Iranian Journal of Animal Science
Vol 53, No 4, Winter 2023 (273-285)
DOI: 10.22059/ijas.2022.340407.653879

علوم دامی ایران
دورۀ ۵۳، شمارۀ ۴، زمستان ۱۴۰۱ (ص ۲۸۵-۲۷۳)

مقاله پژوهشی:

تأثیر افزودن مخلوطی از اسانس‌های نعناع فلفلی، آویشن و رزماری به جیره بر عملکرد رشد، فراسنجه‌های تخمیر شکمبه و متابولیت‌های خون بره‌های پرواری

مرضیه رحمتی‌زاده[۱]، فردین هژبری[۲*] و فرخ کفیل‌زاده[۳]
۱، ۲ و ۳. دانشجوی دکتری، دانشیار و استاد، گروه علوم دامی، دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران
(تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۲/۲۱ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۳/۲۱)

چکیده

این آزمایش برای ارزیابی اثر افزودن مخلوط اسانس‌های نعناع فلفلی، آویشن و رزماری به جیره به ترتیب با نسبت ۳:۱:۲ بر عملکرد رشد، فراسنجه‌های شکمبه و خون بره‌های پرواری انجام شد. بیست و یک رأس بره نر مهربان با میانگین وزن ۲۹/۸۰ کیلوگرم به‌طور تصادفی با یکی از سه جیره ۱) شاهد، ۲) جیره پایه + ۱/۲۵ میلی‌لیتر مخلوط اسانس و ۳) جیره پایه + ۲/۵ میلی‌لیتر مخلوط اسانس تغذیه شدند. افزایش وزن روزانه در گروه‌های دریافت‌کننده مخلوط اسانس‌ها بیشتر از گروه شاهد بود، هرچند این افزایش بیشتر ناشی از اثر متقابل تیمار در زمان بود. میزان مصرف خوراک و ضریب تبدیل خوراک نسبت به گروه شاهد تغییری نکرد. غلظت کل اسیدهای چرب فرّار و استات در گروه‌های دریافت‌کننده مخلوط اسانس نسبت به گروه شاهد کاهش یافت(P<۰/۰۵)، در حالی که غلظت پروپیونات در ۲/۵ میلی‌لیتر اسانس و غلظت ایزووالرات در غلظت‌های مختلف مخلوط اسانس نسبت به گروه شاهد افزایش یافت(P<۰/۰۵). تعداد پروتوزوآ، pH و نیتروژن آمونیاکی شکمبه تفاوت معنی‌دار نداشت. غلظت گلوکز در سطح بالای مخلوط اسانس‌ها افزایش یافت (P<۰/۰۵). غلظت‌های اوره، کلسترول، تری‌گلیسرید، کراتینین، پروتئین کل و آلبومین تغییری نکرد. تعداد سلول‌های قرمز، هموگلوبین، هماتوکریت، تعداد و درصد سلول‌های سفید شامل لنفوسیت و ائوزینوفیل تحت تأثیر تیمارها قرار نگرفت ولی درصد مونوسیت‌ها در سطح پایین مخلوط اسانس‌ها کاهش یافت. نتایج این آزمایش نشان داد که افزودن مخلوط اسانس‌ها به جیره تأثیر معنی‌داری بر فراسنجه‌های عملکرد و سیستم ایمنی بره‌ها نداشت، هر چند سبب کاهش غلظت کل اسیدهای چرب فرّار، استات و افزایش غلظت پروپیونات در شکمبه شد.

واژه‌های کلیدی: اسانس‌های گیاهی، بره‌های مهربان، تخمیر شکمبه‌ای، متابولیت‌ها و سلول‌های خون.

The effect of adding a mixture of peppermint, thyme and rosemary essential oils to diet on growth performance, rumen fermentation parameters and blood metabolites of fattening lambs

Marzieh Rahmatizadeh[1], Fardin Hozhabri[2*] and Farokh Kafilzade[3]
1, 2, 3. Ph.D. Candidate, Associate Professor and Professor, Department of Animal Science, Faculty of Science and Agricultural Engineering, Razi University, Kermanshah, Iran
(Received: Mar. 12, 2022 - Accepted: Jun. 11, 2022)

ABSTRACT

This study was performed to evaluate the effect of adding a mixture of peppermint, thyme and rosemary essential oils (EOs) in a ratio of (3:1:2), respectively, to the diet, on growth performance, rumen and blood parameters of fattening lambs. Twenty-one Mehraban lambs with an average weight of 29.80 kg were randomly allocated to one of three diets: 1) control, 2) base diet+1.25ml of EOs and 3) base diet+2.5ml of EOs. Daily weight gain was greater in the groups receiving the EOs than in the control, although this increase was mainly due to the interactions of treatment over time. Feed consumption and feed conversion ratio compared to the control did not altered. The total concentrations of VFAs and acetate in the groups receiving EOs decreased (P<0.05), while the concentration of propionate increased (P<0.05) at the level of 2.5ml of EOs and isovalerate increased (P<0.05) in both levels of EOs compared to the control. Total population of protozoa, rumen pH and ammonia nitrogen concentration were not affected by treatments. Glucose concentration increased at high level of EOs (P<0.05). Concentrations of urea, cholesterol, triglycerides, creatinine, total protein and albumin did not altered. The number of red blood cells, hemoglobin, hematocrit, number and percentage of white cells including lymphocytes and eosinophils were not affected by treatments but the percentage of monocytes decreased (P<0.05) at low level of the EOs. The results of this experiment showed that the addition of mixture of EOs to the diet did not have a significant effect on performance parameters and immune system of lambs, although it reduced the total concentration of VFA and acetate and increased the concentration of propionate.

Keywords: Blood cells and metabolites, herbal essential oil, Mehraban lambs, rumen fermentation.

* Corresponding author E-mail: hozhabri@razi.ac.ir

مقدمه

استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها به‌عنوان افزودنی در جیره خوراکی دام به دلیل ظهور این ترکیبات در شیر و گوشت و اثر آن بر سلامتی انسان محدود شده است (Mohamadi *et al*., 2017). به همین جهت متخصصین تغذیه برای تولید محصولات سالم، راهکارهایی از جمله استفاده از محصولات گیاهی را مورد مطالعه قرار داده‌اند. برخی از این فراورده‌های گیاهی به‌عنوان جایگزین مناسبی برای تحریک رشد یا بهبوددهنده بازده رشد در تغذیه دام مورد توجه قرار گرفته‌اند (Akhavan Gigloo *et al*., 2019). بسیاری از اسانس‌ها و اجزای فعال آن‌ها دارای فعالیت ضد میکروبی در برابر باکتری‌ها، پروتوزوآها و قارچ‌ها هستند و در تعدیل رقابت بین جمعیت‌های مختلف میکروبی شکمبه با هدف بهبود بازده استفاده از انرژی و پروتئین در نشخوارکنندگان استفاده می‌شوند (Mirzaei Cheshmeh Gachi *et al*., 2017; Sahraei *et al*., 2014). ترکیبات فعال موجود در اسانس‌های گیاهی با دستکاری تخمیر شکمبه، مانند کاهش تولید آمونیاک و متان، بهبود نسبت اسیدهای چرب فرّار و تأثیر بر برخی میکروب‌های شکمبه عملکرد حیوان را افزایش می‌دهند (Mirzaei *et al*., 2016; Akram *et al*., 2021). همچنین اسانس‌های گیاهان به‌واسطه وجود مواد مؤثره متفاوت در ترکیب خود خواص آنتی‌اکسیدانی، تحریک‌کننده سیستم ایمنی، کاهش تعداد پاتوژن‌ها، افزایش هضم و جذب مواد مغذی و بهبود بیماری‌ها و کاهش تنش محیطی را نشان می‌دهند (Kaki *et al*., 2018, 2020; Puvaca *et al*., 2020).

نعناع فلفلی (*Mentha piperita*) گیاهی چند ساله و متعلق به خانواده نعناعیان است و متابولیت‌های ثانویه اصلی اسانس نعناع شامل منتول (۳۱/۵۳ درصد)، سینئول (۱۰/۶۷٪)، منتون (۸/۲٪)، منتیل استات (۳/۵۴٪)، بتا-کاریوفیلدن (۲/۸٪) و پیپریتون (۰/۷۷٪) می‌باشند (Mohamadi *et al*., 2017). نتایج پژوهش‌ها نشان می‌دهد اسانس نعناع، سبب کاهش متان، غلظت نیتروژن آمونیاکی، تعداد پروتوزوآ و تغییر نسبت مولار اسیدهای چرب کوتاه زنجیر می‌شود (Ahmed *et al*., 2014). اما بر عملکرد رشد، غلظت متابولیت‌های خونی (Mohamadi *et al*., 2017)، تعداد و درصد سلول‌های خونی (Morshedi *et al*., 2019) تأثیری نداشت. آویشن (*Thymus vulgaris* L.) نیز گیاهی چند ساله از خانواده نعناعیان است (El-Essawy *et al*., 2019). اسانس آن حاوی بیش از ۶۰ ترکیب می‌باشد، که مهمترین آن‌ها تیمول (۶۸/۱ درصد) و کارواکرول (۳/۵ درصد) می‌باشد که خواص آنتی‌اکسیدانی و فعالیت ضد میکروبی آنها شناخته شده است (Nieto *et al*., 2010). اسانس آویشن باعث حفظ ساختار و عملکرد طبیعی دستگاه گوارش و درنتیجه بهبود هضم و جذب مواد مغذی می‌شود که می‌تواند بر عملکرد لاشه دام تأثیر بگذارد (Osman *et al*., 2020).

