Animal Production Research

Vol. 11, No. 2, 2022 (1-15)
doi: 10.22124/AR.2022.20229.1642
eISSN: 2538-6107 pISSN: 2252-0872

University of Guilan

RESEARCH PAPER **OPEN ACCESS**

Nutritive value of *Adiantum capillus*-veneris and *Salvia officinalis* L. forages and the effect of their dietary levels on *in vitro* digestibility, methane production, antioxidant capacity, and fermentation parameters

S. M. Hosseini[1], J. Rezaei[2*], Y. Rouzbehan[3]

1. Former MSc Student in Animal Nutrition, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran
2. Associate Professor of Animal Nutrition, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran
3. Professor of Ruminant Nutrition, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

(Received: 25-07-2021 – Accepted: 11-09-2021)

Introduction: Pastures provide an important part of ruminant fodder needs, and farmers store some pasture plants to use in winter-feeding of livestock. Therefore, having enough information about the nutritional value of such plants can help to optimize their consumption in animal feeding. Completing the information on the good-quality plants adapted to different environments will help to use and develop these valuable resources in a better way. In addition, it may be possible to improve rumen fermentation by aromatic pasture plants. *Adiantum capillus*-veneris (Adiantum) and *Salvia officinalis* L. (Salvia) are valuable genetic resources in pastures that are also used in livestock feeding. Due to the presence of plant secondary metabolites, they may improve rumen fermentation. However, there is little information on the nutritional value of Adiantum. Some information is available on the chemical composition of Salvia species (especially the leaves) and the effect of its essential oil on the rumen, but data on the use of the whole plant as forage are limited. Therefore, this study aimed to assess the nutritional value of Adiantum and Salvia compared to alfalfa, and the effect of including different levels of them in the diet on *in vitro* ruminal fermentation variables and digestibility.

Materials and methods: The experimental pasture plants (Adiantum and Salvia) were obtained in July, after flowering, from the pasture of Safrin village located in the rural district of Rajaeedasht in western Alamut (Qazvin, Iran). In experiment I, the chemical composition of the fodders was determined by the standard methods, considering alfalfa as the control forage. In experiment II, the effect of different dietary levels of the fodders was assessed using *in vitro* gas production technique with five treatments including 1. A diet without the rangeland plants (control diet), 2. A diet containing 15% of Adiantum, 3. A diet containing 30% of Adiantum, 4. A diet containing 15% of Salvia, and 5. A diet containing 30% of Salvia (on a DM basis). The *in vitro* digestibility, fermentation variables, microbial biomass production (MBP), total antioxidant power (TAP), protozoa numbers, and methane production were determined. The gas test was performed in three replicates and two runs, and data were analyzed using the GLM procedure of SAS.

Results and discussion: According to the results of experiment I, Adiantum and Salvia had higher ash compared to alfalfa ($P<0.05$). The crude protein and digestibility of Adiantum were lower than Salvia and alfalfa ($P<0.05$). The lower digestibility of Adiantum could be due to its higher lignin and ash and the lower crude protein concentration. Therefore, when consuming Adiantum in diets of high-productive ruminants, it is necessary to pay more attention to the use of energy supplements. Compared to alfalfa, the *in vitro* fermentation of Adiantum and Salvia resulted in higher *in vitro* ruminal MBP and TAP and lower ammonia-N and protozoa population ($P<0.05$), due to the presence of plant secondary metabolites such as phenolics, tannins, flavonoids, anthocyanins, and

* Corresponding author: rezaei.j@modares.ac.ir

CC BY

terpenes. The results of experiment II showed that the inclusion of Adiantum and Salvia in the diet had no significant (P>0.05) effect on *in vitro* gas production, organic matter digestibility, and metabolizable energy. Dietary use of Salvia, however, enhanced truly degraded substrate (P<0.05). Sometimes, high amounts of secondary metabolites in plants may have negative effects on the rumen but the amounts of metabolites in the pasture plants used in this study were not so high as to hurt rumen microbes and digestion. Dietary inclusion of Adiantum and Salvia improved *in vitro* TAP and decreased protozoa population, methane production, and acetate to propionate ratio (P<0.05). The lowest methane production was observed for the diets containing Salvia. The positive effect of the rangeland plants on *in vitro* TAP was because both plants contain significant amounts of various secondary metabolites (such as phenolic compounds, flavonoids, and terpenes) that are known to be favorable and high-capacity antioxidants. These plant metabolites can remove free radicals, bind transition metals (such as free iron), remove active oxygen from the environment, induce antioxidant enzymes, and reduce and moderate the conditions of oxidative stress and destruction. The reduction of methane release using Adiantum and Salvia in the diet was probably related to the fact that plant secondary metabolites destruct the protozoa or interfere with their metabolic pathways. In addition, they may inhibit methanogenic and hydrogen-consuming bacteria or hydrogen-producing Gram-positive bacteria. The dietary addition of Adiantum and Salvia improved *in vitro* ruminal MBP and decreased the ammonia-N concentration (P<0.05) compared to the control diet. The result could be due to the reduction of the protozoa population, causing a decrease in nitrogen recycling in the rumen and a decrease in bacteria predation. The formation of phenolic-protein complexes can also be another possible reason for reducing protein breakdown and ammonia concentration. Moreover, as rumen protozoa are reduced, the bacteria will have fewer natural predators and their population (reflected in the higher MBP) will increase, improving the degradation of feed ingredients. The inclusion of Adiantum and Salvia in the diet did not affect *in vitro* pH, total volatile fatty acids, and partitioning factor (P>0.05).

Conclusions: It is possible to include whole plants of Adiantum and Salvia in the diet, up to 30% DM, without adverse effects on digestibility. It also improves diet efficiency by increasing *in vitro* ruminal MBP and TAP and reducing methane and ammonia production.

Keywords: Antioxidant power, Produced gas, Pasture fodder, Methane, Digestibility

How to cite this article:

Hosseini S. M., Rezaei J. and Rouzbehan Y. 2022. Nutritive value of *Adiantum capillus*-veneris and *Salvia officinalis* L. forages and the effect of their dietary levels on *in vitro* digestibility, methane production, antioxidant capacity, and fermentation parameters. Animal Production Research, 11(2): 1-15. doi: 10.22124/AR.2022.20229.1642

تحقیقات تولیدات دامی

سال یازدهم/شماره دوم/تابستان ۱۴۰۱ (۱۵-۱)

Animal Production Research

مقاله پژوهشی

ارزش غذایی علوفه پرسیاوشان و مریم‌گلی و تأثیر گنجاندن آنها در جیره بر قابلیت هضم، تولید متان، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و فراسنجه‌های تخمیر برون‌تنی

سید محسن حسینی[۱]، جواد رضائی[۲*]، یوسف روزبهان[۳]

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد تغذیه دام، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس

۲- دانشیار تغذیه دام، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس

۳- استاد تغذیه نشخوارکنندگان، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۵/۰۳ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۶/۲۰)

چکیده

هدف از این تحقیق، تعیین ارزش غذایی گیاهان مرتعی پرسیاوشان (*Adiantum capillus*-veneris) و مریم‌گلی (*Salvia officinalis*)، و تأثیر سطوح افزایشی آن‌ها در جیره بر قابلیت هضم و فراسنجه‌های تخمیر برون‌تنی بود. ترکیب شیمیایی و خصوصیات تخمیرپذیری گیاهان با استفاده از روش‌های استاندارد تعیین شد. تأثیر سطوح مختلف گیاهان در جیره با استفاده از آزمون تولید گاز برون‌تنی در قالب پنج تیمار (جیره شاهد، جیره‌های حاوی ۱۵ یا ۳۰ درصد پرسیاوشان، و جیره‌های حاوی ۱۵ یا ۳۰ درصد مریم‌گلی) با سه تکرار بررسی شد. قابلیت هضم، فراسنجه‌های تخمیر، تولید توده میکروبی، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، جمعیت پروتوزوآیی و تولید متان تعیین شد. نتایج نشان داد پروتئین خام و قابلیت هضم پرسیاوشان در مقایسه با مریم‌گلی و یونجه کمتر است ($P<۰/۰۵$). پرسیاوشان و مریم‌گلی در مقایسه با یونجه دارای خاکستر خام بیشتری بودند ($P<۰/۰۵$). استفاده از پرسیاوشان و مریم‌گلی در جیره، تأثیر معنی‌داری بر حجم گاز تولیدی، قابلیت هضم ماده آلی و انرژی قابل سوخت و ساز نداشت ($P>۰/۰۵$)، اما مریم‌گلی موجب بهبود سوبسترای تجزیه‌شده حقیقی شد ($P<۰/۰۵$). جایگزینی پرسیاوشان و مریم‌گلی در جیره باعث بهبود تولید توده میکروبی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی شد و تولید آمونیاک، متان، نسبت استات به پروپیونات و جمعیت پروتوزوآیی را کاهش داد ($P<۰/۰۵$). گنجاندن گیاهان مذکور در جیره، تأثیری بر pH و غلظت کل اسیدهای چرب فرار محیط کشت نداشت ($P>۰/۰۵$). در مجموع، جایگزینی گیاه کامل پرسیاوشان و مریم‌گلی در جیره (تا ۳۰ درصد ماده خشک)، بدون تأثیر منفی بر قابلیت هضم، امکان‌پذیر است. هم‌چنین، با بهبود ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و تولید توده میکروبی و کاهش تولید متان و آمونیاک، موجب بهبود کارآیی جیره می‌شود.

