نشریه علوم دامی
(پژوهش و سازندگی)

شماره ۱۰۶، بهار ۱۳۹٤
ص‌ص: ٤۳~٥٤

تاثیر سیلوکردن محصول فرعی پسته بر فعالیت‌های تخمیری و کنترل تولید متان در شکمبه در شرایط آزمایشگاهی

- **پیروز شاکری** (نویسنده مسئول)

  بخش تحقیقات علوم دامی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان کرمان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی.

- **علی‌رضا آقاشاهی**

  موسسه تحقیقات علوم دامی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی.

- **حمید مصطفوی**

  مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان کرمان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی.

- **مهدی میرزایی**

  گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه اراک.

تاریخ دریافت : اسفند ۹۲ تاریخ پذیرش : خرداد۹۳

شماره تماس نویسنده مسئول: ۰۹۱۳۳۴۱۶۴۱۹

Email: Pirouz_shakeri@yahoo.co.uk

چکیده

این آزمایش با هدف بررسی تاثیر تانن موجود در محصول فرعی پسته آفتاب‌خشک و سیلوشده بر فعالیت‌های تخمیری و کنترل تولید متان در شکمبه در شرایط آزمایشگاهی انجام شد. به‌این منظور، محصول فرعی پسته بدون افزودنی در یک سیلوی خندقی سیلو شد و هم‌زمان بخشی از آن در مقابل آفتاب خشک گردید. پس‌از ۳ ماه نمونه‌های سیلاژ با روش خشک کردن انجمادی خشک شد. سپس ترکیبات شیمیایی هر دو نوع محصول تعیین شد. تخمیرپذیری نمونه‌ها با ٤ تکرار از طریق انکوباسیون به‌همراه مایع شکمبه بافری شده و به‌مدت ۲٤ ساعت در شرایط آزمایشگاهی تعیین شد. از قصیل جو و یک کنسانتره تجاری به‌عنوان کنترل مثبت استفاده گردید. در پایان حجم‌گاز، متان تولیدی، غلظت کل و نسبت هر یک از اسیدهای چرب فرار و غلظت آمونیاک تعیین شد. سیلوکردن محصول فرعی پسته، افزایش ترکیبات فنلی و کاهش کربوهیدرات‌های محلول در آب و الیاف نامحلول در شوینده خنثی را به‌همراه داشت ($P<۰/۰۵$). حجم‌گاز و آمونیاک تولیدی هر دو نوع محصول فرعی پسته به‌طور معنی‌داری از قصیل جو و کنسانتره تجاری کمتر بود ($P<۰/۰۱$)، همچنین مقدار کل اسیدهای چرب فرار در هر دو نوع محصول از کنسانتره تجاری کمتر ($P<۰/۰۱$) بود. کمترین نسبت استات به پروپیونات و بالاترین pH با تخمیر سیلاژ محصول فرعی پسته مشاهده شد ($P<۰/۰۵$) و در اثر تخمیر هر دو نوع محصول فرعی، غلظت کمتری ($P<۰/۰۱$) از متان در مقایسه با نمونه‌های کنترل مثبت تولید شد. به‌طور کلی نتایج نشان داد که محصول فرعی پسته باعث کاهش تولید متان گردید و می‌تواند به‌عنوان راهکاری جدید برای دستکاری تخمیر شکمبه‌ای استفاده شود.

واژه‌های کلیدی: محصول فرعی پسته، تانن، متان، اسیدهای چرب فرار و آمونیاک.

Animal Science Journal (Pajouhesh & Sazandegi) No 106 pp: 43-54

Effects of ensiling pistachio by-products on ruminal fermentation and methane emission mitigation using *in vitro* batch fermentation

By: Pirouz shakeri[1]*, Ali Reza Aghashahi[2], Hamid Mostafavi[3] and Mehdi Mirzaee[4]
1- Animal Science Research Department, Kerman Agricultural and Natural Resource Research and Education Center, Agriculture Research, Education and Extension Organization (AREEO), Kerman, Iran
2- Animal Science Research Institute, Agriculture Research, Education and Extension Organization, Karaj, Iran
3- Kerman Agricultural and Natural Resource Research Center, Agriculture Research, Education and Extension Organization, Kerman, Iran
4- Department of Animal Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Arak University, Arak, Iran
* Corresponding Author: Pirouz_shakeri@yahoo.co.uk Mobile: 00989133416419

Received: March 2014 **Accepted: June 2014**

The present study was conducted to examine the effects of sun dried and ensiled pistachio by-product (PBP) on fermentation and methane emission in the rumen using an *in vitro* batch fermentation system. For this purpose, fresh PBP were ensiled into a trench silo without any additives and simultaneously some sun dried PBP were prepared. After 3 month, the ensiled PBP samples were freeze-dried and then chemical analysis was conducted for both samples. All samples were incubated with four replications using buffered rumen fluid for 24 hours. Two positive controls (i.e., oaten chaff and commercial concentrate) were included in the assay as standards to detect differences. At the end of incubation gas pressure, pH and total volatile fatty acids were used as indicators of overall sample fermentability, and concentrations of methane, ammonia, acetate and propionate indicated changes in fermentation end products. The result showed that the ensiled PBP had lower $aNDF_{om}$ and water soluble carbohydrates but greater in phenolic compounds compared with the sun dried PBP. Gas production were lower (P<0.01) in sun dried and ensiled pistachio by-products than the oaten chaff and commercial concentrate, although the amounts of volatile fatty acids and ammonia for both PBP were lower (P<0.01) than the commercial concentrate. The lowest acetate to propionate ratio and the highest pH were in ensiled PBP however, a significant reduction (P<0.01) in methane emission was observed with both PBP samples in comparison to the positive controls. In general, these findings indicate that PBP has a great potential to decrease methane mitigation and can used as a new alternative for modify of rumen fermentation.

Key words: Pistachio by-products, tannin, methane, volatile fatty acids, ammonia.

مقدمه

متان یکی از مهم‌ترین گازهای گلخانه‌ای محسوب می‌شود و حدود ۱۵ درصد از انتشار جهانی آن توسط نشخوارکنندگان اهلی صورت می‌گیرد (Beauchemin و همکاران، ۲۰۰۷). از سوی دیگر تولید متان طی فرآیند تخمیر بی‌هوازی در شکمبه نشان‌دهنده اتلاف انرژی است و کاهش انتشار آن باعث بهبود عملکرد خواهد شد. با کاهش ۲۵ درصدی انتشار متان، افزایش وزنی معادل ۷۵ گرم در روز در گاوهای گوشتی و ۱ لیتر شیر در گاوهای شیری بر اساس تعادل انرژی مورد انتظار است (Nkrumah و همکاران، ۲۰۰۶).