برخی آزمایش‌ها نشان می‌دهند که اسانس آویشن باعث افزایش سطح پلاسمایی تری‌گلیسریدها، کلسترول، LDL و HDL (Al-Desouky *et al*., 2019)، تعدادکل نوتروفیل‌ها و لنفوسیت‌ها (Seirafy & Sobhanirad, 2017) می‌شود. افزودن پودر برگ آویشن به میزان ۲۰ گرم در روز به جیره گوسفند، وزن نهایی و اضافه وزن روزانه به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (Abd El Tawab *et al*., 2020). رزماری نیز گیاهی علفی، بوته‌ای، چند ساله است (Fazlara *et al*., 2016). عمده متابولیت‌های ثانویه آن مونوترپن‌ها (۹۳/۰۶ درصد) هستند. اجزای اصلی شامل سینئول (۵۰/۴۲ درصد)، کامفور (۱۷/۷۳ درصد) و بورنئول (۵/۹۹ درصد) است (Douiri *et al*., 2013). فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی اسانس رزماری از طریق اثر بر روی سیستم گوارشی باعث بهبود عملکرد دام می‌شود (Monteschio *et al*., 2017)؛ هر چند برخی محققین عدم اثر بر عملکرد رشد بره‌ها با خوراندن ۰/۶ میلی‌لیتر در روز اسانس رزماری را گزارش کرده‌اند (Smeti *et al*., 2018). علاوه بر این، گزارش شده است که اسانس رزماری سبب کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی شکمبه می‌شود (Sahraei *et al*., 2014). افزودن پودر نعناع و آویشن به میزان سه درصد به جیره بره‌های پرواری، مصرف خوراک و اضافه وزن روزانه را افزایش داد (Khamisabadi *et al*., 2016). همچنین گزارش شده است که افزودن مخلوط اسانس‌های آویشن، رزماری، پونه کوهی، سیر، لیمو، اکالیپتوس و پرتقال

شیرین (۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) به جیره غذایی گاوهای نر پرواری، وزن بدن نهایی و اضافه وزن روزانه افزایش داد (Rivaroli *et al*., 2017). اگر چه در خصوص تأثیر اسانس‌های نعناع فلفلی، آویشن و رزماری به تنهایی اطلاعات بسیار مفیدی در خصوص تأثیر مثبت آن‌ها بر عملکرد دام وجود دارد، ولی مطالعه‌ای که در آن تأثیر مخلوط این اسانس‌ها را بررسی کرده باشد، در دسترس نیست. لذا هدف از پژوهش حاضر بررسی مخلوط اسانس‌های نعناع فلفلی، آویشن و رزماری بر عملکرد رشد، فراسنجه‌های شکمبه‌ای و خون خواهد بود.

مواد و روش‌ها

این پژوهش به‌مدت ۱۰۰ روز (۱۰ روز عادت‌دهی و ۹۰ روز دوره پرواربندی) با تعداد ۲۱ رأس بره نر نژاد مهربان ۴ تا ۵ ماهه و با میانگین وزن اولیه ۲۹/۸۰ کیلوگرم، در واحد گوسفندداری دانشگاه رازی با مجوز کد اخلاق کار باحیوانات به شماره ۰۱۲-۲-۳۹۷ انجام شد. آزمایش شامل سه تیمار بود؛ ۱- جیره پایه بدون مخلوط اسانس (شاهد)، ۲- جیره پایه+ ۱/۲۵ میلی‌لیتر مخلوط اسانس، ۳- جیره پایه+ ۲/۵ میلی‌لیتر مخلوط اسانس به‌ازای هر دام در روز. اسانس‌های نعناع فلفلی، آویشن و رزماری از شرکت گلاب زاگرس، کرمانشاه خریداری شد. در این آزمایش اسانس نعناع فلفلی، آویشن و رزماری در سه سطح ۱۵۰، ۳۰۰ و ۴۵۰ میکرولیتر با نسبت (۲:۱:۳) مخلوط شدند. مخلوط اسانس‌های مورد استفاده در دو سطح ۱/۲۵ و ۲/۵ میلی‌لیتر در روز به ازای هر بره استفاده شد. جیره بره‌ها برای حداکثر رشد و تأمین احتیاجات غذایی توصیه‌شده توسط انجمن ملی تحقیقات آمریکا (NRC, 2007) تنظیم شد (جدول ۱) و به‌صورت خوراک کاملاً مخلوط به‌صورت آزاد[1] در دو نوبت (در ساعت ۸:۰۰ و ساعت ۱۸:۰۰) در اختیار بره‌ها قرار گرفت. مخلوط اسانس‌های مورد استفاده قبل از وعده غذایی صبح به جیره غذایی بره‌ها افزوده شد. ماده خشک مصرفی و پس آخور بره‌ها به‌طور روزانه ثبت شد. از خوراک در طول دوره آزمایش سه بار نمونه‌گیری و ترکیبات شیمیایی مواد خوراکی بر طبق روش‌های AOAC (1990) تعیین شد.

1. Ad Libitum

جدول ۱. اجزا و ترکیب شیمیایی جیره بره‌های پرواری

Table 1. Ingredients and chemical composition of fattening lambs rations (Percentage of Dry Matter)

	%
Ingredients	
Alfalfa	9
Wheat Straw	21
Barley grain	41.64
Wheat grain	9
Wheat bran	7.5
Soybean meal	8.7
Urea	0.41
Salt	0.40
Sodium bicarbonate	1
Dicalcium phosphate	0.35
Mineral and vitamin supplement*	1
Chemical composition (%)	
Dry matter	95.38
Organic matter	92.43
Ash	7.57
Crude protein	13.80
Ether extract	1.84
Acid detergent fiber (ADF)	17.30
Neutral detergent fiber (NDF)	31.45

* مکمل معدنی شامل ۵۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین A، ۱۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین D_3، ۳۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین E، ۱۸۰ گرم کلسیم، ۳۰ گرم فسفر، ۱۹ گرم منیزیم، ۶۰ گرم سدیم، ۳۰۰۰ میلی‌گرم روی، ۳۰۰۰ میلی‌گرم آهن، ۲۰۰۰ میلی‌گرم منگنز، ۳۰۰ میلی‌گرم مس، ۱۰۰ میلی‌گرم کبالت، ۱۰۰ میلی‌گرم ید، ۱۲ میلی‌گرم سلنیم، ۱۰۰۰ میلی‌گرم آنتی‌اکسیدان و ۱۰۰۰ گرم کلرایت می‌باشد

* Mineral supplement: Vitamin A 5000 IU, Vitamin D_3 100000 IU, Vitamin E 300 IU, Calcium 180 g, Phosphorus 30 g, Magnesium 19 g, sodium 60 g, zinc 3000 mg, iron 3000 mg, manganese 2000 mg, copper 300 mg, cobalt 100 mg, iodine 100 mg, Selenium 12 mg, antioxidant 1000 mg, chlorite 1000 gr.

میزان ماده خشک مصرفی روزانه از تفاضل ماده خشک خوراک عرضه‌شده و ماده خشک خوراک باقی‌مانده به دست آمد. حیوانات در ابتدای آزمایش و هر دو هفته یکبار پس از آن تا پایان آزمایش توزین شدند. افزایش وزن بدن از تفاضل وزن بدن اولیه از وزن بدن نهایی محاسبه شد و میانگین افزایش وزن روزانه از تقسیم وزن دام بر تعداد روزهای آزمایش محاسبه شد. ضریب تبدیل خوراک از تقسیم کل خوراک مصرفی بر کل وزن بدن برای هر حیوان محاسبه شد.

