University of Tehran Press

Journal of Animal Production

Online ISSN: 2382-994X

Homepage: https://jap.ut.ac.ir/

The effect of licorice extract on growth performance of fattening lambs, fermentation parameters and rumen protozoan population

Amenh Naseri Moghadam[1] | Mohammad Ebrahim Nooriyan Soroor[2]✉ | Fardin Hozhabri[3]

1.Department of Animal Science, Faculty of Agricultural Science and Engineering, Razi University, Kermanshah, Iran. E-mail: amenhnaseri68@gmail.com

2. Corresponding Author, Department of Animal Science, Faculty of Agricultural Science and Engineering, Razi University, Kermanshah, Iran. E-mail: menooriyan@razi.ac.ir

3. Department of Animal Science, Faculty of Agricultural Science and Engineering, Kermanshah, Iran. E-mail: hozhabri@razi.ac.ir

Article Info

Article type:
Research Article

Article history:
Received: November 28, 2022
Received in revised form: March 04, 2023
Accepted: March 06, 2023
Published online: April 14, 2023

Keywords:
Degradability,
gas production,
metabolizable energy,
methane production,
volatile fatty acids.

ABSTRACT

The effect of adding licorice extract (LE) on growth performance, fermentation parameters, and rumen protozoan population in fattening lambs were investigated using 28 Mehraban male lambs weighing 36.45±1.75 kg in a completely randomized design with four treatments and seven replicates. Experimental treatments included: control (basal diet without licorice extract), and basal diet plus five, 10 and 25 mg of LE per kg of DM. The basal diet contained 30% straw and 70% concentrate which was fed to lambs ad libitum. Adding 25 mg of the LE to the diet increased the daily weight gain and improved the feed conversion ratio (P<0.05). The addition of 25 mg of the LE to the diet increased the pH of the rumen fluid (P<0.05). Total *in vitro* gas production in lambs fed five and 25 mg of LE was higher than other groups (P<0.05). Methane production was not affected by adding LE to the diet. The changes in metabolizable energy, degraded organic matter and concentration of volatile fatty acids were estimated in in diets containing five and 25 mg of LE were more than other treatments (P<0.05). The total rumen protozoan population as well as the number of Entodinia decreased by feeding diets containing LE, but the number of Isotrichida increased (P<0.05). Based on the results of this research, adding 25 mg/kg of licorice extract to the diet improved rumen metabolism and the performance of fattening lambs, but did not affect the amount of energy loss in the form of methane.

Cite this article: Naseri Moghadam, A., Nooriyan Soroor, M. E., & Hozhabri, F. (2023). The effect of licorice extract on growth performance of fattening lambs, fermentation parameters and rumen protozoan population. *Journal of Animal Production*, 25 (1), 25-36. DOI: https://doi.org/10.22059/jap.2023.351466.623716

© The Author(s).
Publisher: University of Tehran Press.
DOI: https://doi.org/10.22059/jap.2023.351466.623716

انتشارات دانشگاه تهران

تولیدات دامی

Homepage: https://jap.ut.ac.ir/

شاپا الکترونیکی: ۲۳۸۲-۹۹۴x

تأثیر عصاره شیرین‌بیان بر عملکرد رشد بره‌های پرواری، فراسنجه‌های تخمیر و جمعیت پروتوزوآیی شکمبه

آمنه ناصری‌مقدم[۱] | محمد ابراهیم نوریان سُرور[۲]✉ | فردین هژبری[۳]

۱. گروه علوم دامی، دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی، دانشگاه رازی، کرمانشاه. رایانامه: amenhnaseri68@gmail.com

۲. نویسنده مسئول، گروه علوم دامی، دانشکده علوم و مهندسی‌کشاورزی، دانشگاه رازی، کرمانشاه. رایانامه: menooriyan@razi.ac.ir

۳.گروه علوم دامی، دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی ، دانشگاه رازی، کرمانشاه. رایانامه: hozhabri@razi.ac.ir

اطلاعات مقاله

نوع مقاله: مقالهٔ پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۹/۰۷

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱/۱۲/۱۳

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۲/۱۵

تاریخ انتشار: ۱۴۰۲/۰۱/۲۵

کلیدواژه‌ها:
اسیدهای چرب فرّار،
انرژی قابل متابولیسم،
تجزیه‌پذیری،
تولید گاز،
متان.

چکیده

اثر افزودن عصاره شیرین‌بیان (عصاره) بر عملکرد رشد، فراسنجه‌های تخمیر و جمعیت پروتوزآیی شکمبه در بره‌های پرواری با استفاده از ۲۸ راس بره نر مهربان با وزن ۱/۷۵±۳۶/۴۵ کیلوگرم در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تیمار و هفت تکرار بررسی شد. تیمارهای آزمایشی شامل شاهد (جیره پایه بدون عصاره شیرین‌بیان) و سه تیمار به‌ترتیب شامل جیره پایه+ پنج، ۱۰ و ۲۵ میلی‌گرم عصاره شیرین‌بیان به‌ازای هر کیلوگرم ماده خشک جیره بود. جیره پایه بره‌ها ۳۰ درصد کاه و۷۰ درصد کنسانتره بود که به‌صورت مصرف در حد اشتها در اختیار دام قرار داده شد. بره‌های تغذیه‌شده با جیره‌های حاوی ۲۵ میلی‌گرم عصاره، افزایش وزن روزانه بیش‌تر و ضریب تبدیل بهتری داشتند (P<۰/۰۵). افزودن ۲۵ میلی‌گرم عصاره سبب افزایش pH مایع شکمبه شد (P<۰/۰۵). کل گاز تولیدی در بره‌های دریافت‌کننده پنج و ۲۵ میلی‌گرم عصاره بیش‌تر از سایر گروه‌ها بود (P<۰/۰۵). تولید متان تحت تأثیر افزودن عصاره به جیره قرار نگرفت. تغییرات انرژی قابل متابولیسم، ماده آلی تجزیه شده و اسیدهای چرب فرّار برآوردشده در جیره‌های حاوی پنج و ۲۵ میلی‌گرم عصاره بیش‌تر از سایر تیمارها بود (P<۰/۰۵). جمعیت کل پروتوزوآیی شکمبه و هم‌چنین تعداد انتودینه با تغذیه جیره‌های حاوی عصاره کاهش یافت (P<۰/۰۵)، اما شمار پروتوزوآیی ایزوتریشیدا افزایش یافت. براساس نتایج این پژوهش، افزودن ۲۵ میلی‌گرم در کیلوگرم عصاره شیرین‌بیان به جیره، فرایند متابولیسم شکمبه و عملکرد بره‌های پرواری را بهبود بخشید، اما بر میزان تلفات انرژی به شکل متان اثری نداشت.

استناد: ناصری مقدم، آ.، نوریان سُرور، م. ا. و هژبری، ف (۱۴۰۲). تأثیر عصاره شیرین‌بیان بر عملکرد رشد بره‌های پرواری، فراسنجه‌های تخمیر و جمعیت پروتوزوآیی شکمبه. *نشریه تولیدات دامی*، ۲۵ (۱)، ۲۵-۳۶. DOI: https://doi.org/10.22059/jap.2023.351466.623716

ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.

© نویسندگان.

