نشریه علوم دامی
(پژوهش و سازندگی)

شماره ۱۲۲، بهار ۱۳۹۸
ص‌ص: ۱۸۷~۲۰۲

مخلوط پودر گیاهان دارویی و اسانس آن‌ها بر الگوی تخمیر شکمبه، فراسنجه‌های خونی، تولید و ترکیب شیر در گاوهای شیرده هلشتاین

- **مهدی مهرآبادی**
دانشجوی دکتری تغذیه دام، دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد
- **علیرضا وکیلی** (نویسنده مسئول)
دانشیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد.
- **محسن دانش مسگران**
استاد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
- **رضا ولی‌زاده**
استاد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

تاریخ دریافت : بهمن ۱۳۹۶ تاریخ پذیرش : خرداد ۱۳۹۷

شماره تماس نویسنده مسئول: ۰۹۱۵۳۱۴۸۳۳۹
Email: savakili@um.ac.ir

شناسه دیجیتال (DOI): 10.22092/asj.2018.120547.1630

چکیده

هدف از انجام این مطالعه، بررسی اثر مخلوط پنج گیاه دارویی شامل سیر، اکالیپتوس، دارچین، آویشن، نعناع فلفلی و همچنین اسانس آن‌ها بر تولید و ترکیب شیر و فراسنجه‌های خونی گاوهای هلشتاین در اواسط شیردهی بود. این آزمایش با ۱۸ راس گاو شیری هلشتاین در قالب طرح کاملا تصادفی با سه تیمار شامل تیمار شاهد، تیمار مخلوط گیاهان دارویی (HPM:۱۰ گرم در کیلوگرم ماده خشک کنسانتره) و تیمار مخلوط اسانس گیاهان دارویی(EOM:۱۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک کنسانتره) به مدت ۲۸ روز و با ٦ رأس گاو در هر تیمار اجرا شد. تولید شیر روزانه در سه بار دوشش اندازه‌گیری شد. در روزهای پایانی آزمایش نمونه‌گیری از خون و مایع شکمبه انجام شد. تولید شیر و ترکیبات آن تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفتند، به‌طوری که استفاده از EOM در مقایسه با تیمار شاهد و HPM باعث افزایش تولید شیر (۲۵/۹ در مقابل ۲۷/۳ و ۲٤/۷۲ کیلوگرم در روز)، پروتئین (۲/٦۳ در مقابل ۲/۸٤ و ۲/٦٥ کیلوگرم در روز) و کل مواد جامد شیر (۸/۸٤ در مقابل ۸/۸۹ و ۸/۸٦ کیلوگرم در روز) گردید. هر دو ترکیب HPM و EOM غلظت کل اسیدهای چرب اشباع شیر را کاهش و غلظت اسیدهای چرب غیراشباع را افزایش دادند (P<۰/۰۵). غلظت آنزیم آسپارتات آمینوترانسفراز (AST) و تری‌گلیسرید پلاسما بعد از مصرف خوراک و پروتئین پلاسما قبل از مصرف خوراک تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفتند (P<۰/۰۵). به‌طور کلی استفاده از اسانس‌های گیاهی با تاثیر بر الگوی تخمیر شکمبه، باعث بهبود تولید شیر درگاوهای شیری شده و می‌تواند سبب تغییر در ترکیبات شیر شود.

واژه‌های کلیدی: گیاهان دارویی، گاو شیری، اسیدهای چرب فرار، تخمیر شکمبه

Animal Science Journal (Pajouhesh & Sazandegi) No 122 pp: 187-202

The effect of powdered medicinal plants and essential oils on the rumen fermentation, blood parameters, production and composition of milk in Holstein lactating cows

By: M. Mehrabadi[1], A. Vakili[1,*], M. Danesh mesgaran[1] and R. Valizadeh[1]
[1]Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

Received: February 2018 **Accepted: May 2018**

The aim of this study was to investigate the effect of mixing five medicinal herbs, including garlic, eucalyptus, cinnamon, thyme, peppermint, as well as essential oils on the production and composition of milk and blood parameters of Holstein dairy cows. This experiment was carried out with 18 dairy cow in a completely randomized design with three treatments, a medicinal herb mix (HPM: 10 g/kg dry matter concentrate) and a mixture of herbal essential oil (EOM: 150 mg/kg dry matter concentrate) for 28 days and 6 cow for each treatment. Daily milk production was measured at three times. In the final days of the experiment, blood and rumen fluid sampling was performed. Results indicated that milk production and its compounds were affected by experimental treatments, so that the use of EOM increased milk production compaired to control and HPM (25.9 vs. 27.37 and 24.72 kg/day), protein (2.63 vs. 2.84 and 2.65 kg/day) and total solids content (8.84 versus 8.89 and 8.86 kg/day). Both HPM and EOM combinations reduced the concentration of total saturated fatty acids and increased the concentration of unsaturated fatty acids (P<0.05). The concentration of aspartate aminotransferase (AST) enzymes and plasma triglyceride after food intake and total plasma protein concentration were measured before treatment (P<0.05). Generally, the use of herbal essential oils with an effect on the rumen fermentation pattern improves milk production in dairy cows and can change the composition of milk.

Key words: herbal plants, dairy cow, fatty acids, rumen fermentation

مقدمه

از ژانویه ۲۰۰۶ که استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها به‌دلیل ایجاد مقاومت در میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا و باقی‌ماندن در محصولات دامی و انتقال آن‌ها از طریق شیر و گوشت به انسان ممنوع شد، استفاده از افزودنی‌های طبیعی از جمله اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی به‌عنوان جایگزین آنتی‌بیوتیک‌ها افزایش یافت(Sirohi و همکاران، ۲۰۱۲). بسیاری از این ترکیبات گیاهی اثرات مفیدی بر پارامترهای شکمبه دارند. بر این اساس استفاده از گیاهان دارویی برای تعدیل و کنترل متابولیسم تخمیر شکمبه ثابت شده است(Simitzis و Deligeorgis، ۲۰۱۱). بیشتر حجم گاز تولید شده در شکمبه شامل دی اکسیدکربن و متان می‌باشد(Dehority، ۲۰۰۳). از آنجایی‌که متان تولیدی توسط نشخوارکنندگان منجر به هدر روی ۲ تا ۱۵درصد نیتروژن جیره حیوانات شده و اثر مهمی در انتشار گازهای گلخانه‌ای دارد(Moss و Jouany، ۲۰۰۰)، بنابراین کاهش متان تولیدی در شکمبه می‌تواند عملکرد دام‌ها را بهبود داده و اثر گلخانه‌ای آنها را کاهش دهد(Dong و همکاران، ۲۰۱۰). پژوهش‌های متعدد نشان می‌دهدکه استفاده از گیاهان دارویی از جمله نعناع فلفلی(Agarwal و همکاران، ۲۰۰۹)، اکالیپتوس(Sallam و همکاران، ۲۰۱۱)، آویشن(Castillejos و همکاران، ۲۰۰۷) و دارچین(Fraster و همکاران، ۲۰۰۷) در جیره نشخوارکنندگان سبب بهبود تخمیر میکروبی شکمبه از طریق کاهش غلظت آمونیاک به واسطه تأثیر آن‌ها بر باکتری‌های تولید کننده آمونیاک و در نتیجه کاهش دآمیناسیون اسیدهای آمینه، کاهش تجمع متان، کاهش تعداد تک یاخته‌ها و تغییر نسبت‌های مولی اسیدهای چرب فرار شد. Tassoul و Shaver، ۲۰۰۹ با مکمل‌سازی روزانه یک گرم سینامالدهید در جیره گاوهای شیری، تولید شیر و میزان

پروتئین شیر را افزایش دادند. افزایش تولید شیر با کاربرد اسانس-های گیاهی احتمالا در نتیجه افزایش اسیدهای چرب فرار مخصوصا پروپیونات به دلیل افزایش دسترسی انرژی، کاهش متان تولیدی و در نتیجه کاهش هدرروی انرژی می‌باشد (Ruiz و همکاران، ۲۰۰۲) زیرا پروپیونات طی عمل گلوکونئوژنز کبد به گلوکز تبدیل شده، و به عنوان یک منبع انرژی در سلول‌های ترشح کننده شیر در پستان عمل می‌کند(Aschenbach و همکاران، ۲۰۱۰). با توجه به این‌که تعداد گیاهان دارویی و اسانس‌آن‌ها بسیار زیاد است، و نیز کاربرد مخلوط گیاهان دارویی می‌تواند نتایج متفاوتی از کاربرد انفرادی آن‌ها ایجاد نماید، تاکنون اثر همه‌ی گیاهان دارویی بر جمعیت میکروبی شکمبه و عملکرد گاو شناسایی نشده است. لذا مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر مخلوط پودر گیاهان دارویی سیر، دارچین، آویشن، اکالیپتوس و نعناع فلفلی و اسانس آن‌ها بر الگوی تخمیر شکمبه، فراسنجه‌های خونی، تولید و ترکیب شیر در گاوهای شیرده هلشتاین انجام شد.