از بره‌ها در پایان آزمایش چهار ساعت قبل از خوراک وعده صبح با استفاده از سوند مری مایع شکمبه گرفته شد. برای اطمینان از عدم آلودگی محتویات مایع شکمبه با بزاق، مقدار ۱۰۰ میلی‌لیتر اولیه مایع شکمبه دور ریخته و دومین نمونه مورد استفاده قرار گرفت. سپسس

نمونه از پارچه پنیر چهار لایه عبور داده شد. pH شکمبه بلافاصله پس از نمونه‌برداری با pH متر قابل حمل اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری نیتروژن آمونیاکی مقدار ۵ میلی‌لیتر از مایع شکمبه صاف‌شده با یک میلی‌لیتر اسیدکلریدریک دو درصد مخلوط و تا زمان تجزیه در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. غلظت نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه به روش توصیه‌شده Broderick & Kang (1980) انجام شد. در این روش مقدار نیتروژن آمونیاکی با استفاده از معرف‌های فنل، هیپوکلریک، استاندارد آمونیاک و با دستگاه اسپکتروفتومتر (Scan UV Visible, CARY100, VARIAN) در طول موج ۶۳۰ نانومتر قرائت شد. آزمایش شامل آماده‌سازی نمونه‌های مایع شکمبه و سپس اندازه گیری نیتروژن آمونیاکی نمونه‌ها بود؛ نمونه‌های مایع شکمبه با نسبت پنج به یک با اسید کلریدریک ۰/۲ نرمال (پنج قسمت مایع شکمبه و یک قسمت اسیدکلریدریک) مخلوط نموده و داخل لوله‌های فالکون) انتقال داده شد. سپس در فریزر در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد تا روز آزمایش اندازه‌گیری نیتروژن آمونیاکی، نگه‌داری شدند. شمارش جمعیت پروتوزوآیی با استفاده از محلول رقیق‌کننده فرمال سالین و رقیق‌سازی نمونه شکمبه و شمارش توسط میکروسکوپ نوری به روش Dehority (2003) انجام شد. نمونه‌های مایع شکمبه با نسبت یک به پنج (یک مایع شکمبه: پنج فرمال سالین) با فرمال سالین در لوله‌های فالکون ۵۰ میلی‌لیتری مخلوط شدند. شناسایی و شمارش پروتوزوآ به کمک نرم‌افزار دینوکپچر نصب شده روی رایانه، میکروسکوپ نوری و لام نئوبار انجام شد. پروتوزوآی انتودینیوم، دیپلودینیوم، اپی‌دینیوم، افریواسکالس، ایزو تریشیدا و داسی تریشیدا شناسایی و شمارش شدند.

مقدار چهار میلی‌لیتر از مایع شکمبه صاف‌شده برای تجزیه اسیدهای چرب فرّار برداشته و به آن دو میلی‌لیتر متافسفریک اسید (۲۰ درصد) اضافه و تا زمان تعیین تجزیه در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شد. غلظت اسیدهای چرب فرّار شکمبه با استفاده از کروماتوگرافی گازی اندازه‌گیری شد. از ۴-متیل والریک اسید (شرکت سیگما، لویس آمریکا) به‌عنوان استاندارد داخلی استفاده شد. برنامهٔ دمایی و مشخصات دستگاه به‌صورت زیر بود.

دمای تزریق‌کننده و تشخیص‌دهندهٔ دستگاه به ترتیب ۱۱۰ و ۲۰۰ درجهٔ سانتی‌گراد بود. گاز ناقل هلیوم و تشخیص دهندهٔ آن از نوع FID بود. دمای ستون دستگاه در آغاز ۱۱۰ درجهٔ سانتی‌گراد بود که به‌مدت دو دقیقه در این دما نگه داشته شد و سپس در طول پنج دقیقه به ۲۰۰ درجهٔ سانتی‌گراد رسانده شد و برای یک دقیقه در این دما باقی ماند. ستون مورد استفاده از نوع مویینه به طول ۳۰ متر بود (Alltech Capillary Column, ECTM .1000, inside diameter 0.53 mm, film thickness 1 micron). غلظت هر یک از اسیدهای چرب فرّار از تقسیم سطح زیر نقطهٔ اوج آن اسید چرب بر سطح زیر نقطهٔ اوج مجموع اسیدهای چرب محاسبه و به درصدی از مجموع اسیدهای چرب فرّار بیان شد.

خون‌گیری از سیاهرگ وداج در روزهای اول و پایان دوره پروار قبل از خوراک‌دهی صبح انجام شد. مقدار پنج میلی‌لیتر خون در لوله‌های حاوی ماده ضد انعقاد (EDTA) برای اندازه‌گیری فراسنجه‌های هماتولوژی و لوله‌های بدون ماده ضد انعقاد جهت تهیه سرم و اندازه‌گیری برخی فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون استفاده شد. نمونه‌های خون بدون ماده ضد انعقاد در ۳۰۰۰ دور در دقیقه به‌مدت ۱۰ دقیقه در دمای چهار درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ شدند و سرم جمع‌آوری شده در۲۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان تجزیه نگه‌داری شد. خون حاوی ماده ضد انعقاد بلافاصله پس از جمع‌آوری از نظر تعداد گلبول‌های قرمز خون، هموگلوبین، هماتوکریت، تعداد گلبول‌های سفید خون و درصد لنفوسیت، مونوسیت و ائوزینوفیل توسط شمارش‌گر سلول اتوماتیک (Nihon kohden Celltaca, Tokyo, Japan) مورد مطالعه قرار گرفت. برای اندازه‌گیری غلظت گلوکز، اوره، کلسترول، تری‌گلیسرید، کراتینین، پروتئین تام، آلبومین، HDL و LDL از دستگاه اتوآنالایزر (Alcyon 300i Abbott, USA) و کیت‌های تولید شرکت من تحت لیسانس فرانسه (EL TechGroup) استفاده شد. روش کار بر اساس توصیه شرکت تولید کننده کیت بود.

فراسنجه‌های عملکرد رشد در قالب مدل آماری طرح

کاملا تصادفی با اندازه‌گیری‌های تکرار شده در واحد زمان، رویه Mixed نرم‌افزار SAS (2003) ویرایش ۹/۱ انجام شد. در مدل آماری از بره‌ها به‌عنوان اثر تصادفی و از وزن اولیه به‌عنوان متغیر کمکی استفاده شد. مقایسه میانگین‌ها با آزمون توکی و در سطح α =۰/۰۵ انجام شد. مدل آماری در رابطه ۱ بیان شده است.

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + W_l + R_j + D_k + (T\times D)_{ik} + E_{iljk} \quad (۱)$$

در این مدل: Y_{ijk}: متغیر وابسته؛ μ: میانگین کل؛ T_i: اثر تیمار؛ W_l: اثر وزن اولیه به‌عنوان متغیر کمکی(کواریت)؛ R_j: اثر تصادفی باقیمانده بره در تیمار؛ B_k: اثر زمان؛ $(T*B)_{ik}$: اثر متقابل تیمار و زمان و E_{ijk}: خطای آزمایش است.

تجزیه و تحلیل داده‌های وزن اولیه، وزن نهایی و فراسنجه‌های خون در قالب مدل آماری بر پایهٔ طرح کاملاً تصادفی و رویه GLM نرم‌افزار SAS (2003) ویرایش ۹/۱ انجام شد. در تجزیه داده‌های مربوط به وزن نهایی، از وزن اولیه به‌عنوان متغیر کمکی استفاده شد. در مورد تجزیه داده‌های مربوط به فراسنجه‌های خونی، داده‌های مربوط به ابتدای آزمایش به‌عنوان متغییر کمکی در مدل آماری در نظر گرفته شد. مقایسه میانگین‌ها با کمک آزمون توکی و در سطح α =۰/۰۵ انجام شد. مدل آماری در رابطه (۲) بیان شده است.

$$Y_{ij} = \mu + T_i + b(x-\bar{x}) + \varepsilon_{ij} \quad (۲)$$

Y_{ij}: متغیر وابسته، μ: میانگین کل، T_i: اثر تیمار، $b(x-\bar{x})$: اثر متغییرکمکی، ε_{ij}: اثرخطای آزمایش است.

تجزیه و تحلیل داده‌های مربوط به فراسنجه‌های شکمبه در قالب مدل آماری طرح کاملاً تصادفی، با نرم افزار SAS (نسخه ۹/۱، ۲۰۰۳) انجام شد. مقایسه میانگین‌ها با آزمون توکی، و در سطح α =۰/۰۵ انجام شد. مدل آماری در رابطه (۳) بیان شده است.

$$Y_{ij} = \mu + T_i + \varepsilon_{ij} \quad (۳)$$

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

نتایج و بحث

نتایج مربوط به وزن اولیه، وزن نهایی، اضافه وزن روزانه و ضریب تبدیل خوراک در جدول ۲ نشان داده شده است. افزایش وزن روزانه در گروه‌های دریافت‌کننده مخلوط اسانس‌ها بیشتر از گروه شاهد بود، هرچند این افزایش بیشتر ناشی از اثر متقابل تیمار در زمان بود. به‌عبارتی در زمان‌های مختلف رشد، میزان افزایش وزن روزانه بره‌ها متفاوت بود و بخشی از این افزایش می‌تواند ناشی از اثر متقابل تیمار و زمان باشد. به نحوی که افزایش وزن روزانه در دوره دوم اندازه‌گیری وزن نسبت به دوره‌های دیگر به مراتب بیشتر بود. تفاوت معنی‌داری بین دوره‌های سوم تا ششم از لحاظ این فراسنجه مشاهده نشد. میزان مصرف خوراک در بره‌های دریافت‌کننده سطح ۲/۵ میلی‌لیتر مخلوط اسانس‌ها بیشتر از گروه‌های دیگر بود (P>۰/۰۵). افزایش مصرف خوراک در این گروه به همراه افزایش وزن روزانه بیشتر نسبت به گروه‌های دیگر بود بدون آنکه تأثیر منفی بر ضریب تبدیل خوراک داشته باشد. وزن نهایی و ضریب تبدیل خوراک درگروه‌های دریافت‌کننده اسانس نسبت به گروه شاهد تفاوت معنی‌داری نداشت (P>۰/۰۵).