CC BY NC

۱. مقدمه

تغییر شرایط شکمبه با هدف بهبود بهره‌وری در مصرف انرژی و پروتئین یکی از اهداف اصلی تحقیقات دامی است. این فرایند از طریق افزودنی‌های خوراکی که باعث تغییر محیط شکمبه و افزایش یا مهار جمعیت‌های خاص میکروبی می‌شوند، امکان‌پذیر است. آنتی‌بیوتیک‌ها در این خصوص موفق بوده‌اند [۸] اما به‌دلیل مشکلات ناشی از مصرف آن‌ها، گزینه‌های دیگری برای تغییر تخمیر شکمبه، از جمله استفاده از مخمرها، اسیدهای آلی، پروبیوتیک‌ها، آنتی‌بادی‌ها و گیاهان دارویی را باید شناسایی کرد. از گیاهان دارویی که می‌تواند به سبب داشتن متابولیت‌های ثانویه و تأثیر بر تخمیر شکمبه مطرح باشد گیاه شیرین‌بیان با نام علمی *Glycyrrhiza glabra* است. مهم‌ترین ماده مؤثره ریشه شیرین‌بیان گلیسیریزین یا اسید گلیسریزیک است که یک تری‌ترپنوئید ساپونین محسوب می‌شود [۱۰] و مقدار این ماده مؤثره ۲/۳۹ میلی‌گرم در هر گرم شیرین‌بیان گزارش شده است [۸].

نتایج آزمایش‌های برون‌تنی نشان داد افزودن عصاره اتانولی شیرین‌بیان به محیط تخمیر مقدار تولید گاز کل را افزایش و تولید گاز متان را کاهش داد. هم‌چنین ماده آلی قابل هضم تحت تأثیر عصاره بهبود و غلظت نیتروژن آمونیاکی کاهش یافت. اسیدهای چرب فرّار و انرژی قابل متابولیسم در تمام سطوح عصاره نسبت به شاهد افزایش داشتند [۱۶]. هم‌چنین در پژوهش دیگری افزودن چهار سطح عصاره اتانولی گل گاوزبان (حاوی ساپونین) در شرایط آزمایشگاهی سبب افزایش تولید گاز، کاهش ضریب تفکیک، کاهش تولید متان تا ۵۴ درصد، کاهش نیتروژن آمونیاکی و جمعیت پروتوزآیی در ۲۴ ساعت انکوباسیون شد [۱۷]. استفاده از پنج، ۱۰ و ۱۵ درصد سیلاژ تفاله شیرین‌بیان در جیره بزهای رائینی تأثیری بر ماده خشک مصرفی و قابلیت هضم مواد مغذی و بر جمعیت پروتوزوآیی کل و انتودینینه نداشت [۲۳]. گزارش شده است مصرف ۱۰ گرم در روز (۰/۵۶ درصد از ماده خشک جیره) ریشه شیرین‌بیان تأثیری بر مصرف ماده خشک تلیسه‌ها در مقایسه با گروه شاهد نداشت [۲۱]. هم‌چنین نشان داده شده است افزودن نیم درصد شیرین‌بیان به جیره گوساله‌های پرواری تأثیری بر مصرف ماده خشک و افزایش وزن روزانه دام‌ها ندارد [۱۱].

باتوجه به مطالعات محدود تأثیر عصاره شیرین‌بیان در دام زنده و هم‌چنین اعتبارسنجی مطالعات برون‌تنی قبلی، هدف از پژوهش حاضر بررسی تأثیر عصاره اتانولی شیرین‌بیان به روش درون‌تنی بر عملکرد رشد، فرایند تخمیر شکمبه، هدر روی انرژی به شکل متان و جمعیت پروتوزوآیی بره‌های پرواری بود.

۲. مواد و روش‌ها

تعداد ۲۸ راس بره نر مهربان با میانگین وزن ۱/۷۵±۳۶/۴۵ کیلوگرم در قالب طرح کاملاً تصادفی به چهار گروه هفت راسی تقسیم و در قفس انفرادی نگهداری شدند. گروه شاهد شامل جیره پایه بدون افزودنی عصاره شیرین‌بیان، تیمار اول: جیره پایه+ پنج میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک جیره عصاره شیرین‌بیان، تیمار دوم: جیره پایه+ ۱۰ میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک جیره عصاره شیرین‌بیان و تیمار سوم: جیره پایه+ ۲۵ میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک جیره عصاره شیرین‌بیان بود. برای حصول اطمینان از مصرف عصاره توسط دام قبل از توزیع خوراک وعده صبح اندکی سبوس داخل آخور افزوده و سپس توسط عصاره به آن اضافه شد. جیره پایه مصرفی گوسفندان شامل ۳۰ درصد علوفه و ۷۰ درصد کنسانتره بود که براساس توصیه انجمن ملی تحقیقات [۱۸] تنظیم شد (جدول ۱). مقدار جیره مصرفی روزانه هر دام در حد اشتها در نظر گرفته شد. غذای روزانه موردنیاز گوسفندان در ساعت هشت، ۱۴ و ۱۹ توزیع شد. دسترسی دام به آب به‌صورت آزاد بود. قبل از شروع آزمایش دو محلول یک لیتری آلبندازول و محلول لوامیزول+ تریکلابندازول با هم مخلوط و یک محلول سه‌گانه تهیه شد. سپس در طی سه مرحله و با فاصله هفت روز به هر بره به میزان شش تا نه میلی‌لیتر خورانیده شد. روز اول نیز به هر بره یک میلی‌لیتر محلول ضد انگل آیورمکتین به روش زیر جلدی تزریق شد.

جدول ۱ . مواد خوراکی و ترکیب شیمیایی جیره پایه (برحسب ماده خشک)

اجزای جیره	درصد
کاه گندم	۳۰
دانه جو	۲۲
دانه ذرت	۲۲
پودر گوشت	۱۴
پساب ملاس	۹
پودر استخوان	۰/۵
نمک	۰/۲
بی‌کربنات سدیم	۱/۳
مکمل معدنی و ویتامینی[۱]	۱
ترکیب شیمیایی (برحسب ماده خشک)	
ماده خشک	۸۳/۱۱
خاکستر	۵/۵۲
پروتئین خام	۱۴/۲۱
چربی خام	۵/۷۲
الیاف نامحلول در شوینده خنثی	۳۱/۴۵
الیاف نامحلول در شوینده اسیدی	۲۲/۱۶
ME (کیلوگرم‌ماده‌خشک/ مگاژول)	۱۱/۹۱

ME= انرژی متابولیسمی. مقدار این انرژی براساس رابطه زیر محاسبه شده است:

$$ME_{(MJ/kg\ DM)} = 2.20 + (0.136 \times Gp) + (0.0057 \times CP) + (0.00029 \times XL^2)$$

که در این معادله: GP= گاز تولیدی (میلی‌لیتر)، CP= پروتئین خام ($_{gr/kg}$) و XL = چربی خام($_{gr/kg}$) است.

۱. هر کیلوگرم مکمل حاوی ۵۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین A، ۱۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین D_3، و ... .

عصاره گیاه شیرین‌بیان با استفاده از حلال اتانول به روش متداول استخراج شد [۲۵]. بدین منظور حلال اتانول و گیاه آسیاب‌شده با نسبت پنج (اتانول ۷۰ درصد) به یک (گیاه) باهم مخلوط و به‌مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت در دمای اتاق به‌خوبی خیسانده شد. سپس با استفاده از پمپ خلأ، ارلن خلأ و کروزه‌های صافی‌دار اقدام به تصفیهٔ ترکیب حاصل شد. در مرحله بعدی توسط دستگاه گرداننده تبخیری (مدل بوچی Rotavapor® R-300؛ آلمان) اتانول آن استخراج و محلول باقی‌مانده برای آزمایش استفاده شد [۲۵].

