude protein(%))
1.76	7.86	چربی (درصد ماده خشک)
45.53	50.62	فیبر نامحلول در شوینده خنثی (Neutral detergent fiber (%))
32.41	5.43	فیبر نامحلول در شوینده اسیدی ( Acid detergent fiber (%))
2.45	2.52	متابولیسم قابل انرژی (ME (Mcal/Kg))

بیشتری مواد مغذی برای میکروارگانیسم‌های شکمبه می‌باشد (۳۲). افزایش تولید گاز می‌تواند به اثر منفی محدود متابولیت‌های ثانویه، به ویژه فلاونوئیدها، در عصاره‌های مورد مطالعه نسبت داده شود. این متابولیت‌ها به دلیل مقدار کم یا متوسط آنها، و یا توانایی میکروارگانیسم‌های شکمبه به منظور استفاده از آنها به عنوان منبع انرژی ممکن است اثرات مثبتی بر تخمیر شکمبه داشته باشند (۴۸). نشان داده شده است که عصاره اتانولی خرفه غنی از فلاونوئیدهایی مانند لوتئولین و کورستین بوده، که باعث افزایش تولید گاز و اسیدهای چرب کوتاه زنجیر در محیط شکمبه می‌شوند (۴۳). عامل تفکیک در تیمارهای شاهد، ۵۰ درصد و ۷۵ درصد خرفه جایگزین با یونجه به طور معنی‌داری نسبت به سایر تیمارها بالاتر بود. عامل تفکیک، شاخصی از بازده تخمیر است. بنابراین، ارزش بالای عامل تفکیک، نشان دهنده یکپارچگی بیشتر مواد آلی تخریب شده در توده میکروبی می‌باشد که باعث افزایش کارایی سنتز میکروبی می‌شود (۲۹). زمانی که عامل تفکیک بالاتر باشد، گاز کمتری تولید می‌شود و سوبسترای بیشتر برای تولید اسیدهای چرب فرار یا تولید توده‌های میکروبی استفاده می‌شود (۸). این نتایج می‌تواند نشان دهد که گیاه خرفه دارای ارزش غذایی بالقوه است که می‌تواند سنتز میکروبی را افزایش دهد.

در بین جیره‌های آزمایشی بیشترین پتانسیل تولید گاز مربوط به جیره ۱۰۰ درصد جایگزینی خرفه بجای یونجه و کمترین پتانسیل تولید گاز مربوط به جیره شاهد بود. در جیره‌های حاوی ۱۰۰ درصد گیاه خرفه جایگزین شده با یونجه شاهد بیشترین نرخ تولید گاز و جیره‌های حاوی سطوح ۵۰ درصد خرفه جایگزین شده با یونجه کمترین میزان نرخ تولید گاز را داشتند. اما نرخ تولید گاز در هیچ کدام از جیره‌ها اختلاف معنی‌داری نداشت آدرینسی و همکاران

نتایج این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تیمار و ۷ تکرار با نرم افزار آماری SAS (۲۰۰۴) نسخه ۹/۴ استفاده از رویه GLM مورد تجزیه تحلیل آماری قرار گرفتند. مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون چند دامنه‌ای دانکن (۱۹۵۵) در سطح احتمال ۰/۰۵ درصد انجام گرفت (۱۵ و ۴۷).

### نتایج و بحث

**فراسنجه‌های تولید گاز:** نتایج مربوط به اثر افزودن سطوح مختلف خرفه جایگزین شده با یونجه بر مقدار تجمعی گاز تولیدی، بخش نامحلول اما قابل تخمیر (b)، ثابت نرخ تولید گاز (c)، گوارش‌پذیری ماده آلی، انرژی قابل متابولیسم، عامل تفکیک، پروتئین خام میکروبی و بازدهی تولید بیوماس میکروبی در جدول ۳ آورده شده است. تمام سطوح جیره‌های حاوی گیاه خرفه جایگزین شده با یونجه، تولید گاز بیشتری از شاهد داشتند. با جایگزینی گیاه یونجه با خرفه در جیره برای سطوح ۲۵، ۵۰، و ۱۰۰ درصد پتانسیل تولید گاز نسبت به شاهد به طور معنی‌داری افزایش یافت ( $P < 0/05$ ). اختلاف معنی‌داری در جیره‌های حاوی ۷۵ درصد گیاه خرفه جایگزین شده با یونجه نسبت به جیره شاهد مشاهده نشد و تنها از نظر عددی بیشتر از شاهد بودند. دخیل و همکاران (۲۰۱۲) در پژوهشی با عصاره‌های آبی و اتانولی خرفه بیان کردند که تفاوت معنی‌داری ( $P < 0/05$ ) بین کل تولید گاز در تیمار عصاره آبی (۶۶/۹۷ میلی لیتر) و عصاره اتانولی (۶۵/۳۲ میلی لیتر) وجود داشت و مشخص گردید که عصاره آبی و اتانولی می‌توانند تولید گاز میکروارگانیسم‌های شکمبه را افزایش دهند (۱۷). تولید گاز در طی انکوباسیون درون آزمایشگاهی به طور کلی نشانگر خوبی از تجزیه‌پذیری در شکمبه و فعالیت میکروبی است. مقادیر بالاتر تولید گاز نشانگر فراهم بودن مقادیر

وجود دارد (۲۱). بررسی گونه‌های با پروتئین خام بالا و محتوای دیواره سلولی پایتتر، شرایط بالقوه‌ای برای تولید گاز و همچنین قابلیت هضم ماده خشک در محیط آزمایشگاهی را ایجاد می‌کنند (۱).

جدول ۳: فراسنج‌های تولید گاز در جیره‌های حاوی سطوح مختلف خرفه پس از ۱۲۰ ساعت انکوباسیون

**Table 3. Gas production parameters in diets containing different levels of purslane after 120 hours of incubation**

پارامترهای تولید گاز (پس از ۱۲۰ ساعت انکوباسیون)

Gas production parameters (after 120 hours of incubation)

EMBP <sup>8</sup>	MCP <sup>7</sup>	PF <sup>6</sup>	ME <sup>5</sup>	OMD <sup>4</sup>	C <sup>3</sup>	b <sup>2</sup>	GP <sup>1</sup>	تیمار Treatment
0.76	67 <sup>b</sup>	4.67 <sup>a</sup>	2.33 <sup>c</sup>	104 <sup>a</sup>	0.036	20.32 <sup>b</sup>	22.20 <sup>b</sup>	شاهد (Control)
0.70	66.50 <sup>b</sup>	3.72 <sup>b</sup>	2.62 <sup>b</sup>	94.50 <sup>b</sup>	0.031	24.32 <sup>a</sup>	25.50 <sup>a</sup>	۲۵ درصد خرفه (25%)Purslane)
0.74	77.20 <sup>a</sup>	4.30 <sup>a</sup>	2.72 <sup>a</sup>	104 <sup>a</sup>	0.029	23.55 <sup>a</sup>	24.10 <sup>ab</sup>	۵۰ درصد خرفه (50%)Purslane)
0.75	78.50 <sup>a</sup>	4.45 <sup>a</sup>	2.61 <sup>b</sup>	104 <sup>a</sup>	0.037	22.90 <sup>a</sup>	23.40 <sup>b</sup>	۷۵ درصد خرفه (75%)Purslane)
0.70	79.10 <sup>a</sup>	3.70 <sup>b</sup>	2.58 <sup>b</sup>	95.30 <sup>b</sup>	0.032	24.48 <sup>a</sup>	25.80 <sup>a</sup>	۱۰۰ درصد خرفه (100%)Purslane)
0.012	0.64	0.16	0.02	0.52	0.001	0.35	0.57	SEM
0.01	0.001	0.006	0.0001	0.001	0.21	0.0001	0.008	P-VALUE