مواد و روش‌ها

تهیه گیاهان دارویی و اسانس‌گیری: سه گیاه دارویی سیر، آویشن و نعناع فلفلی از مزرعه گیاهان دارویی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد برداشت شدند و دو گیاه دارچین و اکالیپتوس خریداری شدند. گیاهان سالم و کامل و بدون آسیب‌دیدگی جمع‌آوری گردید و کل بخش ساقه و برگ گیاه، به منظور تهیه پودر مورد استفاده قرار گرفت. با ارسال نمونه‌هایی از گیاه تازه به پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی مشهد و مقایسه آن با نمونه‌های هرباریومی، نوع و نام علمی هر نمونه گیاه تایید گردید. سپس گیاهان در محل آزمایشگاه به صورت هوا خشک طی مدت ۱۰روز خشک شدند. جهت استخراج اسانس گیاهان از روش تقطیر با آب و دستگاه اسانس‌گیری کلونجر[1] استفاده گردید. بدین ترتیب که ۱۰۰ گرم از گیاه خشک ابتدا با استفاده از آسیاب آزمایشگاهی (Cyclotec, 1883, Sample mill) با قطر منافذ ۲ میلی‌متر آسیاب و سپس به بالن ۲ لیتری کلونجر منتقل گردید و در ادامه مقدار ۱ لیتر آب مقطر به آن اضافه گردید. عملیات اسانس‌گیری به‌مدت ۴ ساعت انجام پذیرفت. در طی عملیات اسانس‌گیری، به‌علت فرار بودن، اسانس همراه بخار آب تقطیر شد و در لوله جمع‌آوری کننده کلونجر جمع‌آوری گردید. با توجه به اینکه چگالی اسانس از چگالی آب کمتر است، بنابراین اسانس استخراج شده روی فاز آبی قرار گرفته و براحتی توسط شیر تخلیه جداسازی شد. عمل آبگیری از اسانس حاصل توسط سولفات سدیم بدون آب (Na_2So_4) صورت پذیرفت(Clevenger، ۱۹۲۸).

دام‌ها و جیره غذایی: در این آزمایش ۱۸ رأس گاو شیرده هلشتاین با میانگین روزهای شیردهی ۱۸±۱۵۰ روز، میانگین تولید شیر ۵/۸±۲۶/۷ کیلوگرم در روز و وزن بدن ۶۱/۲±۶۲۰/۷ کیلوگرم، از گله گاوهای گاوداری انتخاب و به صورت انفرادی گروه‌بندی شدند. آزمایش در قالب طرح کاملا تصادفی با طول دوره آزمایشی ۲۸ روزه (۱۴ روز عادت‌دهی و ۱۴روز نمونه-گیری) انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل ۱) جیره پایه بدون افزودنی (شاهد)، ۲)جیره پایه به اضافه مخلوط پنج گیاه دارویی سیر، اکالیپتوس، دارچین، آویشن و نعناع فلفلی (Herbal Plant Mixture: HPM) در سطح ۱۰ گرم در کیلوگرم ماده خشک کنسانتره و ۳)جیره پایه به اضافه مخلوط اسانس پنج گیاه دارویی سیر، اکالیپتوس، دارچین، آویشن و نعناع فلفلی به نسبت‌های به ترتیب ۲۲/۲۲، ۱۱/۱۱، ۳۳/۳۳، ۲۲/۲۲ و ۱۱/۱۱ (Essential Oil Mixture: EOM) در سطح۱۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک کنسانتره. تیمارها به‌صورت سرک به جیره افزوده شدند. انتخاب سطوح و نسبت‌ها بر اساس نتایج آزمایشات قبلی انجام شده صورت گرفت(Mehrabadi و همکاران، ۲۰۱۷).

خوراک مصرفی: جیره های آزمایشی با نرم افزار انجمن تحقیقات ملی (NRC، ۲۰۰۱) متوازن گردید. تغذیه گاوها به صورت انفرادی، با جیره‌ای مخلوط (TMR) و با نسبت کنسانتره به علوفه ۶۰ به ۴۰ در سه نوبت بعد از هر بار شیردوشی صورت گرفت و آب به صورت آزاد در دسترس گاوها قرار گرفت. باقی-مانده جیره‌های تحت آزمون هر روز صبح جمع‌آوری و توزین گردید و مصرف ماده خشک روزانه از اختلاف بین میزان جیره غذایی ریخته شده در آخور و پس آخور محاسبه شد. وزن‌کشی گاوها قبل از خوراک‌دهی در شروع و پایان آزمایش انجام پذیرفت. مقدار خوراک ریخته شده در آخور به گونه‌ای بود که بین ۵ تا ۱۰ درصد پس‌مانده وجود داشته باشد. نمونه‌گیری از هر جیره تحت آزمون پس از مخلوط شدن در ماشین خوراک ریز و در زمان تخلیه در آخور گاوها انجام شد.

[1] Clevenger apparatus

جدول ۱- مواد خوراکی و ترکیب شیمیایی جیره‌های آزمایشی

	جیره پایه	HPM	EOM
ترکیبات جیره (٪ در ماده خشک)			
دانه ذرت آسیاب شده	۱۸	۱۸	۱۸
دانه جو آسیاب شده	۲۰/۴	۲۰/۴	۲۰/۴
کنجاله سویا	۴/۸	۴/۸	۴/۸
کنجاله تخم پنبه	۷/۲	۷/۲	۷/۲
تفاله چغندر قند	۲/۸۸	۲/۸۸	۲/۸۸
سبوس گندم	۶/۳	۶/۳	۶/۳
کربنات کلسیم	۰/۱۸	۰/۱۸	۰/۱۸
مکمل معدنی و ویتامینی[1]	۰/۱۲	۰/۱۲	۰/۱۲
نمک	۰/۱۲	۰/۱۲	۰/۱۲
یونجه	۶	۶	۶
سیلوی ذرت	۱۶	۱۶	۱۶
کاه	۱۸	۱۸	۱۸
مخلوط گیاهان دارویی(درصد در ماده خشک)	–	۰/۶	–
مخلوط اسانس گیاهی(درصد در ماده خشک)	–	–	۰/۰۰۹
ترکیبات شیمیایی جیره‌های آزمایشی(گرم در کیلوگرم ماده خشک)			
ماده خشک	۸۸۰	۸۸۲	۸۸۰
الیاف نامحلول در شوینده اسیدی	۲۲۸	۲۲۹	۲۲۸
الیاف نامحلول در شوینده خنثی	۴۸۳	۴۸۰	۴۸۲
عصاره اتری	۳۳/۲	۳۶	۳۴
خاکستر	۷۷/۶	۷۳/۵	۷۷
پروتئین خام	۱۳۱/۲	۱۲۹/۶	۱۳۱
ماده آلی[2]	۹۲۲/۴	۹۲۶/۵	۹۲۳
کربوهیدرات غیر الیافی[3]	۱۷۵	۱۷۱	۱۷۵

[1]هر کیلوگرم از مکمل معدنی و ویتامینی حاوی ۱۹ گرم کلسیم، ۹۰ گرم فسفر، ۵۰ گرم سدیم، ۱۹گرم منیزیم، ۳ گرم آهن، ۳۰۰ میلی‌گرم مس، ۲۰۰۰ میلی‌گرم منگنز، ۳۰۰۰ میلی‌گرم روی، ۱۰۰ میلی‌گرم کبالت، ۱۰۰ میلی‌گرم ید، ۱ میلی‌گرم سلنیوم، ۳۰۰۰ میلی‌گرم آنتی‌اکسیدانت (B.H.T)، ۵۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین A، ۱۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین D_3و ۱۰۰ میلی گرم ویتامین E بود. [2]ماده آلی = خاکستر-۱۰۰. [3]$NFC = 100 - [\% CP + (\% NDF - NDFCP) + \% ash + \% fat]$.

فراسنجه‌های خونی: در آخرین روز آزمایش قبل از خوراک‌دهی وعده صبح و ۴ ساعت پس از خوراک‌دهی، نمونه خون از ورید گردن تحت خلا حاوی ماده ضد انعقاد هپارین جمع‌آوری گردید. بلافاصله پس از نمونه‌گیری، نمونه‌های خون در یخ به آزمایشگاه منتقل شدند و پلاسمای آن با سانتریفیوژ(۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه) جدا شدند. نمونه‌های پلاسمای خون تا زمان آزمایش‌های مربوطه در فریزر با دمای ۲۰- درجه‌سانتی‌گراد نگهداری شدند. متابولیت‌های خونی شامل گلوکز، آلبومین، پروتئین کل، نیتروژن اوره‌ای، کلسترول، تری‌گلیسیرید، و همچنین آنزیم‌های کبدی (آلانین آمینوترنسفراز و آسپاراتات آمینوترنسفراز) با استفاده از کیت‌های بیوشیمیایی شرکت بیوسیستم (BioSystem, Spain) و با دستگاه اتوآنالایزر بیوسیستم مدل A-15 ساخت کشور اسپانیا، در آزمایشگاه گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد اندازه گیری شد.

ترکیبات و الگوی اسیدهای چرب- شیر: گاوها روزانه سه بار در ساعت‌های ۸:۰۰، ۱۶:۰۰ و ۲۴:۰۰ دوشیده شدند. در روز ۲۱ و ۲۷ دوره آزمایشی نمونه شیر از هر سه وعده دوشش اخذ و پس از مخلوط شدن بر اساس مقدار شیر تولیدی در هر وعده، برای مقادیر چربی، پروتئین، لاکتوز، مواد جامد بدون چربی، کل مواد جامد، نیتروژن اوره‌ای و شمارش سلول‌های بدنی شیرتوسط دستگاه میلکواسکن فاس (Foss) مدل ۲۳۴۵، ساخت کشور دانمارک در آزمایشگاه مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی مورد آنالیز قرار گرفتند.