کل دوره آزمایش ۶۰ روز در نظر گرفته شد. دام‌ها هر ۱۴ روز یک بار (چهار دوره وزن‌کشی) به‌صورت ناشتا وزن‌کشی شدند. وزن‌کشی قبل از عرضه خوراک وعده صبح بین ساعت هشت تا نه صبح انجام شد. سپس افزایش وزن روزانه براساس روش ساده تفاوت دو وزن ابتدایی و انتهایی هر دوره محاسبه شد. باقیمانده خوراک هر دام صبح روز بعد جمع‌آوری و سپس توزین شد. مقدار خوراک مصرفی روزانه هر بره با کسر مقادیر داده‌شده از باقیمانده محاسبه شد. نمونه‌هایی از خوراک هر هفته در کیسه‌های پلاستیکی نگهداری و به آزمایشگاه جهت تعیین ترکیب شیمیایی منتقل شد. برای تعیین ترکیب شیمیایی جیره-های آزمایشی، در سه زمان مختلف از دوره پرورش، نمونه‌های خوراک نمونه‌برداری شد و پس از آسیاب‌نمودن (Foss Tecator Cyclotec 1093، دانمارک) با الک دو میلی‌متر براساس روش پیشنهادی [۱] تجزیه شدند.

مایع شکمبه هر یک از بره‌ها توسط لوله مری و سه ساعت بعد از اولین وعده غذایی (۳۰:۱۲ ظهر) در پایان ماه اول (روز ۳۰) و دوم (روز ۶۰) پروار جمع‌آوری شد. فراسنجه‌های تخمیر شکمبه نظیر pH شکمبه، نیتروژن آمونیاکی، اسیدهای چرب فرّار کل و گاز متان تولیدی (برآورد براساس معادله) و در روش آزمون تولید گاز ۲۴ ساعته با بطری ویتن

[۲۵]، فراسنجه‌های گاز تولیدی و انرژی قابل متابولیسم اندازه‌گیری یا محاسبه شدند. بعد از گرفتن مایع شکمبه توسط لوله مری در دو مرحله (روز ۳۰ و ۶۰ آزمایش)، pH مایع شکمبه توسط دستگاه pH متر(مدل HI99111؛ آمریکا) در محل سالن گوسفنداری قرائت و ثبت شد. میزان نیتروژن آمونیاکی در نمونه‌های مایع شکمبه معرف‌های فنل، هیپوکلریت اندازه‌گیری شد [۴]. در این روش مقدار نیتروژن آمونیاکی با استفاده از معرف‌های فنل، هیپوکلریت، استاندارد آمونیاک و با دستگاه اسپکتروفتومتر (مدول ۶۸۵۰ جنوی، انگلستان) در طول موج ۶۳۰ نانومتر قرائت شد. اسیدهای چرب فرّار کل براساس روش متداول اندازه‌گیری شد [۲].

آزمون تولید گاز با هدف اندازه‌گیری فراسنجه‌های تخمیر، انرژی قابل متابولیسم، گاز متان و تجزیه‌پذیری ماده آلی انجام شد. برای روش برون‌تنی مایع شکمبه در روزهای ۳۰ و ۶۰ پروار و در حالت ناشتا با استفاده از لوله‌ی مری از همه گوسفندان دریافت، و توسط چهار فلاسک جداگانه به آزمایشگاه منتقل شد. در شرایط بی‌هوازی مایع شکمبه با نسبت یک به دو، با بافر بی‌کربنات مخلوط و سپس میزان ۳۰ میلی‌لیتر مایع شکمبه‌ی بافری به هر یک از بطری‌های ویتن حاوی ۲۰۰ میلی‌گرم جیره پایه اضافه شد [۱۴]. از هر فلاسک تعداد هفت تکرار (هفت بطری ۱۲۰ میلی‌لیتری) تهیه شد. محیط‌های تخمیر یا همان بطری‌های ویتن ۱۲۰ میلی‌لیتری و محتویات داخل آن در دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد و به‌مدت ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری شدند. میزان انرژی قابل متابولیسم با استفاده از آزمون تولید گاز به‌کمک رابطه (۱) [۱۵] و مقادیر گاز متان تولیدی با استفاده از روابط (۲) و (۳) برآورد شد [۶].

$$ME_{(MJ/kg\ DM)} = 2.20 + (0.136 \times Gp) + (0.0057 \times CP) + (0.00029 \times EE^2)$$ رابطه ۱)

$$CH_{4\ (MJ/d)} = ۳/۹۶(\pm ۱/۱۸) + ۰/۵۶۱(\pm ۰/۱۳۰) \times DMI_{(kg/d)}$$ رابطه ۲)

$$CH_{4\ (MJ/d)} = ۲/۷۰(\pm ۱/۳۸) + ۱/۱۶(\pm ۰/۲۷۱) \times DMI_{(kg/d)} - ۱۵/۸(\pm ۶/۸۶) \times EE_{(kg/d)}$$ رابطه ۳)

که در این رابطه‌ها، ME، انرژی قابل متابولیسم؛ Gp، گاز تولیدی در طی ۲۴ ساعت؛ CP، پروتئین خام؛ EE، چربی خام است و DMI، ماده خشک مصرفی است.

اسیدهای چرب فرّار (میلی‌مول/ ۲۰۰ میلی گرم) با استفاده از دستگاه مارخام [۵] اندازه‌گیری شد. هم‌چنین با کمک رابطه (۴) نیز برآورد شد [۲۱].

$$SCFA_{mmol/L} = [(۰/۰۲۲۲ \times GP) - ۰/۰۰۴۲۵)] \times ۱۰۰$$ رابطه ۴)

در این رابطه، SCFA، اسیدهای چرب زنجیر کوتاه و GP، گاز تولیدی در مدت ۲۴ ساعت است.

ماده آلی قابل هضم برحسب درصد و مقدار میلی‌گرم از ۲۰۰ میلی‌گرم سوبسترا براساس رابطه (۵) محاسبه شد [۱۵].

$$OMD\ \% = ۱۴/۸۸ + ۰/۸۸۹\ GP + ۰/۰۴۵CP + ۰/۰۶۵$$ رابطه ۵)

که در این رابطه، OMD، درصد ماده آلی قابل هضم؛ GP، گاز تولیدی (میلی‌لیتر)؛ CP، درصد پروتئین سوبسترا و Ash، درصد خاکستر سوبستراست.

شمارش پروتوزوآ با استفاده از محلول رقیق‌کننده فرمال‌سالین و رقیق‌سازی نمونه شکمبه و شمارش به‌وسیله میکروسکوپ نوری انجام شد. در این آزمایش با استفاده از نرم‌افزار دینوکاپچر و میکروسکوپ نوری (Car ZEISS Standard 20، آلمان) و لام هموسیتومتر پروتوزوآی انتودینینه‌ها، اُفریواسکولسینه کاوداتوس، اُفریواسکولسینه پورکینجی، دیپلودینینه، اپی‌دینیوم، خانواده ایزوتریشیدا و داسی تریشیدا شناسایی و شمارش شدند.

نتایج مربوط به وزن زنده، افزایش وزن و خوراک مصرفی با استفاده از رویه GLM نرم‌افزار آماری SPSS ویرایش (۲۳/۱) و در سطح (α=۰/۰۵) برای مدل (۶) تجزیه شدند. وزن اولیه به‌عنوان متغییر کمکی (کوواریت) در نظر گرفته شد. میانگین‌ها با استفاده از آزمون کم‌ترین تفاوت معنی‌دار مقایسه شد.

$$Y_{ij}=\mu + A_i + \beta (X_{ij} - X)+eb_{ij}$$ رابطه ۶)

Y_{ij}، مشاهده مربوط به تیمار i؛ j، زمان اندازه‌گیری؛ μ، میانگین کلی مشاهده‌ها؛ A_i، اثر تیمار؛ $\beta (X_{ijk} - X)$، وزن اولیه به‌عنوان کوواریت؛ eb_{ij}، خطای آزمایش.