ارگانیسم‌های متانوژنیک شکمبه از یون‌های هیدروژن که در حین تخمیر کربوهیدرات‌ها تولید می‌شود، برای احیای CO_2 و تبدیل آن به متان استفاده کرده و از تجمع آن‌ها و کاهش pH شکمبه جلوگیری می‌نمایند. با تجمع H^+ در شکمبه علاوه بر کاهش pH و عواقب ناشی از آن، اکسیداسیون مجدد NADH متوقف شده و در نتیجه رشد باکتری‌ها، هضم خوراک و تولید اسیدهای چرب فرار مختل می‌گردد (Schonhusen و همکاران، ۲۰۰۳). آرکی‌های[1] تولید کننده متان نیز گروهی مجزا از ارگانیسم‌های شکمبه هستند و از اجزای طبیعی اکوسیستم شکمبه محسوب می‌شوند (Tavendale و همکاران، ۲۰۰۵).

متخصصین تغذیه دام با هدف افزایش راندمان متابولیسم در شکمبه و در نهایت افزایش تولید حیوانات به‌دنبال دستکاری اکوسیستم میکروبی شکمبه با استفاده از برخی افزودنی‌ها می‌باشند. برخی از افزودنی‌های شیمیایی خوراکی از قبیل یونوفرها، ممانعت کننده‌های تولید متان و عوامل کاهنده جمعیت پروتوزوآها مورد

استفاده قرار گرفته‌اند، در حالی که نگرانی‌هایی در رابطه با حضور بقایای این مواد در محصولات دامی و افزایش باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌ها وجود دارد. اخیراً تحقیقات بر روی مواد طبیعی که دارای این ویژگی‌ها بوده و اثرات مضر نیز نداشته باشند متمرکز شده است. گیاهان یا عصاره‌های گیاهی حاوی روغن‌های ضروری، تانن‌ها، ساپونین‌ها، فلاونوئیدها و برخی دیگر از متابولیت‌های ثانویه، توانایی تغییر متابولیسم شکمبه را دارند (Patra و Saxena، ۲۰۱۱). تانن‌ها اصولاً به عنوان ماده ضد تغذیه‌ای شناخته می‌شوند (Min و همکاران، ۲۰۰۳)، اما در سال‌های اخیر از آن‌ها در تنظیم فعالیت‌های تخمیری شکمبه استفاده شده است. برخی از مقالات مروری، اثرات مثبت تانن‌ها بر سوخت و ساز پروتئین‌ها، ممانعت از فعالیت متانوژن‌ها، متعادل کردن و بهبود تخمیر، بهبود تولید پروتئین میکروبی، افزایش پروتئین رسیده به دوازدهه، جلوگیری از نفخ و غنی شدن شیر و گوشت نشخوارکنندگان از اسیدهای چرب کونژوگه را مورد بررسی قرار داده‌اند (Waghorn، ۲۰۰۸؛ Patra و Saxena، ۲۰۱۱). هر سال مقادیر زیادی محصول فرعی پسته در مناطق پسته‌خیز کشور تولید می‌شود. این محصول فرعی از ارزش غذایی قابل توجهی برخوردار است و پتانسیل استفاده در جیره نشخوارکنندگان را دارد. در مطالعات مختلف گزارش شده است که این محصول حاوی ۹/۷-۴/۱ درصد تانن می‌باشد (Shakeri و همکاران، ۲۰۰۷؛ Bagheripour و همکاران، ۲۰۰۸؛ Valizadeh و همکاران، ۲۰۰۹؛ Mokhtarpour و همکاران، ۲۰۱۲؛ Shakeri و همکاران، ۲۰۱۳). مدت زیادی از تعیین تاثیر تانن برخی از گیاهان حاوی تانن، بر اصلاح تخمیر و کاهش تولید متان در شکمبه نشخوارکنندگان می‌گذرد (Waghorn و همکاران، ۲۰۰۲؛ Carulla و همکاران، ۲۰۰۵)، اما تاثیر محصول فرعی پسته بر فعالیت‌های تخمیری شکمبه کمتر مورد توجه قرار گرفته است. این مطالعه به منظور بررسی تاثیر تانن محصول فرعی پسته به‌صورت آفتاب خشک و سیلوشده، بر فراسنجه‌های تخمیری شامل تولید گاز، متان، اسیدهای چرب فرار و آمونیاک در شرایط آزمایشگاهی انجام شد.

مواد و روش‌ها

- تهیه محصول فرعی پسته

هم‌زمان با برداشت محصول پسته از باغات پسته در استان کرمان، محصول فرعی پسته مورد نیاز از یک پایانه فرآوری و عمل‌آوری پسته در حومه شهر کرمان تهیه گردید و بدون هیچ افزودنی در یک سیلوی خندقی سیلو شد. پس‌از ۳ ماه با پروب مخصوص از قسمت‌های مختلف سیلو نمونه‌برداری شد و به روش خشک کردن انجمادی با دستگاه فریزدرایر (CHRIST ALPHA 2-4 LD PLUS MARTIN CHRIST, Osterode, Germany) خشک شد. هم‌زمان بخشی از محصول تازه به مدت ۴ روز در مقابل آفتاب خشک گردید.

- تعیین ترکیبات شیمیایی

نمونه‌ها با آسیاب (Arthur H. Thomas, Philadelphia, PA) و با غربال ۱ میلی‌متری آسیاب شدند. الیاف نامحلول در شوینده خنثی و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی با روش Van Soest و همکاران (۱۹۹۱) و با استفاده از دستگاه تجزیه فیبرآنکوم (Fiber Analyzer, Ankom 200, Ankom Technology Corp, Fairport, NY, USA) در کیسه‌های آنکوم (ANKOM F57) و همراه با آلفا آمیلاز مقاوم به حرارت اندازه‌گیری شدند. پروتئین‌خام با دستگاه کلدال (Kjeldahl Vap50 Gerhardt, Germany) تعیین گردید. خاکستر خام نمونه‌ها به‌مدت ۱۲ ساعت در کوره الکتریکی با دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد تعیین شد (AOAC، ۲۰۰۰). برای اندازه‌گیری کربوهیدرات‌های محلول در آب از روش طیف سنجی فنل سولفوریک استفاده شد (Dubois و همکاران، ۱۹۵۶). ترکیبات فنولی نمونه‌ها با استون ۷۰ درصد استخراج شد و با استفاده از معرف فولین شیکالتو و استاندارد اسید تانیک میزان ترکیبات فنلی و کل تانن تعیین گردید (Makkar، ۲۰۰۳).

