

# نشریه علوم دامی

(بیژوهش و سازندگی)

شماره ۱۱۷، زمستان ۱۳۹۶

صص: ۲۴۱-۲۵۶

## اثر استفاده از سطوح مختلف ساپونین بر قابلیت هضم مواد مغذی، فراسنجه‌های تخمیری، جمعیت پروتزوآی شکمبه‌ای و فراسنجه‌های خونی در گوسفندان نر بلوچی

- محمد مهدی محقق<sup>۱</sup>، عبدالمنصور طهماسبی<sup>۲\*</sup>، رضا ولی‌زاده<sup>۳</sup>، عباسعلی ناصریان<sup>۴</sup>، محسن کاظمی<sup>۵</sup>، آمنه اسکندری تربقان<sup>۶</sup>
- ۱استادیار گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه هرات افغانستان
- ۲استاد گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد
- ۳استادیار گروه علوم دامی مجتمع آموزش عالی تربت جام
- ۴مریمی گروه مهندسی بهداشت محیط دانشکده علوم پزشکی تربت جام

تاریخ دریافت: اسفند ۱۳۹۵      تاریخ پذیرش: اردیبهشت ۱۳۹۶

شماره تماس نویسنده مسئول: ۰۹۱۵۵۲۰۶۳۳۴

Email: a.tahmasbi@lycos.com

### چکیده

این آزمایش با هدف مطالعه اثر استفاده از سطوح مختلف ساپونین خالص (Loba Chemie Ltd.) بر قابلیت هضم، فراسنجه‌های تخمیری، جمعیت پروتزوآی شکمبه‌ای و فراسنجه‌های خونی در گوسفندان نر بلوچی انجام شد. از ۴ رأس گوسفند نر بلوچی با میانگین وزن زنده  $40/3 \pm 2/2$  کیلوگرم و دارای فیستولای شکمبه‌ای در قالب طرح چرخشی استفاده شد. تیمارهای آزمایشی شامل ۱-جیره پایه (شاهد)، ۲-جیره پایه + ۷۵ میلی‌گرم ساپونین در هر کیلوگرم ماده خشک جیره، ۳-جیره پایه + ۱۵۰ میلی‌گرم ساپونین و ۴-جیره پایه + ۳۰۰ میلی‌گرم ساپونین بودند. ساپونین، تأثیری بر قابلیت هضم ظاهری ماده خشک، ماده آلی، پروتئین، خام، چربی خام، الیاف نامحلول در شوینده اسیدی و خنثی (ADF و NDF) جیره نداشت ( $P > 0.05$ ). غلظت استات، پروپیونات، بوتیرات، والرات و نیز pH مایع شکمبه تحت تأثیر تیمارها قرار نگرفت ( $P > 0.05$ ). اما سطح ۳۰۰ میلی‌گرم ساپونین باعث افزایش کل اسیدهای چرب فرار در مقایسه با تیمار شاهد شد ( $P < 0.05$ ). با افزایش ساپونین در جیره، میانگین غلظت نیتروژن آمونیاکی و جمعیت پروتزوآ کاهش یافت ( $P < 0.05$ ). همچنین میانگین سطح تری‌گلیسیرید خون با افزایش ساپونین در جیره، کاهش یافت ( $P < 0.05$ ) و لیپوپروتئین‌های با چگالی کم یا زیاد (LDL و HDL) تحت تأثیر تیمارها قرار نگرفت ( $P > 0.05$ ). هر چند استفاده از ساپونین تا سطح ۳۰۰ میلی‌گرم در جیره گوسفندان در کوتاه مدت، اثر سوئی بر سلامت دام نداشت، اما در میان فراسنجه‌های مورد مطالعه، غلظت نیتروژن آمونیاکی، کل اسیدهای چرب فرار، تری‌گلیسیرید، و شمار پروتزوآی شکمبه‌ای تحت تأثیر مصرف ساپونین قرار گرفت. با این وجود برای اثبات اثرات مغاید ساپونین بر عملکرد دام، نیاز به مطالعات بیشتر می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: ساپونین، گوسفند، تخمیر، پروتزوآ، فراسنجه‌های خونی

Animal Science Journal (Pajouhesh & Sazandegi) No 117 pp: 241-256

## The effect of different levels of saponin on nutrient digestibility, fermentation parameters, ruminal protozoa population and blood metabolites in Baluchi male sheep

By: Mohammad Mehdi Moheghi<sup>1</sup>, Abdoul Mansour Tahmasbi<sup>2\*</sup>, Reza Valizadeh<sup>2</sup>, Abbas Ali Naserian<sup>2</sup>, Mohsen Kazemi<sup>3</sup>, Ameneh Eskandary Torbaghan<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Assistant professor, Department of Animal Science, College of Agriculture, University of Herat, Afghanistan

<sup>2</sup>Professor, Department of Animal science, College of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad

<sup>3</sup>Assistant professor, Department of Animal Science, Higher Education Complex of Torbat-e Jam

<sup>4</sup>Professional engineering, Department of Environmental Health Engineering, Torbat-e Jam Faculty of Medical Sciences

\*Corresponding Author Email: a.tahmasbi@lycos.com

Received: March 2017

Accepted: May 2017

This experiment was conducted to study the effect of different levels of pure saponin (Loba Chemie Ltd.) on digestibility, fermentation parameters, ruminal protozoa population and blood metabolites in Baluchi male sheep. Four rumen fistulated Baluchi male sheep ( $LW=40.3\pm2.2\text{kg}$ ) were used in a change-over design. Experimental treatments were 1) basal diet (control), 2) basal diet + 75 mg saponin per kg of diet (DM basis), 3) basal diet + 150 mg saponin, and 4) basal diet + 300 mg saponin. Saponin did not affect apparent digestibility of dry matter, organic matter, crude protein, crude fat, NDF, and ADF of the diet ( $P>0.05$ ). Concentration of acetate, propionate, butyrate, valerate and also pH of the rumen fluid were not affected by the treatments ( $P>0.05$ ), but the level of 300 mg saponin increased total volatile fatty acids compared to the control group ( $P<0.05$ ). The mean of ammonia nitrogen concentration and total number of protozoa were decreased with the increasing of saponin in the diet ( $P<0.05$ ). Also by increasing saponin in the diet, the mean of blood triglyceride concentration decreased ( $P<0.05$ ) but cholesterol, HDL, and LDL level were not affected by the treatments ( $P>0.05$ ). Although use of saponin up to 300 mg in the diet, had no negative effect on the health of animal, but among the studied parameters, ammonia nitrogen concentration, total volatile fatty acids, blood triglyceride and numbers of ruminal protozoa were affected by saponin. However, more studies are needed to prove the beneficial effects of saponins on animal performance.