در مورد فراسنجه‌های تخمیر شکمبه‌ای که در دو مرحله موردبررسی قرار گرفت و در مورد آن‌ها اثر تیمار آزمایشی و دوره مطرح بود در قالب اندازه‌گیری‌های تکرارشده در واحد زمان با استفاده از نرم‌افزار SPSS (نسخه ۲۳/۱) رویه GLM برای مدل (۷) تجزیه و میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن با سطح احتمال معنی‌داری پنج درصد مقایسه شدند:

$$Y_{ij}=\mu + A_i+ B_j+ A\times B_{ij}+ Eb_{ij}$$ رابطه ۷)

که در این رابطه، Y_{ij}، مشاهده مربوط به تیمار i؛ j، زمان اندازه‌گیری؛ μ، میانگین کلی مشاهده‌ها؛ A_i، اثر تیمار؛ B_j، اثر دوره؛ AB_{ij}، اثر متقابل تیمار i در دوره j؛ Eb_{ij}، خطای آزمایش است.

داده‌های مربوط به تعداد پروتوزوآ به‌دلیل این که از نوع شمارشی هستند، ابتدا نرمال‌بودن این داده‌ها توسط آزمون ناپارامتری کولموگوروف- اسمیرنوف (K-S) بررسی شد و سپس با استفاده از نرم‌افزار SPSS (نسخه ۲۳/۱) رویه GLM برای مدل (۸) تجزیه و میانگین‌ها با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن با سطح احتمال معنی‌داری پنج درصد مقایسه شدند.

$$Y_{ij} = \mu + T_i + Eb_{ij}$$ رابطه ۸)

در این مدل، Y_{ij}، متغیر وابسته؛ μ، میانگین کل؛ T_i، اثر تیمار و Eb_{ij}، خطای آزمایش است.

۳. نتایج و بحث

اثر سطوح مختلف عصاره شیرین‌بیان بر فراسنجه‌های رشد بره‌ها در جدول (۲) نشان داده شده است. بره‌های دریافت‌کننده ۲۵ میلی‌لیتر عصاره به‌ازای هر کیلوگرم ماده خشک مصرفی افزایش وزن روزانه بیش‌تر و ضریب تبدیل خوراک بهتری داشتند (P<۰/۰۵). اثر تیمارها بر ماده خشک مصرفی بره‌ها در گروه‌های آزمایشی معنی‌دار نبود.

مشابه با نتایج حاضر، مصرف ۱۰ گرم در روز (۰/۵۶ درصد از ماده خشک جیره) ریشه شیرین‌بیان تأثیری بر مصرف ماده خشک تلیسه‌ها نداشت [۲۱]. از طرفی افزودن نیم درصد جیره شیرین‌بیان به جیره گوساله‌های پرواری تأثیری بر مصرف ماده خشک و افزایش وزن روزانه دام‌ها نداشت [۱۱].

جدول ۲. اثر سطوح مختلف عصاره شیرین‌بیان (میلی‌لیتر/ کیلوگرم ماده خشک مصرفی) بر فراسنجه‌های رشد بره‌ها

فراسنجه‌های رشد	تیمارهای آزمایشی[۱]				SEM	سطح معنی‌داری
	شاهد	اول	دوم	سوم		
وزن اولیه (کیلوگرم)	۳۸/۷۸	۳۷/۴۲	۳۷/۰۲	۳۵/۲۸	۰/۷۱۶	۰/۴۰۷
وزن نهایی (کیلوگرم)	۵۴/۲۵	۵۰/۵۳	۵۰/۳۳	۵۲/۷۵	۰/۷۲۵	۰/۱۶۹
افزایش وزن روزانه (گرم)	۲۵۷/۷۸[b]	۲۱۸/۵۰[b]	۲۲۱/۹۴[b]	۲۹۱/۱۱[a]	۱۳/۴۳	۰/۰۵۰
ضریب تبدیل خوراک	۷/۷۸[b]	۹/۱۷[a]	۹/۰۴[a]	۶/۸۹[b]	۰/۴۶۹	۰/۰۴۸
ماده خشک مصرفی (کیلوگرم در روز)	۱/۹۷	۱/۹۵	۱/۹۷	۱/۹۶	۰/۰۱۹	۰/۸۲۴

a-d: تفاوت میانگین‌ها با حروف نامشابه در هر ردیف معنی‌دار است (P<۰/۰۵).

SEM، خطای استاندارد میانگین‌ها

۱. تیمارهای شاهد، اول، دوم و سوم به‌ترتیب شامل جیره پایه بدون عصاره، به اضافه پنج، ۱۰ و ۲۵ میلی‌گرم عصاره شیرین‌بیان به‌ازای هر کیلوگرم ماده خشک مصرفی بود.

برخلاف مطالعه حاضر برخی پژوهش‌گران نشان دادند که افزودن ۴/۵ درصد عصاره شیرین‌بیان سبب کاهش مصرف ماده خشک روزانه شد، در حالی‌که تأثیری بر قابلیت هضم ماده مغذی، میانگین افزایش وزن و ضریب تبدیل خوراک گوسفند قره‌گل نداشت [۸]. در مطالعه مذکور، مقدار ماده خشک مصرفی ۸۵۰–۸۹۰ گرم در روز و مقدار عصاره نیز ۳۸ میلی‌لیتر در روز بود. گزارش شده است که افزایش مصرف خوراک در دام احتمالاً به تأثیر مثبت پودر شیرین‌بیان بر افزایش خوشخوراکی آن توسط حیوان مرتبط باشد. ازآنجایی‌که شیرین‌بیان محتوی ساپونین است [۸]، احتمالاً حضور این متابولیت ثانویه نقش مهمی در اثرگذاری شیرینبیان در برخی مطالعات انجام شده، داشته باشد [۱۷و ۱۶]. اثر ساپونین بر عملکرد دام به نوع جیره هم بستگی دارد. ساپونین برگ چای افزایش وزن گوسفندانی که سیلاژ جو مصرف کرده بودند را از ۹۳ گرم در روز به ۱۱۵ گرم در روز افزایش داد [۱۲]. نتایج اثر ساپونین بر مصرف خوراک متناقض است. برخی مطالعات کاهش نسبتاً کمی (دو تا شش درصد) را در مصرف خوراک گزارش کرده‌اند [۳].

تأثیر عصاره شیرین‌بیان بر فراسنجه‌های تخمیر شکمبه (جدول ۳) نشان داد که شاخص pH شکمبه بره‌های مربوط به تیمار شاهد و بره‌هایی که جیره حاوی پنج و ۱۰ میلی‌گرم در کیلو گرم عصاره شیرین‌بیان دریافت کردند در دامنه طبیعی pH (۵/۸–۶/۵) بود [۸]. pH شکمبه بره‌های دریافت‌کننده جیره حاوی سطوح بالاتر از ۲۵ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره، از سایر بره‌ها بیش‌تر بود (P<۰/۰۵). برخلاف این نتایج افزودن عصاره شیرین‌بیان به میزان ۴/۵ درصد به جیره گوسفندان قره‌گل [۸] و مصرف مقدار ۱۰ درصد پودر شیرین‌بیان به جیره گوسفندان دالاق [۱۹] تأثیری بر شاخص pH شکمبه نداشت. به‌طور کلی بخشی از تفاوت بین نتایج پژوهش‌های مختلف درمورد اثرات اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی بر تغییرات pH شکمبه می‌تواند مربوط به نوع جیره، سطح عصاره و غلظت ماده مؤثره آن باشد. گزارش شده است میانگین pH شکمبه تحت تأثیر عصاره شیرین‌بیان (۴/۵ درصد ماده خشک جیره) قرار نگرفت و دامنه‌ای بین ۶/۱ تا ۶/۸ داشت. یکی از عوامل تأثیرگذار بر میزان pH شکمبه اسیدهای چرب فرّار حاصل از تخمیر مواد مغذی در شکمبه است. هرچه تولید این محصول افزایش یابد باعث کاهش میزان pH می‌شود. اما در مطالعه حاضر عدم تغییر در تولید اسیدهای چرب فرّار کل (جدول ۳) شاید علت عدم تغییر pH در سطوح پایین عصاره باشد. ثبات و یا افزایش شاخص pH شکمبه برای رشد میکروارگانیسم‌های سلولولیتیک (*Fibrobacter succinogenes* و *Ruminococcus flavefaciens*) بسیار مطلوب است [۲۸] و لذا به‌نظر می‌رسد افزایش معنی‌دار شاخص pH در بره‌های تیمار سوم (۷/۶ در مقابل ۶/۶۲) و به‌دنبال آن افزایش ۱۳ درصدی رشد روزانه بره های این گروه نسبت به گروه شاهد ناشی از بهبود شرایط محیط برای این دسته از میکروارگانیسم‌ها باشد.