جدول ۲. تأثیر جیره‌های آزمایشی بر عملکرد رشد بره‌های پرواری

Table 2. Effect of experimental diets on growth performance of fattening lambs

Performance characteristics	Experimental treatments [1]			SEM[2]	P-value		
	1	2	3		Treatment	Time	Treatment×Time
Initial weight (kg)	31.21	31.62	31.05	0.999	0.902	-	-
Final weight (kg)	49.65	50.14	50.29	1.164	0.527	-	-
Average daily gain (g/d)	204.87	205.76	213.76	5.835	0.415	<0.001	0.007
Feed intake (g/d)	1520.26	1541.13	1582.05	40.764	0.523	0.555	0.714
Feed conversion ratio	7.42	7.49	7.40	0.265	0.821	<0.001	0.119

۱. جیره‌های آزمایشی شامل ۱- جیره شاهد (بدون افزودن مخلوط اسانس‌ها)، ۲- جیره پایه + ۱/۲۵ میلی‌لیتر از مخلوط اسانس‌های نعناع فلفلی، آویشن و رزماری با نسبت (۲:۱:۳) به ازای هر بره در روز، ۳- جیره پایه + ۲/۵ میلی‌لیتر از مخلوط اسانس‌های نعناع فلفلی، آویشن و رزماری با نسبت (۲:۱:۳) به ازای هر بره در روز.

۲. خطای استاندارد میانگین

1. Experimental diets include: 1- Control diet (without adding essential oil mixture), 2- Basal diet + 1.25 ml of mixed peppermint, thyme and rosemary essential oils (2: 1: 3) per lamb per day, 3- Basal diet + 2.5 ml of mixed peppermint, thyme and rosemary essential oils (2: 1: 3) per lamb per day.
2. Standard error of mean.

آزمایش‌های متعددی با استفاده از اسانس‌های گیاهی انجام شده است، اما اثر مخلوطی از اسانس‌ها کمتر مورد مطالعه قرار گرفته است به همین منظور اثر انفرادی اسانس‌های گزارش شده توسط محققین در این مطالعه مورد مقایسه قرار گرفت. هرچند آثار سینرژیستی و یا آنتاگونیستی این اسانس‌ها در اثر گذاشتن روی تیمارها را نیز باید مورد توجه قرار داد. خوراندن ۰/۶ میلی‌لیتر در روز اسانس رزماری به‌صورت دهانی به بره‌های پرواری، تأثیری بر اضافه وزن روزانه و مصرف ماده خشک نداشت (Smeti *et al*., 2017). افزودن ۱۱۰ میلی‌گرم در روز اسانس نعناع و پونه به جیره بره‌های پرواری تأثیری بر افزایش وزن روزانه، مصرف ماده خشک و ضریب تبدیل خوراک نداشت (Mohammadi *et al*., 2017). همچنین افزودن ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک از مخلوط اسانس‌های آویشن، رزماری، پونه کوهی، سیر، لیمو، اکالیپتوس و پرتقال شیرین به جیره گاوهای نر پرواری تأثیری بر افزایش وزن روزانه و مصرف ماده خشک نداشت (Rivaroli *et al*., 2017).

برخلاف این نتایج، استفاده از پودر نعناع و آویشن به میزان ۳ درصد جیره بره‌های پرواری مصرف خوراک و اضافه وزن روزانه نسبت به گروه شاهد افزایش یافت، هرچند ضریب تبدیل خوراک تحت تأثیر قرار نگرفت (Khamisabadi *et al*., 2016). این درحالی است که در مطالعه حاضر نسبت دو سوم مخلوط اسانس‌های مورد استفاده را اسانس نعناع تشکیل داد. عاملی که بیشترین تأثیر مطلوب استفاده از نعناع را به‌عنوان یک افزودنی خوراکی توضیح می‌دهد، اثر تحریک‌کننده آن بر آنزیم‌های گوارشی دام‌ها می‌باشد (Ibrahim *et al*., 2019). در آزمایش حاضر نسبت کمتر مخلوط اسانس‌های مورداستفاده را اسانس آویشن تشکیل داد، اما ثابت شده است که اسانس آویشن باعث حفظ ساختار و عملکرد طبیعی دستگاه گوارش و درنتیجه بهبود هضم و جذب مواد مغذی می‌شود (Osman *et al*., 2020). گزارش شده است فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی اسانس‌های گیاهی از طریق اثر بر روی سیستم گوارشی باعث بهبود عملکرد دام می‌شود (Monteschio *et al*., 2017).

افزودن سطوح مختلف مخلوط اسانس‌ها به جیره سبب کاهش غلظت کل اسیدهای چرب فرّار و استات شد (جدول ۳؛ P<۰/۰۰۲)، در حالی‌که غلظت پروپیونات با افزودن اسانس‌ها در سطح ۲/۵ میلی‌لیتر افزایش یافت (P<۰/۰۰۴). غلظت‌های بوتیرات و والرات نسبت به گروه شاهد تحت تأثیر قرار نگرفت (P>۰/۰۵) ولی غلظت ایزووالرات نسبت به گروه شاهد به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (P<۰/۰۰۷). نسبت استات به پروپیونات در سطح ۲/۵ میلی‌لیتر مخلوط اسانس‌ها نسبت به سایر تیمارها کاهش یافت (P<۰/۰۰۲). افزودن سطوح مختلف مخلوط اسانس‌ها به جیره تأثیر معنی‌داری بر pH شکمبه و غلظت نیتروژن آمونیاکی نداشت. گزارش شده است سطوح ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در روز اسانس رزماری سبب کاهش غلظت کل اسیدهای چرب فرّار و غلظت استات (با سطح ۱۰۰ میلی‌گرم) به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. در آزمایش حاضر حدود ۳۳ درصد مخلوط اسانس را اسانس رزماری تشکیل داد. از طرفی پلی‌فنول‌های طبیعی موجود در رزماری دارای فعالیت ضد میکروبی هستند (Savoini *et al*., 2003). لذا غلظت کل اسیدهای چرب فرّار ممکن است در نتیجه اثر ضد میکروبی اسانس، که می‌تواند وابسته به دوز باشد، کاهش یابد (Benchar *et al*., 2008). به نظر می‌رسد که اسانس رزماری در سطح ۱/۲۵ و ۲/۵ میلی‌لیتر می‌تواند بر تخمیر شکمبه اثر مهاری داشته باشد (Benchar *et al*., 2008).

نسبت استات به پروپیونات روند کاهشی داشت به نحوی که در سطح ۲/۵ میلی‌لیتر از مخلوط اسانس‌ها معنی‌دار بود (P<۰/۰۵). این اثر نشان می‌دهد که مخلوط اسانس‌ها سبب افزایش باکتری‌های آمیلولیتیک شده و شرایط توسعه و تکثیر این دسته از میکروارگانیسم‌ها را بیشتر فراهم کرده است و روند تخمیر به سمت تولید اسید پروپیونیک بوده است. شاید بتوان رشد بیشتر بره‌ها در این گروه را به نسبت بالاتر پروپیونات در شکمبه مرتبط دانست. بر خلاف این نتایج، گزارش شده است که استفاده از پودر گیاهان دارویی نعناع (۰/۵ گرم به ازای هر کیلوگرم وزن زنده در روز) یا رزماری (۰/۲ گرم به ازای هر

کیلوگرم وزن زنده در روز)، در جیره بره‌های در حال رشد سبب افزایش غلظت کل اسیدهای چرب فرّار در گروه‌های دریافت‌کننده پودر گیاه دارویی نسبت به گروه شاهد شد (Allam *et al*., 2020). این محققین، افزایش در غلظت اسیدهای چرب فرّار را به بالا بودن قابلیت هضم ماده آلی در اثر استفاده از پودر این گیاهان نسبت داده‌اند. در آزمایش حاضر ۵۰ درصد مخلوط اسانس‌های مورد استفاده را اسانس نعناع تشکیل داد؛ اسانس نعناع تغییردهنده روند تخمیر در شکمبه است و تولید گاز متان را کاهش می‌دهد (Agarwal *et al*., 2009). هرچند، همان‌طوری‌که اشاره شد، اثر مخلوط این اسانس‌ها می‌تواند به سبب آثار احتمالی آنتاگونیستی یا سینرژیستی متفاوت از اثر انفرادی آنها باشد.