<sup>۱</sup> مقدار تجمعی گاز تولیدی (میلی لیتر به ازای گرم ماده خشک) <sup>۲</sup> پتانسیل تولید گاز از بخش قابل تخمیر (میلی لیتر)، <sup>۳</sup> نرخ تولید گاز (بر حسب میلی لیتر بر ساعت) <sup>۴</sup> گوارش پذیری ماده آلی (درصد ماده خشک) <sup>۵</sup> انرژی قابل متابولیسم (مگا کالری در کیلوگرم ماده خشک) <sup>۶</sup> شاخص بخش پذیری (میلی گرم به ازای میلی لیتر) <sup>۷</sup> پروتئین خام میکروبی <sup>۸</sup> تولید توده میکروبی و بازده آن (میلی گرم به ازای میلی گرم)

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها میانگین‌ها در داخل یک ستون با حروف نامشابه اختلاف معنی دار دارند (P < ۰/۰۵)

<sup>abc</sup> Means in the same column different superscripts differ (P < 0.05).

میکروارگانیزم‌های شکمبه به پروتئین غذایی را کاهش دهند، بلکه ممکن است به طور مستقیم باکتری‌های پروتئولیتیک یا فعالیت آنزیمی آنها را مهار کنند (۴۲). این امر ممکن است موجب کاهش تجزیه پروتئین و در نتیجه کاهش غلظت آمونیاک در مایع شکمبه شود (۵۵). به نظر می‌رسد گیاه خرفه با دارا بودن ترکیبات فنلی فعال بر میزان پروتئین میکروبی شکمبه اثر مثبت دارند.

تولید گاز منعکس کننده تفاوت در ترکیب شیمیایی مواد خوراکی می‌باشد و در پیش‌بینی ارزش غذایی خوراک کاربرد دارد (۵). گازهایی که در ۳ ساعت اول انکوباسیون تولید می‌شوند، با اجزای محلول تخمیر مطابقت دارند. وقتی که زمان

بیشترین میزان پروتئین خام میکروبی در تیمارهای ۵۰ درصد، ۷۵ درصد و ۱۰۰ درصد مشاهده گردید و با سایر تیمارها اختلاف معنی داری نشان دادند. مقدار پروتئین خام میکروبی شاخص مهمی برای ارزیابی تخمیر شکمبه است. دخیل و همکاران (۲۰۱۱) نشان دادند هنگامی که مقدار pH از ۶٫۷۹ (شاهد) به ۶٫۴۷ (عصاره اتانول) کاهش یافت، رشد میکروب‌های بزرگ شکمبه بیشتر شده، تعداد و متابولیسم میکروب‌ها احتمالاً افزایش می‌یابد (۱۷). با توجه به مطالبی که بالا اشاره شد، مقدار پروتئین خام میکروبی با افزودن عصاره خرفه به طور معنی داری افزایش می‌یابد. نشان داده شده است که ترکیبات فنلی نه تنها می‌توانند با تشکیل کمپلکس‌هایی میزان دسترسی



تحت تأثیر عواملی مانند سازوکارهای مختلف، تفاوت در پروتکل آزمایشی، ویژگی‌های خوراکی و محیط تخمیر که موجب تغییر در آزادسازی گاز تولیدی می‌شوند، قرار دارد (۲۹ و ۵۸).

**کشت باکتری و قارچ:** بر اساس نتایج تحقیق حاضر، جایگزینی یونجه در سطوح ۵۰ درصد با گیاه خرفه سبب افزایش قابلیت هضم الیاف خام محلول در شوینده خنثی در جیره‌های آزمایشی انکوبه شده با قارچ‌ها و باکتری‌های بی‌هوازی شد (جدول ۴ و ۵). همچنین مقادیر ماده خشک قابلیت هضم در تیمار ۲۵ درصد خرفه به طور معنی‌داری در هر دو محیط کشت باکتری و قارچ افزایش نشان داد. دیگر عوامل قابلیت هضم در جیره‌های آزمایشی انکوبه شده با باکتری و قارچ‌های بی‌هوازی تحت تأثیر سطوح مختلف خرفه قرار نگرفتند (جدول ۴ و ۵). مطالعات نشان دادند که رژیم‌های غذایی حاوی فلاونوئیدها با اثر بر سیستم نورواندوکروینی از طریق افزایش تستوسترون، فاکتور رشد شبه انسولین (IGF-1) و سطح کلسیم سرم، متابولیسم دام را تحت تأثیر قرار داده و هضم ظاهری ماده خشک، الیاف خام محلول در شوینده خنثی و الیاف خام محلول در شوینده اسیدی را بهبود می‌دهند (۲۲ و ۱۱). از دیگر مکانیسم‌های تأثیر فلاونوئیدهای رژیم غذایی می‌توان به موارد زیر اشاره کرد: ۱. افزایش ترشح بزاق منجر به افزایش پپتیدهای فعال زیستی می‌شود و در نتیجه باعث بهبود هضم و جذب مواد مغذی می‌شود. پلی‌فنول‌ها بسترهای مناسبی برای آنزیم‌های مختلف از جمله آنزیم‌های هیدرولیز کننده و مزدوج هستند و در روده کوچک و روده بزرگ قرار دارند. بنابراین، ممکن است با مشارکت در سنتز آنزیم‌های خاصی در روده کوچک گوسفند، قابلیت هضم مواد مغذی را بهبود بخشد.

انکوباسیون افزایش می‌یابد، حجم گاز تولید شده توسط اثر تخمیر ساختاری کربوهیدرات‌های ساختار سوبسترا افزایش می‌یابد (۱۰). سامارت و همکاران (۲۰۰۰) بیان کردند که، با توجه به اینکه حجم گاز تولیدی یک پارامتر خوب برای پیشگویی قابلیت هضم یه وسیله میکروارگانیزم‌های شکمبه در سیستم داخل آزمایشگاهی می‌باشد، گرچه تولید گاز محصول تغذیه‌ای بی‌فایده محسوب می‌شود اما مبنای مفیدی جهت پیش‌بینی انرژی قابل متابولیسم، گوارش‌پذیری ماده آلی و اسیدهای چرب کوتاه زنجیر ارائه می‌دهد (۵۶). آکینفمی و اوگانونول (۲۰۱۲) گزارش کردند که در مدت زمان ۹ و ۱۲ ساعت انکوباسیون، تولید گاز، به علت انباشت محصولات واکنش غیرمستقیم بین بافر و اسید پروپیونیک، افزایش می‌یابد و تولید گاز از تخمیر کربوهیدرات‌های سریع‌التخمیر به سرعت افزایش می‌یابد (۲ و ۳). گزارش شده است که قابلیت هضم در روش تولید گاز درون آزمایشگاهی، همبستگی مثبتی بین تولید گاز و هضم ماده خشک وجود دارد (۱). گرچه تولید گاز، اساساً نتیجه تخمیر خوراک در شکمبه می‌باشد، به نظر می‌رسد همانند کاهش انرژی خوراکی در اثر تولید گاز، بتواند برای پیش‌بینی ارزش گوارش‌پذیری ماده آلی و انرژی قابل متابولیسم از خوراک مورد استفاده قرار گیرد. بنابراین، افزایش تولید گاز به علت افزایش فعالیت میکروارگانیزم‌های شکمبه باعث افزایش هر دو مقدار گوارش‌پذیری ماده آلی و انرژی قابل متابولیسم می‌شود (۵۱). نیتپورت و سامارت (۲۰۰۳) بیان داشتند که همبستگی مثبتی بین گوارش‌پذیری ماده آلی در محیط آزمایشگاهی و حجم گاز آزاد شده در هنگام تخمیر وجود دارد (۳۹ و ۵۶). ماکار (۲۰۰۴) در مطالعه‌ای بیان کرد که اگر چه انتظار می‌رود که همبستگی خوبی بین مقدار ماده ارگانیک قابل هضم و تولید گاز وجود داشته باشد، این میزان همبستگی