**Key words:** Saponin, Sheep, Fermentation, Protozoa, Blood metabolites

### مقدمه

کلسترول در بافت‌های حیوانی داشته باشدند (محققی، ۱۳۹۲). ساپونین‌ها جزو مهمترین ترکیبات گلیکوزیدی گیاهی بوده که به عنوان یک سیستم دفاعی و ضد باکتریایی در خود گیاه عمل کرده و نقش‌های مؤثری بر الگوی تخمیر شکمبه دارند (Tabacco و همکاران، ۲۰۰۶؛ Patra and Saxena، ۲۰۰۹). ساپونین‌ها دارای اثرات مهاری بر فعالیت و جمعیت میکرووارگانیسم‌های مسئول بیوهیدروژناسیون در شکمبه می‌باشند و با مهار آخرین مرحله بیوهیدروژناسیون اسید چرب غیراشباع، سبب افزایش تجمع اسید واکسینیک و کاهش اسید استearیک می‌گردند (Khiaosa-

امروزه متخصصین تغذیه دام تلاش می‌کنند تا با ایجاد تغییرات مفید در الگوی تخمیر شکمبه و اکوسیستم میکروبی حیوان با استفاده از افروندنی‌های خاص، فرآورده‌های دامی مفید و سالم برای مصرف مطمئن و بی‌خطر افراد جامعه تولید نمایند (نعمتی شیزری، ۱۳۸۹). نشخوارکنندگان به دلیل داشتن شرایط ویژه در دستگاه گوارش به ویژه میکرووارگانیسم‌های موجود در شکمبه آن‌ها، توانایی تخمیر بسیاری از ترکیبات موجود در طبیعت را دارند و در نهایت محصولات تولیدی در شکمبه آن‌ها می‌تواند تأثیر مستقیمی بر سلامتی، عملکرد و حتی میزان انباست چربی و

کمبود اطلاعات در این زمینه وجود دارد. بنابراین، این پژوهش با هدف مطالعه اثرات استفاده از سطوح مختلف ساپونین بر قابلیت هضم، فرانسنجه‌های تخمیری، جمعیت پروتوزوآی شکمبه‌ای و فرانسنجه‌های خونی در گوسفندان نر بلوچی انجام شد.

## مواد و روش‌ها

### تیمارهای آزمایشی و مدیریت دامها

در این آزمایش از ۴ رأس گوسفند نر بلوچی با میانگین وزن زنده  $40.3 \pm 2.2$  کیلوگرم و دارای فیستولای شکمبه‌ای در محل آزمایشگاه متابولیسم گروه علوم دامی دانشگاه فردوسی مشهد و در قالب طرح چرخشی استفاده شد. گوسفندها در قفس‌های متابولیک انفرادی ( $0.8 \times 0.5 \times 1.5$  متر) نگهداری شدند و به خوراک و آب در شباهنگ روز دسترسی آزادانه داشتند.

آزمایش در چهار دوره ۳۰ روزه شامل ۱۵ روز عادت‌دهی، ۵ روز نمونه‌گیری و ۱۰ روز استراحت انجام شد. مدت ۱۰ روزه با هدف حذف اثر ساپونین در تیمارهایی بود که از ساپونین استفاده کرده بودند و در طی این مدت تمام دام‌های آزمایشی با جیره پایه (شاهد) تغذیه شدند. جیره‌ها به صورت کاملاً مخلوط (TMR) و در دو وعده صبح (۰۸:۰۰) و بعدازظهر (۲۰:۰۰) در اختیار دام‌ها قرار گرفت. جیره پایه (۵۰ درصد علوفه و ۵۰ درصد کنسانتره) برای تمامی گروه‌های آزمایشی بر اساس جدول احتیاجات غذایی گوسفند (۲۰۰۷) و در حد نگهداری تنظیم شد (جدول ۱). تیمارهای آزمایشی شامل ۱-جیره پایه (شاهد)، ۲-جیره پایه + ۷۵ میلی‌گرم ساپونین خالص (Loba Chemie Pvt. Ltd. Mumbai, India) در هر کیلوگرم ماده خشک جیره، ۳-جیره پایه + ۱۵۰ میلی‌گرم ساپونین و ۴-جیره پایه + ۳۰۰ میلی‌گرم ساپونین بودند.

ard و همکاران، ۲۰۰۹). ساپونین در تمام مراحل سوخت و ساز (از بلع تا دفع) در حیوانات نشخوارکننده و سایر حیوانات اهلی مؤثر می‌باشد (Cheeke، ۲۰۰۰). ساپونین به اسیدهای صفوایی اولیه متصل و آن‌ها را در مقابل فعالیتهای میکروبی محافظت می‌کند، به طوری که گزارش شده ساپونین سبب کاهش اسیدهای ثانویه در رت، (Oakenfull و همکاران، ۱۹۷۹) خوک (Topping و همکاران، ۱۹۸۰) و انسان (Potter و همکاران، ۱۹۸۰) می‌گردد. در شرایط برون‌تنی مصرف ساپونین به طور معنی‌داری شمار پروتوزوآ را کاهش داد (Hu و همکاران، ۲۰۰۸؛ Guo و همکاران، ۲۰۰۵؛ Goel و همکاران، ۲۰۰۸). پروتوزوآی موجود در شکمبه با شکار باکتری‌ها موجب کاهش بازچرخ پروتئین در شکمبه می‌شوند بنابراین پروتوزوآزدایی موجب افزایش بازدهی استفاده از نیتروژن و افزایش سنتر پروتئین میکروبی و متعاقباً افزایش ورود پروتئین میکروبی به دوازده می‌گردد که پیامد آن افزایش رشد، تولید شیر و تولید پشم Patra and Saxena (۲۰۰۵) و همکاران، ۲۰۰۹). مطالعات برون‌تنی نشان داد حتی پس از گذشت ۲۴ ساعت (مدت زمانی که به طور معمول ساپونین درون شکمبه نشخوارکننده‌گان باقی می‌ماند) ساپونین بدون تغییر در محیط کشت باقی می‌ماند (Mathison و همکاران، ۱۹۹۹). ساپونین موجب القای ژن‌های کدکننده آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (سوپر اکسید دسموتاز) می‌شود و نیز گزارش شده است که عصاره غنی از ساپونین ریشه چای، ویژگی آنتی‌اکسیدانی دارد (Sur و همکاران، ۲۰۰۱). با توجه به موارد ذکر شده در بالا، به‌نظر می‌رسد ساپونین نقش‌های متفاوتی بر عملکرد نشخوارکننده‌گان داشته باشد و از طرفی مطالعات اندکی در زمینه استفاده از ساپونین بر روند فعالیت‌های تخمیری در گوسفندان ایرانی صورت گرفته و

## جدول ۱- اجزاء و ترکیب شیمیایی جیره آزمایشی

اجزاء	مقدار (درصد ماده خشک)
یونجه	۳۰
کاه گندم	۲۰
دانه جو	۲۵
کنجاله کنزا	۸
سبوس گندم	۱۳
مکمل ویتامینی - مواد معدنی <sup>۱</sup>	۰/۵
نمک	۰/۳
آهک	۰/۲
روغن آفتابگردان	۳
<b>ترکیب شیمیایی</b>	
بروتئین خام	۱۲/۴
چربی خام	۵/۸
الیاف نا محلول در شوینده خنثی (NDF)	۳۹/۲
کربوهیدرات‌های غیر الیافی (NFC) <sup>۲</sup>	۳۷/۴
انرژی قابل سوخت و ساز (مگاکالری در هر کیلوگرم ماده خشک)	۲/۴۷

۱- حاوی ۱۹/۶٪ کلسیم، ۹/۶٪ فسفر، ۷/۱٪ سدیم، ۱/۹٪ منزیم، ۰/۲٪ گرم در کیلوگرم منگنز، ۰/۳٪ گرم در کیلوگرم روی، ۰/۳٪ گرم در کیلوگرم آهن، ۰/۰۳٪ گرم در کیلوگرم مس، ۰/۰۲٪ گرم در کیلوگرم ید، ۰/۰۱٪ گرم در کیلوگرم کبالت، ۵۰۰۰۰ واحد بین المللی در کیلوگرم ویتامین A، ۱۰۰۰۰ واحد بین المللی در کیلوگرم ویتامین D و ۱۰۰۰ واحد بین المللی در کیلوگرم ویتامین E

۲- پروتئین خام+خاکستر+چربی خام+(NDF=100-(NFC+NRC)) ۲۰۰۱

## نمونه‌گیری از دامها

قابلیت هضم مواد مغذی تهیه و مجددًا تا آنالیز بعدی به فریزر انتقال داده شد (McDonald و همکاران، ۱۹۹۵). در روز ۱۵ و ۱۶ هر دوره آزمایشی، قبل از غذا و در فواصل زمانی ۰/۵ ساعت تا ۸ ساعت بعد از مصرف خوراک، نمونه مایع شکمبه از طریق فیستولای شکمبه‌ای گرفته شد و pH آن بلافاصله توسط pH متر (Metrohm، 691) ثبت گردید و همزمان نمونه‌ای برای تعیین غلظت نیتروژن آمونیاکی از دام‌ها گرفته شد. همچنین نمونه مایع شکمبه (برای شمارش پروتوزوآ) و خون نیز قبل از خوراک‌دهی صبح، ۲ و ۴ ساعت بعد از مصرف خوراک به ترتیب از طریق فیستولا و سیاهرگ و دجاج گردن دام‌ها گرفته شد.