واژه‌های کلیدی: قدرت آنتی‌اکسیدانی، گاز تولیدی، گیاهان مرتعی، متان، هضم‌پذیری

* نویسندهٔ مسئول: rezaei.j@modares.ac.ir

doi: 10.22124/AR.2022.20229.1642

مقدمه

کمبود منابع آب در کشور، تأمین خوراک دام را با مشکل مواجه کرده است. به هر حال، مراتع کشور بخش مهمی از نیاز علوفه جمعیت دامی را فراهم می‌کند (Yarnia, 2010) و دامداران بخشی از گیاهان مرتعی را انبار می‌کنند تا در تغذیه زمستانه دام‌ها استفاده نمایند. بنابراین، داشتن اطلاعات کافی از ارزش غذایی چنین گیاهانی می‌تواند به بهینه‌سازی مصرف آن‌ها کمک کند. به‌علاوه، امکان شناسایی گیاهانی که ارزش غذایی مناسب، سازگاری محیطی خوب و نیازمندی کمتری به نهاده‌ها دارند، فراهم می‌شود تا این ذخایر ارزشمند را به بهترین نحو استفاده نمود و توسعه داد (Yarnia, 2010; Venskutonis and Kraujalis, 2013).

از سوی دیگر، تخمیر میکروبی خوراک در شکمبه همواره هدررفت بخشی از انرژی و پروتئین را به شکل متان و آمونیاک به همراه دارد که باعث مشکلات زیست‌محیطی نیز می‌شود (Wu, 2018). یکی از راه‌کارهای بهبود تخمیر شکمبه، استفاده از گیاهان مرتعی و معطر است (Vercoe *et al.,* 2010). از جمله گونه‌های ارزشمند بومی کشور، مانند مراتع الموت قزوین، می‌توان به پرسیاوشان (گونه *Adiantum capillus*-veneris) و مریم‌گلی (گونه *Salvia officinalis* L.) اشاره کرد (Zargari, 1997; Heber, 2004).

پرسیاوشان گیاهی علفی است که در ایران رویش دارد (Heber, 2004). زمان جمع‌آوری آن، اواخر بهار و اوایل تابستان (خرداد و تیر) است و دارای خصوصیات آنتی‌اکسیدانی، ضد التهاب، ضد میکروب‌های بیماری‌زا، کاهش گلوکز و ضد کلسترول در گونه‌های تک‌معده‌ای است (Al-Snafi, 2015). محققان، آثار مفید پرسیاوشان را به ترکیباتی مانند کاروُن، کارواکرول، تیمول، تانن، فلاونوییدها، اسید کافئیک، اسید گالیک، کاپیلارین، آدانتوسید، تری‌ترپن اوکساید، هیدروکسی آدیانتون، آستراگالین و موسیلاژ نسبت داده‌اند (Pan *et al.,* 2011; Khodaie *et al.,* 2015). وجود متابولیت‌های ثانویه گیاهی در پرسیاوشان و آثار آنتی‌اکسیدانی، ضد میکروبی و بهبود دهنده سلامت آن به وسیله سایر محققان گزارش شده است (Shirazi *et al.,* 2011; Nemat Shahi *et al.,* 2021). این آثار مثبت در پژوهش‌های دیگر نیز اشاره شده است (Taha and Baioumy Ali, 2020; Madboli *et al.,* 2021). به هر حال، مطالعه خاصی درباره تأثیر گیاه پرسیاوشان بر تخمیر شکمبه و عملکرد دام وجود ندارد.

مریم‌گلی دارای قابلیت رویش در نقاط خشک است و معمولاً در خرداد و تیر وارد مرحله گل‌دهی می‌شود (Zargari, 1997). این گیاه دارای آثار مثبت آنتی‌اکسیدانی، ضد التهابی، ضد میکروبی، ضد نفخ، کاهش قند خون، بهبود هضم و بهبود فعالیت کبد و کلیه در تک‌معده‌ای‌ها است (Gohari *et al.,* 2010; Bagherzadeh Kasmani *et al.,* 2015). محققان حضور اسیدهای فنولی، تانن، فلاونوئیدها، آلکالوئیدها، استروئیدها، آنتوسیانین‌ها، سینئول، کامفور، بورنئول، پلی‌ساکاریدها و ترکیبات ترپنی را در این گیاه گزارش کرده‌اند (Ghorbani and Esmaeilizadeh, 2017; Kahvand and Malecky, 2018). مقادیر پروتئین خام، الیاف نامحلول در شوینده خنثی (NDF)، الیاف نامحلول در شوینده اسیدی (ADF)، لیگنین، عصاره اتری، خاکستر خام، انرژی قابل سخت و ساز، کل ترکیبات فنولی و کل تانن در برگ گونه *S. officinalis* به ترتیب برابر ۱۳/۷، ۴۱/۴، ۳۲/۱، ۱/۸۶، ۴/۵۶، ۱۰/۷ درصد، ۲/۷۳ مگاکالری در کیلوگرم ماده خشک، ۳/۹۹ و ۰/۲۸ درصد بوده است (Bhatta *et al.,* 2013). هم‌چنین، مقادیر پروتئین خام، NDF، ADF، لیگنین، خاکستر خام، عصاره اتری، NFC، قابلیت هضم ماده خشک و انرژی قابل سخت و ساز در گونه *S. lerrifolia* Benth به ترتیب ۱۸/۱۲، ۲۸، ۱۳/۱، ۷/۹۷، ۱۵/۱، ۳۲، ۵۵/۷ درصد و ۱/۵۸ مگاکالری در کیلوگرم ماده خشک گزارش شده است (Kazemi and Saleh, 2021).

اسانس و روغن‌های ضروری مریم‌گلی باعث بهبود کلی در تخمیر برون‌تنی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی شده، اما تأثیر آن بر تولید متان، آمونیاک و اسیدهای چرب فرار شکمبه متناقض است (DemİrtaȘ *et al.,* 2011; Zmora *et al.,* 2012; Gunal *et al.,* 2013; Kahvand and Malecky, 2018).

همان‌طور که اشاره شد، اطلاعات علمی چندانی درباره تأثیر تغذیه پرسیاوشان در دام وجود ندارد. اطلاعاتی درباره ترکیب شیمیایی برخی گونه‌های مریم‌گلی (به‌ویژه برگ گیاه) و تأثیر اسانس آن بر شکمبه منتشر شده، اما داده‌ها درباره تغذیه گیاه کامل علوفه‌ای محدود است. به هر حال، تکمیل اطلاعات موجب بهبود مدیریت تغذیه چنین گیاهانی در دام خواهد شد. بنابراین هدف از پژوهش حاضر،

تعیین ارزش غذایی گیاه کامل پرسیاوشان و مریم‌گلی، و بررسی تأثیر گنجاندن آن‌ها در جیره بر فراسنجه‌های تخمیر برون‌تنی، قابلیت هضم، تولید پروتئین میکروبی، آزادسازی متان، جمعیت پروتوزوآیی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بود.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری و تعیین ترکیب شیمیایی گیاهان آزمایشی: نمونه‌های گیاهان پرسیاوشان و مریم‌گلی در نیمه دوم تیر ماه از مراتع روستای صفرین واقع در دهستان رجائی‌دشت در منطقه الموت (قزوین) جمع‌آوری شدند. گیاهان آزمایشی در مرحله رشد پس از گل‌دهی از چندین نقطه مرتع به‌دست آمد. نمونه‌ها با روش حرکت زیگزاگی از ۲۰ نقطه مرتع جمع‌آوری شد. نقطه اول به‌صورت تصادفی مشخص شد، سپس با حرکت در فواصل ۲۰ متری، نمونه‌های لازم به‌صورت سیستماتیک به‌دست آمد و در سایه خشک شد. به منظور تعیین ماده خشک گیاهان، نمونه‌ها به مدت ۴۸ ساعت با آون مجهز به هواکش در دمای ۶۰ درجه سیلسیوس خشک شدند و وزن قبل و بعد از آون ثبت، و اختلاف وزن به‌دست آمد. هم‌چنین، ترکیب شیمیایی نمونه‌ها تعیین شد. محتوای پروتئین خام با استفاده از روش کلدال، عصاره اتری به وسیله روش سوکسله و خاکستر خام با سوزاندن نمونه در کوره الکتریکی اندازه‌گیری شد (AOAC, 2012). مقادیر NDF و ADF با جوشاندن نمونه‌ها به وسیله روش Van Soest *et al.* (1991) تعیین شد و غلظت لیگنین با حل کردن سلولز موجود در ADF با اسید سولفوریک ۷۲ درصد به‌دست آمد (AOAC, 2012). برای تعیین قابلیت هضم و فراسنجه‌های تخمیر گیاهان از آزمون تولید گاز استفاده شد (Menke *et al.,* 1979).

تأثیر گنجاندن گیاهان مرتعی در جیره بر فراسنجه‌های تخمیر برون‌تنی: یک جیره فاقد گیاه مرتعی در حد نیاز گوسفند (NRC, 2007) به عنوان شاهد متوازن شد. در سایر تیمارها، دو سطح پرسیاوشان و مریم‌گلی (۱۵ و ۳۰ درصد ماده خشک) در جیره وارد شد. گیاهان مذکور حاوی مواد مؤثره هستند که شاید در سطوح کم دارای آثار مفیدی باشند، اما این گیاهان به وسیله دامداران بومی به عنوان بخشی از جیره تغذیه می‌شوند. لذا در این تحقیق، سطوح جیره‌ای بالا (۱۵ و ۳۰ درصد) بررسی شد. اجزای خوراکی و ترکیب شیمیایی جیره‌های آزمایشی در جدول ۱ مشاهده می‌شود.