جدول ۴: درصد قابلیت هضم ماده خشک، NDF، ADF، جیره‌های آزمایشی انکوبه شده با باکتری‌های بی‌هوازی استخراج شده از مانع شکمبه برهه‌های تغذیه شده با جیره‌های حاوی مقادیر مختلف خرفه

Table 4. Digestibility values of dry matter, NDF, ADF diets incubated with anaerobic bacteria extracted from rumen of lambs fed diets containing different amounts of purslane

تیمار Treatment	روز اول First day			روز دوم Second day			روز سوم Third day			مجموع Total		
	DMD	NDF	ADF	DMD	NDF	ADF	DMD	NDF	ADF	DMD	NDF	ADF
شاهد (Control)	53	64.80 <sup>b</sup>	28.72 <sup>c</sup>	58 <sup>a</sup>	69.92	29.57 <sup>b</sup>	60	55.78	36.48	57 <sup>a</sup>	63.50 <sup>b</sup>	31.59
۲۵ درصد خرفه (25% purslane)	53	64.15 <sup>c</sup>	30.70 <sup>b</sup>	62 <sup>a</sup>	67.95	31.75 <sup>b</sup>	61	59.88	35.85	59 <sup>a</sup>	63.99 <sup>b</sup>	32.76
۵۰ درصد خرفه (50% purslane)	49	71.05 <sup>a</sup>	31.80 <sup>a</sup>	45 <sup>b</sup>	73.85	32.80 <sup>a</sup>	56	68.78	36.48	50 <sup>b</sup>	71.22 <sup>a</sup>	33.36
SEM	0.02	0.13	0.30	0.02	0.020	2.15	0.01	3.67	0.71	0.01	1.08	0.88
P-Value	0.40	0.0001	0.001	0.002	0.001	0.58	0.14	0.10	0.63	0.003	0.004	0.41

میانگین‌ها در داخل یک ستون با حروف نامشابه اختلاف معنی‌دار دارند (P < ۰/۰۵) خطای استاندارد میانگین‌ها

جدول ۵: مقادیر قابلیت هضم ماده خشک، NDF، ADF، جیره‌های آزمایشی انکوبه شده با قارچ‌های بی‌هوازی استخراج شده از مانع شکمبه برهه‌های تغذیه شده با جیره‌های حاوی مقادیر مختلف خرفه

Table 5. Digestibility values of dry matter, NDF, ADF diets incubated with anaerobic fungus extracted from rumen of lambs fed diets containing different amounts of purslane

تیمار Treatment	روز اول First day			روز سوم Third day			روز ششم Sixth day			مجموع Total		
	DMD	NDF	ADF	DMD	NDF	ADF	DMD	NDF	ADF	DMD	NDF	ADF
شاهد (Control)	34 <sup>b</sup>	71.60 <sup>a</sup>	27.97	56	47.27 <sup>b</sup>	38.35	60	46.10 <sup>a</sup>	43.42 <sup>a</sup>	50 <sup>b</sup>	54.90 <sup>b</sup>	36.58
۲۵ درصد خرفه (25% purslane)	44 <sup>a</sup>	67.25 <sup>b</sup>	26.51	61	52.08 <sup>a</sup>	40.71	69	43.06 <sup>b</sup>	37.91 <sup>b</sup>	58 <sup>a</sup>	54.63 <sup>b</sup>	35.05
۵۰ درصد خرفه (50% purslane)	35 <sup>b</sup>	70.88 <sup>a</sup>	25.80	57	51.75 <sup>a</sup>	36.41	60	45.75 <sup>a</sup>	41.15 <sup>a</sup>	50 <sup>b</sup>	56.40 <sup>a</sup>	34.45
SEM	0.01	0.26	1.36	0.02	0.26	1.20	0.002	0.21	0.87	0.008	0.32	0.83
P-Value	0.001	0.002	0.55	0.34	0.003	0.11	0.10	0.003	0.01	0.001	0.017	0.25

میانگین‌ها در داخل یک ستون با حروف نامشابه اختلاف معنی‌دار دارند (P < ۰/۰۵) خطای استاندارد میانگین‌ها

آزمایشگاهی به عنوان شاخصی از تجزیه‌پذیری پروتئین عمل می‌کند زیرا بر خلاف محیط داخل شکمبه هیچ جذب یا بازیافت نیتروژن وجود ندارد (۱۵). دامنه مطلوب نیتروژن آمونیاکی شکمبه برای تخمیر و رشد میکروبی شکمبه بین ۱۲ تا ۱۷ میلی‌لیتر گزارش شده است (۴). دیگر مطالعات نشان داد که کاهش میزان نیتروژن آمونیاکی که میکروارگانیسم‌های شکمبه و پروتئین غذایی را تحت الشعاع قرار می‌دهد، احتمالاً مهار شده و این امر موجب افزایش پروتئین غذایی در شکمبه می‌شود (۱۷). لینگ (۱۹۸۴) نشان داد که غلظت نیتروژن آمونیاکی به طور مستقیم بر تولید پروتئین میکروبی تأثیر می‌گذارد. علاوه بر این، آمونیاک آزاد شده توسط تخریب میکروبی پروتئین‌ها و نیتروژن ترکیبات غیر پروتئینی می‌تواند توسط میکروب‌ها مورد استفاده قرار گیرد و تبدیل به پروتئین میکروبی شود که منبع اسید آمینه خوراک برای حیوان است (۲۷ و ۱۷). الساید (۲۰۱۱) گزارش کرده است که نیتروژن آمونیاکی شکمبه برای سنتز پروتئین میکروبی استفاده نمی‌شود و احتمالاً از طریق ادرار دفع می‌شود و باعث از بین رفتن تولید خالص حیوان و همچنین آلودگی محیط زیست می‌شود. مطالعات سایر محققین نشان داد که بهبود کارایی جذب میکروبی آمونیاک در شکمبه با افزودن عصاره خرفه موجب کاهش دفع نیتروژن از طریق ادرار و متعاقب آن کاهش انتشار گازهای گلخانه‌ای از شکمبه می‌شود (۱۹).