میزان pH شکمبه در پایان روز ۳۰ و ۶۰ در گروه‌هایی که سطح ۲۵ میلی‌گرم عصاره شیرین‌بیان دریافت کرده بودند بیش‌تر از گروه‌های دیگر بود (P<۰/۰۵). از طرفی در کلیه تیمارهای آزمایشی میزان pH در روز ۶۰ بالاتر از روز ۳۰ بود (P<۰/۰۵؛ جدول ۴). یکی از نقدهای وارده بر متابولیت‌های ثانویه به‌عنوان مؤلفه تغییر تخمیر شکمبه احتمال سازگاری محیط تخمیر با مواد مؤثره گیاهان دارویی است [۳]، لذا فراسنجه‌های تخمیر در پایان ماه اول و دوم آزمایش اندازه‌گیری و مقایسه‌های کلی و بین تیمارها انجام شد. شاخص pH در پایان روز ۶۰ نه‌تنها محیط شکمبه به افزودنی سازگار نشده بود بلکه در تیمار سوم محیط قلیایی‌تر بود. غلظت نیتروژن آمونیاکی شکمبه در بره‌های دریافت‌کننده سطوح ۱۰ و ۲۵ میلی‌گرم عصاره کم‌تر از گروه‌های دیگر بود (P<۰/۰۵؛ جدول ۳). از طرفی غلظت این فراسنجه صرف‌نظر از غلظت عصاره در روز ۳۰ بیش‌تر از روز ۶۰ نمونه‌گیری شد (P<۰/۰۵).

غلظت نیتروژن آمونیاکی شکمبه در بره‌های شاهد و تیمار سوم در روز ۳۰ بیش‌تر از بره‌های دیگر بود (P<۰/۰۵؛ جدول ۴). چنین روندی در روز ۶۰ مشاهده نشد به‌نحوی که میزان این فراسنجه در بره‌های شاهد کم‌تر از سایر گروه‌ها

بود (P<۰/۰۵). هرچند که غلظت نیتروژن آمونیاکی در دامنه طبیعی (۳۰۰–۸۵ میلی‌گرم در لیتر) [۱۶] بود ولی با افزایش مقدار عصاره، غلظت نیتروژن آمونیاکی کاهش یافت. هم‌چنین غلظت این فراسنجه در روز ۶۰ کم‌تر از روز ۳۰ آزمایش بود (P<۰/۰۵). به‌نظر می‌رسد کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی هم‌زمان با کاهش جمعیت پروتوزوآیی نشان از عدم سازگاری محیط تخمیر در پایان روز ۶۰ آزمایش باشد.

جدول۳ . اثر سطوح مختلف عصاره شیرین‌بیان بر برخی فراسنجه‌های تخمیر شکمبه

فراسنجه تخمیر		تیمارهای آزمایشی[1]				زمان نمونه‌برداری		SEM	معنی‌داری		
		شاهد	اول	دوم	سوم	۳۰	۶۰		تیمار	زمان	تیمار در زمان
pH		۶/۶۲^{b}	۶/۴۷^{b}	۶/۶۶^{b}	۷/۰۶^{a}	۶/۵۴^{b}	۶/۸۶^{a}	۰/۰۵۹	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۹۳۴
نیتروژن آمونیاکی (میلی‌گرم/ لیتر)		۱۷۲/۹۴^{a}	۱۸۹/۰۷^{a}	۱۰۱/۸۱^{b}	۱۱۴/۷۳^{ab}	۱۸۱/۰۱^{a}	۱۰۸/۲۷^{b}	۷/۲۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۷۶۴
اسیدهای چرب فرّار کل (میلی‌مول/ لیتر)		۴۷/۶۶	۴۸/۰۹	۴۷/۹۹	۴۷/۵۸	۴۸/۹۵	۴۶/۷۰	۱/۲۱	۰/۹۹۹	۰/۳۷۱	۰/۳۰۷
اسیدهای چرب زنجیر کوتاه[2] (میلی‌مول/ ۲۰۰ میلی‌گرم)		۰/۶۹۵^{b}	۱/۰۱^{a}	۰/۷۲۱^{b}	۱/۰۱^{a}	–	–	۰/۰۳	۰/۰۰۱	–	–
	روز نمونه‌گیری										
pH	۳۰	۶/۵۱^{ab}	۶/۳۱^{b}	۶/۴۸^{ab}	۶/۸۷^{a}	–	–	۰/۰۷۳	۰/۰۴	–	–
	۶۰	۶/۷۳^{b}	۶/۶۲^{b}	۶/۸۳^{b}	۷/۲۵^{a}	–	–	۰/۰۷۹	۰/۰۱	–	–
مقایسه بین روز ۳۰ با روز ۶۰	معنی‌داری	۰/۰۶	۰/۳۵	۰/۱۳	۰/۰۹						
نیتروژن آمونیاکی (میلی‌گرم/ لیتر)	۳۰	۲۰۳/۰۰^{a}	۱۴۲/۹۰^{b}	۱۶۲/۳۶^{b}	۲۱۵/۷۸^{a}	–	–	۸/۱۸	۰/۰۰۱	–	–
	۶۰	۹۶/۶۰^{b}	۱۰۷/۰۲^{ab}	۱۱۹/۲۸^{a}	۱۱۰/۱۹^{ab}	—		۲/۷۵	۰/۰۱۹	–	–
مقایسه بین روز ۳۰ با روز ۶۰	معنی‌داری	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۲	۰/۰۰۵						
اسیدهای چرب فرّار کل (میلی‌مول/ لیتر)	۳۰	۴۶/۸۱	۴۸/۹۲	۴۷/۳۷	۵۲/۷۲	—	–	۱/۷۰	۰/۶۳۷	–	–
	۶۰	۴۸/۵۰	۴۷/۲۶	۴۸/۶۱	۴۲/۴۵	–	–	۱/۷۲	۰/۵۷۶	–	–
مقایسه بین روز ۳۰ با روز ۶۰	معنی‌داری	۰/۷۵	۰/۸۱	۰/۷۶۲	۰/۰۲						
متان (مگاژول)	۳۰	۵/۱۲	۵/۱۱	۵/۱۲	۵/۱۲	–	–	۰/۰۰۳	۰/۸۸۷	–	–
	۶۰	۲/۸۲	۲/۸۲	۲/۸۲	۲/۸۲	–	–	۰/۰۰۱	۰/۸۸۲	–	–
مقایسه بین روز ۳۰ با روز ۶۰	معنی‌داری	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱						

۱. a-d: تفاوت میانگین‌ها با حروف نامشابه در هر ردیف معنی‌دار است (P<۰/۰۵).