- روش اندازه‌گیری تخمیرپذیری آزمایشگاهی

تخمیرپذیری نمونه‌ها با استفاده از یک سیستم تخمیر آزمایشگاهی[۲] مورد بررسی قرار گرفت (Durmic و همکاران، ۲۰۱۰). مقدار ۰/۱ گرم از هر نمونه (با ۴ تکرار) در داخل لوله‌های

آزمایش ۲۷ میلی‌لیتری مخصوص کشت بی‌هوازی[۳] ریخته شد، سپس لوله‌های حاوی نمونه به داخل یک اتاقک بی هوازی[۴] منتقل گردید. دمای این اتاقک ۳۹ درجه سانتی‌گراد و غلظت گازهای N_2، CO_2 و H_2 به‌ترتیب ۸۰۰، ۱۰۰ و ۱۰۰ میلی‌لیتر در لیتر تنظیم شد. مایع شکمبه از ۴ راس قوچ نژاد مرینوس مجهز به فیستولای شکمبه‌ای، ۲ ساعت پس از مصرف خوراک وعده صبح با استفاده از پمپ خلاء مجهز به پروب فلزی با منافذ ۱ میلی‌متر اخذ گردید. دوره عادت‌پذیری قوچ‌ها به جیره‌های مصرفی ۲ هفته بود و در زمان برداشت مایع شکمبه، روزانه ۱ کیلوگرم قصیل جو[۵]، ۲۵۰ گرم لوپین[۶] (باقلای مصری) و ۲۵ گرم مخلوطی از مکمل معدنی و ویتامینی دریافت می‌کردند. مایع شکمبه در فلاسک‌های دو جداره (۰/۵ لیتری برای هر قوچ) در شرایط بی‌هوازی به آزمایشگاه منتقل شد. محتویات فلاسک‌ها با دو لایه پارچه متقال صاف شد و پس از اختلاط به داخل اتاقک بی هوازی منتقل گردید. با افزودن بافر (McDougall، ۱۹۴۸) به شیرابه صاف شده، pH آن به ۷/۲ رسانده شد و مقدار ۱۰ میلی‌لیتر از آن به هریک از لوله‌های حاوی نمونه اضافه گردید. در لوله‌های آزمایش توسط یک درپوش پلاستیکی بسته شد و سپس با یک روکش آلومینیومی پرس گردید. تعداد ۴ لوله آزمایش بدون نمونه حاوی مایع شکمبه و بافر به عنوان کنترل منفی اختصاص یافت. به منظور تشخیص تفاوت‌ها، از قصیل جو (شاخص جیره علوفه‌ای) و یک کنسانتره تجاری پلت شده (شاخص جیره متراکم) با ۴ تکرار به عنوان گروه کنترل مثبت استفاده شد. لوله‌های حاوی نمونه‌های آزمایشی و مایع شکمبه بافری شده داخل یک انکوباتور با حرارت ۳۹ درجه سانتی‌گراد و با ۵۰ بار چرخش در دقیقه گرمخانه گذاری شدند. پس از ۲۴ ساعت، فشار گاز تولید شده در لوله‌ها با استفاده از یک مبدل فشار[۷] (Greisinger Electronic GmbH, Regenstauf, Germany) اندازه‌گیری شد. پس از آن ۵ میلی‌لیتر از گاز جمع شده در قسمت بالای لوله‌ها توسط سرنگ‌های معمولی به داخل لوله‌های دردار مخصوص[۸] (Labco, UK) تزریق گردید. غلظت متان در گاز جمع‌آوری شده، با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی (Varian 3600, Varian, Inc., Palo Alto, A, USA) اندازه‌گیری شد. توانایی متانوژنیک نمونه‌ها بر حسب کل متان تولید شده بر حسب میلی‌لیتر به ازای هر گرم از ماده خشک نمونه‌ها بیان شد (Soliva و همکاران، ۲۰۰۸).

جدول ۱- ترکیب شیمیایی قصیل جو و کنسانتره تجاری مورد استفاده به عنوان کنترل مثبت (گرم درکیلوگرم ماده خشک)

ترکیبات شیمیایی	تیمارهای کنترل مثبت	
	قصیل جو[۱]	کنسانتره تجاری[۲]
ماده خشک	۹۱۸	۹۱۰
ماده آلی	۹۶۴	۹۴۵
الیاف نامحلول در شوینده خنثی	۵۶۵	۲۸۲
الیاف نامحلول در شوینده اسیدی	۳۱۱	۱۵۶
پروتئین خام	۵۷	۱۴۵

۱- از قصیل جو به عنوان جیره بر پایه علوفه استفاده شد. برای تهیه این محصول، گیاه کامل جو در زمان خمیری بودن دانه‌ها برداشت و پس از خشک شدن کامل، توسط بیلر بسته‌بندی شد. قابلیت هضم آزمایشگاهی این محصول ۵۹/۰ درصد بود. ۲- کنسانتره تجاری از شرکت میلن فید ولشپول[۹] در استرالیای غربی تهیه گردید و حاوی ۳۶ درصد جو، ۲۱ درصد یولاف، ۲۱ درصد گندم، ۷ درصد لوپین، ۱۰ درصد کاه گندم و ۵ درصد انواع مکمل بود.

- تجزیه شیمیایی

به منظور اندازه‌گیری غلظت اسیدهای چرب فرار تولید شده، مقدار ۱ میلی‌لیتر از بخش مایع داخل لوله‌های آزمایش به میکروتیوب‌های حاوی ۰/۲ میلی‌لیتر هیدروکسیدسدیم ۱ مولار منتقل گردید. غلظت اسیدهای چرب فرار با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی (Aligent Technologies Inc., Santa Clara, CA, USA) و مجهز به ستون موئینه‌ای (HP-FFAP, 30m×0.53mm×1.0µm) اندازه‌گیری شد. همچنین، مقدار ۱ میلی‌لیتر از محتویات لوله‌ها با افزودن ۰/۲ میلی‌لیتر اسیدکلریدریک ۲ مولار در داخل میکروتیوب‌های جداگانه اسیدی گردید و برای اندازه‌گیری غلظت نیتروژن آمونیاکی استفاده شد.

در این روش آنزیمی، غلظت آمونیاک به روش طیف‌سنجی و با دستگاه اتوماتیک (Roche Diagnostics, F Hoffman-La Roche Ltd., CH-4002 Basel, Switzerland) و کیت‌های اختصاصی (R-Biopharm AG, D-64293 Darmstadt, Germany) تعیین گردید (Bergmeyer و Beutler، ۱۹۸۵).