برای بررسی بهتر تأثیر سطوح مختلف گیاهان آزمایشی، جیره‌ها به نحوی تنظیم شدند که حاوی انرژی و پروتئین خام برابر باشند و سایر اجزای شیمیایی آن‌ها نیز نسبتاً مشابه باشد. نسبت علوفه به کنسانتره در جیره‌های شاهد و حاوی مریم‌گلی ۶۰ به ۴۰ بود، اما از آنجا که انرژی و پروتئین خام (بر اساس جدول ۲) پرسیاوشان کم‌تر بود، جیره حاوی ۱۵ درصد پرسیاوشان با ۵۹ درصد علوفه و جیره حاوی ۳۰ درصد پرسیاوشان با ۵۷ درصد علوفه متوازن شدند. لذا، اختلاف اندک سه درصدی در نسبت علوفه به کنسانتره برای جیره‌های حاوی پرسیاوشان وجود داشت.

تخمیرپذیری و قابلیت هضم گیاهان مرتعی و جیره‌های آزمایشی با استفاده از آزمون تولید گاز برون‌تنی بررسی شد. بدین منظور، شیرابه شکمبه پیش از تغذیه وعده صبح، از تعداد سه رأس گوسفند نر بالغ نژاد شال از راه فیستوله شکمبه جمع‌آوری شد و با چهار لایه پارچه مخصوص صاف شد. بزاق مصنوعی نیز طبق روش استاندارد تهیه شد (Menke *et al.,* 1979) و به نسبت دو (بزاق مصنوعی) به یک (شیرابه) با یکدیگر مخلوط شدند. مقدار ۲۰۰ میلی‌گرم از هر نمونه در داخل سرنگ‌های شیشه‌ای ریخته شد. سپس، حجم ۳۰ میلی‌لیتر مخلوط بزاق مصنوعی-شیرابه شکمبه به داخل سرنگ‌های حاوی نمونه تزریق شد. سه سرنگ فاقد نمونه به عنوان بلنک، و سه سرنگ حاوی یونجه مرغوب (با گاز تولیدی مشخص) به عنوان خوراک استاندارد در ابتدا، وسط و انتهای سری سرنگ‌ها قرار داده شد. حجم دقیق در زمان صفر یادداشت شد و انکوباسیون سرنگ‌ها در حمام آب با دمای ۳۹ درجه سیلسیوس به مدت ۲۴ ساعت صورت گرفت. انکوباسیون پس از ۲۴ ساعت پایان یافت و حجم کل گاز تولیدی در هر سرنگ ثبت شد. آزمون‌های تولید گاز در دو سری (run) مجزا و سه تکرار به ازای هر تیمار در هر سری اجرا شد. مقادیر انرژی قابل سوخت و ساز و قابلیت هضم ماده آلی با استفاده از معادلات زیر محاسبه شدند (Menke *et al.,* 1979):

$$ME = 2.20 + (0.136 \times GP_{24}) + (0.057 \times CP) + (0.0029 \times EE^2)$$

$$OMD\ (\%) = 14.88 + (0.889 \times GP_{24}) + (0.448 \times CP) + (0.651 \times CA)$$

در معادلات مذکور، ME، انرژی قابل سوخت و ساز (مگاژول در کیلوگرم ماده خشک)، GP، حجم گاز تولیدی (میلی‌لیتر به ازای ۲۰۰ میلی‌گرم ماده خشک)، CP، پروتئین خام (درصد)، EE، عصاره اتری (درصد)، OMD، قابلیت هضم ماده آلی (درصد) و CA، خاکستر خام (درصد) است.

در انتهای انکوباسیون، سوبسترای تجزیه شده حقیقی (Truly degraded substrate; TDS) با جوشاندن محتویات هر سرنگ در محلول شوینده خنثی، فیلتراسیون و توزین بقایای خشک تعیین شد. شاخص تفکیک (Partitioning factor; PF) و تولید توده میکروبی (Microbial biomass production; MBP) به ترتیب با معادلات زیر محاسبه شدند (Blümmel *et al.,* 1997):

$$PF = TDS / GP$$
$$MBP = TDS - (GP \times 2.2)$$

در معادلات بالا، PF شاخص تفکیک (میلی‌گرم به ازای هر میلی‌لیتر)، GP گاز تولیدی (میلی‌لیتر به ازای یک گرم ماده خشک)، MBP تولید توده میکروبی (میلی‌گرم در گرم ماده خشک)، TDS سوبسترای تجزیه شده حقیقی (میلی‌گرم در گرم ماده خشک) و ۲/۲ برابر با ضریب ثابت استوکیومتری است.

پس از تعیین pH، نمونه‌گیری از محتویات هر یک از سرنگ‌ها انجام شد و غلظت آمونیاک با روش اسپکتروفتومتری و معرف فنل-هیپوکلرایت تعیین شد (Galyean, 2010). غلظت اسیدهای چرب فرار موجود در شیرابه تخمیری به وسیله روش گاز کروماتوگرافی (UNICAM 4600) به‌دست آمد (Galyean, 2010).

برای بررسی جمعیت کل پروتوزوا و گروه‌های پروتوزوآیی *ایزوتریکیده* (*Isotrichidae*)، *انتودینینه* (*Entodiniinae*)، *دیپلودینینه* (*Diplodiniinae*) و *افریوسکولسینه* (*Ophrioscolecinae*)، بخشی از شیرابه به نسبت مساوی با فرمالین ۵۰ درصد مخلوط شد و شمارش به وسیله لام هموسیتومتر و میکروسکوپ نوری صورت گرفت (Dehority, 2003).

جدول ۱- اجزای خوراکی، ترکیب شیمیایی (درصد ماده خشک) و انرژی قابل سوخت و ساز (مگاکالری در کیلوگرم ماده خشک) جیره‌های آزمایشی

Table 1. Feed ingredients, chemical composition (% of DM) and metabolizable energy (Mcal/kg DM) of the experimental diets

Feed ingredients	Control diet	Diet containing *Adiantum capillus* (%)		Diet containing *Salvia officinalis* (%)	
		15	30	15	30
Alfalfa	53.5	36.0	20.4	37.5	24.0
Wheat straw	6.5	8.0	5.5	7.5	6.0
Pasture fodder	0	15.0	30.0	15.0	30.0
Barley grain	11.0	11.0	9.5	9.0	12.7
Corn grain	13.0	11.2	12.23	13.0	15.1
Wheat bran	4.0	2.0	2.0	4.5	2.04
Wheat grain	8.5	9.1	10.0	9.8	5.0
Soybean meal	2.4	3.8	4.0	2.5	1.5
Cottonseed meal	0.5	2.5	3.2	0.5	3.0
Sugar beet pulp	0	0.3	2.0	0	0
Corn gluten meal	0.1	0.4	0.4	0.2	0.1
Urea	0	0.05	0.12	0	0
Fat powder	0	0.15	0.15	0	0.06
Min-Vit premix	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Chemical composition					
Dry matter	92.13	91.87	91.35	92.28	92.42
Organic matter	93.69	93.07	92.54	93.18	92.72
Crude protein	13.36	13.33	13.20	13.41	13.44
Neutral detergent fiber	34.56	34.15	33.58	34.59	33.94
Acid detergent fiber	23.38	23.02	22.66	22.84	22.37
Acid detergent lignin	4.63	4.93	4.97	4.67	4.68
Ether extract	2.56	2.68	2.69	2.62	2.80
Non-fiber carbohydrates	43.26	42.95	43.07	42.56	42.43
Metabolizable energy	2.38	2.36	2.36	2.37	2.37

ظرفیت کل آنتی‌اکسیدانی محتویات داخل سرنگ‌ها با روش FRAP (توان احیاکنندگی آهن فریک) و معرف TPTZ (تری‌پیریدیل تیرازین)، و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر تعیین شد (Benzie and Strain, 1996).

برای بررسی تولید متان، حجم کل گاز پس از پایان تخمیر ۲۴ ساعته ثبت شد. بعد از آن، حجم چهار میلی‌لیتر هیدروکسید سدیم ۱۰ مولار به داخل هر سرنگ گاز تزریق شد. هیدروکسید سدیم سبب جذب گاز دی‌اکسید کربن شده و گاز باقیمانده معادل متان (و اندکی هیدروژن) است (Anele *et al.,* 2011).

بررسی کینتیک تخمیر برون‌تنی جیره‌ها: یک آزمون تولید گاز ۱۲۰ ساعته در سه تکرار و دو سری (run) همانند مرحله قبل انجام شد و میزان تولید گاز در زمان‌های ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۲، ۲۴، ۴۸، ۷۲، ۹۶ و ۱۲۰ ساعت پس از آغاز انکوباسیون ثبت شد. داده‌های ثبت شده به وسیله معادله زیر برازش شده و فراسنجه‌های مختلف به‌دست آمدند (Blümmel *et al.,* 2003):

$$y = B\,(1 - e^{-ct})$$

که در آن، y حجم گاز در زمان t، B پتانسیل تولید گاز، و c ثابت نرخ تولید گاز است.