pH یک متغیر مهم برای نشان دادن وضعیت شکمبه است. که باعث تنظیم رابطه بین میکروارگانیسم‌ها با سوبسترای شکمبه می‌شود. مقادیر نزدیک به pH خنثی باعث افزایش چسبندگی باکتری‌ها به فیبر می‌شود (۱۴). هرچه میزان تخمیر افزایش یابد محصولات حاصل از آن یعنی اسیدهای چرب فرار نیز افزایش یافته و باعث کاهش pH

۲. تغییر در تخمیر شکمبه. میکروارگانیسم‌های متنوعی در شکمبه وجود دارد که می‌تواند فلور دستگاه گوارش را تغییر داده و به نوبه خود باعث بهبود هضم و سوخت و ساز مواد مغذی شود (۲۲). به نظر می‌رسد شاید ترکیبات فنلی گیاه خرفه از جمله فلاونوئیدها باعث افزایش قابلیت هضم و بهبود فراسنجه‌های هضمی در جیره‌های انکوبه شده با باکتری‌های بی‌هوازی شده باشد. ژان و همکاران (۲۰۱۷) در مطالعه‌ای با افزودن عصاره فلاونوئیدی یونجه به جیره گاوهای شیری نشان دادند که فلاونوئیدها می‌توانند هضم و استفاده از مواد مغذی را تحت تأثیر قرار دهند؛ با این حال، فلاونوئیدها از گیاهان مختلف و در غلظت‌های مختلف اثرات متفاوتی را دارند. آنها بیان داشتند که فلاونوئیدها با مهار کردن رشد باکتری‌ها می‌توانند بر جمعیت میکروبی و فلورای شکمبه تأثیر گذار بوده و به طبع آن باعث تغییرات در میزان هضم‌پذیری شکمبه گردند (۲۲). تفاوت معنی‌داری در بین نیتروژن آمونیاکی و pH جیره‌های آزمایشی انکوبه شده با قارچ‌های بی‌هوازی و همچنین جیره‌های آزمایشی انکوبه شده با باکتری‌های بی‌هوازی مشاهده نشد (جدول ۷ و ۶). در مطالعه‌ای نشان داده شده است که مقادیر نیتروژن آمونیاکی با تیمارهای مونسین (۷,۱۸ میلی‌گرم / ۱۰۰ میلی‌لیتر)، تیمار عصاره آبی خرفه (۴,۷۵ میلی‌گرم / ۱۰۰ میلی‌لیتر) و تیمار عصاره اتانولی خرفه (۴,۵۹ میلی‌گرم / ۱۰۰ میلی‌لیتر) به طور معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد کاهش یافت ( $P < 0/05$ ). همچنین، غلظت نیتروژن آمونیاکی عصاره آبی و عصاره اتانولی خرفه به طور معنی‌داری ( $P < 0/05$ ) به تیمار مونسین کمتر بود اما غلظت آن در هر دو تیمار عصاره اتانولی و آبی مشابه بوده و تفاوت معنی‌داری نشان ندادند. غلظت نیتروژن آمونیاکی در محیط شکمبه وابسته به میزان pH است (۱۷). غلظت نیتروژن آمونیاکی درون

توسط میکروارگانیزم‌های شکمبه یک روش ناکارآمد برای تولید پروتئین قابل متابولیسم برای میزبان محسوب می‌شود و ممکن است تا حدودی توسط توانایی ترکیبات فنلی مهار شود (۳۴). نشان داده شده است که عصاره گیاهی حاوی ترکیبات فنولی ممکن است باعث کاهش غلظت آمونیاک به علت اثر مهارى بر باکتری‌های تولید کننده آمونیاک شود (۴۹). این گروه باکتریایی، علیرغم حضور به تعداد کم در شکمبه، مسئول بیش از ۵۰ درصد از دامینوزاسیون است (۴۶). این فرضیه با نتایج گزارش شده توسط سانتانا و همکاران (۲۰۱۲) تقویت می‌شود (۵۰). آنها مشاهده کرده اند که عصاره اتانولی اکالیپتوس به عنوان یک گیاه غنی از ترکیبات فنولی از جمله فلاونوئیدها، در تخمیر شکمبه، باعث کاهش تخریب نیتروژن، بدون تأثیر بر میزان pH می‌شود. همچنین نشان داده شده است که اضافه کردن بره موم به عنوان یک منبع غنی از ترکیبات فنولی تولید آمونیاک را در شرایط آزمایشگاهی کاهش می‌دهد (۴۳). اختلاف معنی‌داری بین میزان پروتئین خام در بین تیمارهای مختلف جیره‌های انکوبه شده با باکتری و قارچ‌های بی‌هوازی مشاهده نشد (جدول ۸ و ۹). همچنین افزایش معنی‌داری در میزان ماده خشک در تیمار ۲۵ درصد خرفه در هر دو محیط کشت باکتری و قارچ مشاهده شد. بالاترین میزان خاکستر مربوط به تیمارهای ۲۵ درصد در محیط کشت باکتری و ۵۰ درصد خرفه در محیط کشت قارچ بود (جدول ۸ و ۹). لاربری و همکاران (۲۰۱۱) بیان نمودند که تغییرات پروتئین خام و محتوای دیواره سلولی احتمالاً ناشی از تفاوت در نسبت برگ و شاخه‌های خوراک است (۲۶). دخیل و همکاران (۲۰۱۲) در مطالعاتی بر روی انکوباسیون گیاه خرفه در شرایط آزمایشگاهی گزارش دادند که، با افزودن عصاره گیاه خرفه میزان پروتئین میکروبی افزایش یافت (۱۷). مقدار پروتئین

شکمبه می‌گردند. در نتیجه، pH شکمبه شاخصی از میزان تخمیر شکمبه‌ای است (۵۵). دوزهای خوراکی و داخل صفاق هر دو عصاره آبی و اتانولی خرفه، باعث افزایش pH معدی در موش‌های مبتلا به پیلوروس می‌شوند (۲۵). هنگامی که مقدار pH در شکمبه کاهش می‌یابد، در محیط اسیدی، آمونیاک آزاد شده به یون‌های آمونیوم تبدیل می‌شود، بنابراین در مقدار pH پایین‌تر در شکمبه، بیشتر آمونیاک به یون آمونیوم تبدیل می‌شود. دونگشنگ و همکاران (۲۰۱۳) در کار تحقیقاتی خود نشان دادند که عصاره اتانولی خرفه حاوی فلاونوئیدهای بالا، در تخمیر شکمبه‌ای در آزمایشگاه می‌تواند تولید گاز، پروتئین خام میکروبی، اسیدهای چرب فرار شکمبه و تعداد میکروارگانیزم‌ها را افزایش دهد، همچنین مقدار pH، غلظت نیتروژن آمونیاکی و انتشار متان را کاهش داده، متانوزن‌ها و پروتوزن‌ها را مهار کرده که این امر باعث افزایش میزان تخمیر می‌شود. همچنین نشان دادند که عصاره اتانولی در مقایسه با مونسین و عصاره آبی بیشترین تأثیر را بر کاهش تولید متان و بهینه‌سازی تخمیر شکمبه دارد. بدیهی است که مقدار pH در شکمبه تحت تأثیر عواملی همچون میزان بزاق، اسیدهای ارگانیک، اجزای مواد خوراکی و غیره قرار دارد، در حالی که این عوامل در آزمایش تست گاز می‌تواند شرایط متفاوتی از تخمیر را نشان دهد (۱۶). هارت (۱۹۸۷) گزارش داد که غلظت نیتروژن آمونیاکی مطلوب برای رشد میکروارگانیزم‌های شکمبه ۲۷/۵ ~ ۶/۳ میلی گرم در ۱۰۰ میلی لیتر می‌باشد، ولی در پژوهش حاضر، نتایج حاصل از جایگزینی یونجه با خرفه بیش از این دامنه بود (۲۳). در شرایط تغذیه‌ای نرمال، مقدار زیادی از پروتئین غذایی از طریق استخر آمونیاک عبور می‌کند قبل از اینکه برای سنتز پروتئین‌های میکروبی در شکمبه استفاده شود (۲۴). تجزیه بیش از حد پروتئین‌های جیره به آمونیاک