پس از عادت‌پذیری دام به تیمار آزمایشی (۱۵ روز) در هر دوره، به مدت ۵ روز، اقادام به ثبت رکورد و جمع‌آوری نمونه‌هایی از خوراک مصرفی و پس‌مانده‌های آن شد و بلافاصله در فریزر با دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. در پایان هر دوره، نمونه‌های مربوط به هر گوسفند با هم مخلوط و در نهایت یک نمونه جهت آنالیزهای بعدی به آزمایشگاه انتقال داده شد. کل مدفع دفعی هر حیوان نیز به مدت ۵ روز متوالی به طور دقیق وزن‌کشی و یک نمونه ۲۵۰ گرمی از آن برداشت و بلافاصله به فریزر انتقال داده شد. در پایان هر دوره، نمونه‌های مدفع هر گوسفند مخلوط و یک نمونه جهت تجزیه شیمیایی و برآورد

## آفالیز آزمایشگاهی

آزمایشی بود. همچنین مقایسه بین میانگین‌ها بر اساس آزمون تفاوت میانگین حداقل مربعات (LSMEANS) در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد. داده‌های مربوط به pH، نیتروژن آمونیاکی، پروتوزوآ و فراسنجه‌های خونی به صورت تکرار در زمان با رویه (Mixed) نرمافزار آماری SAS (نسخه ۹/۱) و بر اساس مدل آماری  $Y_{ijk} = \mu + t_i + P_j + T_{ij} + S_k + t_i \times T_{ij} + \varepsilon_{ijk}$  انجام شد که در این مدل  $Y_{ijk}$  متغیر وابسته،  $\mu$  میانگین کل مشاهدات، اثر تیمار،  $P_j$  اثر دوره،  $T_{ij}$  اثر زمان،  $S_k$  اثر تصادفی حیوان،  $t_i$  اثر متقابل تیمار در زمان و  $\varepsilon_{ijk}$  خطای آزمایشی می‌باشد و همچنین مقایسه بین میانگین‌ها بر اساس آزمون تفاوت میانگین حداقل مربعات (LSMEANS) در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

## نتایج و بحث

### قابلیت هضم ظاهری مواد مغذی

قابلیت هضم ظاهری ماده خشک، ماده آلی، پروتئین خام، چربی خام، الیاف نامحلول در شوینده‌ی خشی و اسیدی تحت تأثیر ساپونین موجود در جیره قرار نگرفتند ولی قابلیت هضم ماده خشک ( $P=0.06$ )، ماده آلی ( $P=0.08$ ) و چربی خام ( $P=0.09$ ) تمایل به معنی‌داری داشتند (جدول ۲).

غلاظت نیتروژن آمونیاکی و پروتئین خام با روش کجلدال تعیین ماده خشک، خاکستر، پروتئین خام و چربی خام نمونه‌ها از روش‌های توصیه شده AOAC (۲۰۰۵) استفاده شد. همچنین برای تعیین الیاف نامحلول در شوینده‌ی خشی و اسیدی از روش Van Soest و همکاران (۱۹۹۱) استفاده گردید. اندازه‌گیری غلاظت اسیدهای چرب فرار مایع شکمبه با استفاده از دستگاه کازکروماتوگرافی (Chrompack CP 9002, Holand) و Atuo Ottenstein and Bartley (۱۹۷۱) بر اساس روش Fransonjeh‌های خونی با استفاده از دستگاه اتوآنالایزر (Analyzer A15, Biosystem, spain آمیزی پروتوزوآ بر اساس روش Ivan و همکاران (۲۰۰۱) انجام شد و شمارش آن‌ها به روش Ogimoto and Imai (۱۹۸۱) صورت گرفت.

### معدلات و تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

داده‌های آزمایش در قالب طرح چرخشی با رویه Mixed، نرم افزار SAS (نسخه ۹/۱) مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند، به‌طوری‌که مدل آماری طرح شامل  $Y_{ijk} = \mu + T_i + P_j + S_k + t_i \times T_{ij} + \varepsilon_{ijk}$  بود که در آن  $Y_{ijk}$  متغیر وابسته،  $\mu$  میانگین کل مشاهدات، اثر تیمار،  $P_j$  اثر دوره،  $S_k$  اثر تصادفی حیوان و  $\varepsilon_{ijk}$  خطای  $T_i$

جدول ۲- تأثیر استفاده از سطوح مختلف ساپونین در جیره گوسفندان نر بلوچی بر قابلیت هضم ظاهری مواد مغذی

سطح معنی‌داری	انحراف استاندارد میانگین‌ها	تیمار آزمایشی <sup>۱</sup>					قابلیت هضم مواد مغذی (%)
		۴	۳	۲	۱		
۰/۰۶	۰/۵۱	۶۸/۲۴	۶۸/۱۶	۷۰/۰۰	۶۹/۹۵		ماده خشک
۰/۰۸	۰/۵۹	۷۰/۸۳	۷۱/۰۳	۷۳/۰۵	۷۲/۶۳		ماده آلی
۰/۷۰	۱/۳۱	۷۲/۴۴	۷۱/۶۱	۷۳/۳۵	۷۳/۶۴		پروتئین خام
۰/۰۹	۰/۵۶	۷۲/۶۰	۷۰/۹۷	۷۰/۱۲	۷۱/۱۳		چربی خام
۰/۱۲	۰/۳۶	۶۱/۰۱	۶۲/۱۷	۶۱/۱۸	۶۲/۱۴	(NDF)	الیاف نامحلول در شوینده‌ی خشی
۰/۲۶	۱/۳۵	۴۴/۶۱	۴۷/۶۶	۴۸/۶۲	۴۶/۱۲	(ADF)	الیاف نامحلول در شوینده‌ی اسیدی

۱- تیمارهای آزمایشی شامل ۱- جیره پایه (شاهد)، ۲- جیره پایه + ۷۵ میلی‌گرم ساپونین در هر کیلوگرم ماده خشک جیره، ۳- جیره پایه + ۱۵۰ میلی‌گرم ساپونین و ۴- جیره پایه + ۳۰۰ میلی‌گرم ساپونین بودند.