تجزیه آماری داده‌ها: داده‌های ترکیب شیمیایی گیاهان آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی و با استفاده از رویه GLM نرم افزار SAS (نسخه ۹/۱) تجزیه شدند. اطلاعات به‌دست آمده در مورد تأثیر جیره‌های آزمایشی در آزمون تولید گاز به‌صورت کرت خرد شده تجزیه شدند، زیرا آزمون در دو سری (run) طی دو هفته مجزا انجام شد، و نمی‌توان سری را به عنوان بلوک در نظر گرفت، چرا که بلوک‌ها از نظر آماری هم‌زمان اعمال می‌شوند، نه در هفته‌های مختلف. مدل آماری به صورت زیر بود که در آن، تیمار به عنوان کرت اصلی و سری آزمون گاز به عنوان کرت فرعی در نظر گرفته شد:

$$Y_{ijkl} = \mu + T_i + e_{ij} + R_k + (TR)_{ik} + e_{ijk} + e_{ijkl}$$

در این مدل، Y_{ijkl}= مقدار هر مشاهده، μ= میانگین، T_i= اثر تیمار، e_{ik}= اثر متقابل تیمار و تکرار، R_k= اثر سری (run)، $(TR)_{ik}$= اثر متقابل تیمار و سری، e_{ijk}= خطای اسپلیت-پلات، و e_{ijkl}= خطای نمونه‌برداری است. میانگین‌های تیمارهای مختلف با استفاده از آزمون LSD در سطح معنی‌داری پنج درصد مقایسه شدند. برای بررسی روند تغییرات (تأثیر درجه اول یا درجه دوم سطوح مختلف گیاه مرتعی) نیز از مقایسه مستقل چندگانه (Polynomial contrast) استفاده شد.

نتایج و بحث

مقایسه ترکیب شیمیایی و متغیرهای تخمیر برون‌تنی پرسیاوشان و مریم‌گلی با یونجه: همان‌گونه که در جدول ۲ مشاهده می‌شود، پرسیاوشان در مقایسه با مریم‌گلی، مقادیر پروتئین خام و عصاره اتری کمتری داشت، اما حاوی لیگنین، خاکستر خام و NFC بیشتری بود (P<۰/۰۵). پروتئین خام مریم‌گلی نزدیک به یونجه بود، اما محتوای پروتئین خام پرسیاوشان، ۷/۶۵ درصد ماده خشک بود که ممکن است آمونیاک کمتری را در اختیار میکروب‌های شکمبه قرار دهد. مقادیر ماده خشک و NDF دو گیاه تفاوتی نداشت (P>۰/۰۵)، اما ADF مریم‌گلی قدری کمتر بود.

بر اساس داده‌های این آزمایش، قابلیت هضم ماده آلی و انرژی قابل سوخت و ساز مریم‌گلی نزدیک به یونجه خشک است، اما متغیرهای مذکور در پرسیاوشان کمتر از مریم‌گلی بود (P<۰/۰۵). عوامل مختلفی بر قابلیت هضم خوراک مؤثر است. در تحقیق حاضر، هرچند پرسیاوشان دارای NFC بیشتری نسبت به مریم‌گلی بود، اما علت کمتر بودن قابلیت هضم و محتوای انرژی پرسیاوشان را می‌توان به محتوای پروتئین کمتر، مقدار زیادتر لیگنین و تا حدودی خاکستر خام بیشتر نسبت داد (Wu, 2018). در مجموع، ارزش غذایی مریم‌گلی قابل قبول و نزدیک به یونجه بود، البته با درصد خاکستر خام بیشتر. محتوای انرژی پرسیاوشان متوسط است که می‌تواند نیاز دام‌های کم تا متوسط تولید را فراهم کند، اما در صورت گنجاندن در جیره حیوانات با رشد سریع یا پرتولید، نیازمند مکمل‌سازی بیشتری است.

بر اساس جدول ۲، مقادیر تولید توده میکروبی به ازای هر کیلوگرم ماده خشک و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی برون‌تنی برای پرسیاوشان و مریم‌گلی در کل بیشتر از یونجه بود، اما مقادیر نیتروژن آمونیاکی و جمعیت پروتوزوآیی برای گیاهان مذکور کمتر از یونجه بود (P<۰/۰۵) و همان‌طور که در ادامه بحث خواهد شد، بر ارزش غذایی جیره‌های حاوی این گیاهان اثربخش است. علت اختلافات با یونجه را می‌توان به وجود مواد مؤثره و متابولیت‌های ثانویه گیاهی در پرسیاوشان و مریم‌گلی نسبت داد. ترکیبات مؤثره مانند

اسیدهای فنولی، تانن، فلاونوییدها، آنتوسیانین‌ها و ترکیبات ترپنی در پرسیاوشان و مریم‌گلی وجود دارند (Khodaie *et al.,* 2015; Ghorbani and Esmaeilizadeh, 2017) که به عنوان آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی عمل می‌کنند و موجب مهار و کاهش جمعیت پروتوزوآیی شکمبه نیز می‌شوند که این موضوع باعث بهبود رشد و فعالیت باکتریایی و تولید توده میکروبی و موجب مصرف بهتر آمونیاک برای تولید پروتئین میکروبی می‌شود (Zmora *et al.,* 2012; Bhatta *et al.,* 2013). علاوه بر این، محتوای پروتئین خام در پرسیاوشان کمتر از یونجه بود که می‌تواند یکی دیگر از دلایل کاهش آمونیاک شکمبه‌ای برای این گیاه باشد.

تأثیر جیره‌های حاوی پرسیاوشان و مریم‌گلی بر فراسنجه‌های تخمیر برون‌تنی: بر اساس جدول ۳، جایگزینی پرسیاوشان و مریم‌گلی تا ۳۰ درصد جیره تأثیر معنی‌داری بر تولید گاز ۲۴ ساعت، قابلیت هضم ماده آلی، انرژی قابل سوخت و ساز و پتانسیل تولید گاز نداشت (P>۰/۰۵). احتمالاً میزان متابولیت‌های گیاهان آزمایشی آن قدر زیاد نبوده که بر میکروب‌های شکمبه و هضم اثر منفی بگذارد، زیرا سطوح بیش از حد چنین ترکیباتی می‌تواند اثر منفی بر هضم داشته باشد و سطوح کم یا متوسط دارای تأثیر منفی بر میکروارگانیسم‌های شکمبه نیستند (Benchaar *et al.,* 2007; Khiaosa-Ard and Zebeli, 2013). از سوی دیگر، ترکیب شیمیایی جیره و pH محیط تخمیر شکمبه‌ای از عوامل مهم مؤثر بر فعالیت میکروبی و قابلیت هضم جیره هستند، اما در تحقیق حاضر، ترکیب شیمیایی جیره‌های آزمایشی تا حد زیادی شبیه هم تنظیم شد و pH محیط تخمیری نیز بین جیره‌های مختلف تفاوت خاصی نداشت. بنابراین، هضم یکسان جیره‌ها منطقی به نظر می‌رسد (Wu, 2018).

به هر حال، گنجاندن مریم‌گلی در جیره و تا حد کمتری پرسیاوشان، بهبود سوبسترای تجزیه شده حقیقی را در پی داشت، که نشان می‌دهد فعالیت گونه‌های میکروبی شکمبه در تجزیه بخش آلی جیره بهبود یافته است. در واقع، با کاهش جمعیت پروتوزوآیی، باکتری‌ها، شکارچی طبیعی کمتری خواهند داشت و رشد جمعیت باکتریایی (بازتاب شده در بهبود تولید توده میکروبی) افزایش یافته و موجب بهبود فرایند تجزیه و تخمیر سوبسترای خوراکی می‌شود (Vercoe *et al.,* 2010; Zmora *et al.,* 2012). عدم تغییر میزان قابلیت هضم ماده آلی (بر خلاف بهبود سوبسترای تجزیه شده) تا حدی به این دلیل است که در معادله ارائه شده برای محاسبه قابلیت هضم، از حجم گاز تولیدی استفاده می‌شود و چون مواد مؤثره گیاهان مرتعی بر تولید گاز و از جمله متان اثر بازدارنده دارند، لذا عدد قابلیت هضم تا حدودی مبهم می‌شود و محققان پیشنهاد می‌کنند حتماً موارد دیگر مانند سوبسترای تجزیه شده حقیقی، شاخص تفکیک و تولید توده میکروبی (همانند مطالعه حاضر) بررسی شوند (Vercoe *et al.,* 2010).

از سوی دیگر، استفاده از هر دو گیاه مرتعی باعث کاهش نرخ تخمیر جیره‌های آزمایشی شد (P<۰/۰۵)، که می‌تواند در برخی شرایط تغذیه‌ای مانند سطوح کنسانتره بالا تغییری مثبت باشد، زیرا موجب کنترل بهتر نرخ آزادسازی فرآورده‌های تخمیری می‌شود و کاهش بروز رخدادهایی مانند سقوط pH و تجمع آمونیاک در شکمبه را به دنبال خواهد داشت که در مدیریت تغذیه اهمیت زیادی دارد.