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها.

تیمارهای شاهد، اول، دوم و سوم به‌ترتیب شامل جیره پایه بدون عصاره، به اضافه پنج، ۱۰ و ۲۵ میلی‌گرم عصاره شیرین‌بیان به‌ازای هر کیلوگرم ماده خشک مصرفی بود.

۲. براساس رابطه برآورد شده است.

نتایج متناقضی در مورد اثر گیاهان دارویی و عصاره یا اسانس آن‌ها بر غلظت نیتروژن آمونیاکی گزارش شده است. افزودن پودر گزنه و پودر شیرین‌بیان در مطالعه‌ای اثری بر میزان نیتروژن آمونیاکی شکمبه گوسفندان نداشت [۲۰]. طی بررسی ۵۱ مطالعه گزارش شده است در ۲۴ مطالعه حضور گیاهان محتوی ساپونین تأثیری بر میزان آمونیاک شکمبه نداشت، اما در ۲۷ مطالعه حضور ساپونین موجب کاهش آمونیاک در شکمبه شد و پیشنهاد کردند که این کاهش در غلظت آمونیاک شکمبه می‌تواند به‌طور غیرمستقیم به‌واسطه کاهش پروتوزوآ در حضور ساپونین باشد [۲۷]. کاهش در تعداد پروتوزوآ موجب کاهش بلعیدن باکتری‌ها و تجزیه پیکره باکتریایی است که در نتیجه فرآورده‌های حاصل از تجزیه پروتئین کاهش می‌یابد. پروتوزوآ در تولید ۴۰–۱۰ درصد کل نیتروژن شکمبه نقش دارند [۲۴]. گزارش شده است در محیط‌های آزمایشگاهی که پروتوزوآ حذف شده است، ۱۹ درصد تولید آمونیاک با افزودن ۰/۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر ساپونین چای کاهش یافت [۹]. کاهش ۴۱ و ۳۳ درصدی در نیتروژن آمونیاکی با افزودن به‌ترتیب ۱۰ و ۲۵ میلی‌گرم عصاره شیرین‌بیان به جیره بره ها در مطالعه حاضر مشاهده شد.

هیچ‌یک از سطوح به‌کاررفته عصاره گیاه شیرین‌بیان اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد در میزان اسیدهای چرب فرّار کل ایجاد نکرد و هم‌چنین بین تیمارها تفاوتی وجود نداشت. اما غلظت اسیدهای چرب استریفه برآوردشده براساس معادله؛ برای بره‌های دریافت‌کننده پنج و ۲۵ میلی‌گرم عصاره نسبت به بره‌های شاهد بیش‌تر بود (P<۰/۰۵). برخلاف مطالعه حاضر، افزودن چهارونیم درصد عصاره شیرین‌بیان، غلظت اسیدهای چرب فرّار کل شکمبه گوسفند قره‌گل را (۴۷ میلی‌مول در لیتر) در مقایسه با تیمار شاهد (۴۹ میلی‌مول در لیتر) کاهش داد [۸].

هم‌چنین گزارش شده است که افزودن یک درصد ساپونین به جیره گوساله‌های نر باعث کاهش غلظت کل اسیدهای چرب و استات و افزایش غلظت پروپیونات و بوتیرات شد [۱۳]. کاهش غلظت استات و کل اسیدهای چرب در بز به‌دنبال افزودن ساپونین به میزان ۲۶ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن بدن مشاهده شد [۲۲]. ساپونین با مهار باکتری‌های تولیدکننده استات و کاهش جمعیت پروتوزوآ سبب کاهش نسبت استات به پروپیونات می‌شود [۶]. برخی از پژوهش‌گران [۱۳و ۹] گزارش کردند که ساپونین‌ها باعث کاهش انتشار متان می‌شوند.

اثر سطوح مختلف عصاره شیرین‌بیان بر فراسنجه‌های آزمون گاز (کل تولید گاز، گاز متان، انرژی قابل متابولیسم و قابلیت هضم ماده آلی) در جدول (۴) نشان داده شده است. میزان هدرروی انرژی به شکل متان (مگاژول در روز) برآوردشده براساس هر دو رابطه تحت تأثیر مقدار عصاره قرار نگرفت. در اثر افزودن عصاره شیرین‌بیان به محیط تخمیر، شاخص کل گاز تولیدی که نشان‌دهنده تخمیر سوبسترا است، در دو تیمار اول و سوم افزایش نشان داد و هم‌چنین انرژی قابل متابولیسم برآورد شده و ماده آلی تجزیه شده نیز بهبود یافت (P<۰/۰۵). ماده آلی قابل‌هضم سوبسترا بین ۴۳–۵۵ درصد قابلیت هضم نشان داده است. براساس مقدار مصرف ماده خشک، هر دام ۲۲/۶۴ مگاژول در روز انرژی مصرف نموده (۱۱/۹۶×۱/۹=۲۲/۶۴ غلظت انرژی جیره در مقدار مصرف روزانه هر دام) است. متان تولیدی برحسب انرژی (مگا ژول) برای هر دام در روز حدود چهار تا پنج مگاژول بود. یعنی به عبارتی بین ۱۷–۲۲ درصد انرژی مصرفی دام به‌صورت متان هدررفته که این مقدار در منابع معتبر بین ۱۰–۱۵ درصد بیان شده است.

در مطالعه روی گوسفندان مشخص شده است که افزودن چهار سطح عصاره اتانولی گل گاو زبان که حاوی ساپونین است در شرایط آزمایشگاهی سبب افزایش تولید گاز، کاهش ضریب تفکیک، کاهش تولید متان تا ۵۴ درصد، نیتروژن آمونیاکی و جمعیت پروتوزآ در ۲۴ ساعت انکوباسیون شد [۱۷]. در یک مطالعه آزمایشگاهی، اثرات افزودن عصاره شیرین‌بیان (محتوی ۲۲ درصد گلیسیرریزین) به خوراک در سطوح مختلف (۲/۲۵ تا ۳۱/۵ درصد ماده خشک خوراک) روی فرایند تخمیر شکمبه گوسفند نشان داد که سطح عصاره شیرین‌بیان کم‌تر از چهارونیم درصد، اثر محدودی بر عملکرد شکمبه داشت درحالی‌که سطوح بیش از آن سبب کاهش تولید گاز و تولید اسیدهای چرب فرّار شد [۷]. این پژوهش‌گران هم‌چنین در مطالعه درون‌تنی نشان دادند که افزودن عصاره ریشه شیرین‌بیان به جیره گوسفند سبب کاهش کل اسیدهای چرب فرّار شکمبه و غلظت استات شد در حالی‌که تولید پروپیونات و بوتیرات در مقایسه با شاهد افزایش داشت [۷] که علت این روند را به محتوای ساپونین ریشه شیرین‌بیان ارتباط دادند.

اثر سطوح مختلف عصاره شیرین‌بیان بر جمعیت پروتوزوآ در جدول (۵) نشان داده شده است. جمعیت پروتوزوآی کل، انتودینیوم و خانواده ایزوتریشیدا در همه سطوح عصاره شیرین‌بیان نسبت به گروه شاهد کاهش یافت (P<۰/۰۵). جمعیت گونه اُفریواسکالکس تحت تأثیر افزودن عصاره شیرین‌بیان به جیره قرار نگرفت، تنها سطح ۲۵ میلی‌گرم عصاره باعث کاهش معنی‌دار جمعیت داسی‌تریشیدا نسبت به شاهد شد (P<۰/۰۵). اگرچه تمام سطوح عصاره سبب کاهش تعداد پروتوزآی جنس دیپلودینه نسبت به گروه شاهد شد اما تنها اختلاف دوزهای پنج و ۱۰ میلی‌گرم عصاره از نظر آماری معنی‌دار بود (P<۰/۰۵). تفاوت معنی‌داری بین جمعیت پروتوزوآ صرف‌نظر از تیمارهای آزمایشی بین شمارش روزهای ۳۰ و ۶۰ آزمایش مشاهده نشد.