کردن فعالیت آنزیم کیمومتریپسین شد و این اثر در رابطه با گلایسین نیز شدیدتر بود (Shimoyamada و همکاران، ۱۹۹۸). اثر اصلی ساپونین بر هضم چربی‌ها به‌واسطه تأثیر آن بر اسیدهای صفراوی بوده به‌طوری‌که ساپونین با تشکیل میسل با اسیدهای صفراوی، از میزان اسیدهای صفراوی در دسترس برای تشکیل میسل با اسیدهای چرب می‌کاهد (and Sindhu and Sindhu، ۱۹۸۹). گزارش شده ساپونین از طریق باند شدن با اسیدهای صفراوی از تشکیل میسل‌های چربی جلوگیری کرده و Oakenfull (Oakenfull and Sindhu)، هضم چربی را کاهش می‌دهد (۱۹۸۹). در آزمایش اخیر با توجه به تمایل برای معنی‌دار شدن قابلیت هضم چربی جیره ( $P=0.09$ )، به نظر می‌رسد بالاترین سطح ساپونین (۳۰۰ میلی گرم)، بیشترین تأثیر را بر قابلیت هضم چربی گذاشته است، هر چند که اختلاف معنی‌داری در بین تیمارها مشاهده نشد. ساپونین جدا شده از گیاه علف جارو<sup>۱</sup> و عصاره چای Han (Han و همکاران، ۲۰۰۶) و Ramirez (Ramirez و همکاران، ۱۹۹۸) گزارش کردن استفاده از عصاره یوکا در خوراک گوساله‌های پروواری که به‌طور آزاد تغذیه شده بودند، تأثیری بر هضم پروتئین در شکمبه و پس از آن نداشته اما هضم اسیدهای چرب را در بعد از شکمبه کاهش داد. هر چند که مواردی مبنی بر نقش مثبت ساپونین در امولسیون کردن چربی‌ها (Barl و همکاران، ۱۹۷۹؛ Oakenfull and Sidhu and Sidhu، ۱۹۸۹) گزارش گردید، اما در آزمایش اخیر، مصرف ساپونین تأثیر معنی‌داری بر قابلیت هضم چربی جیره در گوسفندان نداشت. گزارش شده تجزیه ساپونین در بزرگ گوسفندانی که مدت طولانی‌تری در معرض غذاهای حاوی ساپونین بوده‌اند، بیشتر صورت گرفته و متعاقباً جمعیت میکروبی شکمبه به ساپونین سازگارتر شده است (Odenyo و همکاران، ۱۹۹۷؛ Newbold و همکاران، ۱۹۹۷).

### اسیدهای چرب فرار

غلظت استات، پروپیونات، بوتیرات و والرات در بین تیمارهای مختلف، تفاوت معنی‌داری نداشتند (جدول ۳) اما غلظت کل اسیدهای چرب فرار تحت تأثیر ساپونین موجود در جیره قرار

ساپونین یک ماده گلیکوزیدی است که میکروب‌های شکمبه قادرند آن‌ها را به بخش‌های آگلیکونی و قندی تجزیه کنند اما بخش آگلیکونی بسیار پیچیده است و به سختی توسط باکتری‌های شکمبه تجزیه می‌گردد و گزارشی مبنی بر تجزیه آگلیکون‌ها توسط باکتری‌های شکمبه در دسترس نیست. در دو مطالعه انجام شده هر دو اثر مثبت و منفی بخش آگلیکونی ساپونین در تغذیه دام گزارش شده است (Sen و همکاران، ۱۹۹۸؛ Francis و همکاران، ۲۰۰۲). گزارشات زیادی در خصوص کاهش قابلیت هضم برخی از مواد مغذی جیره در اثر مصرف ساپونین ارائه شده است (Klita و همکاران، ۱۹۹۶؛ Hess و همکاران، ۲۰۰۴؛ Agarwal و همکاران، ۲۰۰۵؛ Wina و همکاران، ۱۹۸۶؛ Holtshausen و همکاران، ۲۰۰۹) و اینکه ساپونین ممکن است مکان هضم را در دستگاه گوارش تغییر دهد (Agarwal و همکاران، ۲۰۰۶). بر عکس، نتایج برخی از گزارشات نیز افزایش قابلیت هضم برخی از مواد مغذی در اثر Goetsch and Lu and Valdez (Goetsch and Lu and Valdez، ۱۹۸۵؛ Owens and Jorgensen، ۱۹۸۷). با توجه به تمایل معنی‌داری برخی از فراسنجه‌های جدول ۲، سطح ۷۵ میلی گرم ساپونین از بیشترین میزان قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی در مقایسه با سایر تیمارها از لحاظ عددی برخوردار بود. در بسیاری از تحقیقات نیز ساپونین تأثیری بر قابلیت هضم مواد مغذی نداشت (Hess و همکاران، ۲۰۰۴؛ Pen و همکاران، ۲۰۰۶؛ Lovett و همکاران، ۲۰۰۶؛ Nasri و همکاران، ۲۰۱۱). آزمایش حاضر نشان داد مصرف ساپونین تا سطح ۳۰۰ میلی گرم تأثیر منفی بر قابلیت هضم مواد مغذی جیره نداشت ( $P>0.05$ ). ساپونین کویلاجا<sup>۲</sup> موجب افزایش بازده تولید پروتئین میکروبی شکمبه و کاهش تجزیه Makkar پذیری پروتئین خوراک در شرایط برون‌تنی گردید (Makkar and Becker، ۱۹۹۶). مصرف برگ‌های غنی از ساپونین<sup>۳</sup> جریان پروتئین میکروبی از شکمبه به روده را افزایش و تعداد پروتوزوا آ را کاهش داد (Newbold و همکاران، ۱۹۹۷). ساپونین موجود در سویا باعث کاهش هضم پروتئین از طریق کم

<sup>1</sup> *Quillaja saponaria*

<sup>2</sup> *Sesbania sesban*

<sup>3</sup> *Kochia Scoparia*

Goel و همکاران، ۲۰۰۸) افزایش در غلظت پروپیونات در اثر کاربرد ساپونین در جیره را گزارش کردند. افزایش تولید پروپیونات فراهامی هیدروژن جهت تولید متان را کم می‌کند و موجب کاهش غلظت بوتیرات و استات که از محصولات نهایی عمل پروتوزوآمی باشند نیز می‌شود. بنابراین پروتوزوآزادی الگوی تولید اسیدهای چرب فرار را به سمت تولید پروپیونات بیشتر و استات و بوتیرات کمتر سوق می‌دهد (Jouany، ۱۹۹۶؛ Wina و همکاران، ۲۰۰۵).

گرفت به طوری که سطح ۳۰۰ میلی گرم ساپونین در مقایسه با تیمار شاهد دارای بیشترین غلظت کل اسیدهای چرب فرار بود ( $P<0.05$ ). نتایج مطالعات در زمینه تأثیر ساپونین بر الگوی اسیدهای چرب تولید شده در شکمبه یکسان نیست به طوری که برخی از محققین گزارش کردند ساپونین اثر معنی‌داری بر الگوی Makkar and Lila (Becker، ۱۹۹۶؛ Wang و همکاران، ۱۹۹۸) در حالی که تولید اسیدهای چرب کوتاه زنجیر ندارد (Jouany، ۱۹۹۶؛ Becker و همکاران، ۲۰۰۳) افزایش در کل اسیدهای چرب زنجیر کوتاه را گزارش کردند. علاوه بر آن برخی مطالعات (Wina و همکاران، ۲۰۰۵) اثراً نداشتند.