در مطالعه‌ای دیگر استفاده از سطح ۵ گرم در روز اسانس آویشن در جیره گوساله‌های هلشتاین باعث کاهش غلظت استات و افزایش غلظت پروپیونات شد (Vakili *et al*., 2013). در آزمایش حاضر نسبت کمتر مخلوط اسانس‌ها را اسانس آویشن تشکیل داد. تیمول و کارواکرول به‌عنوان ترکیبات اصلی موجود در اسانس آویشن هستند (Abd El Tawab *et al*., 2020). تیمول دارای طیف وسیعی از فعالیت ضد میکروبی و مهارکننده باکتری‌های گرم مثبت و منفی، به دلیل توانایی آن در نفوذ به غشای سلولی می‌باشد (Walsh *et al*., 2003). تیمول در دوزهای قابل قبول باعث افزایش تخمیر شکمبه و غلظت اسیدهای چرب فرّار می‌شود (Abd El Tawab *et al*., 2020). برخی محققین گزارش کردند که استفاده از سطوح ۱۰۰، ۲۵۰، ۵۰۰، ۷۵۰ و ۱۰۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر مخلوط اسانس‌های آویشن و اکالیپتوس تنها سطوح ۷۵۰ و ۱۰۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر غلظت کل اسیدهای چرب فرّار را کاهش داد (Mirzaei Cheshmehgachi *et al*., 2017). در آزمایش حاضر غلظت pH شکمبه تحت تأثیر مخلوط اسانس‌ها قرار نگرفت. مشابه این نتایج، سطوح ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم در روز اسانس رزماری (Sahraei *et al*., 2014)، سطح ۱۱۰ میلی‌گرم در روز اسانس نعناع (Mohammadi *et al*., 2017) و سطوح ۰/۸ و ۱/۶ میلی‌لیتر در روز مخلوط اسانس‌های آویشن، میخک و دارچین pH (Khateri *et al*., 2017) شکمبه را تحت تأثیر قرار نداد.

در حالی‌که در مطالعه‌ای دیگر استفاده از سطح دو میلی‌لیتر در روز اسانس آویشن، pH شکمبه نسبت به گروه شاهد به‌طور معنی‌داری افزایش داد (El-Essawy *et al*., 2020). اثر متغیر اسانس‌ها بر pH مایع شکمبه می‌تواند ناشی از عواملی مانند تفاوت در مقدار و شکل استفاده اسانس گیاه دارویی، مکان و منطقه مورد اجرای آزمایش، ترکیب جیره آزمایشی و تفاوت‌های فردی و نژادی دام‌های مورد آزمایش، نوع آزمایش (درون‌تنی در برابر برون‌تنی) و طول دوره سازگاری باشد (Khamisabadi *et al*., 2016). افزودن مخلوط اسانس‌ها در آزمایش حاضر تأثیری بر غلظت نیتروژن آمونیاکی شکمبه نداشت. به‌طور مشابه، سطوح ۲۰۰ و۴۰۰ میلی‌گرم در روز اسانس رزماری، غلظت نیتروژن آمونیاکی شکمبه را در جیره بره‌های قزل نسبت به گروه شاهد تغییر نداد (Sahraei *et al*., 2014). هرچند، گزارش شده است که اسانس‌های گیاهی از طریق کاهش در تعداد باکتری‌های تولیدکننده بالای آمونیاک منجر به کاهش تولید آمونیاک از اسیدهای آمینه می‌شوند (McEwan *et al*., 2002). این اثر کاهشی در مطالعه برخی محققین گزارش شده است؛ استفاده از پودر نعناع در سطح ۵ درصد جیره سبب کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی نسبت به تیمار شاهد شد (Bhat *et al*., 2017).

کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی با پودر نعناع نشان می‌دهد که میکروب‌های شکمبه از آمونیاک بیشتری برای تولید توده میکروبی استفاده می‌کنند (Bhat *et al*., 2017). استفاده از سطح ۹ میلی‌لیتر در روز اسانس آویشن نیز سبب کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی شده است (Baraz *et al*., 2021). تیمول به‌عنوان ترکیب فنولی اصلی آویشن از طریق کاهش فعالیت آنزیمی و اختلال در یکپارچگی غشای سلولی سبب مهار باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی می‌شود (Ribeiro *et al*., 2020). همچنین گزارش شده است اسانس آویشن از طریق مهار آمین‌زدایی اسیدهای آمینه و فعالیت پروتئولیتیک باعث کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی در

مایع شکمبه می‌شود (Baraz *et al*., 2021). بر خلاف این یافته‌ها، احتمالاً به دلیل سهم کمتر آویشن در مخلوط اسانس‌ها در آزمایش حاضر تغییر معنی‌داری در غلظت این فراسنجه مشاهده نشد.

جمعیت کل پروتوزوآ و هریک از گونه‌های آن تحت تأثیر مخلوط اسانس‌ها قرار نگرفت (جدول ۴). تحقیقات بسیارکمی در مورد اثر مخلوط اسانس‌های حاوی آویشن، رزماری و نعناع بر جمعیت تک‌یاخته‌های شکمبه انجام شده است. تعداد پروتوزوآی شکمبه تحت تأثیر سطح ۱۱۰ میلی‌گرم در روز اسانس نعناع قرار نگرفت (Mohammadi *et al*., 2017). در مطالعه‌ای دیگر سطوح ۱۰۰ تا۴۰۰ میلی‌گرم در روز اسانس رزماری تأثیری بر تعداد کل پروتوزوآی شکمبه نداشت (Sahraei *et al*., 2014). همچنین سطوح ۰/۸ و ۱/۶ میلی‌لیتر در روز از مخلوط اسانس‌های آویشن، میخک و دارچین تأثیری بر تعداد پروتوزوآی شکمبه نسبت به تیمار شاهد نداشت (Khateri *et al*., 2017). برخلاف این نتایج، سطوح ۲۵۰، ۵۰۰، ۷۵۰ و ۱۰۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر اسانس آویشن به‌طور خطی جمعیت کل پروتوزوآ و ایزوتریشا را در شرایط برون‌تنی کاهش داد و گونه‌های داسی‌تریشا و انتودینیوم در دوزهای بالای اسانس کمترین مقادیر را داشتند (Mirzaei *et al*., 2016). این محققین گزارش کردند جمعیت گونه دیپلودینیوم تحت تأثیر خطی و درجه دوم قرار گرفت و کمترین تعداد در سطح ۱۰۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر مشاهده شد و جمعیت افریواسکالکس کاهش یافت (Mirzaei *et al*., 2016).

جدول ۳. تأثیر جیره‌های آزمایشی بر غلظت اسیدهای چرب فرّار، pH و نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه

Table 3. Effect of experimental treatments on concentration of volatile fatty acids, pH and ammonia nitrogen of ruminal fluid

Parameter	Experimental treatments [1]			SEM[2]	P-value
	1	2	3		
Acetate (%)	67.61[a]	62.47[b]	61.42[b]	0.750	0.002
Propionate (%)	20.24[b]	18.98[b]	23.58[a]	0.593	0.004
Butyrate (%)	8.47	8.31	7.15	1.104	0.674
Valerate (%)	1.45	1.71	2.05	0.167	0.113
Isovalerate (%)	0.24[b]	0.54[a]	0.81[a]	0.079	0.007
Total VFA (%)	98.13[a]	92.01[c]	95.22[b]	0.576	0.001
Acetate: propionate (%)	3.35[a]	3.29[a]	2.61[b]	0.089	0.002
pH	6.33	6.35	6.40	0.099	0.865
NH3-N (mg/dL)	17.43	17.42	17.26	1.413	0.995

a, b, c: میانگین‌های واجد حروف غیر مشترک در هر سطح دارای اختلاف معنی‌دار هستند (P< ۰/۰۵).

۱. جیره‌های آزمایشی شامل ۱- جیره شاهد (بدون افزودن مخلوط اسانس‌ها)، ۲- جیره پایه + ۱/۲۵ میلی‌لیتر از مخلوط اسانس‌های نعناع فلفلی، آویشن و رزماری با نسبت (۲:۱:۳) به ازای هر بره در روز، ۳- جیره پایه + ۲/۵ میلی‌لیتر از مخلوط اسانس‌های نعناع فلفلی، آویشن و رزماری با نسبت (۲:۱:۳) به ازای هر بره در روز.

۲. خطای استاندارد میانگین

Means within same row with different superscript differ significantly (P<0.05).

1. Experimental diets included: 1. Control diet (without adding essential oil mixture), 2. Basal diet + 1.25 ml of mixed peppermint, thyme and rosemary essential oils (2: 1: 3) per lamb per day, 3. Basal diet + 2.5 ml of mixed peppermint, thyme and rosemary essential oils (2: 1: 3) per lamb per day.