- تجزیه و تحلیل آماری

اطلاعات به دست آمده با نرم افزار SAS نسخه ۹/۱ و با استفاده از رویه GLM در قالب یک طرح آماری کاملاً تصادفی تجزیه آماری شد. میانگین‌ها با استفاده از آزمون کمترین اختلاف معنی‌دار مورد مقایسه قرار گرفتند (SAS، ۲۰۰۳). مدل آماری مورد استفاده برای فراسنجه‌های مورد بررسی به این شرح بود:

$$Y_{ij} = \mu + t_i + \varepsilon_{ij}$$

که در این معادله Y_{ij} = مقدار هر مشاهده، μ = میانگین کل، t_i =اثر تیمار و ε_{ij} = خطای آزمایشی می‌باشد.

نتایج و بحث

- ترکیبات شیمیایی

در جدول ۲ میانگین ترکیبات شیمیایی، ترکیبات فنلی و کل تانن در محصول فرعی پسته به صورت آفتاب خشک و سیلو شده، نشان داده شده است. تفاوت معنی‌داری در غلظت پروتئین خام، الیاف نامحلول در شوینده اسیدی و کل تانن در دو نوع محصول مشاهده نشد، در حالی که سیلو کردن محصول فرعی پسته باعث کاهش معنی‌داری در الیاف نامحلول در شوینده خنثی ($P <$ ۰/۰۵)، کربوهیدرات‌های محلول در آب ($P <$ ۰/۰۱) و ترکیبات فنلی ($P <$ ۰/۰۱) شد.

جدول ۲- میانگین ترکیبات شیمیایی محصول فرعی پسته به صورت آفتاب خشک و سیلو شده (N= ۳)

محصول فرعی پسته	ترکیبات شیمیایی[1] (درصد در ماده خشک)					
	CP	$aNDF_{om}$	ADF_{om}	WSC	ترکیبات فنلی	تانن کل
آفتاب خشک	۱۲/۹	۳۲/۷[a]	۲۳/۹	۹/۶[a]	۱۳/۷۱[b]	۹/۹۹
سیلو شده	۱۳/۰	۳۰/۹[b]	۲۲/۶	۴/۴[b]	۱۴/۵۴[a]	۱۰/۰۸
انحراف استاندارد میانگین‌ها	۰/۱۴	۰/۳۷	۰/۴۴	۰/۳۸	۰/۱۲	۰/۰۹

۱- CP= پروتئین خام، $aNDF_{om}$= الیاف نامحلول در شوینده خنثی (با استفاده از آنزیم آلفا- آمیلاز مقاوم به حرارت)، ADF_{om}= الیاف نامحلول در شوینده اسیدی و WSC= کربوهیدرات‌های محلول در آب

- میانگین‌های با حروف متفاوت در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشد ($P <$ ۰/۰۵).

از شرایط لازم برای سیلوکردن یک علوفه دارا بودن حداقل ۷-۶ درصد کربوهیدرات‌های محلول در آب در محتوای ماده خشک است (Smith، ۱۹۶۸) و مقدار کربوهیدرات‌های محلول در آب در محصول فرعی پسته ۹/۶ درصد بود. با سیلو کردن محصول فرعی پسته، کربوهیدرات‌های محلول در آب (از ۹/۶ به ۴/۴ درصد) و الیاف نامحلول در شوینده خنثی (از ۳۲/۷ به ۳۰/۹ درصد) کاهش

یافت. برای سایر علوفه‌ها نیز گزارش شده است که فرآیند سیلوکردن بر کربوهیدرات‌های دیواره سلول به خصوص همی‌سلولز تاثیر دارد (McDonald و همکاران، ۱۹۹۱). شواهدی وجود دارد که حداقل بخشی از قندهای پنتوز در سیلاژ حاصل از تجزیه همی‌سلولز است (Deware و همکاران، ۱۹۶۱). مشابه با نتایج این آزمایش، گزارش شده است که سیلو کردن محصول فرعی پسته سبب کاهش معنی‌داری در الیاف نامحلول در شوینده خنثی و کربوهیدرات‌های محلول در آب گردید (Bagheripour و همکاران، ۲۰۰۸). برخی از مطالعات نیز متفاوت با نتایج ما، تغییری در الیاف نامحلول در شوینده خنثی محصول فرعی پسته، با سیلو کردن بدون افزودنی و نیز با افزودن اوره و ملاس مشاهده نکردند (Valizadeh و همکاران، ۲۰۰۹؛ Mokhtarpour و همکاران، ۲۰۱۲).

در محصول فرعی پسته آفتاب خشک و سیلو شده به ترتیب میزان ترکیبات فنلی ۱۳/۷۱ و ۱۴/۵۴ و میزان تانن کل ۹/۹۹ و ۱۰/۰۸ درصد بود. برخی از مطالعات، ترکیبات فنلی را بین ۱۴/۲-۷/۸ و کل تانن را بین ۹/۷-۴/۱ درصد گزارش کرده‌اند (shakeri و همکاران، ۲۰۰۷؛ Bagheripour و همکاران، ۲۰۰۸؛ Valizadeh و همکاران، ۲۰۰۹؛ Mokhtarpour و همکاران، ۲۰۱۲؛ shakeri و همکاران، ۲۰۱۳)، این مقادیر با گزارشات بعضی از مطالعات، مشابه است (Bagheripour و همکاران، ۲۰۰۸؛ Valizadeh و همکاران، ۲۰۰۹). دامنه گسترده برای این ترکیبات در محصول فرعی پسته می‌تواند مربوط به عواملی مثل واریته گیاه، نوع خاک، شرایط پرورش، اقلیم منطقه، مرحله برداشت و همچنین، روش اندازه‌گیری این ترکیبات باشد. گزارش شده است که با سیلو کردن علوفه‌های حاوی تانن، غلظت تانن به دلیل پلیمریزاسیون (Makkar و Singh، ۱۹۹۳) و یا اکسیداسیون (Ben Salem و همکاران، ۲۰۰۵) کاهش می‌یابد، اما سیلو کردن محصول فرعی پسته نه تنها سبب کاهش ترکیبات فنلی و تانن نگردید، بلکه ترکیبات فنلی به‌طور معنی‌داری ($P<۰/۰۱$) افزایش نشان دادند. با سیلوکردن محصول فرعی، کربوهیدرات‌های محلول در آب ۵۴/۲ درصد و الیاف نامحلول در شوینده خنثی ۵/۵ درصد کاهش یافت که باعث افزایش نسبی این ترکیبات در سیلاژ شده است. گزارش شده است که با سیلو کردن محصول فرعی پسته، ترکیبات فنلی و تانن به ترتیب ۲۰ و ۵۰ درصد (Valizadeh و همکاران، ۲۰۰۹)، ۶/۰ و ۴/۲ درصد (Bagheripour و همکاران، ۲۰۰۸) و صفر و ۱۹/۵۷ درصد (Mokhtarpour و همکاران، ۲۰۱۲) کاهش یافتند که با نتایج آزمایش حاضر متفاوت می‌باشند. این اختلافات احتمالاً به دلیل تفاوت در ساختار ترکیبات فنلی و تانن (Min و همکاران، ۲۰۰۳؛ Patra و Saxena، ۲۰۱۱) موجود در محصول فرعی پسته مورد استفاده در این آزمایشات است.