علاوه بر نمونه‌گیری شیر برای اندازه‌گیری ترکیبات آن، نمونه دیگری نیز جهت تعیین الگوی اسیدهای چرب آن اخذ گردید. این نمونه‌ها بر اساس میزان تولید شیر در هر وعده مخلوط شده و به داخل ویال های پلاستیکی ریخته و پس از لیوفیلیزه[2] کردن در فریزر با دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. نمونه‌های شیر لیوفیلیزه شده (۲۵۰ میلی گرم) در یک تیوب ۲۵ میلی‌لیتری وزن شده و به آن ۲ میلی‌لیتر آب دو بار تقطیر که از پیش‌گرم شده بود اضافه گردید. سپس محتوای آن به مدت ۱ دقیقه ورتکس و ۱۵ دقیقه در دمای اتاق نگه‌داشته شد. پس از آن چربی شیر با استفاده از روش mini roese-gottleb استخراج شده و به دنبال آن اسیدهای چرب با استفاده از هپتان و محلول متانولی هیدروکسید پتاسیم و با روش ISO (۲۰۰۰) متیله شدند. برای تعیین الگوی اسیدهای چرب متیل استرهای تهیه شده از دستگاه گاز کروماتوگرافی (Gas Chromatography, Agilent Technologies 7890A, USA) استفاده شد. نمونه‌ها با نسبت اسپلیت ۱ به ۵۰ به دستگاه تزریق شدند. هیدروژن گاز حامل دستگاه و فشار ورودی ۲۴۶/۳۸ کیلو پاسکال بود. قله اسیدهای چرب براساس زمان ابقای آن‌ها تعیین شد. جداسازی متیل استرهای اسیدهای چرب با ستون سوپلکو (Supelco column model# SP-2560, Sigma-Aldrich;75m×180µm×0.14µm) انجام گرفت. برنامه دمایی دستگاه با ۷۰ درجه سانتی‌گراد شروع شد و ۲ دقیقه در این دما ثابت ماند. سپس هر دقیقه ۱۵ درجه سانتی‌گراد به آن اضافه شد تا به ۱۵۰ درجه سانتی‌گراد برسد. از این دما تا ۱۶۵ درجه سانتی‌گراد هر دقیقه یک درجه سانتی‌گراد به دما اضافه شد و به مدت ۱۲ دقیقه در آن دما ثابت ماند. از ۱۶۵ درجه سانتی‌گراد تا ۱۷۰ درجه سانتی‌گراد دما هر دقیقه ۲ درجه سانتی‌گراد بالا رفت و به مدت ۵ دقیقه در آن دما ثابت نگه‌داشته شد. از این دما تا ۲۱۵ درجه سانتی‌گراد هر دقیقه ۵ درجه سانتی‌گراد دما اضافه شد و به مدت ۱۰ دقیقه در آن دما ثابت نگه‌داشته شد. متیل استرهای اسیدهای چرب با نرم افزار ویژه آن (Agilent ChemStation software (B.04.03),Agilent Technologies, Inc, USA) تعیین شدند. از شکل تری‌گلیسریدی اسید تری دکانوئیک (sigma, Bornem, Belgium) به عنوان استاندارد داخلی استفاده شد. قله اسیدهای چرب از طریق مخلوطی از متیل استرهای استاندارد (BR2 and BR3, Larodan Fine Chemicals AB, Malmo, Sweden;Supleco 37, Supleco Analytical, Bellefonte, PA; PUFA-3, Matreya LLC, Pleasant Gap, PA) و زمان ابقا آنها شناسایی شدند. اسیدهای چرب کوتاه زنجیر برای عوامل پاسخ نسبی تئورتیکی تصحیح شدند. شاخص اشباع زدایی برای هر اسید چرب خاص براساس فرمول ((مجموع اسیدهای چرب اشباع و غیر اشباع)/(اسید چرب غیراشباع)×۱۰۰) محاسبه شد.

اسیدهای چرب فرار: ۴۰۰ میکرولیتر از نمونه مایع شکمبه با ۱۰۰ میکرولیتر از استاندارد ۴-متیل والریک اسید مخلوط شده به مقدار ۹میکرولیتر از هر نمونه در هر بار به درون دستگاه گاز کروماتوگرافی(GC – PU4410 – PHILIPS) با نوع ستون 10PEG (طول ۲ متر، قطر ۴۵ میلی‌متر) و دکتور FID تزریق شد. میزان جریان گازهای مختلف در دقیقه: Flow N_2 = 33 ml/min، Flow H_2 = 30 ml/min و Flow Air = 300 ml/min و برنامه حرارتی دستگاه نیز به‌صورت Det. Temp =220 °C، Inj. Temp = 220 °C، Col. Temp = 100 °C، Ramp 1 = 5 °C/min، Ramp 2 = 10 °C/min، Col. Temp 1 = 135 °C و Col. Temp 2 = 180 °C بود.

قابلیت‌هضم ظاهری مواد مغذی در شرایط درون‌تنی: قابلیت هضم ظاهری ماده خشک، ماده آلی، پروتئین خام، ADF و NDF کل دستگاه گوارش با استفاده از خاکستر نامحلول در اسید به عنوان مارکر داخلی محاسبه گردید. در طی ۵ روز آخر آزمایش سه بار در روز از مدفوع هر گاو نمونه‌برداری شد. نمونه‌های مربوط به هر گاو با هم مخلوط و یک نمونه از آن‌ها برداشته شد و در دمای ۲۰- درجه سلسیوس نگه‌داری شد و سپس فراسنجه‌های مورد نظر اندازه‌گیری شدند.

[2] -Lyophilize or Freeze-drying

تجزیه آماری داده‌ها: داده‌های مربوط به هر بخش از آزمایش با استفاده از رویه GLM نرم افزار SAS ویرایش ۹/۱، در قالب طرح کاملا تصادفی تجزیه آماری شده و در صورت معنی‌دار بودن اثر تیمار، آزمون دانکن برای مقایسه میانگین تیمارها استفاده شد($P<۰/۰۵$). مدل آماری طرح کاملا تصادفی مورد استفاده به صورت $Y_{ij} = \mu + T_i + \varepsilon_{ij}$ بود، که در این معادله: Y_{ij}= مشاهده عمومی؛ μ= میانگین کل؛ T_i= اثر تیمار و ε_{ij}= خطای باقیمانده می‌باشد.

نتایج و بحث

تولید و ترکیب شیر: نتایج مربوط به اثر مکمل‌سازی جیره با HPM و EOM بر تولید و ترکیب شیر در جدول ۲ نشان داده شده است. اگرچه افزودن HPM باعث افزایش معنی‌دار تولید شیر در مقایسه با گروه شاهد نشد، اما استفاده از EOM در جیره گاوهای شیری تولید شیر را نسبت به گروه شاهد ۵/۴ درصد (۲۵/۹۰ در مقابل ۲۷/۳۰) و در مقایسه با گروه HPM ۱۰/۴ درصد (۲۴/۷۲ در مقابل ۲۷/۳۰) افزایش داد ($P<$ ۰/۰۵). تولید شیر تصحیح شده بر اساس چربی و شیر تصحیح شده بر اساس انرژی (مگاکالری/روز) نیز تحت تأثیر افزودن HPM و EOM به جیره قرار نگرفتند. وجود اثر اسانس‌های گیاهی (EOM) بر تولید شیر در یافته‌های تحقیق حاضر، با نتایج حاصل از پژوهش-های Nogueira (۲۰۰۹)، Wall و همکاران (۲۰۱۴) مطابقت دارد. اگرچه با نتایج Benchaar و همکاران (۲۰۰۷) و Hristov و همکاران (۲۰۱۳) که عدم تأثیرپذیری شیر تولیدی با کاربرد اسانس گیاه پونه کوهی در جیره را گزارش کرده بودند، در تضاد بود. افزایش تولید شیر با کاربرد اسانس‌های گیاهی ممکن است به علت افزایش اسیدهای چرب فرار خصوصاً پروپیونات به علت افزایش دسترسی انرژی، کاهش متان تولیدی و در نتیجه کاهش اتلاف انرژی و نیز مختل نمودن فرآیند بیوهیدروژناسیون شکمبه باشد. زیرا اسیدهای چرب غیراشباع در گرفتن هیدروژن با دی اکسیدکربن رقابت کرده و از این طریق متان تولیدی را کاهش می‌دهند (Ruiz و همکاران، ۲۰۰۲). به‌نظر می‌رسد افزایش تولید شیر در تیمار EOM در مقایسه با HPM به علت جذب بهتر اسانس‌های گیاهی در مقایسه با گیاهان دارویی و یا متفاوت بودن سطوح استفاده شده باشد (Benchaar و همکاران، ۲۰۰۷). همچنین گیاهان دارویی ممکن است ترکیباتی داشته باشند که دارای اثرات آنتاگونیسمی بر یکدیگر بوده، در حالی که این ترکیبات در اسانس‌ها حذف شده باشند (Benchaar و همکاران، ۲۰۰۸). در حالی که درصد پروتئین شیر تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت، اما کیلوگرم پروتئین تولیدی در روز تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت و استفاده از EOM، در مقایسه با تیمارهای کنترل و HPM، میزان پروتئین شیر را تا ۰/۷۷ کیلوگرم در روز افزایش داد ($P<$ ۰/۰۱). اگرچه این نتایج با یافته‌های Spanghero و همکاران (۲۰۰۹) مبنی بر افزایش پروتئین شیر با تغذیه اسانس گیاهان دارویی مطابقت داشت، اما با یافته‌های Tassoul و Shaver (۲۰۰۹) که کاهش ۱۵ درصدی میزان پروتئین شیر به هنگام استفاده از مکمل اسانس‌های گیاهی در جیره گاوهای شیری را گزارش نمودند، تفاوت داشت. به‌نظر می‌رسد افزایش کیلوگرم پروتئین تولیدی با افزودن EOM به جیره گاوها، به افزایش تولید شیر مربوط باشد، افزایش تولید شیر گاوهای دریافت کننده EOM در مقایسه با تیمار شاهد و HPM این فرضیه را تأیید می-کند. همچنین حذف ترپن‌ها در اسانس ممکن است جذب پروتئین‌های دستگاه گوارش را افزایش داده باشد در حالی که در گیاهان دارویی تانن‌ها ممکن است جذب پروتئین‌های روده و دسترسی آن‌ها برای سلول های پستانی را کاهش دهند (Benchaar و همکاران، ۲۰۱۵). بنابراین تفاوت معنی‌دار تیمار HPM و EOM در میزان پروتئین شیر تولیدی در این پژوهش قابل توجیه است. میزان چربی و لاکتوز شیر تحت تأثیر تیمارهای HPM و EOM قرار نگرفت ($P >$ ۰/۰۵). لاکتوز با ثبات‌ترین ترکیب شیر است و به‌ندرت تحت تاثیر فاکتورهای تغذیه‌ای قرار می‌گیرد(Woodford و همکاران، ۱۹۸۶).