تأثیر تیمارهای آزمایشی بر تولید توده میکروبی و شاخص تفکیک در جدول ۴ ارائه شده است. جایگزینی ۳۰ درصد پرسیاوشان و سطوح ۱۵ و ۳۰ درصد مریم‌گلی در جیره موجب بهبود تولید توده میکروبی و شاخص تفکیک شد (P<۰/۰۵). تولید پروتئین میکروبی به تأمین هم‌زمان منابع نیتروژن و انرژی در شکمبه و هم‌چنین به فعالیت مناسب جمعیت باکتریایی بستگی دارد (Vercoe *et al.,* 2010; Wu, 2018).

پروتوزوآی شکمبه، فعالیت شکارگری باکتری‌ها را انجام می‌دهند و از آن‌ها به عنوان منبع غذایی استفاده می‌کنند. در پژوهش حاضر، جمعیت پروتوزوآیی با افزودن پرسیاوشان و مریم‌گلی در جیره کاهش یافت و بنابراین می‌تواند یکی از علل اصلی در کاهش بازچرخ باکتری‌ها و تسریع و بهینه‌سازی رشد و فعالیت باکتریایی باشد که موجب بهبود تولید توده میکروبی شده است (Zmora *et al.,* 2012; Kahvand and Malecky, 2018). به عبارت دیگر، منابع انرژی و نیتروژن در محیط تخمیری با کارآیی بهتری به وسیله باکتری‌ها مصرف شده‌اند. همچنین، مطابق اطلاعات جدول ۵، کاربرد پرسیاوشان و مریم‌گلی در جیره موجب کاهش نیتروژن آمونیاکی شد، که با بهبود تولید توده میکروبی هم‌راستا است و نشانه‌ای از بهبود بازده رشد میکروبی و الحاق بیشتر آمونیاک در پیکره میکروب‌ها است (Vercoe *et al.,* 2010). هر چه شاخص تفکیک یک خوراک

بالاتر باشد، بخش بیشتری از ماده تجزیه شده وارد توده میکروبی خواهد شد و بازده میکروبی بهتر خواهد بود (Blümmel *et al.,* 1997). در مطالعه حاضر، جیره‌های حاوی پرسیاوشان و مریم‌گلی دارای شاخص تفکیک و بازده توده میکروبی بهتری بودند. محققان گزارش کردند که شاید بیشتر بودن شاخص تفکیک و بازده توده میکروبی را بتوان به تولید گاز کمتر مربوط دانست. هم‌چنین، نقش ترکیبات ثانویه گیاهی مانند ترکیبات فنولی، ساپونین‌ها و فلاونوئیدها نیز مهم است، زیرا تجزیه ماده خشک اتفاق می‌افتد، اما اتلاف به‌صورت تولید گاز کمتر خواهد بود یعنی سهم کمتری از سوبسترا و اسکلت کربنی به سمت ایجاد گاز و هدررفت می‌رود (Blümmel *et al.,* 1997; Kahvand and Malecky, 2018).

جدول ۲- ترکیب شیمیایی، قابلیت هضم و متغیرهای تخمیر برون‌تنی گیاهان مرتعی در مقایسه با یونجه خشک

Table 2. Chemical composition, *in vitro* digestibility, and fermentation variables of the pasture fodders compared to alfalfa hay

	Alfalfa	*Adiantum capillus*	*Salvia officinalis*	SEM	*P*-value
Dry matter (%DM)	91.2	91.6	89.0	1.08	0.92
Crude protein (%DM)	14.4[a]	7.65[b]	14.5[a]	1.26	0.024
Neutral detergent fiber (%DM)	42.5	39.2	40.2	1.19	0.48
Acid detergent fiber (%DM)	31.1[a]	27.2[b]	25.1[c]	0.55	0.034
Acid detergent lignin (%DM)	6.09[b]	7.93[a]	6.11[b]	0.48	0.039
Ash (%DM)	7.93[b]	12.2[a]	11.1[a]	0.40	0.020
Ether extract (%DM)	2.33[b]	2.46[b]	3.07[a]	0.23	0.047
Non-fiber carbohydrates (%DM)	32.84[b]	38.5[a]	31.13[b]	1.00	0.015
Organic matter digestibility (%)	59.3[a]	53.6[b]	58.8[a]	1.14	0.032
Metabolizable energy (Mcal/kg DM)	2.02[a]	1.74[b]	1.91[a]	0.11	0.045
TAC (μmol Fe^{2+}/L)	808[b]	919[b]	2795[a]	81.3	<0.001
MBP (g/kg DM)	264[b]	280[ab]	293[a]	10.21	0.043
pH	6.74	6.78	6.68	0.053	0.32
Ammonia-N (mg/dL)	18.16[a]	9.88[c]	16.03[b]	0.83	<0.001
Total protozoa ($\times 10^5$/mL digesta)	9.89[a]	8.50[b]	6.30[c]	0.683	0.024
Isotrichidae	1.53[a]	1.35[ab]	1.20[b]	0.116	0.045
Entodiniinae	5.96[a]	4.95[a]	3.30[b]	0.519	0.022
Diplodiniinae	1.80[a]	1.60[ab]	1.35[b]	0.174	0.013
Ophryoscolecinae	0.603	0.595	0.45	0.106	0.67

SEM: Standard error of the means; TAC: Total antioxidant capacity; MBP: Microbial biomass production.
[a-c] Means in the same row with different superscripts differ (P<0.05).

جدول ۳- اثر جیره‌های حاوی سطوح مختلف پرسیاوشان و مریم‌گلی بر قابلیت هضم، فراسنجه‌های تولید گاز و سوبسترای تجزیه شده حقیقی در شرایط برون‌تنی

Table 3. Effect of the diets containing different levels of *Adiantum capillus*-veneris (AC) and *Salvia officinalis* (SO) on the i*n vitro* digestibility, gas production parameters, and truly degraded substrate

Experimental diet	GP_{24}	OMD	ME	TDS	B	c
Control	46.15	66.0	2.20	728[c]	53.76	0.092[a]
Diet containing 15% AC	47.00	67.2	2.23	747[bc]	56.88	0.089[a]
Diet containing 30% AC	46.63	67.1	2.22	756[b]	54.85	0.081[b]
SEM	0.473	4.02	0.038	6.02	1.13	0.004
P-value, Linear	0.68	0.72	0.89	0.037	0.83	0.039
P-value, Quadratic	0.80	0.92	0.93	0.76	0.34	0.90
Diet containing 15% SO	46.13	66.4	2.20	759[b]	55.33	0.082[b]
Diet containing 30% SO	46.63	67.1	2.22	778[a]	56.08	0.082[b]
SEM	0.623	1.91	0.024	7.83	0.98	0.003
P-value, Linear	0.42	0.38	0.47	0.023	0.62	0.036
P-value, Quadratic	0.76	0.78	0.81	0.89	0.89	0.43

GP24: Gas produced during 24-h *in vitro* incubation (mL/200 mg DM); OMD: Organic matter digestibility (%); ME: Metabolizable energy (Mcal/kg DM); TDS: Truly degraded substrate (g/kg DM); B: Gas production potential (mL/200 mg DM); c: Constant rate of gas production (/h); SEM: Standard error of the means.
[a-c] Means in the same row with different superscripts differ (P<0.05).

این نکته دارای کاربرد مهمی در مدیریت تغذیه چنین گیاهانی است که نشان‌دهنده بهبود بازده جیره نیز است. نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که میزان pH محیط تخمیری برای جیره‌های مختلف در دامنه مناسب (۶/۶۲ تا ۶/۶۸) قرار دارد و تحت تأثیر سطوح مختلف پرسیاوشان و مریم‌گلی قرار نگرفت (جدول ۵). میزان تجزیه سوبسترا و تولید اسیدهای تخمیری از عوامل مهم مؤثر بر pH شکمبه‌ای هستند و تغییر عوامل مذکور در مطالعه حاضر چندان قابل توجه نبود، لذا pH بدون تغییر ماند. عدم تأثیر پرسیاوشان و مریم‌گلی (که حاوی متابولیت‌های ثانویه گیاهی هستند) بر pH برون‌تنی با نتایج به‌دست آمده در بررسی مواد مؤثره برخی گیاهان دیگر موافق است (Demİrtaş *et al.,* 2011; Gunal *et al.,* 2013).