- تخمیرپذیری و تولید متان

حجم گاز، حجم و غلظت متان تولیدشده و pH محتویات لوله‌های آزمایش پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون محصول فرعی پسته به‌صورت آفتاب خشک و سیلو شده و همچنین، قصیل جو و کنسانتره تجاری به عنوان تیمارهای کنترل مثبت به همراه مایع شکمبه و بافر در جدول ۳ نشان داده شده است. نتایج نشان می‌دهند که حجم گاز، از تخمیر سیلاژ محصول فرعی پسته کمتر ($P=۰/۰۰۰۳$) از نوع آفتاب خشک آن بود و حجم گاز تولیدی از تخمیر هر دو نوع محصول فرعی پسته از خوراک‌های گروه کنترل مثبت کمتر بود. در اثر تخمیر کربوهیدرات‌های محلول در مواد سیلو شده، اسیدلاکتیک تولید می‌شود و باعث کاهش سریع pH می‌گردد و می‌دانیم که کربوهیدرات‌های محلول در آب برای رشد میکروب‌های شکمبه حیاتی هستند (McDonald و همکاران، ۱۹۹۱).

از طرفی، انرژی فرآورده‌های حاصل از تخمیر برای ارگانیسم‌های شکمبه قابل دسترس نمی‌باشند (AFRC، ۱۹۹۲). از این‌رو، کاهش تولید گاز با تخمیر سیلاژ محصول فرعی پسته نسبت به نوع آفتاب خشک آن را می‌توان به کاهش کربوهیدرات‌های محلول آن پس از سیلو شدن نسبت داد. Bagheripour و همکاران (۲۰۰۸) نیز کاهش تولیدگاز، قابلیت هضم ماده آلی و انرژی قابل متابولیسم محصول فرعی پسته را پس از سیلو شدن گزارش کردند.

جدول ۳- میزان تولید گاز، غلظت و حجم گاز متان تولیدی و pH محتویات لوله‌های آزمایش حاوی نمونه پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون در شرایط آزمایشگاهی

فراسنجه‌ها	تیمارها				انحراف استاندارد میانگین	سطح معنی‌داری	مقایسه تیمارها	
	محصول فرعی پسته		کنترل مثبت					
	آفتاب خشک	سیلو شده	قصیل جو	کنسانتره تجاری			آفتاب خشک با سیلوشده	محصول فرعی پسته با کنترل مثبت
حجم گاز تولیدی (میلی‌لیتر/گرم)	۲۶۲/۵^{c}	۲۴۶/۸^{d}	۲۷۳/۹^{b}	۳۰۰/۱^{a}	۱/۹	<۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۳	۰/۰۰۰۱
غلظت گاز متان (درصد)	۶/۱۰^{c}	۶/۹۸^{c}	۷/۷۸^{b}	۸/۰۶^{a}	۰/۳۱	۰/۰۰۹	۰/۰۸	۰/۰۰۲
حجم گاز متان (میلی‌لیتر/گرم)	۱۶/۰^{c}	۱۷/۲^{c}	۲۱/۳^{b}	۲۴/۲^{a}	۰/۹	۰/۰۰۰۶	۰/۳۶	۰/۰۰۰۱
pH	۶/۴۹^{b}	۶/۶۲^{a}	۶/۳۷^{c}	۶/۴۳^{bc}	۰/۰۲	۰/۰۰۰۳	۰/۰۰۴	۰/۰۰۰۱

میانگین تیمارهای با حروف متفاوت در هر ردیف دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند ($P<$۰/۰۵).

غلظت و حجم کمتری از گاز متان در نتیجه انکوباسیون محصول فرعی پسته به هر دو صورت آفتاب خشک و سیلو شده در مقایسه با قصیل جو و کنسانتره تجاری تولید گردید. غلظت کمتر ($P=$۰/۰۰۲) متان در گاز حاصل از تخمیر نمونه‌های محصول فرعی پسته در مقایسه با تیمارهای کنترل مثبت را می‌توان به تاثیر تانن موجود در آن‌ها نسبت داد. گزارشی در ارتباط با تاثیر محصول فرعی پسته بر کاهش تولید متان یافت نگردید، اما از تاثیر مثبت گیاهان حاوی تانن بر کاهش تولید متان می‌توان به کاهش ۱۶درصدی تولید متان در بزهای تغذیه شده با گیاه لوتوس[۱۰] (Waghorn و همکاران، ۲۰۰۲)، و کاهش ۱۲ درصدی تولید متان در گوسفندان (Carulla و همکاران، ۲۰۰۵) با جیره حاوی ۲/۵ درصد تانن متراکم اشاره کرد. کاهش انتشار متان با جیره‌های حاوی تانن به کاهش پروتوزوآها و در نتیجه کاهش متانوژن‌های وابسته به آن‌ها و همچنین، کاهش تجزیه‌پذیری فیبر که تولید H^{+} را محدود می‌نماید نسبت داده شده است (Tavendale و همکاران، ۲۰۰۵).

گزارش شده است که جیره‌های حاوی سطوح مختلف سیلاژ محصول فرعی پسته (تا سطح ۲۱ درصد) در جیره گوسفندان کرمانی، جمعیت کل پروتوزوآهای شکمبه، پروتوزوآهای هولوتریش و آنتودینیوم را کاهش دادند (Hajalizadeh و همکاران، ۲۰۱۲). همچنین، قابلیت هضم الیاف نامحلول در شوینده خنثی و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی در گوساله‌های پرواری هلشتاین با مصرف جیره‌های حاوی ۱۸ درصد سیلاژ محصول فرعی پسته به‌ترتیب ۱۲/۷ و ۱۵/۳ درصد در مقایسه با گروه شاهد کاهش یافت (Shakeri، ۲۰۱۳). با استناد به نتایج این دو مطالعه می‌توان کاهش تولید متان با انکوباسیون محصول فرعی پسته را به کاهش جمعیت پروتوزوآها و کاهش هضم فیبر نسبت داد (Hajalizadeh و همکاران، ۲۰۱۲؛ Shakeri، ۲۰۱۳).