جدول ۳- تأثیر استفاده از سطوح مختلف ساپونین در جیره گوسفندان نر بلوجی بر غلظت اسیدهای چرب فرار مایع شکمبه

سطح معنی‌داری	انحراف استاندارد میانگین‌ها	تیمار آزمایشی <sup>۱</sup>					اسید چرب (میلی‌مول در لیتر)
		۴	۳	۲	۱		
۰/۰۰۲	۱/۴۱	۶۹/۰۰ <sup>a</sup>	۶۳/۰۰ <sup>b</sup>	۶۵/۰۰ <sup>ab</sup>	۶۲/۵۷ <sup>b</sup>	کل اسیدهای چرب فرار	
۰/۰۸	۱/۱۴	۴۹/۲۵	۴۴/۵۰	۴۶/۵۰	۴۴/۷۵	استات	
۰/۰۷	۰/۹۱	۱۴/۱۳	۱۴/۵۰	۱۴/۳۸	۱۲/۷۵	پروپیونات	
۰/۰۷	۰/۱۶	۴/۷۵	۴/۲۳	۴/۱۰	۴/۶۳	بوتیرات	
۰/۲۹	۰/۰۳	۰/۶۳	۰/۵۸	۰/۵۶	۰/۵۴	والرات	

میانگین‌های با حروف متفاوت در هر ردیف دارای اختلاف معنی‌دار هستند.

۱- تیمارهای آزمایشی شامل ۱- جیره پایه (شاهد)، ۲- جیره پایه + ۷۵ میلی گرم ساپونین در هر کیلو گرم ماده خشک جیره، ۳- جیره پایه + ۱۵۰ میلی گرم ساپونین و ۴- جیره پایه + ۳۰۰ میلی گرم ساپونین بودند.

Teferedegne و همکاران، ۱۹۹۹) می‌تواند از اثرات منفی آن بر محیط شکمبه بکاهد. در شرایط برون‌تنی نیز عصاره گیاهی یوکا دارای ساپونین، تأثیر به سزاگی بر الگوی تخمیر شکمبه‌ای نشان نداد (Khiaosa-ard و همکاران، ۲۰۰۹). با توجه به موارد ذکر شده در بالا، به نظر می‌رسد الگوی تخمیر شکمبه‌ای در زمینه تولید دو اسید چرب فرار استات و بوتیرات تا حدودی دچار دگرگونی شده به طوری که در آزمایش اخیر اگرچه غلظت استات و بوتیرات در بین تیمارهای آزمایشی تفاوت معنی‌دار نداشت ولی غلظت این دو تمایل به معنی‌داری (به ترتیب  $P=0.08$  و  $P=0.07$ ) با یک روند افزایشی به‌ویژه در سطح ۳۰۰ میلی گرم ساپونین را نشان داد.

بنابراین با توجه به موارد ذکر شده، به نظر می‌رسد در آزمایش حال حاضر الگوی تخمیر در جهت تولید اسیدهای چرب کوتاه زنجیر دستخوش تغییرات شده به طوری که غلظت کل اسیدهای چرب تحت تأثیر ساپونین جیره، افزایش یافت ( $P<0.05$ ). Wallace و همکاران (۱۹۹۴) گزارش کردند مصرف ساپونین یوکا اثری بر رشد باکتری Selenomonas<sup>۴</sup> که مهمترین باکتری مولد پروپیونات است، ندارد در حالی که رشد برخی دیگر از باکتری-های شکمبه را تحت تأثیر قرار داد. در عین حال Lourenco و همکاران (۲۰۰۸) گزارش کردند که ساپونین گیاه کویلا اثری بر کل توده زنده و فعالیت میکروب‌های شکمبه ندارد البته سازگاری سریع جمعیت میکروبی به ساپونین و تبدیل آن به ساپوژنین<sup>۵</sup>

<sup>4</sup> *Selenomonas ruminantium*

<sup>5</sup> *Sapogenin*

## pH مایع شکمبه

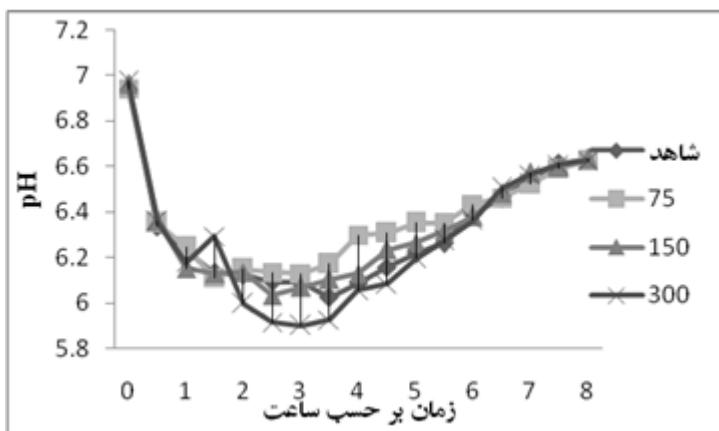
همکاران، ۱۹۹۶؛ Lila و همکاران، ۲۰۰۳؛ Lila و همکاران، Benchaar (۲۰۰۵) و همکاران، Mao (۲۰۱۰) و در برخی دیگر (Nasri، ۲۰۰۸) و همکاران، Nasri (۲۰۱۱) بی تأثیر بود. دلیل کاهش pH مایع شکمبه می تواند مربوط به کاهش جذب اسیدهای چرب فرار از دیواره شکمبه و افزایش تولید اسیدهای چرب فرار در شکمبه باشد (Mao و همکاران، ۲۰۱۰). در آزمایش اخیر با وجود اینکه غلظت کل اسیدهای چرب فرار در تیمارهای دارای ساپونین نسبت به تیمار شاهد بیشتر بود ولی به نظر می رسد که این افزایش، تأثیر معنی داری بر pH مایع شکمبه ندارد. همچنین تفاوت در نتایج مطالعات مختلف می تواند ناشی از تفاوت در جیره های آزمایشی، سطوح ساپونین استفاده شده و تفاوت در حیوانات استفاده شده در آزمایشات نیز باشد.

میانگین pH مایع شکمبه و نیز pH در زمان های مختلف نمونه گیری تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت (جدول ۴). تأثیر سطوح مختلف ساپونین بر روند تغییرات pH شکمبه گوسفندان نر بلوچی در شکل ۱ آورده شده است؛ در ساعت اولیه نمونه گیری، pH مایع شکمبه در تیمارهای آزمایشی از یک روند نزولی غیر معنی داری تعیت می نمود و بیشترین روند نزولی pH در زمان های ۲ تا ۵ ساعت پس از خوراک دهنده مربوط به تیمار با حداکثر ساپونین (۳۰۰ میلی گرم) بود، هر چند که در زمان تعیین pH (۸ ساعت)، تغییرات در بین تیمارهای آزمایشی به حداقل ممکن رسید. نتایج مختلفی در خصوص اثر ساپونین بر pH مایع شکمبه گزارش شده به طوری که در برخی مطالعات، Eryavuz (Navas-Camacho، ۱۹۹۳) and Dehority (Klita و Dehority، ۲۰۰۴) و در برخی کاهش

جدول ۴- تأثیر استفاده از سطوح مختلف ساپونین بر میزان pH مایع شکمبه گوسفندان نر بلوچی