جدول ٤ . اثر سطوح مختلف عصاره شیرین‌بیان بر برخی فراسنجه‌های آزمون تولید گاز

فراسنجه آزمون تولید گاز	تیمارهای آزمایشی۱				SEM	معنی‌داری
	شاهد	اول	دوم	سوم		
متان (مگاژول در روز)[۲] (رابطه ۱)	۵/۰۶	۵/۰۵	۵/۰۶	۵/۰۶	۰/۰۰۳	۰/۷۳۶
متان (مگاژول در روز)[۲] (رابطه ۲)	۴/۱۱	۴/۰۹	۴/۱۱	۴/۱۱	۰/۰۰۷	۰/۷۶۴
کل گاز تولیدی در ۲۴ ساعت انکوباسیون (میلی‌لیتر)	^{b}۳۱/۵۰	^{a}۴۵/۶۶	^{b}۳۱/۰۰	^{a}۴۶/۰۰	۱/۶۷	۰/۰۰۱
انرژی قابل متابولیسم (مگاژول/ کیلوگرم ماده خشک)	^{b}۶/۴۸	^{a}۸/۴۱	^{b}۶/۶۴	^{a}۸/۴۵	۰/۲۱	۰/۰۰۱
ماده آلی تجزیه‌شده (میلی‌گرم/ ۲۰۰ میلی‌گرم)	^{b}۸۰/۸۹	^{a}۱۰۴/۶۴	^{b}۸۲/۸۴	^{a}۱۰۵/۲۰	۲/۶۱	۰/۰۰۱
ماده آلی تجزیه شده (درصد)	^{b}۴۲/۸۸	^{a}۵۵/۴۸	^{b}۴۳/۹۰	^{a}۵۵/۷۷	۱/۳۸	۰/۰۰۱

a-d: تفاوت میانگین‌ها با حروف نامشابه در هر ردیف معنی‌دار است (P<۰/۰۵).

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها.

۱. تیمارهای شاهد، اول، دوم و سوم به‌ترتیب شامل جیره پایه بدون عصاره، به اضافه پنج، ۱۰ و ۲۵ میلی‌گرم عصاره شیرین‌بیان به‌ازای هر کیلوگرم ماده خشک مصرفی بود.

۲. مقادیر هدرروی انرژی به شکل گاز متان براساس روابط زیر برآورد شد [۶].

رابطه ۱) $CH_{4\,(MJ/d)} = ۳/۹۶(\pm ۱/۱۸) + ۰/۵۶۱(\pm ۰/۱۳۰) \times DMI_{(kg/d)}$

رابطه ۲) $CH_{4\,(MJ/d)} = ۲/۷۰(\pm ۱/۳۸) + ۱/۱۶(\pm ۰/۲۷۱) \times DMI_{(kg/d)} - ۱۵/۸(\pm ۶/۸۶) \times EE_{(kg/d)}$

گزارش شده است که افزودن پودر شیرین‌بیان به جیره گوسفند سبب افزایش جمعیت پروتوزوآ نسبت به گروه شاهد در قبل از خوراک‌دهی شد، اما در ساعات بعد خوراک‌دهی تفاوتی بین تیمارها مشاهده نشد [۲۰]. هرچند در مطالعه‌ای افزودن عصاره اتانولی و استونی شیرین‌بیان سبب کاهش تولید گاز متان و جمعیت پروتوزآی شکمبه بز شد [۱۶]. این پژوهش‌گران بیان کردند که احتمالاً ترکیبات مؤثر در شیرین‌بیان (ساپونین) با کاهش جمعیت پروتوزوآ در شکمبه و به‌دنبال آن کاهش تجزیه پروتئین، سبب بهبود راندمان مصرف نیتروژن شوند. هم‌چنین گزارش شده است که افزودن چهار سطح عصاره اتانولی گل گاوزبان (حاوی ساپونین) در شرایط آزمایشگاهی جمعیت پروتوزوآیی را کاهش داد [۱۷]. در بزهای رائینی استفاده از پنج، ۱۰ و ۱۵ درصد از سیلاژ تفاله شیرین‌بیان تأثیری بر جمعیت پروتوزوآیی کل و انتودینیوم شکمبه بز نداشت [۲۳]. اثر ساپونین بر پروتوزوآی شکمبه به‌خوبی به اثبات رسیده است. ساپونین با پروتوزوآزدایی عملکرد نشخوارکنندگان را تغییر می‌دهد البته این تفاوت در عملکرد بستگی به جیره و ساختار ساپونین نیز دارد؛ پروتوزوآزدایی ممکن است هضم فیبر در شکمبه را کاهش دهد [۲۶].

براساس نتایج حاصل، افزودن ۲۵ میلی‌گرم عصاره شیرین‌بیان به‌ازای هر کیلوگرم ماده خشک مصرفی سبب بهبود متابولیسم شکمبه و عملکرد بره‌های پرواری می‌شود اما بر تلفات انرژی به شکل متان اثری ندارد.

جدول ۵. اثر سطوح مختلف عصاره شیرین‌بیان بر پروتوزوآ ($N\times10^5$)

فراسنجه	تیمارهای آزمایشی۱				زمان نمونه‌برداری		SEM	معنی‌داری		
	شاهد	دوم	سوم	چهارم	۳۰	۶۰		تیمار	زمان	تیمار در زمان
پروتوزوآ کل	۹۸/۰۸^{a}	۸۱/۰۸^{b}	۷۴/۱۶^{b}	۷۴/۷۵^{b}	۸۰/۵۸	۸۳/۴۵	۲/۵۰	۰/۰۰۱	۰/۵۰۲	۰/۲۳۹
اِنتودینینه‌ها	۹۳/۵۸^{a}	۷۸/۳۳^{b}	۷۲/۰۰^{b}	۷۳/۰۰^{b}	۷۷/۵۴	۸۰/۹۱	۲/۳۸	۰/۰۰۲	۰/۴۱۸	۰/۲۲۸
اُفریواسکالکس	۰/۷۵۰	۰/۷۵۰	۰/۵۰۰	۰/۴۱۶	۰/۷۵	۰/۴۶	۰/۱۰۲	۰/۵۶۹	۰/۱۶۹	۰/۷۸۲
دیپلودینه	۱/۰۰۰^{a}	۰/۲۵۰^{b}	۰/۳۳۳^{b}	۰/۵۰۰^{ab}	۰/۵۴	۰/۵۰	۰/۱۰۳	۰/۰۵۴	۰/۸۳۷	۰/۸۴۶
ایزوتریشیدا	۱/۳۳۰^{a}	۰/۵۸۳^{b}	۰/۵۸۳^{b}	۰/۳۳۳^{b}	۰/۹۶	۰/۵۰	۰/۱۲۹	۰/۰۳۶	۰/۰۹۶	۰/۹۰۰
داسی تریشیدا	۱/۴۱۰^{a}	۱/۱۶۰^{ab}	۰/۷۵۰^{ab}	۰/۵۰۰^{b}	۰/۸۳	۱/۰۸	۰/۱۴۲	۰/۰۱۱	۰/۳۸۲	۰/۸۵۳

۱. a-d: تفاوت میانگین‌ها با حروف نامشابه در هر ردیف معنی‌دار است (P<۰/۰۵).