بالاترین pH محتویات لوله‌های آزمایش پس از پایان انکوباسیون مربوط به لوله‌های حاوی سیلاژ محصول فرعی پسته بودکه احتمالاً می‌تواند به دلیل کمتر بودن کربوهیدرات‌های قابل دسترس برای ارگانیسم‌های دخیل در گوارش باشدکه در نهایت سبب کاهش فعالیت‌های تخمیری و کاهش تولید محصولات تخمیری شده است.

- محصولات تخمیری

فراسنجه‌های تخمیری شامل میزان کل و پروفایل اسیدهای چرب فرار و همچنین غلظت آمونیاک حاصل از انکوباسیون ۲۴ ساعته خوراک‌های آزمایشی در جدول ۴ نشان داده شده است. محصول فرعی پسته آفتاب خشک و سیلو شده در تولید کل اسیدهای چرب فرار تفاوت معنی‌دار ($P<$۰/۰۱) داشتند، علاوه بر این بیشترین و کمترین میزان تولید اسیدهای چرب فرار به‌ترتیب

مربوط به کنسانتره تجاری و سیلاژ محصول فرعی پسته بود و به همین ترتیب غلظت استات، بوتیرات و والرات تولیدی نیز بین تیمارها تفاوت داشتند.

کمتر بودن میزان تولید اسیدهای چرب فرار حاصل از تخمیر سیلاژ محصول فرعی پسته نسبت به نوع آفتاب خشک را می‌توان به کاهش قندهای محلول طی فرایند تخمیر بی‌هوازی در سیلو نسبت داد. میزان پایین‌تر ($P<۰/۰۱$) اسیدهای چرب فرار در هر دو نوع محصول فرعی پسته نسبت به کنسانتره تجاری را می‌توان به تفاوت مواد مغذی خصوصاً کربوهیدرات‌های آن‌ها و همچنین تانن موجود در محصول فرعی پسته و نقشی که در کاهش فعالیت ارگانیسم‌های دخیل در هضم و تخمیر مواد مغذی دارد، نسبت داد. تانن‌ها با تاثیر بر آنزیم‌های خارج سلولی دیواره باکتری‌ها و همچنین تغییر در مورفولوژی دیواره آن‌ها، فعالیت ضد میکروبی خود را القاء می‌کنند (Patra و Saxena، ۲۰۱۱). تانن‌ها تجزیه دیواره سلولی را با تاثیر مستقیم بر سوخت و ساز میکروبی، محرومیت ارگانیسم‌ها از سوبسترا برای رشد، تشکیل کیلات با کاتیون‌ها و کاهش دسترسی به آن‌ها مهار می‌نمایند (Scalbert و همکاران، ۱۹۹۱). در مطالعه حاضر، غلظت پروپیونات بین تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌داری نداشت، اما غلظت استات در هر دو شکل محصول فرعی پسته نسبت به کنسانتره تجاری کمتر ($P=۰/۰۳$) بود و در نتیجه نسبت استات به پروپیونات در تیمارهای محصول فرعی پسته مقدار کمتری نسبت به گروه‌های کنترل داشتند، هر چند که این نسبت تنها در تیمار سیلاژ محصول فرعی پسته، اختلاف معنی‌داری را با تیمارهای کنترل نشان داد. در مورد تاثیر تانن موجود در محصول فرعی پسته بر تولید کل اسیدهای چرب فرار و غلظت هر یک از آن‌ها گزارشی یافت نشد، اما Makkar و همکاران (۱۹۹۵)، نسبت مولاری بیشتری از پروپیونات را در تجهیزات روستک[11] وقتی که میکروارگانیسم‌ها در معرض تانن گیاه کیوبراکو قرار داشتند، گزارش کردند. همچنین، با افزایش سطح تانن عصاره گیاه کیوبراکو در جیره گوساله‌های پرواری، غلظت کل اسیدهای چرب فرار به صورت خطی تمایل به کاهش و غلظت استات و نسبت استات به پروپیونات نیزکاهش یافت (Beauchemin و همکاران، ۲۰۰۷). با این حال گزارش شده که الگوی نسبت اسیدهای چرب فرار در مطالعات آزمایشگاهی برای ارزیابی اثر تانن بسیار متناقض است (Wang و همکاران، ۲۰۰۹).

جدول ٤- غلظت اسیدهای چرب فرار(میلی‌مول/ لیتر) و آمونیاک تولیدشده (میلی‌گرم/ گرم پروتئین خام) پس از ٢٤ ساعت انکوباسیون نمونه‌ها در شرایط آزمایشگاهی

فراسنجه‌های تخمیری	تیمارها				انحراف استاندارد میانگین‌ها	سطح معنی‌داری	مقایسه تیمارها	
	محصول فرعی پسته		کنترل مثبت					
	آفتاب خشک	سیلو شده	قصیل جو	کنسانتره تجاری			آفتاب خشک با سیلوشده	محصول فرعی پسته با کنترل مثبت
کل اسیدهای چرب فرار	۱۰۵/۰۴^{b}	۹۵/۵۵^{c}	۱۰۵/۷۸^{b}	۱۱۹/۲۸^{a}	۲/۶۷	۰/۰۰۲	۰/۰۰۷	۰/۰۰۲
استات	۵۹/۸۶^{b}	۵۵/۰۸^{b}	۵۹/۵۶^{b}	۶۷/۴۲^{a}	۲/۲۳	۰/۰۳	۰/۱۷	۰/۰۳
پروپیونات	۲۷/۸۹	۲۶/۷۹	۲۷/۳۳	۳۰/۶۶	۱/۳۲	۰/۲۴	۰/۵۷	۰/۲۵
بوتیرات	۱۳/۱۱^{bc}	۱۱/۸۲^{c}	۱۳/۶۹^{b}	۱۵/۶۷^{a}	۰/۵۱	۰/۰۰۵	۰/۱۱	۰/۰۰۳
والرات	۱/۹۵^{b}	۱/۹۳^{b}	۳/۰۷^{a}	۳/۳۸^{a}	۰/۱۰	۰/۰۰۰۱	۰/۰۶	۰/۰۰۰۱
نسبت استات به پروپیونات	۲/۱۵^{ab}	۲/۰۶^{b}	۲/۱۸^{a}	۲/۲۰^{a}	۰/۰۴	۰/۰۵	۰/۶۶	۰/۰۴
آمونیاک	۱۲۱/۹^{d}	۱۴۷/۰^{c}	۲۷۳/۷^{a}	۱۶۳/۹^{b}	۳/۶	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱

میانگین تیمارهای با حروف متفاوت در هر ردیف دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند ($P<۰/۰۵$).