ماده غذایی به میزان قابل توجهی باعث کاهش میزان آزاد شدن گاز می شود (۱۳).

جدول ۶: مقادیر pH و نیتروژن آمونیاکی جیره های آزمایشی انکوبه شده با باکتری های بی هوازی استخراج شده از مایع شکمبه بره های تغذیه شده با جیره های حاوی مقادیر مختلف خرفه

**Table 6: pH and ammonia nitrogen values of experimental diets incubated with anaerobic bacteria extracted from rumen fluid of lambs fed diets containing different levels of purslane**

مجموع Total		روز سوم Third day		روز دوم Second day		روز اول First day		تیمار Treatment
NH3-N	pH	NH3-N	pH	NH3-N mg/100 ml	pH	NH3-N <sup>1</sup>	pH	
6.41	6.33	6.05	6.16	6.42	6.33	6.76	6.50	شاهد (Control)
6.75	6.32	6.60	6.23	6.85	6.33	6.79	6.40	۲۵ درصد خرفه (25%)Purslane)
7.17	6.41	6.79	6.23	7.31	6.46	7.42	6.53	۵۰ درصد خرفه (50%)Purslane)
0.25	0.50	0.24	0.06	0.34	0.05	0.46	0.05	SEM
0.19	0.18	0.17	0.72	0.26	0.24	0.56	0.53	P-Value

<sup>1</sup> نیتروژن آمونیاکی میلی گرم در ۱۰۰ میلی لیتر

SEM: خطای استاندارد میانگین ها میانگین ها در داخل یک ستون با حروف نامشابه اختلاف معنی دار دارند (P<0.05)

<sup>abc</sup> Means in the same column different superscripts differ (P<0.05).

جدول ۷: مقادیر pH و نیتروژن آمونیاکی جیره های آزمایشی انکوبه شده با باکتری های بی هوازی استخراج شده از مایع شکمبه بره های تغذیه شده با جیره های حاوی مقادیر مختلف خرفه

**Table 7. pH and ammonia nitrogen values of experimental diets incubated with anaerobic bacteria extracted from rumen fluid of lambs fed diets containing different amounts of purslane**

مجموع Total		روز ششم Sixth day		روز سوم Third day		روز اول First day		تیمار Treatment
NH3-N	pH	NH3-N	pH	NH3-N	pH	NH3-N <sup>1</sup>	pH	
7.05	6.60	6.28	6.10	6.95	6.60	7.93	7.10	شاهد (Control)
7.17	6.90	6.87	7.20	7.17	6.70	7.49	6.70	۲۵ درصد خرفه (25%)Purslane)
7.35	6.33	7.08	5.90	7.34	6.40	7.63	6.50	۵۰ درصد خرفه (50%)Purslane)
0.20	0.50	0.23	0.41	0.25	0.07	0.31	0.20	SEM
0.61	0.20	0.12	0.13	0.58	0.18	0.62	0.21	P-Value

<sup>1</sup> نیتروژن آمونیاکی میلی گرم در ۱۰۰ میلی لیتر

SEM: خطای استاندارد میانگین ها میانگین ها در داخل یک ستون با حروف نامشابه اختلاف معنی دار دارند (P<0.05)

<sup>abc</sup> Means in the same column different superscripts differ (P<0.05)

و همچنین جیره‌های آزمایشی انکوبه شده با باکتری‌های بی‌هوازی مشاهده نشد (جدول ۱۰ و ۱۱). سرادج و همکاران (۲۰۱۴) نشان دادند که افزودن هر یک از اجزای فلاونوئیدی به محیط کشت باعث کاهش تولید گاز جمع می‌شود. همچنین بیان کردند که فعالیت مختلف و نتایج مختلف ناشی از افزودن فلاونوئیدها به ساختارهای آنها به تخمیر میکروبی شکمبه بستگی دارد (۵۳). در محیط آزمایشگاهی گزارش شده است که در عصاره اتانولی خرفه هفت نوع فلاونوئید مختلف وجود دارد (۶۱). بنابراین افزودن مواد غذایی حاوی فلاونوئیدها می‌تواند به طور خاص اکوسیستم میکروبی شکمبه را تغییر داده و کارایی رشد میکروبی را بهبود بخشد (۵۳).

مطالعات تجزیه پذیری در روش تحریک شکمبه نشان داد که تقریباً نیمی از ماده خشک گیاه خرفه محلول و تجزیه پذیر است، در حالیکه ۶۹/۹ درصد از نیتروژن آن نامحلول اما تجزیه پذیر است (۸). میزان نیتروژن قابل تجزیه و قابل هضم و همچنین میزان نیتروژن قابل هضم و غیر قابل تجزیه به ترتیب ۱/۲ درصد و ۱/۴ درصد بود که مقدار کل نیتروژن قابل جذب ۲/۵ درصد بود (۵۱). در مطالعه‌ای، افزودن ماده معدنی قابل هضم به میزان ۱۴/۹ درصد و فسفر به میزان ۰/۲ درصد به عنوان یک راهکار برای بهره‌برداری کامل از ارزش غذایی بالقوه خرفه به عنوان علوفه، پیشنهاد شده است (۸). تفاوت معنی‌داری در بین فراسنجه‌های تولید گاز جیره‌های آزمایشی انکوبه شده با قارچ‌های بی‌هوازی

جدول ۱۰: فراسنجه‌های تولید گاز در جیره‌های آزمایشی انکوبه‌شده با باکتری‌های بی‌هوازی استخراج شده از مایع شکمبه بره‌های تغذیه شده با جیره‌های حاوی مقادیر مختلف خرفه

Table 10. Gas production parameters in diets incubated with anaerobic bacteria extracted from rumen fluid fed lambs with different amounts of purslane

میانگین	۷۲ ساعت	۴۸ ساعت	۲۴ ساعت	تیمار
Average	72 hour	48 hour	24 hour	Treatment
14.17	21.42	14	7.1	شاهد (Control)
11.59	18.16	11.35	5.27	۲۵ درصد خرفه (25%)Purslane)
13.95	20.94	13.87	7.03	۵۰ درصد خرفه (50%)Purslane)
0.77	1.07	0.77	0.56	SEM
0.10	0.14	0.08	0.10	P-Value

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها میانگین‌ها در داخل یک ستون با حروف نامشابه اختلاف معنی‌دار دارند ( $P < 0.05$ )  
<sup>abc</sup> Means in the same column different superscripts differ ( $P < 0.05$ )

ثانویه خاص می‌تواند بسته به ساختار شیمیایی و دوز آنها متفاوت باشد (۱۲). ترکیبات فنلی، انتقال پروتئین از شکمبه را تسهیل کرده و با شکستن پیوند پروتئین تانن در روده کوچک، در دسترس بودن پروتئین‌ها را افزایش می‌دهند (۳۳).