جدول۲- اثر مکمل‌سازی جیره با HPM و EOM بر تولید، ترکیبات شیر و مصرف خوراک گاوهای هلشتاین

فراسنجه‌ها	تیمارها[1]				
	کنترل	HPM[2]	EOM[3]	SEM[4]	P-value[5]
تولید (کیلوگرم در روز)					
شیر	۲۵/۹۰[b]	۲۴/۷۲[b]	۲۷/۳۰[a]	۰/۷۲	۰/۰۳
شیر تصحیح شده بر اساس ۴٪ چربی (FCM)[6]	۲۵/۰۴	۲۵/۸۲	۲۶/۳۳	۰/۸۰	۰/۴۰
شیر تصحیح شده بر اساس انرژی (ECM)[7]	۲۶/۳۰	۲۷/۳۹	۲۷/۶۶	۰/۶۰	۰/۶۵
ترکیبات شیر (درصد)					
پروتئین	۲/۶۳	۲/۶۵	۲/۸۴	۰/۰۶۵	۰/۳۷
چربی	۳/۷۵	۴/۱۵	۳/۶۳	۰/۱۲۳	۰/۲۰
لاکتوز	۴/۴۹	۴/۴۹	۴/۴۳	۰/۰۵۵	۰/۸۸
مواد جامد غیر چربی[8]	۸/۸۴	۸/۸۶	۸/۹۹	۰/۰۷۱	۰/۶۶
کل مواد جامد شیر[9]	۱۲/۰۲	۱۲/۳۹	۱۲/۲۴	۰/۱۷	۰/۷۳
ترکیبات شیر (کیلوگرم در روز)					
پروتئین	۰/۶۸[b]	۰/۶۸[b]	۰/۷۷[a]	۰/۰۲۱	۰/۰۱
چربی	۰/۹۷	۱/۰۶	۰/۹۹	۰/۰۳۴	۰/۵۳
لاکتوز	۱/۱۶	۱/۱۵	۱/۲۱	۰/۰۲۰	۰/۵۱
مواد جامد غیر چربی	۲/۲۷[b]	۲/۱۸[b]	۲/۵۸[a]	۰/۰۶۹	۰/۰۲
کل مواد جامد شیر	۳/۰۵[b]	۳/۰۶[b]	۳/۵۲[a]	۰/۱۰۲	۰/۰۰۹
نیتروژن اوره‌ای شیر (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	۰/۰۳۱	۰/۰۳۱	۰/۰۲۶	۰/۰۰۲	۰/۷۳
سلول‌های بدنی شیر(۱۰۰۰ × سلول بر میلی‌لیتر)	۱۱۴/۷۵	۱۷۳/۵۰	۱۱۴/۷۵	۱۹/۸۶	۰/۴۵
ضریب تبدیل غذایی					
ماده خشک مصرفی (کیلوگرم در روز)	۱۸/۱۷	۱۹/۱۷	۱۸/۴۱	۰/۷۶	۰/۸۶۹
بازده تولید شیر(کیلوگرم/کیلوگرم)	۱/۱۷	۱/۰۹	۱/۳۵	۰/۰۶۹	۰/۳۲
4% FCM/DMI (کیلوگرم/کیلوگرم)	۱/۲۴	۱/۳۹	۱/۲۶	۰/۰۵	۰/۵۴
ECM/DMI (کیلوگرم/کیلوگرم)	۱/۳۰	۱/۴۴	۱/۳۵	۰/۰۵	۰/۶۴
ماده خشک مصرفی (درصد/وزن بدن)	۲/۹۱	۲/۹۸	۲/۸۷	۰/۱۲۳	۰/۹۴

[1]تیمارهای آزمایشی شامل ۱) جیره پایه بدون استفاده از افزودنی (کنترل)، ۲)جیره پایه به اضافه مخلوط HPM در سطح ۱۰ گرم در کیلوگرم ماده خشک کنسانتره و ۳)جیره پایه به اضافه EOM در سطح۱۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک کنسانتره. [2]عبارت بود از مخلوط پنج گیاه دارویی سیر، اکالیپتوس، دارچین، آویشن و نعناع فلفلی به نسبت‌های به ترتیب ۲۲/۲۲، ۱۱/۱۱، ۳۳/۳۳، ۲۲/۲۲ و ۱۱/۱۱. [3]عبارت بود از مخلوط اسانس پنج گیاه دارویی سیر، اکالیپتوس، دارچین، آویشن و نعناع فلفلی به نسبت‌های به ترتیب ۲۲/۲۲، ۱۱/۱۱، ۳۳/۳۳، ۲۲/۲۲ و ۱۱/۱۱. [4]میانگین خطای استاندارد، [5]سطح احتمال معنی دار شدن. [6]4% FCM = 0.4 (kilograms of milk) + 15.0 (kilograms of fat). [7]ECM = [0.327×milk (kg/d)] + [12.86×fat (kg/d)] + [7.65×protein (kg/d)] (Peterson et al., 2012). [8]Solid not fat. [9]Total solid.

الگوی اسیدهای چرب شیر: اثر مخلوط گیاهان دارویی (HPM) و اسانس آن‌ها (EOM) بر ترکیب اسیدهای چرب شیر در جدول ۳ آورده شده است. ترکیب اسیدهای چرب اشباع، غیراشباع، نسبت اسیدهای چرب با یک پیوند دوگانه به اسیدهای چرب اشباع (MUFA/SFA) و نسبت اسیدهای چرب اشباع به اسیدهای چرب غیراشباع (UFA/SFA) تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت. مکمل‌سازی جیره با HPM و EOM نسبت اسیدهای چرب اشباع (SFA) را در مقایسه با کنترل کاهش دادند (P<۰/۰۱). بیشترین اثر این کاهش را می‌توان در اسیدچرب ۱۶:۰ مشاهده نمود. اسیدهای چرب غیراشباع نیز تحت تاثیر