مورد	زمان (ساعت)	تیمار آزمایشی <sup>۱</sup>										
		۱	۲	۳	۴	استاندارد	معنی داری	سطح معنی داری	زمان	تیمار	میانگین ها	انحراف
	صفر	۶/۹۶	۶/۹۴	۶/۹۶	۶/۹۷	۶/۹۷	۰/۰۸	۰/۹۹	۰/۹۹			
	۰/۵	۶/۳۴	۶/۳۵	۶/۳۶	۶/۳۶	۶/۳۶	۰/۱۰	۰/۹۹	۰/۹۹			
	۱	۶/۲۴	۶/۲۵	۶/۱۵	۶/۱۸	۶/۱۸	۰/۰۳	۰/۲۳	۰/۲۳			
	۱/۵	۶/۱۳	۶/۱۱	۶/۱۳	۶/۳۲	۶/۳۲	۰/۲۱	۰/۴۲	۰/۴۲			
	۲	۶/۱۲	۶/۱۵	۶/۱۴	۶/۱۰	۶/۱۰	۰/۱۴	۰/۵۲	۰/۵۲			
	۲/۵	۶/۰۹	۶/۱۴	۶/۰۳	۶/۹۲	۶/۹۲	۰/۱۹	۰/۴۱	۰/۴۱			
	۳	۶/۰۹	۶/۱۲	۶/۰۷	۵/۹۰	۵/۹۰	۰/۲۶	۰/۴۸	۰/۴۸			
	۳/۵	۶/۰۲	۶/۱۷	۶/۱۰	۵/۹۲	۵/۹۲	۰/۲۲	۰/۳۸	۰/۳۸			
	۴	۶/۰۹	۶/۱۴	۶/۳۰	۶/۱۰	۶/۱۰	۰/۳۰	۰/۴۸	۰/۴۸			
	۴/۵	۶/۱۶	۶/۳۱	۶/۲۳	۶/۱۰	۶/۱۰	۰/۱۷	۰/۳۶	۰/۳۶			
pH	۵	۶/۲۲	۶/۳۵	۶/۲۷	۶/۱۹	۶/۱۹	۰/۱۷	۰/۵۸	۰/۵۸			
	۵/۵	۶/۲۶	۶/۳۴	۶/۳۲	۶/۲۷	۶/۲۷	۰/۱۱	۰/۸۰	۰/۸۰			
	۶	۶/۳۹	۶/۴۳	۶/۳۸	۶/۳۶	۶/۳۶	۰/۰۵	۰/۷۸	۰/۷۸			
	۶/۵	۶/۴۶	۶/۴۶	۶/۴۸	۶/۵۱	۶/۵۱	۰/۰۶	۰/۹۲	۰/۹۲			
	۷	۶/۵۵	۶/۵۲	۶/۵۷	۶/۵۶	۶/۵۶	۰/۰۵	۰/۸۶	۰/۸۶			
	۷/۵	۶/۶۱	۶/۵۹	۶/۶۰	۶/۶۱	۶/۶۱	۰/۰۸	۰/۹۹	۰/۹۹			
	۸	۶/۶۳	۶/۶۲	۶/۶۴	۶/۶۳	۶/۶۳	۰/۰۶	۰/۹۹	۰/۹۹			
Mیانگین	۶/۳۱	۶/۳۶	۶/۳۲	۶/۱۹	۰/۰۳	۰/۲۲	۰/۹۸	۰/۹۸				

۱- تیمارهای آزمایشی شامل ۱- جیره پایه (شاهد)، ۲- جیره پایه + ۷۵ میلی گرم ساپونین در هر کیلو گرم ماده خشک جیره، ۳- جیره پایه + ۱۵۰ میلی گرم ساپونین و ۴- جیره پایه + ۳۰۰ میلی گرم ساپونین بودند.



شکل ۱- تأثیر سطوح مختلف ساپونین بر روند تغییرات pH شکمبه گوسفندان نر بلوچی

### نیتروژن آمونیاکی و جمعیت پروتوزوآ

آمونیاکی مایع شکمبه داشت و غلظت نیتروژن آمونیاکی ۴ ساعت پس از مصرف خوراک با افزایش سطح ساپونین جیره، کاهش یافت ( $P < 0.05$ ).

استفاده از سطوح مختلف ساپونین سبب کاهش میانگین غلظت نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه نسبت به شاهد شد (جدول ۵). در این آزمایش زمان نمونه‌گیری اثر معنی‌داری بر غلظت نیتروژن

جدول ۵- تأثیر استفاده از سطوح مختلف ساپونین در جیره گوسفندان نر بلوچی بر غلظت نیتروژن آمونیاکی و جمعیت پروتوزوآ

زمان	تیمار	معنی‌داری	معنی‌داری	تیمار آزمایشی <sup>۱</sup>					موردن
				انحراف	استاندارد	۴	۳	۲	
				میانگین‌ها					
<۰/۰۰۰۱	۰/۸۰	۰/۸۷	۱۳/۲۶	۱۲/۹۰	۱۳/۴۹	۱۴/۱۰	۱۴/۱۰	۱۴/۱۰	نیتروژن آمونیاکی (mg/dl)
	۰/۱۴	۰/۹۰	۱۹/۷۸	۱۹/۵۲	۲۲/۴۸	۲۱/۸۳	۲۱/۸۳	۲۱/۸۳	
	۰/۰۲	۱/۰۵	۱۷/۵۶ <sup>ab</sup>	۱۶/۰۷ <sup>b</sup>	۲۱/۶۰ <sup>a</sup>	۲۱/۱۲ <sup>ab</sup>	۲۱/۱۲ <sup>ab</sup>	۲۱/۱۲ <sup>ab</sup>	
	۰/۰۶	۰/۹۵	۱۴/۲۴	۱۵/۵۶	۱۷/۷۸	۱۶/۶۲	۱۶/۶۲	۱۶/۶۲	
	۰/۰۷	۰/۸۲	۱۲/۵۷	۱۴/۷۶	۱۴/۷۷	۱۶/۴۳	۱۶/۴۳	۱۶/۴۳	
	۰/۰۱	۰/۴۸	۱۵/۷۸ <sup>b</sup>	۱۵/۷۶ <sup>b</sup>	۱۸/۲۲ <sup>a</sup>	۱۸/۰۳ <sup>a</sup>	۱۸/۰۳ <sup>a</sup>	۱۸/۰۳ <sup>a</sup>	میانگین
<۰/۰۰۰۱	۰/۰۸	۰/۰۹	۳/۰۳	۳/۱۶	۳/۳۳	۳/۳۸	۳/۳۸	۳/۳۸	پروتوزوآ (Log10/ml)
	۰/۰۵	۰/۰۷	۲/۴۳ <sup>b</sup>	۲/۶۴ <sup>ab</sup>	۲/۷۰ <sup>ab</sup>	۲/۹۷ <sup>a</sup>	۲/۹۷ <sup>a</sup>	۲/۹۷ <sup>a</sup>	
	۰/۰۸	۰/۰۹	۲/۹۴	۳/۲۰	۳/۲۴	۳/۲۷	۳/۲۷	۳/۲۷	
	۰/۰۱	۰/۰۵	۲/۸۰ <sup>b</sup>	۳/۰۰ <sup>ab</sup>	۳/۰۹ <sup>a</sup>	۳/۲۱ <sup>a</sup>	۳/۲۱ <sup>a</sup>	۳/۲۱ <sup>a</sup>	میانگین

میانگین‌های با حروف متفاوت در هر ردیف دارای اختلاف معنی‌دار هستند.

۱-تیمارهای آزمایشی شامل ۱-جیره پایه (شاهد)، ۲-جیره پایه + ۷۵ میلی‌گرم ساپونین در هر کیلوگرم ماده خشک جیره، ۳-جیره پایه + ۱۵۰ میلی‌گرم ساپونین و ۴-جیره پایه + ۳۰۰ میلی‌گرم ساپونین بودند.