شواهدی وجود دارد که مواد خوراکی درشت مغذی مانند پروتئین خام و فیبر می‌توانند با ترکیبات فعال زیستی (مانند فلاونوئیدها) ارتباط برقرار کنند و آنها را به صورت فیزیکی برای میکروارگانیسم‌های شکمبه در دسترس قرار دهند. با این حال، اثرات ترکیبات

جدول ۱۱: فراسنجه‌های تولید گاز در جیره‌های آزمایشی انکوبه‌شده با قارچ‌های بی‌هوازی استخراج شده از مایع شکمبه بره‌های

تغذیه شده با جیره‌های حاوی مقادیر مختلف خرفه

Table 11. Gas production parameters in experimental diets incubated with anaerobic fungi extracted from rumen of lambs fed diets containing different amounts of purslane

مجموع Total	روز ششم Sixth day	روز سوم Third day	روز اول First day	تیمار Treatment
8.69	13.33	8.70	4.03	شاهد (Control)
7.49	11.56	7.40	3.50	۲۵ درصد خرفه (25%)Purslane)
10.30	15.05	10.43	5.41	۵۰ درصد خرفه (50%)Purslane)
1.27	1.98	1.29	0.62	SEM
0.35	0.50	0.32	0.16	P-Value

SEM:: خطای استاندارد میانگین‌ها میانگین‌ها در داخل یک ستون با حروف نامشابه اختلاف معنی‌دار دارند ( $P < 0.05$ )abc Means in the same column different superscripts differ ( $P < 0.05$ )

## تشکر و قدردانی

از مسئولین محترم دانشگاه زابل و دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان برای فراهم آوردن زمینه انجام آزمایش سپاسگزاری می‌شود.

## نتیجه‌گیری

بطور کلی، نتایج این آزمایش نشان داد که به کارگیری گیاه خرفه در تغذیه نشخوارکنندگان به طور بالقوه قادر به دستکاری فعالیت‌های تخمیری شکمبه می‌باشد و می‌تواند به عنوان عاملی مؤثر در تغییرات محیط و جمعیت میکروبی شکمبه مورد استفاده قرار گیرد.

## منابع

- Aderinboye, R.Y., Akinlolu, A.O., Adeleke, M.A., Najeem, G O., Ojo, V. O.A., Isah, O.A. and Babayemi, O. J. 2016. *In vitro* gas production and dry matter degradation of four browse leaves using cattle, sheep and goat inocula. Slovak Journal of Animal Science. 49(1): 32.
- Akinfemi, A. and Ogunwole, O.A. 2012. Chemical composition and *in vitro* digestibility of rice straw treated with *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus pulmonarius* and *Pleurotus tuber-regium*. Slovak Journal of Animal Science. 45(1): 14-20.
- Anantasook, N. and Wanapat, M. 2012. Influence of rain tree pod meal supplementation on rice straw based diets using *in vitro* gas fermentation technique. Asian-Australasian Journal of Animal Science. 25: 325-334.
- Anele, U.Y., Yang, W. Z., McGinn, P. J., Tibbetts, S. M. and McAllister, T. A. 2016. Ruminant *in vitro* gas production, dry matter digestibility, methane abatement potential, and fatty acid biohydrogenation of six species of microalgae. Canadian Journal of Animal Science. 96: 354-363.
- AOAC. 2005. Official Methods Of Analysis. Vol. 1. No. 1. 18th ed. Association of Official Analytical Chemists. Washington. DC.
- Benchaar, C., Calsamiglia, S., Chaves, A.V., Fraser, G. R., Colombatto, D., McAllister, T. A. and Beauchemin, K. A. 2008. A review of plant derived essential oils in ruminant nutrition and production. Journal of Animal Feed Science and Technology. 145: 209-228.
- Bharathidhasan, S., Babu, G. and Balakrishnan, V. 2007. *In vitro* Evaluation of the Nutritive Value of *Trianthema portulacastrum* as a Source of Fodder for Ruminants. Malaysian Journal of Nutrition. 13(2): 179-187.
- Boussaada, A., Arhab, R., Calabrò, S., Grazioli, R., Ferrara, M., Musco, N.,

- Thlidjane, M. and Cutrignelli, M. I. 2018. Effect of Eucalyptus globulus leaves extracts on *in vitro* rumen fermentation, methanogenesis, degradability and protozoa population. *Annals of Animal Science*. 18(3): 753-767.
9. Blmmel, M., Makkar, H. P. S. and Becker, K. 1997. *In vitro* gas production: A technique revisited. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*. 77: 24-34.
10. Chai, W.Z., Gelder, A.H. and Cone, J.W. 2004. Relationship between gas production and starch degradation in feed samples. *Journal of Animal Feed Science and Technology*. 114: 195-204.
11. Chen, D., Chen, X., Tu, Y., Wang, B., Lou, C., Ma, T. and Diao, Q. 2015. Effects of mulberry leaf flavonoid and resveratrol on methane emission and nutrient digestion in sheep. *Animal Nutrition*. 1(4): 362-367.
12. Cieslak, A., Zmora, P., Stochmal, A., Pecio, L., Oleszek, W., Pers-Kamczyc, E., Szczechowiak, J., Nowak, A. and Szumacher-Strabel, M. 2014. Rumen antimethanogenic effect of *Saponaria officinalis* L. phytochemicals *in vitro*. *Journal of Agricultural Science*. 152(6): 981-993.
13. Cone, J. W. and Van Gelder, A. H. 1999. Influence of protein fermentation on gas production profiles. *Journal of Animal Feed Science and Technology*. 76: 251-264.
14. Detmann, E., Queiroz, A. C., Zorzi, K. H., Mantovani, C., Bayão, G. F.V. and Gomes M. P. C. 2011. Degradação *in vitro* da fibraem detergente neutro de forragem tropical de baixa qualidade em função da suplementação com proteína verdadeira e/ou nitrogênio não-protéico. *Revista Brasileira de Zootecnia* 40: 1272-1279.
15. Duncan, D. B. 1955. Multiple range and multiple F tests. *Biometrics*. 11: 1-42.
16. Dongsheng, W., Jiangli, H., Zhihong, Z., Xiaojuan, T., Huang, H., Yizun Y., Guohua, Z., Jiannan, D. and Ruilin, H. 2013. *Journal of Food Agriculture and Environment*. 11 (1): 483-488.
17. Dkhil, M. A., Moniem, A. E. A., Ai Qurasiy, S., and Saleh, R. A. 2011. Antioxidant effect of purslane (*Portulaca oleracea*) and its mechanism of action. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(9): 1589-1593.
18. Ellison, M. J., Conant, G. C., Lamberson, W. R., Cockrum, R. R., Austin, K. J., Rule, D. C. and Cammack, K. M. 2017. Diet and feed efficiency status affect rumen microbial profiles of sheep. *Small Ruminant Research*. 156: 12-19.
19. El-Sayed, M. I. K. 2011. Effects of *Portulaca oleracea* L. seeds in treatment of type-2 diabetes mellitus patients as adjunctive and alternative therapy. *Journal of Ethnopharmacology*. 137(1): 643-651.
20. Gatreh-Samani, K., Farrokhi, E., Khalili, B., Rafieian, M. and Moradi, M. 2011. Purslane (*Portulaca oleracea*) effects on serum paraoxanase-1 activity. *Journal of Shahrekord University of Medical Sciences*. 13(1): 9-14. (In Persian)
21. Gasmi Boubaker, A., kayouli, C. and Buldgen, A. 2005. *In vitro* gas production and its relationship to *in situ* disappearance and chemical composition of some Mediterranean browse species. *Journal of Animal Feed Sciences and Technology*. 123-124: 303-311.
22. Han, Z. K., Guo, H. J. and Wang, G. J. 2006. Diet supplemented with ipriflavone affects the growth and related endocrine secretion in castrated piglets. *Animal Husbandry Veterinary Medicine*. 38(8): 12-14.
23. Hart, S. P. 1987. Associative effects of sorghum silage and sorghum gram diets. *Journal of Animal Science*. 64(6): 1779-1789.
24. Hristov, A. N., Ropp, J. K., Grandeen, K. L., Abedi, S., Etter, R.P., Melgar, A. and Foley, A.E. 2005. Effect of carbohydrate source on ammonia utilization in lactating dairy cows. *Journal of Animal Science*. 83: 408-421.
25. Karimi, G., Hosseinzadeh, H. and Ettehad, N. 2004. Evaluation of the gastric antiulcerogenic effects of *Portulaca oleracea* L. extracts in mice. *Phytotherapy Research*. 18(6): 484-487.