تیمارهای آزمایشی قرار گرفتند، به‌طوری که افزودن EOM به‌طور معنی‌داری میزان اسیدهای چرب غیر اشباع را در مقایسه با کنترل و HPM افزایش داد. مکمل‌سازی جیره با مخلوط گیاهان دارویی و اسانس‌های آن‌ها میزان ترانس-۱۰ C۱۸:۱ و سیس-۹ C۱۸:۱ را افزایش داد(P=<۰/۰۱). در نتیجه نسبت MUFA/SFA نیز تحت تاثیر قرار گرفت و استفاده از HPM و EOM نسبت آن را افزایش داد. همین‌طور نسبت MUFA/SFA در بین تیمارهای EOM و HPM نیز تفاوت معنی‌داری را نشان‌دادند، به‌طوری که استفاده از EOM سبب افزایش معنی‌دار این نسبت شد. مطالعات قبلی نشان داده است که گیاهان دارویی و اسانس آن‌ها به‌علّت اثرات ضد میکروبی رشد و فعّالیت باکتری‌های شکمبه را مختل نموده، بنابراین به‌علّت کاهش منابع انرژی پیشرفت بیوهیدروژناسیون را مختل می‌کنند (Harfoot و Hazlewood، ۱۹۸۸). آویشن و سیر فعالیت ضدمیکروبی شدیدی مقابل بسیاری از باکتری‌های گرم منفی و مثبت دارند (Tepe و همکاران، ۲۰۰۴). چندین باکتری گرم مثبت در فرآیند بیوهیدروژناسیون اسیدهای چرب غیراشباع شکمبه نقش دارند(Harfoot و Hazlewood، ۱۹۸۸). بنابراین تغذیه با گیاهان دارویی بیوهیدروژناسیون اسیدهای چرب را از طریق کاهش تعداد و فعالیت باکتری‌های درگیر در فرآیند بیوهیدروژناسیون کاهش می‌دهد. سینامالدهید، ماده مؤثر اصلی دارچین، زمانی که به میزان ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر به جیره افزوده شد فرایند بیوهیدروژناسیون شکمبه را تحت تأثیر قرار داد (Lourenco و همکاران، ۲۰۰۸). مکمل‌سازی سینامالدهید در آزمایش مذکور بیوهیدروژناسیون اسید لینولئیک (C۱۸:۲) و اسید لینولنیک (C:۱۸:۳) را متوقف نمود و در نتیجه سبب تجمع محصولات واسط مانند ترانس-۱۰ C۱۸:۱، سیس-۱۲ C۱۸:۱، ترانس-۱۰ C۱۸:۲، ترانس-۱۱ C۱۸:۲ و سیس-۱۵ C۱۸:۲ گردید. در آزمایش Benchaar و همکاران (۲۰۱۵) اوگنول، ماده مؤثر موجود در اکالیپتوس و دارچین، سبب افزایش ترانس-۱۰ C۱۸:۱ (۱۷ درصد) و ترانس-۱۱ C۱۸:۱ (۱۶ درصد) در مقایسه با تیمار کنترل شد.

فراسنجه‌های خونی: نتایج مربوط به اثر گیاهان دارویی و اسانس آن‌ها بر فراسنجه‌های خونی در جدول ۴ نشان داده شده است. غلظت گلوکز، کلسترول و آلانین آمینو ترانسفراز (ALT) خون قبل از مصرف خوراک و ۴ ساعت پس از مصرف خوراک بین تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌داری نداشت (P>۰/۰۵). اگر چه غلظت تری‌گلیسرید خون گاوهای شیری قبل از مصرف خوراک بین تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری نداشت (P>۰/۰۵) ولی سطح آن در ۴ ساعت پس از مصرف خوراک به طور معنی‌داری (P<۰/۰۱) تحت تأثیر جیره‌های آزمایشی قرار گرفت و تیمار EOM کمترین میزان تری‌گلیسرید خون را نشان داد، به‌طوری که این تفاوت هم در مقایسه با شاهد و هم در مقایسه با تیمار HPM معنی‌دار بود (P< ۰/۰۵). ترکیبات فنولیکی موجود در اسانس‌ها مسئول خواص ضد میکروبی گیاهان هستند (El-Katcha و همکاران، ۲۰۱۶). بنابراین با توجه به خالص‌سازی این ترکیبات در اسانس‌ها تاثیر معنی‌دار تیمار EOM در مقایسه با تیمار HPM توجیه‌پذیر است. درضمن گیاهان کامل ممکن است ترکیباتی داشته باشند که با ترکیبات فنلیک تداخل ایجاد نموده و باعث کاهش کارایی آن‌ها شوند (Benchaar و همکاران، ۲۰۰۸). اثر هایپولیپیدمیک (کاهندگی چربی خون) اسانس‌های گیاهی بر کلسترول و تری‌گلیسرید خون در مطالعات قبلی به اثبات رسیده است (Yalcin و همکاران، ۲۰۰۶). اسانس‌های گیاهی قادرند اکولوژی شکمبه را تغییر داده و سبب افزایش ساخت پروپیونات شوند، که احتمالا سبب افزایش ترشح انسولین و مهار گلوکونئوژنز در بدن می‌شود. بنابراین اثر ضد چربی‌سوزی انسولین سبب کاهش NEFA پلاسما شده، که منجر به کاهش ساخت اجسام کتونی و تری‌گلیسرید در کبد می‌شوند (El-Katcha و همکاران، ۲۰۱۶)، در نتیجه غلظت تری‌گلیسرید خون نیز کاهش می یابد. غلظت آنزیم کبدی آسپارتات آمینوترانسفراز قبل از مصرف خوراک بین تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری نداشت (P>۰/۰۵) ولی سطح آن ۴ ساعت پس از مصرف خوراک به‌طور معنی‌داری (P<۰/۰۳) تحت تأثیر جیره‌های آزمایشی قرار گرفت به‌طوری که تیمار HPM کمترین میزان AST در خون را داشت.

جدول۳- اثر مکمل‌سازی HPM و EOM بر ترکیب اسیدهای چرب شیر(گرم در صد گرم اسید چرب) گاوهای هلشتاین

اسیدهای چرب	تیمارها[1]				
	کنترل	HPM[2]	EOM[3]	SEM[4]	P-value[5]
اسیدهای چرب اشباع (SFA)	۷۲/۶۹[a]	۶۷/۱۵[b]	۶۵/۱۲[b]	۱/۲۳	۰/۰۱
۴:۰	۳/۰۰	۲/۸۵	۲/۸۶	۰/۰۶	۰/۵۸
۶:۰	۱/۸۵	۱/۹۲	۱/۷۵	۰/۰۴	۰/۳۶
۸:۰	۱/۳۰	۱/۱۵	۱/۱۲	۰/۰۷	۰/۶۳
۱۰:۰	۳/۱۷	۳/۰۷	۳/۱۲	۰/۰۷	۰/۸۷
۱۲:۰	۳/۸۰	۳/۸۵	۳/۵۲	۰/۰۸	۰/۲۶
۱۴:۰	۱۱/۳۲	۱۱/۹۵	۱۲/۳۷	۰/۴۰	۰/۶۱
۱۵:۰	۱/۷۲	۱/۶۵	۱/۶۲	۰/۱۰	۰/۹۳
۱۶:۰	۳۲/۴۲[a]	۲۸/۹۵[b]	۲۷/۹۵[b]	۰/۷۵	۰/۰۳
۱۷:۰	۰/۸۲	۰/۷۲	۰/۷۵	۰/۰۳	۰/۷۰
۱۸:۰	۱۳/۲۷	۱۱/۰۰	۱۰/۰۵	۰/۷۲	۰/۱۷
اسیدهای چرب غیر اشباع (UFA)	۲۵/۶۲[b]	۲۹/۱۴[b]	۳۱/۴۲[a]	۰/۷۷	۰/۰۰۱
۱۰:۱	۰/۴۲	۰/۵۷	۰/۵۲	۰/۰۴	۰/۴۵
۱۴:۱	۱/۳۷	۱/۴۰	۱/۶۲	۰/۰۶	۰/۲۷
۱۶:۱	۲/۷۵	۲/۵۲	۲/۶۷	۰/۰۹	۰/۶۲
۱۷:۱	۰/۴۶[b]	۰/۴۶[b]	۰/۶۱[a]	۰/۰۲	۰/۰۳
۱۸:۱ (ترانس-۱۰)	۰/۳۶[b]	۰/۴۲[a]	۰/۴۵[a]	۰/۰۱	۰/۰۱
۱۸:۱ (ترانس-۱۱)	۰/۶۵	۰/۶۸	۰/۷۳	۰/۰۲	۰/۳۲
۱۸:۱ (سیس-۹)	۱۷/۳۰[b]	۲۰/۶۰[a]	۲۲/۰۲[a]	۰/۶۹	۰/۰۰۲
۱۸:۲	۱/۶۷	۱/۸۱	۱/۹۳	۰/۰۶	۰/۳۲
۱۸:۳	۰/۳۰	۰/۳۱	۰/۳۶	۰/۰۱	۰/۲۷
اسید لینولئیک کونژوگه(CLA)	۰/۳۰	۰/۳۳	۰/۴۶	۰/۰۳	۰/۰۷
باقی‌مانده	۱/۶۷	۳/۷۰	۳/۴۵	۰/۹۳	۰/۶۷
MUFA[6]	۲۳/۳۴[b]	۲۶/۶۷[a]	۲۸/۶۸[a]	۰/۷۳	۰/۰۰۵
PUFA[7]	۱/۹۸	۲/۱۲	۲/۳۰	۰/۰۷	۰/۲۲
MUFA/SFA	۰/۳۲[c]	۰/۳۹[b]	۰/۴۳[a]	۰/۰۱۵	<۰/۰۰۰۱
PUFA/SFA	۰/۰۲۷[b]	۰/۰۳۱[b]	۰/۰۳۵[a]	۰/۰۰۱	۰/۰۴
UFA/SFA	۰/۳۵[c]	۰/۴۳[b]	۰/۴۸[a]	۰/۰۱	۰/۰۰۰۱

[1]تیمارهای آزمایشی شامل ۱) جیره پایه بدون استفاده از هرگونه افزودنی (کنترل)، ۲)جیره پایه به اضافه مخلوط HPM در سطح ۱۰ گرم در کیلوگرم ماده خشک کنسانتره و ۳)جیره پایه به اضافه EOM در سطح ۱۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک کنسانتره. [2]عبارت بود از مخلوط پنج گیاه دارویی سیر، اکالیپتوس، دارچین، آویشن و نعناع فلفلی به نسبت‌های به ترتیب ۲۲/۲۲، ۱۱/۱۱، ۳۳/۳۳، ۲۲/۲۲ و ۱۱/۱۱ [3]عبارت بود از مخلوط اسانس پنج گیاه دارویی سیر، اکالیپتوس، دارچین، آویشن و نعناع فلفلی به نسبت‌های به ترتیب ۲۲/۲۲، ۱۱/۱۱، ۳۳/۳۳، ۲۲/۲۲ و ۱۱/۱۱ [4]میانگین خطای استاندارد، [5]سطح احتمال معنی‌دار شدن. [6]Monounsaturated fatty acid. [7]Polyunsaturated fatty acid