به دنبال داشته که متعاقباً باعث افزایش جریان پروتئین میکروبی به روده خواهد شد (Hess و همکاران، ۲۰۰۴). یوکاریوت‌ها (مانند پروتوزوآ) به علت حضور کلسترول در ساختار غشایی نسبت به پروکاریوت‌ها (مانند باکتری‌ها) به ساپونین حساس‌ترند (Klita و همکاران، ۱۹۹۶). با این حال اثر پروتوزوآزدایی ساپونین موقتی است و باکتری‌های شکمبه به حضور ساپونین در شکمبه سازگار می‌شوند و با تولید آنزیم‌های تجزیه کننده، ساپونین را به بخش‌های سازنده‌اش (قند و ساپوژنین) تجزیه می‌کنند (Makkar and Becker، ۱۹۹۶؛ Wang و همکاران، ۱۹۹۸؛ and Hussain and Cheeke، ۱۹۹۵). ساپوژنین حاصل از تجزیه ساپونین توانایی پروتوزوآزدایی ندارد (Gutierrez و همکاران، ۱۹۵۹؛ Wina و همکاران، ۲۰۰۵) (Hu و همکاران، ۱۹۹۴؛ Lila و همکاران، ۲۰۰۳؛ Zhou و همکاران، ۱۹۹۵؛ Hussain and Cheeke، ۱۹۹۵؛ Hristov و همکاران، ۱۹۹۹؛ Sliwinski و همکاران، ۲۰۰۵؛ Wallace و همکاران، ۲۰۰۲) شد. همچنین در مطالعات برون‌تنی (Lila و همکاران، ۱۹۹۴؛ Hu و همکاران، ۲۰۰۳؛ Zhou و همکاران، ۱۹۹۵؛ Hussain and Cheeke، ۱۹۹۵) و درون‌تنی (Hussain and Cheeke، ۱۹۹۵؛ Hristov و همکاران، ۱۹۹۹؛ Sliwinski و همکاران، ۲۰۰۵؛ Wallace و همکاران، ۲۰۰۲) نیز اثر کاهش غلظت آمونیاک شکمبه در اثر مصرف ساپونین به اثبات رسیده است و در مطالعه‌ای، ساپونین تأثیری بر غلظت نیتروژن آمونیاکی نداشت (Nasri و همکاران، ۲۰۱۱). عصاره یوکا و کوپیلاجا تجزیه پروتئین را از طریق مهار آنزیم‌های پروتولیتیک دستگاه گوارش کاهش داد که نتیجه آن کاهش تولید اسیدهای آمینه، پپتید و آمونیاک در شکمبه بود (Makkar and Becker و همکاران، ۱۹۹۴؛ Wallace و همکاران، ۱۹۹۶). Headon و همکاران (۱۹۹۱) گزارش کردند کاهش در غلظت نیتروژن آمونیاکی می‌تواند در اثر متصل شدن بخش آگلیکونی (غیرقندی) ساپونین با نیتروژن آمونیاکی باشد. در مطالعات مختلف درون‌تنی (Lu and Jorgensen، ۱۹۸۷؛ Wallace و همکاران، ۱۹۹۶؛ Klita و همکاران، ۱۹۹۴؛ Wang و همکاران، ۱۹۹۸؛ Makkar و همکاران، ۱۹۹۸؛ Guo و همکاران، ۲۰۰۵؛ Hu و همکاران، ۱۹۹۸؛ ویژگی پروتوزوآزدایی ساپونین به اثبات رسیده است که با نتایج آزمایش اخیر همخوانی دارد، اما در مطالعه‌ای مشخص گردید ساپونین موجب افزایش تعداد پروتوزوآ می‌گردد (Wina و همکاران، ۲۰۰۵). از بین رفتن پروتوزوآ موجب کاهش شکارگری باکتری‌ها توسط آن‌ها شده (Takahashi و همکاران، ۲۰۰۵) و در نتیجه کاهش دگرساخت پروتئین میکروبی از طریق بازیابی باکتری‌ها را

### فراسنجه‌های خونی

میانگین غلظت تری‌گلیسرید خون و نیز غلظت آن در زمان‌های قبل از خوراک تا ۴ ساعت پس از مصرف خوراک در بین تیمارهای آزمایشی (جدول ۶) متفاوت بود ( $P < 0.05$ ). کمترین میانگین غلظت تری‌گلیسرید در مقایسه با تیمار شاهد، مربوط به تیمار ۴ بود ( $P < 0.05$ ). همچنین بیشترین میانگین تری‌گلیسرید در بین تیمارها مربوط به شاهد بود. غلظت کلسترول، لیپوپروتئین‌های با چگالی کم و یا زیاد، تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت. هر دو بخش محلول در آب (قندی) و محلول در چربی (آگلیکونی) ساپونین دارای فعالیت شویندگی و فعالیت سطحی (موجب افزایش کشش سطحی می‌شوند) بوده و انتظار می‌رود امولسیون شدن چربی‌ها را در روده تحت تأثیر قرار داده و تشکیل میسل‌های مخلوط شامل نمک‌های صفراء، اسیدهای چرب، دی‌گلیسریدها و ویتامین‌های محلول در چربی را مختلط کنند (Mitra and Dungan، ۱۹۹۷). همچنین گزارش شده ساپونین ساختارهای میسل مانندی را در آب بوجود می‌آورد (Sindhu Oakenfull، ۱۹۸۹)، به‌طوری که افزایش دما و اسیدیته موجب افزایش تشکیل میسل‌های ساپونینی و افزایش نمک‌های صفراء موجب کاهش تشکیل میسل‌های ساپونینی می‌شود (Mitra and Dungan، ۱۹۹۷).

با افزایش سطح ساپونین در جیره، میانگین جمعیت پروتوزوآ در نمونه مایع شکمبه کاهش یافت ( $P < 0.05$ ) و اختلاف معنی‌داری در جمعیت پروتوزوآ تیمارهای آزمایشی در زمان نمونه گیری ۲ ساعت مشاهده شد. ساپونین می‌تواند به آمونیاک متصل شده و از افزایش بیش از حد آن در درون شکمبه جلوگیری نماید و نیز هنگام کاهش غلظت آمونیاک شکمبه، آن را آزاد کند و به ساخت پروتئین میکروبی کمک کند؛ البته ساپونین در شرایطی که آمونیاک به اندازه کافی و دائماً در دسترس باشد می‌تواند نقش میانجی را ایفا کند (Hussain and Cheeke، ۱۹۹۵). بنابراین یکی از دلایل کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی (به‌ویژه زمان ۴ ساعت) در آزمایش اخیر، احتمالاً مربوط به جذب آن توسط ساپونین باشد. مصرف عصاره ساپونین یوکا، باعث کاهش غلظت آمونیاک شکمبه‌ای در گاوها (Husain and Cheeke، ۱۹۹۵)، تیسله‌ها یا گوساله‌های نر (Hristov و همکاران، ۱۹۹۹) و همچنین در مطالعات برون‌تنی (Lila و همکاران، ۲۰۰۵؛ Wallace و همکاران، ۲۰۰۲) شد. همچنین درون‌تنی (Lila و همکاران، ۱۹۹۴؛ Hu و همکاران، ۲۰۰۳؛ Zhou و همکاران، ۱۹۹۵؛ Hussain and Cheeke، ۱۹۹۵) و درون‌تنی (Hussain and Cheeke، ۱۹۹۵؛ Hristov و همکاران، ۱۹۹۹؛ Sliwinski و همکاران، ۲۰۰۵؛ Wallace و همکاران، ۲۰۰۲) نیز اثر کاهنده غلظت آمونیاک شکمبه در اثر مصرف ساپونین به اثبات رسیده است و در مطالعه‌ای، ساپونین تأثیری بر غلظت نیتروژن آمونیاکی نداشت (Nasri و همکاران، ۲۰۱۱). عصاره یوکا و کوپیلاجا تجزیه پروتئین را از طریق مهار آنزیم‌های پروتولیتیک دستگاه گوارش کاهش داد که نتیجه آن کاهش تولید اسیدهای آمینه، پپتید و آمونیاک در شکمبه بود (Makkar and Becker و همکاران، ۱۹۹۴؛ Wallace و همکاران، ۱۹۹۶). Headon و همکاران (۱۹۹۱) گزارش کردند کاهش در غلظت نیتروژن آمونیاکی می‌تواند در اثر متصل شدن بخش آگلیکونی (غیرقندی) ساپونین با نیتروژن آمونیاکی باشد. در مطالعات مختلف درون‌تنی (Lu and Jorgensen، ۱۹۸۷؛ Wallace و همکاران، ۱۹۹۶؛ Klita و همکاران، ۱۹۹۴؛ Wang و همکاران، ۱۹۹۸؛ Makkar و همکاران، ۱۹۹۸؛ Guo و همکاران، ۲۰۰۵؛ Hu و همکاران، ۱۹۹۸؛ ویژگی پروتوزوآزدایی ساپونین به اثبات رسیده است که با نتایج آزمایش اخیر همخوانی دارد، اما در مطالعه‌ای مشخص گردید ساپونین موجب افزایش تعداد پروتوزوآ می‌گردد (Wina و همکاران، ۲۰۰۵). از بین رفتن پروتوزوآ موجب کاهش شکارگری باکتری‌ها توسط آن‌ها شده (Takahashi و همکاران، ۲۰۰۵) و در نتیجه کاهش دگرساخت پروتئین میکروبی از طریق بازیابی باکتری‌ها را