26. Larbi, A., Khatib Salkin, A., Jammal, B. and Hassana, S. 2011. Seed and forage yield, and forage quality determinants of nine legume shrubs in a non-tropical dry land environment. *Journal of Animal Feed Science and Technology*. 163: 214-221.
27. Leng, R. A. and Nolan, J. V. 1984. Nitrogen metabolism in the rumen. *Journal of Dairy Science*. 67(5): 1072-1089.
28. Liu L, Howe P, Zhou Y-F, Xu Z.Q., Hocart, C. and Zhang, R. 2000. Fatty acids and B-carotene in Australian purslane (*Portulaca oleracea*) varieties. *Journal of Chromatography*. 893(1):207-13.
29. Makkar, H. P. S. 2004. Recent advances in the *in vitro* gas method for evaluation of nutritional quality of feed resources. p.55-88. In: Assessing quality and safety of the animal feeds. FAO Animal Production and Health Series Paper 160. FAO, Roma.
30. Makkar, H. P. S. 2005. *In vitro* gas methods for evaluation of feeds containing phytochemicals. *Journal of Animal Feed Science and Technology*. 123-124: 291-302.
31. Makkar, H. P. S., 2010. *In vitro* screening of feed resources for efficiency of microbial protein synthesis. In: Vercoe PE, Makkar, HPS, Schlink AC (Eds.). *In vitro* screening of plant resources for extra-nutritional attributes in ruminants: nuclear and related methodologies. IAEA, Dordrecht, the Netherlands. 107-144.
32. Makkar, H. P. S., Blümmel, M. and Becker, K., 1997. *In vitro* rumen apparent and true digestibilities of tannin-rich forages. *Journal of Animal Feed Science and Technology*. 67(2-3): 245-251.
33. Malkhan, S. G., Shahid, A., Masood, A. and Kangabam, S. 2012. Efficacy of plant extracts in plant disease management. *Agricultural Sciences*. 3(3): 425-433.
34. Martínez, T. F., Moyano, F. J., Díaz, M., Barroso, F. G. and Alarcón, F. J. 2005. Use of tannic acid to protect barley meal against ruminal degradation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 85(8): 1371-1378.
35. McSweeney C. S., Palmer, B., McNeill, D. M. and Krause, D. O. 2001: Microbial interactions with tannins: nutritional consequences for ruminants. *Journal of Animal Feed Science and Technology*. 91: 83-93.
36. Menke, K. H. and Steingass, H. 1988. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. *Animal Research and Development*. 28: 7-55.
37. Moss, A. R., Jouany, J. P. and Newbold, C. J. 2000. Methane production by ruminants: Its contribution to global warming. *Annales de Zootechnie*. 49: 231-235.
38. Mohammadabadi, T. and Chaji, M. 2010. Effect of exogenous enzyme on *in vitro* fermentation of sesame straw by rumen bacteria culture. *Journal of Applied Animal Research*. 39: 161-163.
39. Nitipot, P. and Sommart, K. 2003. Evaluation of ruminant nutritive value of cassava starch industry by using *in vitro* gas production technique. In: Proceedings of Annual Agricultural Seminar for Year. Khon Kaen, Thailand. 179-190.
40. Oliveira, I., Valentao, P., Lopes, R., Andrade, P. B., Bento, A. and Pereira, J. A. 2009. Phytochemical characterization and radical scavenging activity of *Portulaca oleraceae* L. leaves and stems. *Journal of Microchemical*. 92(2): 129-34.
41. Ozturk, H., Pekcan, M., Sireli, M. and Fidanci, U.R. 2010. Effects of propolis on *in vitro* rumen microbial fermentation. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*. 57(4): 217-221.
42. Patra A. K., Min B. R., and Saxena, J. 2011. Dietary tannins on microbial ecology of the gastrointestinal tract in ruminants. In Patra A.K. (ed.): *Dietary Phytochemicals and Microbes*. Springer, Dordrecht, the Netherlands. 237-262.
43. Peripolli, V., Barcellos, J. O. J., Prates, Ê.R., McManus, C., Stella, L. A., Camargo, C. M., Costa, J. B. G. and