اگر چه غلظت پروتئین تام پلاسما بعد از مصرف خوراک (جدول ۴) بین تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری نداشت (P>۰/۰۵) ولی سطح آن در قبل از مصرف خوراک به طور معنی‌داری (P<۰/۰۳) تحت تاثیر جیره‌های آزمایشی قرار گرفت به‌طوری که تیمار EOM بیشترین میزان پروتئین را در پلاسما نشان دادند. غلظت کل پروتئین پلاسما ارتباط مستقیمی با غلظت پروتئین جذبی از دستگاه گوارش دارد. به‌طوری که افزایش پروتئین قابل هضم منجر به افزایش در پروتئین کل سرم می‌شود (Yousef و Zaki، ۲۰۰۱). بنابراین افزایش پروتئین کل پلاسما در این پژوهش می‌تواند به دلیل بهبود قابلیت هضم و جذب پروتئین‌های جیره غذایی باشد. افزایش سطح پروتئین پلاسما در نتیجه مصرف گیاهان دارویی احتمالا به علت محافظت پروتئین‌های جیره از تجزیه میکروبی شکمبه است که در نتیجه آن سبب افزایش میزان پروتئین ورودی به روده شده و نهایتا منجر به جذب بیشتر آن به خون می‌شود (Makkar، ۲۰۰۳). در پژوهش‌های صورت گرفته روی حیوانات آزمایشگاهی، اس-آلیل سیستئین موجود در سیر باعث کاهش قند خون و کاهش فعالیت برخی آنزیم‌های سرم نظیر AST شده است (Metwally، ۲۰۰۹). تغییر در فعالیت آمینوترانسفرازهای کبد، موجب تحریک گلوکونئوژنز (راه نوسازی گلوکز) از اسیدهای آمینه و تغییر در فعالیت AST پلاسما می‌شود. فعالیت این آنزیم ممکن است با انواع مواد شیمیایی، بیولوژیکی و عوامل فیزیولوژیک و یا اختلال در چرخه کربس تغییر کند. کاهش فعالیت چرخه کربس باعث کاهش ترکیبات حد واسط و در نهایت کاهش AST (۸۰/۷۳ برای تیمار سیر در مقابل ۱۱۷/۸۶ برای تیمار شاهد) شود (Metwally، ۲۰۰۹).

جدول٤- اثر مکمل‌سازی HPM و EOM بر فراسنجه‌های خونی گاوهای شیری هلشتاین قبل و پس از مصرف خوراک

فراسنجه‌های خونی	تیمارها[1]			SEM[4]	P-value[5]
	کنترل	HPM[2]	EOM[3]		
قبل از مصرف خوراک					
گلوکز (mg/dl)	۷۲/۱۶	۷۰/۳۳	۷۰/۰۰	۱/۲۹	۰/۷۸
کلسترول (mmol/l)	۳/۹۷	۳/۶۵	۳/۸۰	۰/۰۷	۰/۲۱
تری‌گلیسرید (mg/dl)	۳۱/۷۷	۳۰/۴۵	۲۸/۹۲	۱/۴۸	۰/۷۷
پروتئین کل (g/l)	۷۶/۰۵[b]	۷۷/۴۷[ab]	۷۸/۵۷[a]	۰/۴۳	۰/۰۴
آلبومین (g/l)	۳۱/۴۵	۳۱/۲۰	۳۲/۸۲	۰/۴۰	۰/۲۲
ALT (U/L)	۳۴/۳۳	۳۳/۳۳	۳۰/۱۶	۱/۸۳	۰/۶۵
AST (U/L)	۶۴/۴۹	۶۵/۵۱	۶۲/۵۲	۱/۰۸	۰/۵۴
بعد از مصرف خوراک (۴ ساعت)					
گلوکز (mg/dl)	۷۴/۱۶	۷۶/۸۳	۷۳/۵۰	۱/۳۸	۰/۶۱
کلسترول (mmol/l)	۴/۷۷	۴/۵۲	۴/۱۵	۰/۱۳	۰/۱۸
تری‌گلیسرید (mg/dl)	۲۸/۶۵[a]	۲۹/۳۵[a]	۲۶/۰۲[b]	۰/۵۵	۰/۰۱
پروتئین کل (g/l)	۸۰/۲۲	۷۹/۸۰	۸۴/۳۲	۱/۰۷	۰/۱۶
آلبومین (g/l)	۳۲/۳۲	۳۱/۵۰	۲۹/۶۷	۰/۶۱	۰/۲۰
ALT (U/L)	۳۲/۵۰	۲۹/۳۳	۳۰/۵۰	۱/۴۸	۰/۷۰
AST (U/L)	۶۶/۵۰[a]	۶۲/۵۰[b]	۶۵/۶۶[a]	۰/۷۰	۰/۰۳

[1]تیمارهای آزمایشی شامل ۱) جیره پایه بدون استفاده از هرگونه افزودنی (کنترل)، ۲)جیره پایه به اضافه مخلوط HPM در سطح ۱۰ گرم در کیلوگرم ماده خشک کنسانتره و ۳)جیره پایه به اضافه EOM در سطح ۱۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک کنسانتره. [2]عبارت بود از مخلوط پنج گیاه دارویی سیر، اکالیپتوس، دارچین، آویشن و نعناع فلفلی به نسبت‌های به ترتیب ۲۲/۲۲، ۱۱/۱۱، ۳۳/۳۳، ۲۲/۲۲ و ۱۱/۱۱ [3]عبارت بود از مخلوط اسانس پنج گیاه دارویی سیر، اکالیپتوس، دارچین، آویشن و نعناع فلفلی به نسبت‌های به ترتیب ۲۲/۲۲، ۱۱/۱۱، ۳۳/۳۳، ۲۲/۲۲ و ۱۱/۱۱ [4]میانگین خطای استاندارد، [5]سطح احتمال معنی‌دار شدن

اسیدهای چرب فرار شکمبه: تغییرات غلظت اسیدهای چرب فرار شکمبه در جدول ۵ نشان داده شده است. غلظت پروپیونات و نسبت غلظت استات به پروپیونات به‌طور معنی‌دار تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت (P<۰/۰۵). استفاده از مخلوط اسانس گیاهان دارویی (EOM) در مقایسه با HPM و تیمار شاهد میزان پروپیونات را افزایش و نسبت استات به پروپیونات را کاهش داد (P<۰/۰۵). درصد اسیدهای چرب فرار نیز تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت و با افزودن EOM به جیره غذایی درصد پروپیونات شکمبه در مقایسه با HPM و تیمار شاهد افزایش یافت (P<۰/۰۵). Busquet و همکاران (۲۰۰۵) با استفاده از دزهای متفاوت سینامالدهید تغییری در غلظت اسیدهای چرب کل شکمبه مشاهده نکردند، اما کاهش نسبت استات در تمامی سطوح، یک افزایش در نسبت پروپیونات در دزهای پایین (۳۱/۲ میلی‌گرم در لیتر) و یک افزایش در نسبت بوتیرات در دزهای بالاتر (۳۱۲ میلی‌گرم در لیتر) مشاهده نمودند. نتایج آنها نشان‌داد که اثر سینامالدهید بر اسیدهای چرب فرار به دز مصرفی وابسته است و زمانی که دزهای بالاتر استفاده شود این اثرات برجسته‌تر است. با توجه به تفاوت معنی‌دار ایجاد شده در تیمارهای EOM و HPM بر میزان پروپیونات تولیدی شکمبه، به نظر می‌رسد تیمار EOM دزهای بالاتری از ترکیبات فنولیک (ماده موثره اصلی ایجاد خواص گیاهان دارویی) را در مقایسه با HPM ایجاد نموده باشد. اگر چه Besquet و همکاران (۲۰۰۵) گزارش نمودند، استفاده از دزهای بالای سینامالدهید (۳۰۰ < میلی‌گرم در لیتر) ممکن است سبب کاهش غلظت کل اسیدهای چرب فرار شکمبه شود. این تغییر زیاد اسیدهای چرب برای حیوان میزبان مفید نیست زیرا در نشخوارکنندگان اسیدهای چرب فرار منبع اصلی انرژی قابل سوخت و ساز محسوب می‌شوند. نسبت اسید استیک به اسید پروپیونیک یکی از شاخص‌های تخمیر در شکمبه محسوب می‌شود و کاهش نسبت استات به پروپیونات از اثرات مثبت این تغییرات در شکمبه می‌باشد. از مکانیسم‌های شناخته شده که طی آن نسبت اسید چرب فرار پروپیونیک به طور غیر مستقیم تحت تاثیر قرار می‌گیرد، افزایش میزان گاز هیدروژن به دلیل مهار آن توسط مسیرهای تولید متان و باقی ماندن این پیش ماده ساخت متان در محیط تخمیر می‌باشد (Van Nevel و Demeyer، ۱۹۷۷). در این مسیر، افزایش هیدروژن تولیدی سبب افزایش غلظت پروپیونات می‌شود. از طرفی دیگر ترکیبات مؤثره گیاهان دارویی به دلیل تأثیر مستقیم بر جمعیت متانوژن‌ها موجب تغییر نسبت اسیدهای چرب فرار و افزایش پروپیونات تولیدی می‌شود. اثرات اسانس بر غلظت اسید چرب فرار ممکن است به ترکیب جیره نیز بستگی داشته باشد. گزارش Benchaar و همکاران (۲۰۰۷) نشان‌داد که با مصرف ۷۵۰ میلی‌گرم در روز مخلوط اسانس‌های گیاهی، تمایل به افزایش غلظت کل اسید چرب فرار در شکمبه گاو زمانی که جیره حاوی علوفه یونجه باشد وجود دارد، در حالی که در جیره بر اساس ذرت سیلو شده غلظت کل اسید چرب تمایل به کاهش داشت (Castillejos و همکاران، ۲۰۰۷).