غلظت آمونیاک در لوله‌های آزمایش حاوی تیمارهای آزمایشی بین ۱۲۱/۹ تا ۲۷۳/۷ میلی‌گرم به ازای هر گرم پروتئین خام تغییر کرد. تجزیه ترکیبات نیتروژنی خوراک در شکمبه به وسیله پروتئازهای میکروبی، سبب تولید آمونیاک به عنوان فرآورده نهایی می‌گردد ولی با وجود یکسان بودن میزان پروتئین خام در دو نوع محصول فرعی پسته، غلظت آمونیاک تولید شده بین آن‌ها اختلاف معنی‌داری ($P<۰/۰۱$) داشت. اگرچه، میزان آمونیاک موجود در شکمبه حاصل از دِآمیناسیون اسیدهای آمینه یا کاتابولیسم نیتروژن غیر پروتئینی، بستگی به نیتروژن ترکیبات آندوژنوس حاصل از بزاق و یا مواد خوراکی دارد (Van Soest، ۱۹۹۴)، اما عواملی مانند فراهمی و مقدار انرژی قابل دسترس برای باکتری‌ها نیز در غلظت آن نقش دارند (Beever و Mould، ۲۰۰۰). بنابراین، کمتر بودن انرژی قابل دسترس برای باکتری‌ها در لوله‌های آزمایش حاوی سیلاژ محصول فرعی پسته، احتمالاً باعث فعالیت کمتر باکتری‌ها و تجمع بیشتر آمونیاک در محیط گردیده است. کمتر بودن قابل توجه غلظت آمونیاک در هر دو شکل محصول فرعی پسته نسبت به خوراک‌های کنترل مثبت را می‌توان به وجود تانن در محصول فرعی پسته و نقش بازدارنده آن بر پروتئولیز نسبت داد. زیرا تانن‌ها قادرند با ایجاد اتصالات هیدروژنی با پروتئین‌ها، باعث ایجاد پیوندهای آب‌گریز شوند، و همچنین سطح پروتئین‌ها را پوشانده و از بر هم‌کنش آنزیم‌ها با سوبسترا ممانعت می‌کنند (McNabb و همکاران، ۱۹۹۶) و به‌این ترتیب ازتجزیه پروتئین‌ها جلوگیری می‌نمایند.

نتیجه‌گیری کلی

محصول فرعی پسته دارای ارزش غذایی مناسبی است و از پتانسیل بالایی برای استفاده در جیره نشخوارکنندگان برخوردار است. استفاده از این ماده خوراکی به هر دو صورت خشک و سیلو شده در جیره نشخوارکنندگان علاوه بر کاهش قیمت خوراک و جلوگیری از آلودگی محیط زیست ناشی از رها شدن و پراکندگی آن در اطراف باغات پسته، می‌تواند به عنوان راهکاری جدید برای دستکاری هوشمندانه تخمیر شکمبه‌ای جهت کاهش تولید متان، کاهش نسبت استات به پروپیونات و کاهش تجزیه پروتئین‌ها مورد استفاده قرار گیرد. همچنین، به نظر می‌رسد با توجه به تولید مقادیر زیادی از محصول فرعی پسته دریک دوره کوتاه، سیلوکردن بتواند روشی عملی و کم هزینه برای نگهداری آن باشد.

سپاسگزاری

آزمایش‌های تخمیر پذیری، تعیین انتشار متان، اندازه‌گیری غلظت اسیدهای چرب فرار و آمونیاک در آزمایشگاه تغذیه دام دانشگاه استرالیای غربی[12] کشور استرالیا در سال ۲۰۱۳ میلادی انجام شد. همکاران محترم در این دانشگاه امکان انجام آزمایش بر روی نمونه‌های این آزمایش را در کنار نمونه‌های پروژه اصلی مشترک فراهم آوردند، به‌این وسیله از همکاری آن‌ها تشکر و قدردانی می‌نمایم.

پاورقی‌ها

1 - Archaea
2 - *in vitro* batch fermentation
3 - Bellco tubes, Vineland, NJ, USA
4 - Coy Vinyl Anaerobic Chamber; Coy Laboratory Products Inc.,USA
5 - Oaten chaff
6 - Lupins
7 - Pressure transducer
8 - Exetainer tube
9 - Milne Feed, Welshpool
10 - *Lotus pedunculatus*
11 – RUSITEC=Rumen Simulation Technique
12 - UWA (The University of Western Australia)

منابع

AFRC. (1992). *Agricultural and Food Research Council*. Technical committee on response to nutrients, Report No 9. Nutritive requirements of ruminant animals: Nutrition Abstract a Reviews, Series B: Livestock Feed and Feeding, pp: 62- 787.

AOAC. (2000). *Association of Official Analytical Chemists*. Official Methods of Analysis, 17th ed., Arlington, VA.

Bagheripour, E., Rozbehan, Y. and Alipour, D. (2008). Effect of ensiling, air-drying and addition of polyethylene glycol on *in vitro* gas production of pistachio by-products. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 146: 327-336.

Beauchemin, K.A., McGinn, S.M., Martinez, T.F. and McAllister, T.A. (2007). Use of condensed tannin extract from quebracho trees to reduce methane emissions from cattle. *J. Anim. Sci.*, 85: 1990-1996.

Beever, D.E. and Mould, F.L. (2000). *Forage evaluation for efficient ruminant livestock production*. In: D. I., Given, E. Owen, R. F. E. Axford and H. M. Omed. (Eds) Forage Evaluation in Ruminant Nutrition. CABI publishing. pp: 20-42.

Ben Salem, H., Saghrouni, L. and Nefzaoui, A. (2005). Attempts to deactivate tannins in fodder shrubs with physical and chemical treatments. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 122: 109-121.

Bergmeyer, H.U. and Beutler, H.O. (1985). In: Bergmeyer, H.U. (Ed.), *Methods of Enzymatic Analysis*, vol. VIII, third ed. Verlag Chemie, Weinheim, The Netherlands, pp: 454-461.