گنجاندن مقادیر مختلف پرسیاوشان و مریم‌گلی در جیره موجب روند کاهشی در غلظت نیتروژن آمونیاکی در شرایط برون‌تنی شد (P<۰/۰۵). تجمع آمونیاک به واسطه فعالیت پروتوزوآها، باکتری‌های پروتئولیتیک و فعالیت آمین‌زدایی از اسیدهای آمینه است. در تحقیق حاضر، مصرف پرسیاوشان و مریم‌گلی سبب کاهش جمعیت پروتوزآیی شد که همین موضوع موجب کاهش بازچرخ نیتروژن در شکمبه، کاهش شکار باکتری‌ها به وسیله پروتوزوآها و افت تجمع آمونیاک شده است. هم‌چنین، افزایش رشد و میزان تولید توده باکتریایی با الحاق آمونیاک در پیکره میکروبی، می‌تواند بر غلظت آمونیاک در محیط تخمیری اثرگذار باشد (Bhatta *et al.,* 2013; Wu, 2018). تشکیل کمپلکس بین ترکیبات فنولی و پروتئین جیره نیز می‌تواند یکی دیگر از علل احتمالی در تجزیه پروتئین و کاهش مشاهده شده در غلظت آمونیاک باشد (Bhatta *et al.,* 2013). به هر حال، نیتروژن آمونیاکی برای تمامی جیره‌ها در دامنه تعریف شده برای رشد و فعالیت میکروب‌های شکمبه (۸/۵ تا ۳۰ میلی-گرم در دسی‌لیتر) قرار داشت (Wu, 2018). در نتیجه، مصرف سطوح مختلف پرسیاوشان و مریم‌گلی موجب بهبود بازده رشد میکروبی و کاهش اتلاف منابع نیتروژنه به شکل آمونیاک شده است. طبق نظر پژوهشگران، تأثیر گیاهان دارویی-مرتعی و فرآورده‌های آن‌ها بر غلظت آمونیاک شکمبه بر اساس شیوه تأثیر آن‌ها بر رشد و فعالیت باکتریایی، آمین‌زدایی، جمعیت پروتوزوآیی و سایر موارد، متناقض خواهد بود. برای مثال، در توافق با نتایج مطالعه حاضر، کاهش غلظت آمونیاک شکمبه‌ای در اثر مصرف گیاهان مرتعی و معطر دیگر مانند پولیکاریا، خوشاریزه و هم‌چنین عصاره مریم‌گلی مشاهده شده است (Bhatta *et al.,* 2013; Hosseini *et al.,* 2019). اما در سایر تحقیقات، غلظت آمونیاک تحت تأثیر عصاره مریم‌گلی و سایر مواد مؤثره گیاهی نبوده (Benchaar *et al.,* 2007; Kahvand and Malecky, 2018)، یا افزایش (Zmora *et al.,* 2012) داشته است.

جدول ۴- اثر جیره‌های حاوی سطوح مختلف پرسیاوشان و مریم‌گلی بر تولید توده میکروبی، بازده توده میکروبی و شاخص تفکیک برون‌تنی

Table 4. Effect of the diets containing different levels of *Adiantum capillus*-veneris (AC) and *Salvia officinalis* (SO) on i*n vitro* microbial biomass production (MBP), efficiency of MBP (EMBP), and partitioning factor (PF)

Experimental diet	MBP (g/kg DM)	EMBP (g/kg TDS)	PF (mg TDS/mL GP)
Control	220[c]	302[c]	3.15[c]
Diet containing 15% AC	230[bc]	308[c]	3.18[bc]
Diet containing 30% AC	243[b]	321[b]	3.24[ab]
SEM[1]	8.65	4.46	0.044
P-value, Linear	0.045	0.033	0.048
P-value, Quadratic	0.95	0.74	0.50
Diet containing 15% SO	251[ab]	331[ab]	3.29[a]
Diet containing 30% SO	265[a]	340[a]	3.34[a]
SEM	7.25	4.78	0.059
P-value, Linear	0.024	0.018	0.033
P-value, Quadratic	0.76	0.92	0.76

SEM: Standard error of the means

[a-c] Means in the same column with different superscripts differ (P<0.05).

جدول ۵- تأثیر جیره‌های حاوی سطوح مختلف پرسیاوشان و مریم‌گلی بر pH، آمونیاک، متان و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی برون‌تنی

Table 5. Effect of the diets containing different levels of *Adiantum capillus*-veneris (AC) and *Salvia officinalis* (SO) on i*n vitro* pH, ammonia, methane, and antioxidant capacity

Experimental diet	pH	NH_3-N	CH_4	CH_4	TAC
Control	6.64	18.53[a]	15.33[a]	47.34[a]	894[d]
Diet containing 15% AC	6.68	16.62[b]	13.22[b]	40.45[bc]	975[d]
Diet containing 30% AC	6.64	16.46[b]	13.66[ab]	41.72[b]	1446[c]
SEM	0.026	0.639	0.682	2.09	63.15
P-value, Linear	0.75	0.016	0.041	0.044	<0.001
P-value, Quadratic	0.83	0.76	0.47	0.62	0.96
Diet containing 15% SO	6.62	17.08[ab]	12.13[b]	36.61[c]	2283[a]
Diet containing 30% SO	6.62	16.71[b]	12.56[b]	38.80[bc]	1830[b]
SEM	0.018	0.601	0.866	2.20	48.3
P-value, Linear	0.70	0.075	0.035	0.035	<0.001
P-value, Quadratic	0.85	0.69	0.65	0.73	0.21

NH_3-N: Ammonia-N (mg/dL); CH_4: Methane (% of total gas); CH_4: Methane (mL/g TDS); TAC: Total antioxidant capacity (μmol Fe^{2+}/L); SEM: Standard error of the means

[a-d] Means in the same column with different superscripts differ (P<0.05).

از نتایج دیگر تحقیق حاضر، کاهش تولید متان به ازای کل گاز تولیدی و هم‌چنین به ازای هر واحد سوبسترای تجزیه شده در اثر تخمیر جیره‌های حاوی پرسیاوشان و مریم‌گلی در مقایسه با شاهد بود (P<۰/۰۵). مریم‌گلی در مقایسه با پرسیاوشان، کاهش بیشتری در متان ایجاد کرد، ولی افت تولید متان به ویژه به ازای هر واحد سوبسترای تجزیه شده چشمگیر بود و کمترین میزان متان برای جیره‌های حاوی مریم‌گلی مشاهده شد. جمعیت باکتری‌های گرم مثبت و آرکایاباکترهای متان‌زا به همراه گروه‌های پروتوزوآیی (تأمین‌کننده هیدروژن برای میکروب‌های متان‌زا) تأثیر زیادی بر تولید و آزادسازی متان دارند. به‌علاوه، جیره‌هایی که تخمیر آن‌ها موجب تولید استات کمتری نسبت به پروپیونات شود، اتلاف کربن کمتری به شکل متان خواهند داشت، زیرا تولید پروپیونات به‌عنوان یک مسیر رقابتی در مصرف هیدروژن عمل می‌کند (Wu, 2018). متابولیت‌های ثانویه گیاهان مرتعی در پژوهش حاضر موجب کاهش جمعیت پروتوزوآها شدند. چنین متابولیت‌هایی (ترکیبات فنولی، ترپن‌ها و فلاونوئیدهای موجود در پرسیاوشان و مریم‌گلی) سبب تخریب پروتوزوآها و یا تداخل در مسیرهای سوخت و سازی آن‌ها می‌شوند که نتیجه آن، کاهش آزادسازی متان خواهد بود (Vercoe *et al.,* 2010; Cieslak *et al.,* 2013). مواد مؤثره مذکور ممکن است باعث مهار باکتری‌های متان‌زا و مصرف‌کننده هیدروژن یا باکتری های گرم مثبت تولیدکننده هیدروژن شوند (Dehority, 2003)، که البته در پژوهش حاضر بررسی نشدند. کاهش نسبت استات به پروپیونات در مطالعه حاضر تأیید کرد که انحراف در مسیر سوخت و ساز هیدروژن به سمت نسبت بالاتری از پروپیونات رخ داده است. در توافق با نتایج این تحقیق، مطالعات دیگر پیشنهاد نمودند که مصرف مواد مؤثره موجود در گیاهان مرتعی-دارویی مانند مریم‌گلی، پونه کوهی و رزماری می‌توانند کاهش تولید متان را در پی داشته باشند (Zmora *et al.,* 2012; Bhatta *et al.,* 2013; Gunal *et al.,* 2013; DemİrtaȘ *et al.,* 2018; Kahvand and Malecky, 2018). در مطالعه دیگری نیز مصرف اسانس رازیانه (حاوی مواد مؤثره گیاهی) باعث کاهش تولید متان و جمعیت پروتوزوآیی در شرایط برون‌تنی شد (Mirzaei Cheshmehgachi *et al.,* 2019).

بر اساس نتایج جدول ۵، گنجاندن هر دو سطح پرسیاوشان و مریم‌گلی در جیره سبب افزایش بسیار خوبی در کل ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در شرایط برون‌تنی شد (P<۰/۰۵)، که علت این امر، وجود مواد مؤثره و متابولیت‌های ثانویه فراوان و متنوع (مانند ترکیبات فنولی، فلاونوئیدها و ترپن‌ها) در هر دو گیاه است که به عنوان آنتی‌اکسیدان‌های مطلوب و با ظرفیت بالا شناخته می‌شوند. این متابولیت‌ها دارای توانایی حذف رادیکال‌های آزاد، پیوند نمودن فلزات انتقالی (مانند آهن آزاد)، حذف اکسیژن فعال از محیط و القای آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی هستند و در واقع، شرایط تنش اکسیداسیونی را تعدیل می‌نمایند (Placha *et al.,* 2015; Rajabi *et al.,* 2017). در تأیید آثار مثبت گیاه کامل پرسیاوشان و مریم‌گلی در آزمایش حاضر، وجود ظرفیت

آنتی‌اکسیدانی قوی در اسانس و عصاره گونه مریم‌گلی، پونه کوهی و سایر گیاهان معطر نشان داده شده است (Placha *et al.,* 2015; Farhadi *et al.,* 2020).