- Bayer, C. 2017. Additives on *in vitro* ruminal fermentation characteristics of rice straw. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 46(3): 240-250.
44. Rezaeian, M., Beakes, G. W. and Chaudhry, A. S. 2005. Relative fibrolytic activities of anaerobic rumen fungi on untreated and sodium hydroxide treated barley straw in *in vitro* culture. *Anaerobe*. 11: 163-175.
45. Rochfort, S., Parker, A. J. and Dunshea, F.R. 2008. Plant bioactives for ruminal health and productivity. *Phytochemistry*. 69: 299-322.
46. Russell, J. B., Onodera, R. and Hino, T. 1991. Ruminal protein fermentation: new perspectives on previous contradictions. In *Physiological aspects of digestion and metabolism in ruminants*. Academic Press. 681-697.
47. SAS Institute INC. 2004. SAS STATs users Guide. Version 9.0, SAS Institute Inc. Cary, N.C.
48. Salem, A. Z., Kholif, A. E., Olivares, M., Elghandour, M. M., Mellado, M. and Arece, J. 2014. Influence of *S. babylonica* extract on feed intake, growth performance and diet *in vitro* gas production profile in young lambs. *Tropical Animal Health and Production*. 46(1): 213-219.
49. Sallam, S. M. A., Bueno, I. C. S., Brigide, P., Godoy, P. B., Vitti, D.M.S.S. and Abdalla, A. L., 2009. Efficacy of eucalyptus oil on *in vitro* ruminal fermentation and methane production. *Options Mediterraneennes*. 85(85): 267-272.
50. Santana, A., Pérez-Ruchel, A., Cajarville, C. and Repetto, J.L. 2012. Intake, digestibility and microbial protein synthesis in heifers fed pasture, total mixed ration or both. Abstract. *Journal of Dairy Science*. 95: 488.
51. Scehovic, J. 1999. Evaluation *in vitro* de l'activité de la population microbienne du rumen en presenced'extraits végétaux. *Revue Suisse d'Agriculture*. 31:89-93.
52. Selcuk, Z., Cetinkaya, N., Salman, M. and GENÇ, B. 2016. The determination of *in vitro* gas production and metabolizable energy value of rice straw treated with exogenous fibrolytic enzymes. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*. 40(6): 707-713.
53. Seradj, A. R., Abecia, L., Crespo, J., Villalba, D., Fondevila, M. and Balcells, J. 2014. The effect of Bioflavex® and its pure flavonoid components on *in vitro* fermentation parameters and methane production in rumen fluid from steers given high concentrate diets. *Journal of Animal Feed Science and Technology*. 197: 85-91.
54. Shivhare, M. K., Singour, P. K., Chaurasiya, P. K. and Pawar, R. S. 2012. review: *Trianthema portulacastrum* Linn. (bishkhapra). *Pharmacognosy*. 6(12): 132.
55. Sinz, S., Kunz, C., Liesegang, A., Braun, U., Marquardt, S., Soliva, C. R. and Kreuzer, M. 2018. *In vitro* bioactivity of various pure flavonoids in ruminal fermentation, with special reference to methane formation. *Czech Journal of Animal Science*. 63(8): 293-304.
56. Sommart, K., Parker, D. S., Rowlinson, P. and 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-Australasian Journal of Animal Sciences*. 13: 1084-1093.
57. Suarez, B. J., Van Reenen, C. G., Stockhofe, N., Dijkstra, J. and Gerrits, W.J.J. 2007. Effect of roughage source and roughage to concentrate ratio on animal performance and rumen development in veal calves. *Journal of Dairy Science*. 90: 2390-2403.
58. Tagliapietra, F., Cattani, M., Hansen, H., H., Hindrichsen, I. K., Bailoni, L. and Schiavon, S. 2011. Metabolizable energy content of feeds based on 24 or 48 h *in situ* NDF digestibility and on *in vitro* 24 h gas production methods. *Journal of Animal Feed Science and Technology*. 170(3-4): 182-191.
59. Uddin, M., Juraimi, A. S., Hossain, M. S., Nahar, M., Un, A., Ali, M. and Rahman, M. M. 2014. Purslane weed (*Portulaca oleracea*): a prospective plant source of nutrition, omega-3 fatty

- acid, and antioxidant attributes. Journal of Scientific World. 951019: 1-6.
60. Van Soest P. J. 1994. Nutritional Ecology of the Ruminant, 3rd ed. Cornell University Press, Ithaca, N.Y., USA.
61. Xueqin, X., Lishuang, Y. and Guonan, Ch. 2006. Determination of flavonoids in *Portulaca oleracea* L. by capillary electrophoresis with electrochemical detection. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 41: 493-499.
62. Zhan, J., Liu, M., Su, X., Zhan, K., Zhang, C. and Zhao, G. 2017. Effects of alfalfa flavonoids on the production performance, immune system, and ruminal fermentation of dairy cows. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences, 30(10). 1416.
63. Zhu, H. B., Wang, Y. Z., Liu, Y. X., Xia, Y. L. and Tang, T. 2010. Analysis of flavonoids in *Portulaca oleracea* L. by UV-vis spectrophotometry with comparative study on different extraction technologies. Food Analytical Methods. 3(2): 90-97.



## Determination of appropriate levels of using *Purslanes* herb in the diet and its effect on digestive and fermentative activity of fungi or ruminal bacteria in lambs

S. Mayahi<sup>1</sup>, \*K. Shojaeian<sup>2</sup> and M. Chaji<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Ph.D Student of Animal Nutrition, <sup>2</sup>Assistant Prof., Dept. of Animal Sciences, Faculty of Agriculture, University of Zabol, Zabol, Iran, <sup>3</sup>Associate Prof., Dept. of Animal Sciences, Faculty of Animal Science and Feed Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani-Ahvaz, Iran

Received: 08/06/2019; Accepted: 11/10/2019

### Abstract

**Background and objectives:** Iran is the main habitat of many forage and medicinal species with good nutritional value. They grow under harsh environmental conditions such as low rainfall and drought and can be a good alternative to some common forage items such as alfalfa that often require very favorable conditions for their growth. The present study was to determine the appropriate level of replacement of purslane in the diet and its effect on the digestive and fermentative activity of microbial population, microorganisms isolated from rumen of lambs fed experimental diets.

**Materials and methods:** Experimental treatments included control diet (no purslane supplement) and four diets containing levels of 25, 50, 75 and 100% purslane alfalfa. The gas production test was used to determine the appropriate replacement level. The amount of gas produced in the samples was recorded at 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24, 48, 72 and 96 hours after incubation and the parameters of gas production, organic matter digestibility and metabolic energy were estimated. The digestibility of dry matter and organic matter was investigated under specific culture conditions of microorganisms. At this stage, the diets containing (0, 25, 50%) of the purslane plant selected from the experiment were tested with rumen of lambs fed the diets containing these treatments. The data were analyzed using a completely randomized design.

**Results:** The results of this study showed that the level of 100% purslane replaced by alfalfa had the highest amount of gas production (25.80 ml) compared to other experimental diets and its difference with 25 and 50 % levels was not ( $P > 0.05$ ). Fermentable fraction was higher in all levels of purslane and was significantly higher than control ( $P < 0.05$ ). Organic matter digestibility was also significantly higher at 50, 75 and 100% levels than other treatments ( $P < 0.05$ ). The highest amount of microbial crude production was observed in 50 (77.2), 75 (78.5) and 100 (79.1) percent treatments and showed significant differences with other treatments ( $P < 0.05$ ). No significant difference was found between ammonia nitrogen and pH of experimental diets incubated with anaerobic fungi or bacteria ( $P > 0.05$ ). Replacement of 50% alfalfa with purslane resulted in an 11% increase in digestion of neutral detergent fiber (NDF) in experimental diets incubated with anaerobic bacteria ( $P < 0.05$ ).

**Conclusion:** Overall, the results of this experiment showed that the purslane plant is capable of manipulating ruminal fermentation activities in ruminant's nutrition and can be used as an effective factor in changing the environment and microbial population of the rumen.

**Keywords:** Bacterial culture, Digestibility, Gas production, Microbial protein, *Purslanes*

\*Corresponding author; [kshojaeian@uoz.ac.ir](mailto:kshojaeian@uoz.ac.ir)