Carulla, J.E., Kreuzer, M., Machmüller, A. and Hess, H.D. (2005). Supplementation of Acacia mearnsii tannins decreases methanogenesis and urinary nitrogen in forage-fed sheep. *Aust. J. Agric. Res.*, 56: 961-970.

Deware, W.A., McDonald, P. and Wittenbury, R. (1963). The hydrolysis of grass hemicelluloses during ensilage. *J. Sci. Food Agric.*, 60: 147-153.

Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebes, P.A. and Smith, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.*, 28: 350-356.

Durmic, Z., Hutton, P., Revell, D.K., Emms, J., Hughes, S. and Vercoe, P.E. (2010). *In vitro* fermentative traits of Australian woody perennial plant species that maybe considered as potential sources of feed for grazing ruminants. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 160: 98-109.

Hajalizadeh, Z., Dayani, O. and Tahmasbi, R. (2012). Effect of feeding pistachio pulp silage on ruminal protozoa population and pH in Kermani sheep. The fifth Congress of Animal Science. Isfahan University of Technology. pp: 978-982. (in Persian)

Makkar, H.P.S., Becker, K., Abel, H. and Szegletti, C. (1995). Degradation of condensed tannins by rumen microbes exposed to querbracho tannin (QT) in rumen simulation technique (RUSITEC) and effects of QT on fermentative processes in the RUSITEC. *J. Sci. Food Agric.*, 69: 495-500.

Makkar, H.P.S. (2003). Quantification of tannins in tree and shrub foliage: A laboratory manual. Food and Agriculture Organization of the United Nations/International Atomic Energy Agency. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, the Netherlands, 102P.

Makkar, H.P.S. and Singh, B. (1993). Effect of storage and urea addition on detannification and *in sacco* dry matter digestibility of mature oak (*Quercus incana*) leaves. *Anim. Food Sci. Technol.*, 41: 247-259.

McDonald, P., Henderson, A.R. and Heren, S.J.E. (1991). *The biochemistry of silage*. 2nded. Chalcombe Pub. Abersyth. U. K.

McDougall, E.I. (1948). Studies on ruminant saliva, 1. The composition and output of sheep's saliva. *Biochem. J.*, 43: 99-109.

McNabb, W.C., Waghorn, G.C., Peters, J.S. and Barry, T.N. (1996). The effect of condensed tannins in Lotus pedunculatus upon the solubilization and degradation of ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase protein in the rumen and on sites of digestion. *Br. J. Nutr.*, 76: 535-549.

Min, B.R., Barry, T.N., Attwood, G.T. and McNabb, W.C. (2003). The effect of condensed tannins on the nutrition and health of ruminants fed fresh temperate forages: A review. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 106: 3-19.

Mokhtarpour, A., Naserian, A.A., Tahmasbi, A.M. and Valizadeh, R. (2012). Effect of feeding pistachio by-products silage supplemented with polyethylene glycol and urea on Holstein dairy cows performance in early lactation. *J. Lives. Sci.*, 148: 208-213.

Nkrumah, J.D., Okine, E.K., Mathison, G.W., Schmid, K., Li, C., Basarab, J.A. and et al., (2006). Relationships of feedlot feed efficiency, performance, and feeding behavior with metabolic rate, methane production, and energy partitioning in beef cattle. *J. Anim. Sci.*, 84: 145-153.

Patra, A.K. and Saxena, J. (2011). Exploitation of dietary tannins to improve rumen metabolism and ruminant nutrition. *J. Sci. Food Agric.*, 91: 24-37.

SAS. (2003). SAS User's Guide Statistics. Version 9.1 Edition. SAS Inst., Inc., Cary NC.

Scalbert, A. (1991). Antimicrobial properties of tannins. *Phytochemistry* 30: 3875-3883.

Schonhusen, U., Zitnan, R., Kuhla, S., Jentsch, W., Derno, M. and Voigt, J. (2003). Effects of protozoa on methane production in rumen and hindgut of calves around time of weaning. *Arch. Anim. Nutr.*, 57: 279-295.

Shakeri, P. (2013). Evaluating chemical composition, digestibility and nutritive value of dried and silaged pistachio by- product in ruminant nutrition. Ph.D. Thesis in Animal Science. Isfahan University of Technology, 189P. (in Persian)

Shakeri, P. and Fazaeli, H. (2007). Study on the use of different levels of pistachio by-product in diets of fattening lambs. *Iranian J. Agric. Sci.*, 38:3. 529-534. (in Persian)

Shakeri, P., Riasi, A., Alikhani, M., Fazaeli, H. and Ghorbani, G.R. (2013). Effects of feeding pistachio by-products silage on growth performance, serum metabolites and urine characteristics in Holstein male calves. *J. Anim. Physiol. Anim. Nut.*, 97: 1022-1029.

Smith, D. (1968). *Forage management physiology meeting*. P:54. Univ, Illinois, Urbana.

Soliva, C.R., Zeleke, A.B., Clement, C., Hess, H.D., Fievez, V. and Kreuzer, M. (2008). *In vitro* screening of various tropical foliages, seeds, fruits and medicinal plants for low methane and high ammonia generating potentials in the rumen. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 147: 53-71.

Tavendale, M.H., Meagher, L.P., Pacheco, D., Walker, N., Attwood, G.T. and. Sivakumaran, S. (2005). Methane production from *in vitro* rumen incubations with Lotus pedunculatus and Medicago sativa, and effects of extractable condensed tannin fractions on methanogenesis. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 123: 403-419.

Valizadeh, R., Naserian, A.A. and Vahmani, P. (2009). Influence of drying and ensiling pistachio by-products with urea and molasses on their chemical composition, tannin content and rumen degradability parameters. *J. Anim. Vet. Adv.*, 8:1. 2363-2368.

Van Soest, P.J. (1994). *Nutritional Ecology of the Ruminant*. 2th ed. Cornell University Press. Ithaca, NY, 476P.

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

Waghorn, G.C. (2008). Beneficial and detrimental effects of dietary condensed tannins for sustainable sheep and goat production- progress and challenges. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 147: 116-139.

Waghorn, G.C., Tavendale, M.H. and Woodfield, D.R. (2002). Methanogenesis from forages fed to sheep. *Proc. N. Z. Grassl. Assoc.*, 64: 167-171.

Wang, Y., Alexander, T.W. and McAllister, T.A. (2009). *In vitro* effects of phlorotannins from Ascophyllum nodosum (brown seaweed) on rumen bacterial populations and fermentation. *J. Sci. Food Agric.*, 89: 2252-2260.