غلظت کل اسیدهای چرب فرار و درصد هر یک از اسیدهای تخمیری تولیدی در شرایط برون‌تنی در جدول ۶ مشاهده می‌شود. تولید کل اسیدهای چرب فرار با مصرف گیاهان مرتعی اندکی افزایش یافت که البته معنی‌دار نبود (P>۰/۰۵). این افزایش جزئی با بهبود اندک مشاهده شده در میزان سوبسترای تجزیه شده حقیقی هم‌راستا و قابل توجیه است. با افزایش سطح پرسیاوشان و مریم‌گلی در جیره، درصد استات، روند کاهشی و درصد پروپیونات، روند افزایشی داشت (متمایل به افزایش بود)، که برآیند این تغییرات موجب کاهش معنی‌داری در نسبت استات به پروپیونات شد (P<۰/۰۵). همان‌طور که پیش از این اشاره شد، این تغییرات با افت مشاهده شده در جمعیت پروتوزوآیی و کاهش متان تولیدی در اثر مصرف گیاهان آزمایشی هم‌خوانی داشت (Vercoe *et al.,* 2010). تغییر الگوی اسیدهای چرب فرار به نفع پروپیونات در واقع باعث استفاده کارآمدتر انرژی خوراک به وسیله نشخوارکنندگان می‌شود (Wu, 2018). کاهش نسبت استات به پروپیونات در اثر مصرف گیاه کامل پرسیاوشان و مریم‌گلی با نتایج گزارش شده در زمان مصرف عصاره گیاهانی مانند مریم‌گلی و رزماری در جیره مطابقت داشت (DemİrtaȘ *et al.,* 2011). به هر حال، در برخی پژوهش‌ها افزودن عصاره گیاهان معطر هم‌چون مریم‌گلی تأثیری بر نسبت استات به پروپیونات نداشته، یا نسبت پروپیونات را کاهش داده است. این تضادها، به تفاوت در سوبسترا، دوز مصرفی، تنوع در ترکیب مواد زیست‌فعال اسانس‌ها و روغن‌های ضروری (Kahvand and Malecky, 2018) و هم‌چنین تأثیر ترکیب شیمیایی گیاه مرتعی (Vercoe *et al.,* 2010) نسبت داده شده است. آثار فرآورده‌های گیاهی معطر در تخمیر میکروبی هنگامی مثبت در نظر گرفته می‌شود که:

۱- غلظت کل VFA و نسبت پروپیونات افزایش یابد، ۲- سهم استات یا نسبت استات به پروپیونات کاهش یابد، و/یا ۳- غلظت آمونیاک کاهش یابد (Gunal *et al.,* 2013). چنین تغییراتی در پژوهش حاضر مشاهده شد.

بر اساس اطلاعات جدول ۷، جمعیت کل و گروه‌های مختلف پروتوزوآیی با افزایش سطح پرسیاوشان و مریم‌گلی در جیره به‌صورت قابل ملاحظه‌ای کاهش یافتند (P<۰/۰۵). در کل، پیشنهاد شده که پروتوزوآهای شکمبه باعث هدررفت بخش نیتروژنی خوراک در شکمبه می‌شوند و راهکارهای کاهش جمعیت آن‌ها می‌تواند به بهبود بهره‌وری جیره کمک کند. چنین تغییری باعث کاهش آلودگی‌های زیست‌محیطی در اثر هدررفت نیتروژن نیز خواهد شد. این موضوع در بهینه‌سازی مصرف انرژی با کاهش اتلاف متان نیز صادق است (Dehority, 2003; Wu, 2018). همان طور که پیش از این اشاره شد، یکی از علل کاهش جمعیت پروتوزوآیی وجود مواد مؤثره (مانند ترکیبات فنولی، ترپن‌ها و فلاونوئیدها) در پرسیاوشان و مریم‌گلی است که سبب تخریب پروتوزوآها و یا ایجاد تداخل در مسیرهای سوخت و سازی و زیستی آن‌ها می‌شود (Cieslak *et al.,* 2013). همچنین، به نظر می‌رسد کاهش پروتوزوآها، یک جایگاه زیستی جدید برای باکتری‌ها و بهبود توده میکروبی فراهم کرده، و هم‌چنین، موجب کاهش هیدروژن قابل دسترس برای باکتری‌های متان‌زا شده است. به‌علاوه، کاهش بازچرخ نیتروژن و آمونیاک در محیط تخمیر، نشانه‌های بهبود بازده تخمیر هستند. تأثیر متابولیت‌های ثانویه گیاهی (مانند ترکیبات فنولی، فلاونوئیدها، ساپونین‌ها، تیمول و یا مخلوطی از اسانس‌ها) در کاهش جمعیت پروتوزواهای شکمبه در سایر پژوهش‌ها نیز گزارش شد (Zmora *et al.,* 2012; Cieslak *et al.,* 2013: Rajabi *et al.,* 2017). به هر حال، عدم تأثیر عصاره برخی گیاهان معطر مانند مریم‌گلی بر جمعیت پروتوزوآیی مشاهده شده است (DemİrtaȘ *et al.,* 2011).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این تحقیق نشان داد جایگزینی سطوح ۱۵ و ۳۰ درصد پرسیاوشان و مریم‌گلی در جیره امکان‌پذیر است، بدون آن که تأثیر منفی بر تخمیر و هضم جیره داشته باشد. از سوی دیگر، مصرف گیاهان مذکور موجب بهبود ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و تولید توده میکروبی، افت اتلاف انرژی به‌صورت متان و نیتروژن به شکل آمونیاک، و هم‌چنین کاهش پروتوزوآی شکمبه‌ای شد که نشان‌دهنده امکان استفاده از این گیاهان به عنوان علوفه (در مرحله رشد پس از گل‌دهی) با هدف بهبود بازده تخمیر میکروبی است. به هر حال، در زمان کاربرد پرسیاوشان در جیره‌های پرتولید بهتر است نسبت کنسانتره اندکی افزایش یابد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مراتب قدردانی خویش را از دانشگاه تربیت مدرس، به دلیل حمایت مادی و معنوی از پژوهش حاضر ابراز می‌نمایند.

جدول ۶- اثر جیره‌های حاوی سطوح مختلف پرسیاوشان و مریم‌گلی بر غلظت کل اسیدهای چرب فرار (mmol/L) و نسبت مولی اسیدهای چرب فرار (mol/100 mol) در شرایط برون‌تنی

Table 6. Effect of the diets containing different levels of *Adiantum capillus*-veneris (AC) and *Salvia officinalis* (SO) on i*n vitro* total volatile fatty acids (VFA, mmol/L), and individual VFA proportions (mol/100 mol)

Experimental diet	Total VFA	Acetate (A)	Propionate (P)	Butyrate	Iso-butyrate	Valerate	Iso-valerate	A:P
Control	54.02	64.17	23.70	9.29	2.64[a]	0.059	0.142[a]	2.71[a]
Diet containing 15% AC	54.43	60.43	28.20	8.47	2.71[a]	0.053	0.140[a]	2.14[c]
Diet containing 30% AC	56.25	60.97	27.06	9.75	2.06[b]	0.047	0.107[b]	2.25[bc]
SEM	3.60	1.65	1.49	0.821	0.238	0.007	0.012	0.093
P-value, Linear	0.52	0.19	0.062	0.65	0.046	0.26	0.044	0.032
P-value, Quadratic	0.88	0.76	0.69	0.59	0.53	0.79	0.86	0.22
Diet containing 15% SO	55.06	62.47	26.34	8.94	2.05[b]	0.060	0.127[ab]	2.37[b]
Diet containing 30% SO	54.97	62.68	26.33	8.89	1.93[b]	0.054	0.119[ab]	2.38[b]
SEM	4.11	1.38	1.08	0.431	0.244	0.005	0.013	0.088
P-value, Linear	0.91	0.82	0.073	0.90	0.039	0.21	0.088	0.041
P-value, Quadratic	0.99	0.92	0.87	0.93	0.60	0.86	0.95	0.54

SEM: standard error of the means

[a-c] Means in the same column with different superscripts differ ($P<0.05$).

جدول ۷- اثر جیره‌های حاوی سطوح مختلف پرسیاوشان و مریم‌گلی بر جمعیت پروتوزوآی شکمبه در شرایط برون‌تنی ($\times ۱۰^{۵}$ در میلی لیتر)

Table 7. Effect of the diets containing different levels of *Adiantum capillus*-veneris (AC) and *Salvia officinalis* (SO) on i*n vitro* ruminal protozoa count ($\times 10^5$/mL)

Experimental diet	Total protozoa	*Isotrichidae*	*Entodiniinae*	*Diplodiniinae*	*Ophrioscolecinae*
Control	30.69[a]	1.51[a]	22.34[a]	5.46[a]	1.38[a]
Diet containing 15% AC	26.35[b]	1.10[b]	19.90[ab]	4.50[ab]	0.850[b]
Diet containing 30% AC	21.70[c]	0.911[b]	15.60[b]	4.49[ab]	0.689[b]
SEM	2.45	0.145	1.78	0.646	0.182
P-value, Linear	0.001	0.046	<0.001	0.43	0.037
P-value, Quadratic	0.64	0.59	0.76	0.80	0.64
Diet containing 15% SO	20.49[c]	0.897[b]	14.80[c]	3.91[bc]	0.891[b]
Diet containing 30% SO	15.35[d]	0.900[b]	11.00[d]	2.95[c]	0.500[b]
SEM	1.65	0.142	1.36	0.383	0.169
P-value, Linear	<0.001	0.013	<0.001	0.009	0.018
P-value, Quadratic	0.84	0.87	0.76	0.48	0.73

SEM: standard error of the means

[a-c] Means in the same column with different superscripts differ ($P<0.05$).