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها.

تیمارهای شاهد، اول، دوم و سوم به‌ترتیب شامل جیره پایه بدون عصاره، به اضافه پنج، ۱۰ و ۲۵ میلی‌گرم عصاره شیرین‌بیان به‌ازای هر کیلوگرم ماده خشک مصرفی بود.

٤. تشکر و قدردانی

از مسئولین محترم گروه علوم دامی ، مدیریت و کارمندان مزرعه گوسفنداری پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه رازی تقدیر و تشکر به‌عمل می‌آید.

٥. تعارض منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان وجود ندارد.

٦. منابع

1. AOAC (1995) Official Methos of Analysis. 15th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC.
2. Barnett A and Reid R (1957) Studies on the production of volatile fatty acids from grass by rumen liquor in an artificial rumen. 1. The volatile acid production from fresh grass. *Journal of Agricultural Science*, 48: 315-321.
3. Benchaar C, McAllister TA and Chouinard PY (2008) Digestion, ruminal fermentation, ciliate protozoal populations, and milk production from dairy cows fed cinnamaldehyde, quebracho condensed tannin, or *Yucca schidigera* saponin extracts. *Journal of Dairy Science*, 91: 4765-4777.
4. Broderick G and Kang J (1980) Automated simultaneous determination of ammonia and total amino acids in ruminal fluid and *in vitro* media. *Journal of Dairy Science*, 63: 64-75.
5. Das Das TK, Banerjee D, Chakraborty D, Pakhira MC, Shrivastava B and Kuhad RC (2012) Saponin: Role in animal system. *Veterinarian World*, 5(4): 248-254.
6. Ellis J, Kebreab E, Odongo N, McBride B, Okine E and France J (2007) Prediction of methane production from dairy and beef cattle. *Journal of Dairy Science*, 90: 3456-3466.
7. Guo X, Liu J, Sun L, Gao J and Zahng S (2012) Effects of licorice extracts on rumen fermentation and methane yield of sheep *in vitro*. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 24 (8): 1548-1556.
8. Guo X, Cheng L, Liu J, Zhang S, Sun X and Al-Marashdeh O (2019) Effects of licorice extract supplementation on feed intake, digestion, rumen function, blood indices and live weight gain of karakul sheep Animal, 9 (5)
9. Hu WL, Liu JX, Ye JA, Wu YM and Guo YQ (2005) Effect of tea saponin on rume fermentation *in vitro*. *Animal Feed Science and Technology*, 120: 333-339.
10. Khan Ahmadi M, Naghdi Badi H, Akhondzadeh S, Khalighi Sigaroodi F, Mehrafarin A, Shahriari S and Hajiaghaee R (2013) A review on medicinal plant of *Glycyrrhiza glabra* L. *Journal of Medicinal Plants*, 12(46): 1-12 (In Persian)
11. Kim DH, Kim KM, Nam IS, Lee SS, Choi CW, Kim WY, Kwon EG, Lee KY, Lee MJ and Oh YK (2013) Effect of indigenous herbs on growth, blood metabolites and carcass characteristics in the late fattening period of Hhanwoo steers. *Asian-Australian Journal of Animal Science*, 26: 1562-1568.
12. Leng RA, Bird SH, Klieve A, Choo BS, Ball FM, Asefa G, Brumby P, Mudgal VD, Chaudhry UB, Haryono SU and Hendratno N (1992) The potential for tree forage supplements to manipulate rumen protozoa to enhance protein to energy ratios in ruminants fed on poor quality forages. In: Speedy A and Pugliese PL (Eds.) Legume trees and other fodder trees as protein sources. *FAO Animal Production and Health Paper*, 102: 177-191.

13. Lila Z, Mohammed N, Kanda S, Kamada T and Itabashi H (2003) Effect of sarsaponin on ruminal fermentation with particular reference to methane production *in vitro. Journal of Dairy Science*, 86(10): 3330-3336.
14. Menke KH and Steingass H (1988) Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. *Animal Research Development*, 28: 7-55.
15. Menke KH, Raab L, Salewski A, Steingass H, Fritz D and Schneider W (1979) The estiation of the digestibility and metabolisable energy content of ruminant feedstuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor *in vitro*. *Journal Agriculture Science*, (Camb.) 92: 217-222.
16. Nooriyan Soroor ME, Khezrian A and Moeini MM (2016) Effects of ethanol and acetone extracts of *Glycyrrhiza glabra* root on ruminal fermentation parameters, methane production and goat protozoa population. *Iranian Journal of Animal Science*, 18 (4): 729-740 (In Persian)
17. Nooriyan Soroor ME and Roozbehan Y (2012) The influence of *Echium amoneum* extract on *in vitro* ruminal fermentation, protozoa population and reduction of methane production. *Iranian Journal of Animal Science*, 43 (2): 287-296 (In Persian)
18. NRC (2007) Nutrient Requirements of Small Ruminanants sheep, Goats,Cervids, and new world camelids. National Acadrmy Press,Washington, D.C
19. Rahchamani R, Faramarzi M, Moslemipor F and Bayat Kohsar J (2019) Effect of supplementing of sheep diet with *Glycyrrhiza glabra* and *Urtica dioica* powder on growth performance, rumen bacterial. *Iranian Journal of Applied Animal Science*, 9(1): 95-103 (In Persian)
20. Rahchamani R, Ghanbari F, Mostafalo Y and Ghasemifard M (2017) Effects of *Matricaria chamomille* and *Cichorium intybus* powder on performance, rumen microbial population and some blood parameters of Dallagh sheep. *Iranian Journal of Veterinary Medicine*, 11 (3): 267-277 (In Persian)
21. Sajjadi R, Solati AA, Khodaei Motlagh M and Kazemi Bonchenari M (2014) Immune responses and some blood metabolite responses of female Holstein calves to dietary supplementation with licorice root (*Glycyrrhiza glabra*) *Iranian Journal of Applied Animal Science*, 4(3): 505-508 (In Persian)
22. Santoso B, Kilmaskossu A and Sambodo P (2007) Effects of saponin from *Biophytum petersianum*Klotzsch on ruminal fermentation, microbial protein synthesis and nitrogen utilization in goats. *Animal Feed Science and Technology*, 137(1-2): 58-68.
23. Taheri M, Tahmasbi R, Sharifi Hosseini MM and Dayani O (2018) Effects of feeding ensiled Licorice pulp with waste date on digestibility, blood parameters and microbial protein production in Raeini goats. *Journal of Animal Production*, 20 (1): 15-27 (In Persian)
24. Van Soest PJ (1994) Nutritional ecology of the ruminant, 2nd edition, Cornell University Press, United States.
25. Vercoe PE, Makkar HP and Schlink AC (2010) *In vitro* screening of plant resources for extra-nutritional attributes in ruminants: Nuclear and Related Methodologies. Springer Netherlands.
26. Williams AG and Coleman GS (1997) The Rumen Protozoa. In: Hobson PN and Stewart CS (Eds.), The Rumen Microbial Ecosystem. 2nd Edition, Springer, Dordrecht. pp.73-139
27. Wina E, Muetze S and Becker K (2005) The impact of saponins or saponin containing plant materials on ruminant production - A Review. *Journal Agriculture Food Chemistry*, 53: 8093-8105.
28. Zebeli Q, Tafaj M, Weber I, Steingass H and Drochner W (2008) Effects of dietary forage particle size and concentrate level on fermentation profile, *in vitro* degradation characteristics and concentration of liquid- or solid-associated bacterial mass in the rumen of dairy cows. *Animal Feed Science and Technology*, 140: 307-325.