قابلیت هضم ظاهری مواد مغذی: داده‌های مربوط به مصرف و قابلیت هضم مواد مغذی در جدول ۶ ارائه شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود بین تیمارهای آزمایشی تفاوتی در قابلیت هضم ماده خشک، پروتئین خام، ماده آلی، فیبر نامحلول در شوینده خنثی (NDF) و فیبر نامحلول در شوینده اسیدی (ADF) مشاهده نشد (P<۰/۰۵). اگرچه افزودن مخلوط اسانس گیاهی به جیره به‌صورت عددی قابلیت هضم ظاهری مواد مغذی را افزایش داده است، ولی این تفاوت‌ها آنقدر زیاد نبوده که بتواند تفاوت معنی‌دار آزمایشی ایجاد نماید. داده‌های بسیار کمی از اثرات مربوط به گیاهان دارویی و ترکیبات آن‌ها بر قابلیت هضم دستگاه گوارش وجود دارد. علاوه بر این مطالعات قبلی بیشتر اثرات گیاهان دارویی به صورت انفرادی را مورد بررسی قرار دادند.

جدول۵- اثر مکمل‌سازی HPM و EOM بر اسیدهای چرب فرار شکمبه گاوهای شیری هلشتاین

اسیدهای چرب	تیمارها[1]				
	کنترل	HPM[2]	EOM[3]	SEM[4]	P-value[5]
اسیدهای چرب (میلی‌مول بر لیتر)					
کل	۹۰/۰۶	۹۵/۵۲	۹۵/۸۶	۳/۲۰	۰/۷۳
استات	۶۰/۹۷	۶۳/۹۸	۶۰/۵۵	۲/۵۸	۰/۸۵
پروپیونات	۱۸/۹۵[b]	۲۰/۸۵[b]	۲۵/۲۸[a]	۰/۹۷	۰/۰۱
بوتیرات	۱۰/۱۳	۱۰/۶۸	۱۰/۰۲	۰/۳۱	۰/۹۶
استات: پروپیونات	۳/۲۴[ab]	۳/۰۵[a]	۲/۴۶[b]	۰/۱۳	۰/۰۴
اسیدهای چرب(درصد)					
استات	۶۷/۶۱	۶۶/۶۸	۶۲/۷۸	۰/۹۲	۰/۰۶
پروپیونات	۲۱/۰۵[b]	۲۲/۰۴[b]	۲۶/۷۳[a]	۰/۹۹	۰/۰۳
بوتیرات	۱۱/۲۷	۱۱/۲۶	۱۰/۴۷	۰/۱۶	۰/۰۷

[1]تیمارهای آزمایشی شامل ۱) جیره پایه بدون استفاده از هرگونه افزودنی (کنترل)، ۲)جیره پایه به اضافه مخلوط HPM در سطح ۱۰ گرم در کیلوگرم ماده خشک کنسانتره و ۳)جیره پایه به اضافه EOM در سطح ۱۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک کنسانتره. [2]عبارت بود از مخلوط پنج گیاه دارویی سیر، اکالیپتوس، دارچین، آویشن و نعناع فلفلی به نسبت‌های به ترتیب ۲۲/۲۲، ۱۱/۱۱، ۳۳/۳۳، ۲۲/۲۲ و ۱۱/۱۱ [3]عبارت بود از مخلوط اسانس پنج گیاه دارویی سیر، اکالیپتوس، دارچین، آویشن و نعناع فلفلی به نسبت‌های به ترتیب ۲۲/۲۲، ۱۱/۱۱، ۳۳/۳۳، ۲۲/۲۲ و ۱۱/۱۱. [4]میانگین خطای استاندارد، [5]سطح احتمال معنی‌دار شدن

با این حال مطابق با نتایج این آزمایش هیچ اثری از تاثیر مخلوطی از تیمول، اوگنول، وانیلین و لیمونن در سطح ۰/۲ گرم در روز (Benchaar و همکاران، ۲۰۰۷) و یا مخلوطی از عصاره‌های گیاهی شامل تیمول، اوگنول، وانیلین، گوایکاگول و لیمونن در سطح ۰/۷۵ گرم در روز بر قابلیت هضم ماده خشک،NDF، پروتئین خام و نشاسته گزارش نشده است. Benchaar و همکاران (۲۰۰۶) با کاربرد ۰/۲ گرم در روز از عصاره گیاهی افزایشی در قابلیت هضم ADF کل دستگاه گوارش مشاهده نمودند. اگر چه این ترکیبات فعال در گیاهان مورد استفاده در تحقیق ما نیز وجود داشته است ولی تفاوت‌های مشاهده شده می‌تواند به علت تفاوت در ترکیب متفاوت گیاهان و یا مقادیر استفاده شده در آزمایش باشد. علاوه براین Benchaar و همکاران (۲۰۰۸) جیره‌ای استفاده نمودند که ۲۴/۴ درصدADF داشت (حدود ۶/۵٪ بیشتر از این پژوهش)، که این خود ممکن است قابلیت دسترسی ADF برای هضم را افزایش دهد.

نتیجه‌گیری

به‌طورکلی استفاده از مخلوط اسانس گیاهی توانست تولید شیر گاوهای شیرده را در نتیجه بهبود استفاده از اسیدهای چرب فرار شکمبه، افزایش دهد؛ همچنین الگوی اسیدهای چرب شیر را نیز دستخوش تغییر کند. افزایش تولید شیر به همراه افزایش نسبت اسیدهای چرب غیر اشباع به اسیدهای چرب اشباع در جیره دام‌های مصرف‌کننده مخلوط اسانس گیاهی در مقایسه با جیره شاهد بیانگر اثر مفید آن‌ها بر شیر و ترکیبات شیر است.

جدول۶- اثر مکمل‌سازی HPM و EOM بر مصرف و قابلیت هضم ظاهری مواد مغذی (٪) در گاوهای شیرده هلشتاین

موارد	تیمارها[1]				
	کنترل	EOM[2]	HPM[3]	SEM[4]	P-value[5]
مواد مغذی مصرفی (kg/d)					
DM	۱۸/۱۷	۱۹/۱۷	۱۸/۴۱	۰/۷۶	۰/۸۶
OM	۱۷/۰۵	۱۷/۳۷	۱۷/۱۳	۰/۳۴	۰/۹۲
CP	۲/۶۲	۲/۷۰	۲/۶۵	۰/۰۶	۰/۸۸
ADF	۴/۱۰	۴/۲۴	۴/۱۶	۰/۱۲	۰/۹۰
NDF	۸/۷۰	۹/۳۶	۸/۸۸	۰/۲۰	۰/۴۱
قابلیت هضم ظاهری مواد مغذی (٪)					
DM	۵۷/۴۸	۵۸/۵۸	۵۹/۷۳	۰/۸۰	۰/۵۵
OM	۶۰/۱۹	۶۱/۲۳	۶۳/۶۵	۰/۷۳	۰/۱۵
CP	۵۲/۸۵	۵۲/۳۵	۵۱/۸۶	۰/۷۹	۰/۸۹
ADF	۳۱/۰۹	۳۰/۱۸	۳۱/۳۶	۰/۶۹	۰/۷۹
NDF	۳۳/۴۷	۳۳/۱۷	۳۵/۷۰	۰/۷۵	۰/۳۱

[1]تیمارهای آزمایشی شامل ۱) جیره پایه بدون استفاده از هرگونه افزودنی (کنترل)، ۲)جیره پایه به اضافه مخلوط HPM در سطح ۱۰ گرم در کیلوگرم ماده خشک کنسانتره و ۳)جیره پایه به اضافه EOM در سطح ۱۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک کنسانتره. [2]عبارت بود از مخلوط پنج گیاه دارویی سیر، اکالیپتوس، دارچین، آویشن و نعناع فلفلی به نسبت های به ترتیب ۲۲/۲۲، ۱۱/۱۱، ۳۳/۳۳، ۲۲/۲۲ و ۱۱/۱۱. [3]عبارت بود از مخلوط اسانس پنج گیاه دارویی سیر، اکالیپتوس، دارچین، آویشن و نعناع فلفلی به نسبت‌های به ترتیب ۲۲/۲۲، ۱۱/۱۱، ۳۳/۳۳، ۲۲/۲۲ و ۱۱/۱۱. [4]میانگین خطای استاندارد، [5]سطح احتمال معنی‌دار شدن

منابع

Agarwal, N., Shekhar, C., Kumar, R., Chaudhary, L. C. and Kamra, D. N. (2009). Effect of peppermint (*Mentha piperita*) oil on *In vitro* methanogenesis and fermentation of feed with buffalo rumen liquor. *Animal Feed Science and Technology*. 148: 321-327.