2. Standard Error of Mean.

جدول ۴. اثر تیمارهای آزمایشی بر جمعیت تک یاخته‌های شکمبه

Table 4. Effect of experimental treatments on ruminal protozoan population

Protozoa (× 10^5/ml)	Experimental treatments [1]			SEM[2]	P-value
	1	2	3		
Entodinium	62.375	59.875	54.875	1.225	0.415
Epidinium	0.375	0.625	0.25	0.559	0.354
Diplodiniinae	0.375	0.125	0.25	1.318	0.440
Ophry oscolecidae	0.125	0.125	0.125	1.250	1
Isotricha	0.5	0.5	0.25	0.589	0.569
Dasytricha	0.125	0.375	0.25	1.318	0.440
Total protozoa	63.875	61.625	56	1.209	0.366

۱. جیره‌های آزمایشی شامل ۱- جیره شاهد (بدون افزودن مخلوط اسانس‌ها)، ۲- جیره پایه + ۱/۲۵ میلی‌لیتر از مخلوط اسانس‌های نعناع فلفلی، آویشن و رزماری با نسبت (۲:۱:۳) به ازای هر بره در روز، ۳- جیره پایه + ۲/۵ میلی‌لیتر از مخلوط اسانس‌های نعناع فلفلی، آویشن و رزماری با نسبت (۲:۱:۳) به ازای هر بره در روز.

۲. خطای استاندارد میانگین‌ها.

1. Experimental diets included: 1. Control diet (without adding essential oil mixture), 2. Basal diet + 1.25 ml of mixed peppermint, thyme and rosemary essential oils (2: 1: 3) per lamb per day, 3. Basal diet + 2.5 ml of mixed peppermint, thyme and rosemary essential oils (2: 1: 3) per lamb per day.

2. Standard Error of Meanl

استفاده از سطوح مخلوط اسانس‌ها در جیره سبب افزایش غلظت گلوکز خون بره‌ها نسبت به گروه شاهد شد (جدول ۵)، به نحوی‌که در سطح ۲/۵ میلی‌لیتر مخلوط اسانس‌ها معنی‌دار بود (P<۰/۰۵). این مطلب نشان می‌دهد که احتمالاً در این گروه بخشی از کربوهیدرات‌های جیره از شکمبه عبور کرده و پس از هضم در روده به‌طور مستقیم به‌صورت گلوکز جذب خون شده است. از طرفی غلظت پروپیونات در شکمبه در این گروه نیز بیشتر بود (جدول ۳). جذب این اسید چرب از دیواره شکمبه و ورود آن به خون می‌تواند از طریق کبد و مسیر گلوکونئوژنز و تبدیل‌شدن به گلوکز دلیل دیگری بر بالابودن سطح گلوکز خون بره‌های دریافت‌کننده مخلوط اسانس‌ها باشد. غلظت سایر متابولیت‌های خون نظیر اوره، کلسترول، تری‌گلیسرید، کراتینین، پروتئین‌تام و آلبومین، لیپوپروتئین با دانسیته پایین و لیپوپروتئین با دانسیته بالا تحت تأثیر افزودن مخلوط اسانس‌های گیاهی قرار نگرفت.

استفاده از سطوح ۰/۸ و ۱/۶ میلی‌لیتر در روز مخلوط اسانس‌های آویشن، میخک و دارچین تغییری در غلظت‌های گلوکز، کلسترول، کل پروتئین، آلبومین خون گوسفند نداشت (Khateri *et al*., 2017). در حالی‌که افزودن پودر رزماری به جیره بزهای شیرده به میزان ۱۰ گرم در روز غلظت کلسترول به‌طور معنی‌داری کاهش یافت هرچند غلظت گلوکز افزایش نشان داد (Kholif *et al*., 2017). همچنین برخی مطالعات نشان می‌دهد افزودن ۱۱۰ میلی‌گرم در روز اسانس نعناع به جیره گوسفند غلظت تری‌گلیسرید و کل پروتئین سرم نسبت به گروه شاهد تحت تأثیر قرار نگرفت (Mohammadi *et al*., 2017). اثر مخلوطی از این اسانس‌ها بر فراسنجه‌های ذکرشده در مقالات مورد مطالعه، مشاهده نشد. در آزمایش حاضر غلظت اوره خون در گروه‌های دریافت‌کننده مخلوط اسانس‌ها نسبت به گروه شاهد تغییر نکرد. برخی محققین نیز گزارش کردند که با استفاده از سطوح ۰/۸ و ۱/۶ میلی‌لیتر در روز مخلوط اسانس‌های آویشن، میخک و دارچین غلظت‌های گلوکز، کلسترول، کل پروتئین، آلبومین و نیتروژن اوره‌ای خون در گوسفند تحت تأثیر قرار نگرفت (Khateri *et al*., 2017). در حالی‌که در تحقیق دیگری گزارش شده است که افزودن سطوح یک و دو میلی‌لیتر در روز اسانس آویشن، غلظت اوره خون کاهش یافت (Benchar *et al*., 2008).

افزودن سطوح مختلف مخلوط اسانس گیاهان دارویی نعناع فلفلی، آویشن و رزماری به جیره تأثیر معنی‌داری بر تعداد گلبول‌های قرمز، غلظت هموگلوبین و درصد هماتوکریت، تعداد گلبول‌های سفید نداشت (جدول ۶؛ P<۰/۰۵).

جدول ۵. تأثیر جیره‌های آزمایشی بر متابولیت‌های خونی بره‌های پرواری

Table 5. Effects of experimental diets on blood metabolites of fattening lambs

Blood metabolites	Experimental treatments[1]			SEM[2]	P-Value
	1	2	3		
Glucose (mg/dl)	49.25[b]	52.50[b]	67.50[a]	3.827	0.033
Urea (mg/dl)	29.01	30.75	31.50	3.581	0.406
Cholestrol (mg/dl)	46.25	34.50	45.50	3.786	0.156
Triglyceride (mg/dl)	13.67	10.01	13.01	2.827	0.805
Creatinine (mg/dl)	0.54	0.53	0.55	0.040	0.930
Total protein (g/dl)	4.43	3.48	4.90	0.401	0.166
Albumin (g/dl)	2.45	2.03	2.30	0.164	0.382
HDL (mg/dl)[3]	16.25	13.50	17.25	1.462	0.376
LDL (mg/dl)[4]	24.67	21.67	24.01	1.482	0.215

a, b, c: میانگین‌های واجد حروف غیر مشترک در هر سطح دارای اختلاف معنی‌دار هستند (P< ۰/۰۵).

۱. جیره‌های آزمایشی شامل ۱- جیره شاهد (بدون افزودن مخلوط اسانس‌ها)، ۲- جیره پایه + ۱/۲۵ میلی‌لیتر از مخلوط اسانس‌های نعناع فلفلی، آویشن و رزماری با نسبت (۲:۱:۳) به ازای هر بره در روز، ۳- جیره پایه + ۲/۵ میلی‌لیتر از مخلوط اسانس‌های نعناع فلفلی، آویشن و رزماری با نسبت (۲:۱:۳) به ازای هر بره در روز.

۲. خطای استاندارد میانگین‌ها.

۳ و ۴. لیپوپروتئین با دانسیته بالا، لیپوپروتئین با دانسیته پایین.

Means within same row with Different superscript differ significantly (P<0.05).

1. Experimental diets: 1- Control diet (without adding essential oil), 2- Basal diet+1.25 ml of mixed peppermint, thyme and rosemary essential oils (2: 1: 3) per lamb per day, 3- Basal diet+2.5 ml of mixed peppermint, thyme and rosemary essential oils (2: 1: 3) per lamb per day.

2. Standard Error of Mean.

3, 4. High density lipoprotein, Low density lipoprotein.

درصد سلول‌های سفید خون شامل لنفوسیت و ائوزینوفیل (جدول ۶) نیز تحت تأثیر مخلوط اسانس‌ها قرار نگرفت هرچند درصد مونوسیت‌ها روند تغییرات متفاوتی نشان داد به نحوی که سطح ۱/۲۵ میلی‌لیتر مخلوط اسانس‌ها سبب کاهش و سطح ۲/۵ میلی‌لیتر مخلوط اسانس‌ها تغییر معنی‌داری نسبت به گروه شاهد در درصد این فراسنجه شد. دلیل این نحوه تغییر درصد مونوسیت‌ها مشخص نبود.

گزارش شده است که افزودن برگ رزماری به میزان یک درصد جیره بره‌های پرواری، تعداد سلول‌های قرمز و هموگلوبین، تعداد و درصد سلول‌های سفید شامل لنفوسیت، مونوسیت و ائوزینوفیل تحت تأثیر قرار نگرفت. گزارش شده است که فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه رزماری از سلول‌ها در برابر آسیب ناشی از رادیکال‌های آزاد محافظت می‌کند (Ortuno *et al*., 2016). مکانیسمی که در آن اسانس رزماری باعث کاهش تعداد گلبول‌های قرمز و درصد هماتوکریت شود هنوز به‌طور کامل بررسی نشده است. در صورتی‌که تأثیر مثبت گیاهان دارویی بر فراسنجه‌های خون به ترکیبات آن‌ها مانند اسید فولیک، آهن و ویتامین C، به‌عنوان فاکتورهای تشکیل خون مربوط است که باعث تحریک تولید خون در مغز استخوان می‌شوند (Khattab *et al*., 2011).