فهرست منابع

Al-Snafi A. E. 2015. The chemical constituents and pharmacological effects of *Adiantum capillus*-veneris - A review. Asian Journal of Pharmaceutical Science and Technology, 5(2): 106-111.

Anele U. Y., Südekum K- H., Hummel J., Arigbede O. M., Oni A. O., Olanite J. A., Böttger C., Ojo V. O. and Jolaosho A. O. 2011 Chemical characterization, *in vitro* dry matter and ruminal crude protein degradability and microbial protein synthesis of some cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp) haulm varieties. Animal Feed Science and Technology, 163: 161-169.

AOAC. 2012. *Official Methods of Analysis* (19th ed.). Washington DC (USA): Association of official analytical chemist.

Bagherzadeh Kasmani F., Omidikia S., Mirzaie H. and Mehri M. 2015. Effects of *Salvia mirzayanii* leaf powder on performance and cecal microbial population of broilers. Animal Production, 16(2): 103-111. (In Persian).

Benchaar C., Chaves A. V., Fraser G. R., Beauchemin K. A. and McAllister T. A. 2007. Effects of essential oils and their components on *in vitro* rumen microbial fermentation. Canadian Journal of Animal Science, 87(3): 413-419.

Benzie I. F. F. and Strain J. J. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: the FRAP assay. Analytical Biochemistry, 239: 70-76.

Bhatta R., Saravanan M., Baruah L., Sampath K. T. and Prasad C. S. 2013. Effect of plant secondary compounds on *in vitro* methane, ammonia production and ruminal protozoa population. Journal of Applied Microbiology, 115(2): 455-465.

Blümmel M., Karsli A. and Russell J. R. 2003. Influence of diet on growth yields of rumen microorganisms *in vitro* and *in vivo*: Influence on growth yield of variable carbon fluxes to fermentation products. British Journal of Nutrition, 90: 625-634.

Blümmel M., Steingss H. and Becker K. 1997. The relationship between *in vitro* gas production, *in vitro* microbial biomass yield and15N incorporation and its implications for the prediction of voluntary feed intake of roughages. British Journal of Nutrition, 77: 911-921.

Cieslak A., Szumacher-Strabel M., Stochmal A. and Oleszek W. 2013. Plant components with specific activities against rumen methanogens. Animal, 7(s2): 253-265.

Dehority B. A. 2003. *Rumen Microbiology* (1st ed.). Nottingham (UK): Nottingham University Press.

Demİrtaş A., Öztürk H. and Pişkin İ. 2018. Overview of plant extracts and plant secondary metabolites as alternatives to antibiotics for modification of ruminal fermentation. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 65(2): 213-217.

Demİrtaş A., Öztürk H., Pİşkİn İ., Demirkıran D., Salgırlı Y., Fidancı U. R. and Emre B. 2011. Effects of rosemary and sage extracts on ruminal fermentation using the rumen simulation technique (RUSITEC). Veteriner Fakültesi Dergisi (Istanbul), 37(2): 127-134.

Farhadi M., Hedayati M., Manafi M. and Khalaji S. 2020. Influence of using sage powder (*Salvia officinalis*) on performance, blood cells, immunity titers, biochemical parameters and small intestine morphology in broiler chickens. Iranian Journal of Applied Animal Science, 10(3): 509-516.

Galyean M. L. 2010. *Laboratory Procedures in Animal Nutrition Research*. Lubbock (TX, USA): Department of Animal and Food Sciences, Texas Tech University.

Ghorbani A. and Esmaeilizadeh M. 2017. Pharmacological properties of *Salvia officinalis* and its components. Journal of Traditional and Complementary Medicine, 7(4): 433-440.

Gohari A. R., Saeidnia S., Malmir M., Hadjiakhoondi A. and Ajani Y. 2010. Flavones and rosmarinic acid from *Salvia limbata*. Natural Product Research, 24(20): 1902-1906.

Gunal M., Ishlak A. and Abughazaleh A. A. 2013. Evaluating the effects of six essential oils on fermentation and biohydrogenation in *in vitro* rumen batch cultures. Czech Journal of Animal Science, 58: 243-252.

Heber D. 2004. *PDR for Herbal Medicines* [M]. Montvale: Thomson Health Care, Inc.

Hosseini S. M., Rezaei J. and Rouzbehan Y. 2019. Chemical composition and effect of *Echinophora sibthorpiana* and *Pulicaria dysenterica* on *in vitro* ruminal fermentation parameters, methane and antioxidant capacity. Animal Production, 21(4): 461-473. (In Persian).

Kahvand M. and Malecky M. 2018. Dose-response effects of sage (*Salvia officinalis*) and yarrow (*Achillea millefolium*) essential oils on rumen fermentation *in vitro*. Annals of Animal Science, 18(1): 125-142.

Kazemi M. and Saleh H. 2021. *In vitro* evaluation of medicinal plants including *Artemisia aucheri* Boiss, *Salvia leriifolia* Benth, *Achilea santolina*, and *Nepeta glumerulosa* in livestock diet. Journal of Animal Environment, 13(1): 81-92. (In Persian).

Khiaosa-Ard R. and Zebeli Q. 2013. Meta-analysis of the effects of essential oils and their bioactive compounds on rumen fermentation characteristics and feed efficiency in ruminants. Journal of Animal Science, 91(4): 1819-1830.

Khodaie L., Esnaashari S. and Bamdad Moghaddam S. 2015. Essential oil of arial parts of adiantum capillus-veneris: chemical composition and antioxidant activity. Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products, 10(4): e21968.

Madboli A. E. N. A. and Seif M. M. 2021. *Adiantum capillus*-veneris Linn protects female reproductive system against carbendazim toxicity in rats: immunohistochemical, histopathological, and pathophysiological studies. Environmental Science and Pollution Research, 28(16): 19768-19782.

Menke K., Raab L., Salewski A., Steingass H., Fritz D. and Schneider W. 1979. The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feedingstuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor *in vitro*. Journal of Agricultural Science, 93(1): 217-222.

Mirzaei Cheshmehgachi S., Moeini M. M., Hozhabri F. and Nooriyan Soror M. E. 2019. Effect of different levels of fennel essential oil on *in vitro* gas production parameters and protozoa population of goat rumen. Animal Production Research, 8(1): 41-51. (In Persian).

Nemat Shahi M.M., Elhami Rad A.H., Nemat Shahi N. and Estiri H. 2021. Study of antioxidant properties and recognition of chemical compounds of extracts from *Adiantum capillus*-veneris leaf. Journal of Innovation in Food Science and Technology, 13(1): 15-29. (In Persian).

NRC. 2007. *Nutrient Requirements of Small Ruminants* (1th ed.). Washington, DC (USA): National Academic Press.

Pan C., Chen Y. G., Ma X. Y., Jiang J.H., He F. and Zhang Y. 2011. Phytochemical constituents and pharmacological activities of plants from the genus *Adiantum*: A review. Tropical Journal of Pharmaceutical Research, 10(5): 681-692.

Placha I., Ryzner M., Cobanova K., Faixova Z. and Faix S. 2015. Effects of dietary supplementation with sage (*Salvia officinalis* L.) essential oil on antioxidant status and duodenal wall integrity of laying strain growers. Polish Journal of Veterinary Sciences, 18(4): 741-749.

Rajabi M., Rouzbehan Y. and Rezaei J. 2017. A strategy to improve nitrogen utilization, reduce environmental impact, and increase performance and antioxidant capacity of fattening lambs using pomegranate peel extract. Journal of Animal Science, 95: 499-510.

Shirazi M. H., Amin G., Akhondi Lavasani B. and Eshraghi S. S. 2011. Study of antibacterial properties of *Adiantum capillus*-veneris extract on eight species of gram positive and negative bacteria. Journal of Medicinal Plants, 10(40): 124-132. (In Persian).

Taha M. A. and Baioumy Ali A. A. 2020. The First Study for The Acaricidal Activity of Alcoholic Extracts of *Adiantum capillus*-veneris and *Funaria hygrometric* against Argas persicus. Egyptian Academic Journal of Biological Sciences, F. Toxicology & Pest Control, 12(2): 203-217.

Van Soest P. V., Robertson J. B. and Lewis B. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. Journal of Dairy Science, 74(10): 3583-3597.

Venskutonis P. R. and Kraujalis P. 2013. Nutritional components of amaranth seeds and vegetables: a review on composition, properties, and uses. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 12(4): 381-412.

Vercoe P. E., Makkar H. P. S. and Schlink A. C. 2010. *In vitro screening of plant resources for extra-nutritional attributes in ruminants: nuclear and related methodologies*. Dordrecht (Netherlands): IAEA.

Wu G. 2018. *Principles of Animal Nutrition* (1th ed.). Boca Raton (FL, USA): CRC Press, Taylor & Francis Group LLC.

Yarnia M. 2010. Comparison of field bindweed (*Convolvuls arvensis* L.) and Bermuda grass (*Cynodon dactylon* L.) organs residues on yield and yield components of bread wheat (*Triticum aestivum* L.). Advances in Environmental Biology, 4(3): 414-421.

Zargari A. 1997. *Medical Plants*, Vol 4 (6th ed.). Tehran (Iran): Tehran University Press. (In Persian).

Zmora P., Cieślak A., Pers-Kamczyc E., Szyszka P. and Szumacher-Strabel M. 2012. An *in vitro* study on the effect of sage, *Salvia officinalis* L., on rumen fermentation. Journal of Animal and Feed Sciences, 21: 613-623.