Aschenbach, J. R., Kristensen, N. B., Donkin, S.S., Hammon, H. M. and Penner, G. B. (2010). Gluconeogenesis in dairy cows: The secret of making sweet milk from sour dough. *IUBMB Life*. 62:869–877.

Benchaar, C., Hassanat, F. and Petit, H. V. (2015). Dose–response to eugenol supplementation to dairy cow diets: methane production, N excretion, ruminal fermentation, nutrient digestibility, milk production, and milk fatty acid profile. *Animal Feed Science and Technology*. 209:51–59.

Benchaar, C., Lettat, A. and Hassanat, F. (2012). Eugenol for dairy cows fed low or high concentrate diets: effects on digestion, ruminal fermentation characteristics, rumen microbial populations and milk fatty acid profile. *Animal Feed Science and Technology*. 178: 139–150.

Benchaar, C., Petit, H. V., Berthiaume, R., Whyte, T. D. and Chouinard, P. Y. (2006). Effects of addition of essential oils and monensin premix on digestion, ruminal fermentation, milk production and milk

composition in dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 89:4352–4364

Benchaar, C., Petit, H. V., Berthiaume, R., Ouellet, D. R., Chiquette, J. and Chouinard, P. Y. (2007). Effects of essential oils on digestion, ruminal fermentation, rumen microbial populations, milk production, and milk composition in dairy cows fed alfalfa silage or corn silage. *Journal of Dairy Science*. 90:886–897.

Busquet, M., Calsamiglia, S., Ferret, A., Cardozo, P. W. and C. Kamel. 2005. Effects of cinnamaldehyde and garlic oil on rumen microbial fermentation in a dual flow continuous culture. *Journal of Dairy Science*. 88:2508–2516.

Castillejos, L., Calsamiglia, S., Ferret, A. and Losa, R. (2007). Effects of dose and adaptation time of a specific blend of essential oil compounds on rumen fermentation. *Animal Feed Science and Technology*. 132: 186-201.

Clevenger, J. F. (1928). Apparatus for the determination of volatile oil. *The Journal of the American Pharmaceutical Association*. 17:345–349.

Dehority, B. A. (2003). Rumen Microbiology. Nottingham University Press, Nottingham, UK.

Dong, G. Z., Wang, X. J., Liu, Z. B. and Wang F. (2010). Effects of phytogenic products on *in vitro* rumen fermentation and methane emission in goats. *Journal of Animal Feed Science*. 19: 218–229.

El-Katcha, M. A., Soltan, M. and Essi, S. (2016). Effect of Garlic Extract Supplementation on Growth Performance, Nutrient Digestibility and Some Blood Serum Biochemical Changes of Fattening Lambs. *Alexandria Journal of Veterinary Sciences*. 48:124-133.

Fraster, G. R., Chaves, A. V., Wang, Y., McAllister, T. A., Beauchemin K.A. and Benchaar, C. (2007). Assessment of the effects of cinnamon leaf oil on rumen microbial fermentation using two continuous culture systems. *Journal of Dairy Science*. 90:2315-2328.

Harfoot, C. G. and Hazlewood, G. P. (1988). Lipid metabolism in the rumen. In: Hobson, P.N. (Ed.), The Rumen Microbial Ecosystem. Elsevier Applied Science Publishers, London, UK, pp. 285–322.

Hristov, A. N., Lee, C., Cassidy, T., Heyler, K., Tekkippe, J. A., Varga, G. A., Corl, B. and Brandt, R. C. (2013). Effect of Origanum vulgare L. leaves on the rumen fermentation, production and milk fatty acid composition in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 96:1189-12012.

International Organization for Standardization (IOS), Geneva (Switzerland). Animal and vegetable fats and oils. Preparation of methyl esters of fatty acids (English) In: ISO International Standard (ISO), no. 5509. International Organization for Standardization, Geneva (Switzerland), 2000, 2 ed, 24 p. Accession No: 392400, Report No: ISO--5509-2000(E).

Johnson, I.D., Hart I.C., Simonds A.D. and Morant, S.V. (1985). Pre-pubertal mammogenezis in the sheep. *Animal production*. 41:333-340.

Lourenco, M., Cardozo, P. W., Calsamiglia, S. and Fievez, V. (2008). Effects of saponins, quercetin, eugenol and cinnamaldehyde on fatty acid biohydrogenation of forage polyunsaturated fatty acids in dual-flow continuous culture fermenters. *Journal of Animal Science*. 86:3045-3053.

Makkar, H. P. S. (2003) Effects and Fate of Tannins in Ruminant Animals, Adaptation to Tannins, and Strategies to Overcome Detrimental Effects of Feeding Tannin-Rich Feeds. *Small Ruminant Research.* 49: 241-256.

Marzioli A.S. and Ng-Kwai-Hang, K.F. (1986). Relationships between milk protein polymorphism and cheese yielding capacity. *Journal of Dairy Science*. 69: 1193-1201.

Mehrabadi, M., Vakili A. R., Danesh mesgaran, M. and Valizadeh, R. (2017). Evaluation of Potential New Opportunities for Herbal Plants as Natural Products on Rumen Fermentation Patterns In vitro. Iranian Journal of Applied Animal Science. Article in press.

Metwally, M. A. A. (2009). Effects of Garlic (Allium sativum) on Some Antioxidant Activities in Tilapia Nilotica (Oreochromis niloticus). World Journal of Fish and Marine Science. 1(1): 56-64.

Moss, A. R., Jouany, J. and Newbold, J. (2000) Methane Production by Ruminants: Its Contribution to Global Warming. *Annales De Zootechnie*. 49: 231-253

National Research Council. (2001). Nutrient requirements of dairy cattle, 7th, revised edition. National Academy Press, Washington, DC.

Nogueira, P. (2009). Essential oils in Dairy Cow diets. Dairy Briefs, September: 8.

Peterson, S., Rezamand, P., Williams, J. E., Price, W., Chanine, M., and McGuire, M. A. (2012). Effects of dietary betaine on milk yield and milk composition of mid-lactation Holstein dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 95:6557–6562.

Ruiz, R., Tedeschi, L.O., Marini, J.C., Fox, D.G., Pell, A.N., Jarvis, G. and Russell, J.B. (2002). The effect of a ruminal nitrogen deficiency in dairy cows: Evaluation of the Cornell net carbohydrate and protein system ruminal N deficiency adjustment. *Journal of Dairy Science*. 85:2986-2999.

Sallam, S. M. A., Abdelgaleil, S. M. A., Bueno, I. C. S., Nassera, M. E. A., Araujo, R. C. and Abdalla, A. L. (2011). Effect of some essential oils on in vitro methane emission. *Archives of Animal Nutration*. 65:203–214.

Simitzis, P. E. and Deligeorgis, S. G. (2011). The effects of natural antioxidants dietary supplementation on the properties of farm animal products. In Animal Feed: Types, Nutrition, Safety. *Nova Science Publishers*. Inc.: New York, NY, USA. 155–168.

Sirohi, S. K., Pandey, N., Goel, N., Singh, B., Mohini, M., Pandey, P. and Chaudhry, P. P. (2012). International Journal of Environmental Science and Engineering. *Journal of Natural Product and Plant Resources*. 2: 73-80.

Spanghero, M., Salem, A. Z. M. and Robinson, P. H. (2009). Chemical composition, including econdary metabolites, and rumen fermentability of seeds and pulp of Californian (USA) and Italian grape pomaces. *Animal Feed Science and Technology*. 152:243-255.

Tassoul, M. D., and R. D. Shaver. (2009). Effect of a mixture of supplemental dietary plant essential oils on performance of periparturient and early lactation dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 92:1734- 1740.

Tepe, B., Daferera, D., Sökmen, M., Polissiou, M. and Sökmen, A. (2004) In vitro antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils and various extracts of Thymus. *Journal of Agriculture Food Chemistry*. 52:1132–7.

Van Nevel, C. J. and Demeyer, D. I. (1977). Effect of monensin on rumen metabolism in vitro. *American Society for Microbiology*. 34: 251-257.

Wall, E. H., Doane, P. H., Donkin, S. S. and Bravo, D. (2014). The effects of supplementation with a blend of cinnamaldehyde and eugenol on feed intake and milk production of dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 97:5709-5717.

Woodford, J. A., Jorgensen, N. A. and Barrington, G. P. (1986). Impact of dietary fiber and physical form on performance of lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 69:1035.

Yalcin, S., Onbasılar, E.E., Reisli, Z. (2006). Effect of garlic powder on the performance, egg traits and blood parameters of laying hens. *Journal Science Food and Agriculture*. 86:1336–1339.

Yousef, H. M. and Zaki, A. A. (2001). Effect of barley radical feeding on body weight gain and some physiological parameters of growing Friesian crossbred calves. *Egyptian Journal of Nutrition and Feeds*. 6, 465.