برخی محققین گزارش کردند افزودن ۴۰۰ میلی‌گرم در روز اسانس نعناع به جیره غذایی خرگوش‌های در حال رشد نیز تأثیر معنی‌داری بر غلظت هموگلوبین، تعداد سلول‌های قرمز، تعداد و درصد سلول‌های سفید شامل لنفوسیت، مونوسیت و ائوزینوفیل نسبت به گروه شاهد نداشت (Morshedy *et al*., 2019). از طرفی ترکیبات فعال موجود در اسانس نعناع به دلیل فعالیت تحریک‌کننده بر روی سیستم ایمنی باعث بهبود فراسنجه‌های ایمونولوژی در موش‌های آلبینوی سوئیسی شدند (Saha *et al*., 2012). در تحقیق دیگری گزارش شده است که افزودن دو میلی‌لیتر در روز اسانس آویشن به شیر گوساله‌های نوزاد سبب افزایش تعداد سلول‌های سفید خون و سطح یک میلی‌لیتر در روز این اسانس سبب کاهش این فراسنجه شد (Ebrahimi *et al*., 2018). این محققین تأثیر اسانس آویشن بر سلول‌های سفید خون را شاخصی برای تحریک غیراختصاصی ایمنی سلولی بیان کرده‌اند. واکنش غیراختصاصی سیستم ایمنی بدن بسیاری از حیوانات می‌تواند با استفاده از برخی عصاره‌های گیاهی، احتمالاً به دلیل فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها افزایش یابد؛ فلاونوئیدهای موجود در اسانس و عصاره بسیاری از گیاهان دارویی باعث تقویت فعالیت فاگوسیتیوزی می‌شوند (Craig, 1999). افزودن ۱۰ گرم در روز پودر نعناع و آویشن به جیره غذایی میش‌های شیرده سبب افزایش تعداد سلول‌های سفید و لنفوسیت‌ها و عدم تأثیر بر تعداد سلول‌های قرمز و غلظت هموگلوبین خون میش‌ها و بره‌های شیرخوار شد (Khamisabadi *et al*., 2021).

جدول ۶. تأثیر جیره‌های آزمایشی بر تعداد و درصد سلول‌های خونی بره‌های پرواری

Table 6. Effect of experimental diets on number and percentage of blood cells in fattening lambs

Blood parameters	Experimental treatments[1]			SEM[2]	P-Value
	1	2	3		
RBC (10^6/ul)	6.65	6.23	5.47	0.901	0.814
Hb (g/dl)	8.77	8.05	6.85	0.768	0.316
HCT (%)	24.50^a	21.20^{ab}	18^b	1.589	0.085
WBC (10^3/ul)	13.27	10.50	10.50	1.913	0.593
Lymphocyte (%)	91.08	88.39	90.37	1.355	0.409
Monocyte (%)	1.63^{ab}	0.80^b	1.70^a	0.211	0.052
Eosinophil (%)	0.38	0.43	0.60	0.155	0.576

a, b, c: میانگین‌های واجد حروف غیر مشترک در هر سطح دارای اختلاف معنی‌دار هستند (P< ۰/۰۵).

۱. جیره‌های آزمایشی شامل ۱- جیره شاهد (بدون افزودن مخلوط اسانس‌ها)، ۲- جیره پایه + ۱/۲۵ میلی‌لیتر از مخلوط اسانس‌های نعناع فلفلی، آویشن و رزماری با نسبت (۲:۱:۳) به ازای هر بره در روز، ۳- جیره پایه + ۲/۵ میلی‌لیتر از مخلوط اسانس‌های نعناع فلفلی، آویشن و رزماری با نسبت (۲:۱:۳) به ازای هر بره در روز.

۲ خطای استاندارد میانگین.

Means within same row with Different superscript differ significantly (P<0.05).

1. Experimental diets include: 1- Control diet (without adding essential oil mixture), 2- Basal diet + 1.25 ml of mixed peppermint, thyme and rosemary essential oils (2:1:3) per lamb per day, 3- Basal diet + 2.5 ml of mixed peppermint, thyme and rosemary essential oils (2:1:3) per lamb per day.

2. Standard Error of mean.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این آزمایش نشان داد که افزودن مخلوط اسانس‌ها به جیره غذایی بره‌ها تأثیر قابل‌توجهی بر فراسنجه‌های عملکرد و سیستم ایمنی بره‌ها نداشت، هرچند سبب کاهش غلظت کل اسیدهای چرب فرّار، استات و افزایش غلظت پروپیونات در شکمبه شد.

REFERENCES

1. Abd El Tawab, A. M., Kholif, A. E., Khattab, M. S. A., Shaaban, M. M., Hadhoud, F. I., Mostafa, M. M. M. & Olafadehan O. A. (2020). Feed utilization and lactational performance of Barki sheep fed diets containing thyme or celery. *Small Ruminant Research*, 192, 1-9. Academy Press. Washington. DC. 384 pages.
2. Agarwal, N., Shekhar, Ch., Kumar, R., Chaudhary, L. C. & 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.
3. Ahmed, M. G., El-Zarkouny, S. Z., El-Shazly, K. A. & Sallam, S. M. A. (2014). Impact of essential oils blend on methane emission, rumen fermentation characteristics and nutrient digestibility in barki sheep. *Journal of Agricultural Science*, 6(7), 144-156.
4. Akhavan Gigloo, T., Hozhabri, F. & Souri, M. (2019). Two different dietary antioxidants: Blood immune parameters and performance in Sanjabi suckling lambs. *Journal of Livestock Production,* 21(1), 23- 35. (In Farsi)
5. Akram, M. Z., Asghar, M. U. & Jalal, H. (2021). Essential oils as alternatives to chemical feed additives for maximizing livestock production. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, 72(1), 2595-2610.
6. Al-Desouky, A., Abdelaziz, Sh. & Ratib, M. O. (2019). Effect of thyme, ginger and boldenone as growth promoters on some biochemical blood parameters in white male new zealand rabbits. *Benha Veterinary Medical Journal*, 37(2), 6-13.
7. Allam, S. & El-Elaime, R. R. (2020). Impact of garlic, lemongrass, peepermint and rosemary as feed additives on performance of growing barki lambs. *Egyptian Journal of Nutrition and Feeds*, 23(3), 359-367.
8. AOAC. (1990). *Official Methods of Analysis*, 17th edition. Association of official analytical chemists, Arlington, VA.
9. Baraz, H., Jahani-Azizabadi, H. & Azizi, O. (2021). Effects of thyme essential oil and disodium fumarate alone or in combination on performance, blood metabolites, ruminal fermentation and microbial communities in holstein dairy cows. *Iranian Journal of Applied Animal Science*, 11(2), 261-270.
10. Benchar, C., Calsamiglia, S., Chaves, A. V., Fraser, G. R., Colom-batto, D., Mcallister, T.A. & Beauchemin, K. A. (2008). A review of plant-derived essential in ruminant nutrition and production. *Animal Feed Scienc and Technology*, 145, 209-228.
11. Bhat, A. R., Ganai, A. M., Ishfaq, A., Masood, D., Sheikh, G. G & Beigh, Y. A. (2017). Effects of mentha piperita on *in vitro* fermentation and digestibility of complete rations for small ruminants. *Indian Journal of Animal Nutrition*, 34 (2), 173-177.
12. Broderick, G.A. & Kang, J. (1980). Automated simultaneous determination of ammonia and total amino acids in ruminanl fluid and *in vitro* media. *Journal of Diary Science*, 63, 64-75.
13. Craig, W. J. (1999). Health-promoting properties of common herbs. *American Journal of Clinical Nutrition*, 70, 491-499.
14. Dehority, B.A. (2003). *Rumen Microbiology*. Nottingham University Press, Nottingham. UK.
15. Douiri, L.F., Bougdad, A., Assobhei, O. & Moumni, M. (2013). Chemical composition and biological activity of essential of alulium sativum agalnst callosobruchus maculatus. *Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Technology*, 3(1), 30- 36.
16. Ebrahimi, M. A., SobhaniRad, S. & Bayat, A. R. (2018). Effects of ajwain (*Trachyspermum ammi*) and thyme (*Thymus vulgaris*) oils on nutrients digestibility, blood parameters and growth performance of brown swiss neonatal calves. *Iranian Journal of Applied Animal Science*, 8(3), 387-395.
17. El-Essawy, A. M., Abdou, A. R., Khattab, I. M. & Abdel-Wahed A. M. (2019). Effect of addition of anise, clove and thyme essential oils on barki lambs' performance, digestibility, rumen fermentation, carcass characteristics and intramuscular fatty acids. *Egyptian Journal. Nutrition and Feeds*, 22 (3), 465- 477.
18. El-Essawy, A. M., Aneleb, U. Y., Abdel-Waheda, A. M., Ahlam, A. M., Abdoua, R. & Khattab, I. M. (2020). Effects of anise, clove and thyme essential oils supplementation on rumen fermentation, blood metabolites, milk yield and milk composition in lactating goats. *Animal Feed Science and Technology*, P: 1-40.

19. Fazlara, A., Pourmahdi, M., Zarei, M. & Karimi, T. (2017). Effect of edible chitosan-rosemary coating on quality and shelf life of refrigerated chicken fillets. *Iranian Veterinary Journal*, 13(1), 78-90.
20. Ibrahim, O.A.E.H., Mohamed, A.G. & Bahgaat, W.K. (2019). Natural peppermint-flavored cheese. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, 18,75-85.
21. Kaki, S., Moeini, M. M. & Hozhabri, F. (2020). Effects of mixed crushed caraway (*Carum carvi*) with chromium-methionine or zinc-methionine supplementations on serum components and physiological responses of lambs subjected to transportation stress. *Small Ruminant Research*, 183.
22. Kaki, S., Moeini, M. M., Hozhabri, F. & Nikousefat, Z. (2018). The use of crushed caraway (*Carum carvi*) and black seed (*Nigella sativa*) additives on growth performance, antioxidant status, serum components and Physiological responses of sanjabi lambs. *Iranian Journal of Applied Animal Science*, 8(3), 439-444.
23. Khamisabadi, H. & Fazaeli, H. (2021). Effect of thymus vulgaris or peppermint on lactating sanjabi ewe performance, milk composition, lamb growing and relevant blood metabolites. *Journal of Medicinal Plants and By-products*, 1, 95-101.
24. Khamisabadi, H. (2016). *The Effect of Adding Peppermint or Thyme to the Diet on Gastrointestinal Development, Immune System, Production Performance and Meat Quality in Fattening Lambs.* Ph.D. Thesis. Faculty of Agriculture Razi University, Kermanshah. (In Farsi).
25. Khamisabadi, H., Kafilzadeh, F. & Charaien, B. (2016). Effect of thyme *(Thymus vulgaris)* or peppermint (*Mentha piperita*) on performance, digestibility and blood metabolites of fattening Sanjabi lambs. *Biharean Biologist*, 10 (2), 118-122.
26. Khateri, N., Azizi, O. & Jahani-Azizabadi, H. (2017). Effects of a specific blend of essential oils on apparent nutrient digestion, rumen fermentation and rumen microbial populations in sheep fed a 50:50 alfalfa hay: concentrate diet. *Asian-Australas Journal of Animal Science*, 30(3), 370-378.
27. Kholif, A. E., Matloupa, O. H., Morsya, T. A., Abdo, M. M., Abu Elellab, A., Anelec, U. Y. & Swanson, K. C. (2017). Rosemary and lemongrass herbs as phytogenic feed additives to improve efficient feed utilization, manipulate rumen fermentation and elevate milk production of Damascus goats. *Livestock Science,* 204, 39-46.
28. McEwan, N. R., Graham, R. C., Wallace, R. J., Losa, R., Williams, P. & Newbold, C. J. (2002). Effect of essential oils on ammonia production by rumen microbes. *Reproduction Nutrition Development*, 42 (Suppl. 1): S65 (abstract).
29. Mirzaei Cheshmehgachi, S., Moeini, M. M., Hozhabri, F. & Nooryan Soroor, M. E. (2017). Effect of essential oils of zataria multiflora, eucalyptus globolus and their combination on fermentation parameters using merghoz goat rumen liquor. *Iranian Journal of Applied Animal Science*, 7(1), 53-59.
30. Mirzaei, Z., Hozhabri, F. & Alipour, D. (2016). Thymus kotschyanus essential oil components and their effects on *in vitro* rumen fermentation, protozoal population and acidosis parameters. *Iranian Journal of Applied Animal Science*, 6(1), 77-85.
31. Mohamadi, R., Rahchamani, R., Ghanbari, F. & Farivar, F. (2017). Peppermint and pennyroyal essential oil effect on performance, rumen microbial population and some blood parameters of sheep. *Iranian Journal of Veterinary Medicine*, 11(1), 75-84.
32. Monteschio, J. O., Souza, K. A., Vital, A. C. P., Guerrero, A., Valero, M. V., Kempinski, E. M. B. C. & Prado, I. N. (2017). Clove and rosemary essential oils and encapsuled active principles (eugenol, thymol and vanillin blend) on meat quality of feedlot-finished heifers. *Meat Science*, 130, 50-57.
33. Morshedy, S. A., Zweil, H. S., Zahran, S. M., Ahmed, M. H. & El-Mabrok, B. M. (2019). Growth performance, carcass traits, immune response and antioxidant status of growing rabbitts supplemented with peppermint and basil essential oils. *Egyptian Poultry Science Journal*, 39, 61-79.
34. National Research Council. (2007). *Nutrient Requirements of Small Ruminants*. The National Academy Press. Washington. DC. 384 pages.
35. Nieto, G., Diaz, P., Banon, S. & Dolores Garrido, M. (2010). Effect on lamb meat quality of including thyme (*Thymus zygis* ssp. gracilis) leaves in ewes' diet. *Meat Science*,85, 82-88.
36. Ortuno, J., Serrano, R., Jose Jordán, M. & Bañón, S. (2016). Relationship between antioxidant status and oxidative stability in lamb meat reinforced with dietary rosemary diterpenes. *Food Chemistry*, 190, 1056-1063.
37. Osman, N. N., Alsharari, M. A. & Alsufiani, H. M. (2020). Peppermint (*Mentha piperita* L.) and thyme (*Thymus vulgaris*) attenuate the immune and inflammatory disorders in rats consumed repeatedly heated palm oil. *Inter Journal Pharmaceutical Phytopharmacological Research (IJPPR)*, 10, 59-66.
38. Puvaca, N., Lika, E., Cocoli, S., Shtylla Kika, T., Bursic, V., Vukovic, G., Tomas Simin, M., Petrovic, A. & Cara, M. (2020). Use of tea tree essential oil (*Melaleuca alternifolia*) in laying hen's nutrition on performance and egg fatty acid profile as a promising sustainable organic agricultural tool. *Sustainability*, 12, 3420.

39. Ribeiro, A. D. B., Ferraz Junior, M. V. C., Polizel1, D. M., Miszura1, A.A., Barroso1, J.P.R., Cunha, A.R., Souza, T.T., Ferreira, E.M., Susin, I. & Pires, A.V. (2020). Effect of thyme essential oil on rumen parameters, nutrient digestibility, and nitrogen balance in wethers fed high concentrate diets. *Veterinary and Animal Science*, 72 (2), 573-580.
40. Rivaroli, D. C., do Prado, R. M., Ornaghi, M. G., Mottin, C., Ramos, T. R., Barrado, A. G., Jorge, A. M. & do Prado, I. N. (2017). Essential oils in the diet of crossbred (½ angus *vs.* ½ nellore) bulls finished in feedlot on animal performance, feed efficiency and carcass characteristics. *Journal of Agricultural Science*, 9(10), 205-212.
41. Saha, S., Mukhopadhyay, M., Ghosh, P. & Nath, D. (2012). Effect of methanolic leaf extract of Ocimum basilicum L. on benzene-induced hematotoxicity in mice. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 7 pp.
42. Sahraei, M., Pirmohammadi R. & Payvastegan S. (2014). The effect of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) essential oil on digestibility, ruminal fermentation and blood metabolites of Ghezel sheep fed barley-based diets. *Spanish Journal of Agricultural Research*,12(2), 448-454.
43. SAS Institute (computer software). (2003). *Users Guide: Statistics, version 9.2*. Cary, NC, USA: SAS Institute, Inc.
44. Savoini, G., Cattaneo, D., Paratte, R., Varisco. G., Bronzo, V., Moroni, P. & Pisoni, G. (2003). Dietary rosemary extract in dairy goats organically managed: effects on immune response, mammary infections and milk quality. *Italian Journal of Animal Science* 2, 548-550.
45. Seirafy, H. & Sobhanirad, S. (2017). Effects of oregano (*Origanum vulgare*) and thyme (*Thymus vulgaris*) oils on growth performance and blood parameters in Holstein suckling calves. *Iranian Journal of Applied Animal Science*, 7(4), 585-593.
46. Smeti, S., Hajji, H., Mekki, I., Mahouachi, M. & Atti, N. (2018). Effects of dose and administration form of rosemary essential oils on meat quality and fatty acid profile of lamb. *Small Ruminant Research*, S0921-4488(17)30279-1.
47. Vakili, A. R., Khorrami, B., Danesh Mesgaran, M. & Parand, E. (2013). The effects of thyme and cinnamon essential oils on performance, rumen fermentation and blood metabolites in holstein calves consuming high concentrate diet. *Asian Australian Journal of Animal Science*, 26, 935-944.
48. Walsh, S. E., Maillard, J. Y., Russell, A. D., Catrenich, C. E., Charbonneau, D. L. & Bartolo, R. G. (2003). Activity and mechanisms of action of selected biocidal agents on gram-positive and -negative bacteria. *Journal of Applied Microbiology*, 94, 240-247.