در اثر تماس ساپونین با اسیدهای صفوراوی میسل های مخلوط بزرگی تشکیل می شود که باعث افزایش دفع اسیدهای صفوراوی خواهد شد (Oakenfull and Sindhu, ۱۹۹۰)، که در نتیجه متابولیسم کلسترول در کبد سرعت گرفته و باعث کاهش کلسترول سرم خون می شود. Nasri و همکاران (۲۰۱۱) گزارش کردند تغذیه سطوح صفر، ۳۰، ۶۰ و ۹۰ میلی گرم ساپونین به ازای هر کیلو گرم ماده خشک جیره در برههای باربارین (Barbarine) تأثیری بر غلظت کلسترول خون نداشت.

در آزمایش اخیر نیز به نظر می رسد بخشی از امولسیون شدن چربی ها در روده باریک تحت تأثیر مصرف ساپونین قرار گرفته به طوری که منجر به کاهش سطح تری گلیسرید پلاسمای خون گردید، هر چند که در بخش قبلی عنوان شد قابلیت هضم چربی جیره، تحت تأثیر ساپونین قرار ندارد. مطالعات بسیاری نشان داده که ساپونین، سطح کلسترول سرم خون را کاهش می دهد (Southon و همکاران، ۱۹۸۸؛ Potter و همکاران، ۱۹۹۳؛ Matsuura, ۲۰۰۱).

جدول ۶- تأثیر استفاده از سطوح مختلف ساپونین در جیره گوسفندان نر بلوچی بر فرانسنجه های خونی

زمان معنی داری زمان	سطح معنی داری تیمار	انحراف استاندارد میانگین ها	تیمار آزمایشی <sup>۱</sup>				فرانسنجه های خونی (mg/dl)
			۴	۳	۲	۱	
۰/۳۲	<۰/۰۰۰۱	۰/۰۶	۳/۹۹ <sup>c</sup>	۴/۲۹ <sup>b</sup>	۵/۳۰ <sup>a</sup>	۵/۳۷ <sup>a</sup>	صفر
	۰/۰۲	۰/۳۸	۳/۱۷ <sup>b</sup>	۴/۲۸ <sup>a</sup>	۵/۴۳ <sup>a</sup>	۵/۴۰ <sup>a</sup>	۲
	۰/۰۰۰۵	۰/۱۳	۴/۰۲ <sup>b</sup>	۴/۴۳ <sup>b</sup>	۵/۴۹ <sup>a</sup>	۵/۳۷ <sup>a</sup>	۴
	<۰/۰۰۰۱	۰/۱۲	۳/۷۳ <sup>c</sup>	۴/۳۳ <sup>b</sup>	۵/۳۷ <sup>a</sup>	۵/۴۰ <sup>a</sup>	میانگین
	۰/۱۱	۰/۰۶	۱/۱۳	۱/۴۵	۱/۶۰	۱/۵۵	صفر
	۰/۱۲	۰/۰۸	۱/۲۴	۱/۴۱	۱/۵۱	۱/۶۰	کلسترول (mol/l)
	۰/۰۷	۰/۱۲	۱/۳۵	۱/۵۲	۱/۵۶	۱/۵۸	۴
	۰/۹۶	۰/۶۰	۰/۰۴	۱/۴۰	۱/۴۶	۱/۴۸	میانگین
	۰/۸۲	۰/۰۶	۰/۷۹	۰/۸۷	۰/۸۰	۰/۷۹	لیپوپروتئین های با چگالی بالا <sup>۲</sup>
۰/۱۵	۰/۹۵	۰/۰۷	۰/۸۰	۰/۸۳	۰/۷۹	۰/۷۷	۲
	۰/۷۵	۰/۰۶	۰/۸۹	۰/۸۵	۰/۷۸	۰/۷۶	۴
	۰/۹۲	۰/۰۲	۰/۷۹	۰/۸۵	۰/۷۹	۰/۷۷	میانگین
	۰/۷۷	۰/۰۵	۰/۶۴	۰/۶۳	۰/۶۵	۰/۶۹	۰
	۰/۸۵	۰/۰۴	۰/۶۵	۰/۶۳	۰/۶۸	۰/۶۷	۲
	۰/۸۹	۰/۰۷	۰/۶۶	۰/۶۵	۰/۶۹	۰/۷۱	۴
۰/۷۷	۰/۶۵	۰/۰۱	۰/۶۵	۰/۶۳	۰/۶۷	۰/۶۹	میانگین

میانگین های با حروف متفاوت در هر ردیف دارای اختلاف معنی دار هستند.

۱- تیمارهای آزمایشی شامل ۱- جیره پایه (شاهد)، ۲- جیره پایه + ۷۵ میلی گرم ساپونین در هر کیلو گرم ماده خشک جیره، ۳- جیره پایه + ۱۵۰ میلی گرم ساپونین و ۴- جیره پایه + ۳۰۰ میلی گرم ساپونین بودند؛ ۲- Low Density Lipoprotein -۳؛ High Density Lipoprotein

## نتیجه‌گیری

نتایج نشان داد مصرف ساپونین تأثیر معنی داری بر قابلیت هضم مواد مغذی نداشت، اما الگوی تخمیر شکمبه‌ای (بهوژه توپید کل اسیدهای چرب فرار)، جمعیت پروتوزوآی شکمبه‌ای و نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه در اثر مصرف ساپونین در جیره دستخوش تغییرات گردید. همچنین سطح تری‌گلیسرید خون در تیمارهای حاوی ساپونین نیز کاهش معنی داری نشان داد. در مجموع پیشنهاد می‌گردد آزمایشات تکمیلی بیشتری بر روی دام‌های مختلف انجام شود تا بتوان بیشتر به اثرات مثبت و یا منفی ساپونین در جیره پی برد.

## منابع

- محقی، محمد مهدی. (۱۳۹۲). بررسی تأثیر ساپونین و تانن بر تخمیر و بیوهیدروژناسیون اسیدهای چرب شکمبه در شرایط *longissimus* و الگوی اسیدهای چرب ماهیچه *dorsi* برده‌های نر بلوچی. پایان نامه دکتری، دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد.
- نعمتی شیزمری، فاطمه. (۱۳۸۹). بررسی اثر گیاهان دارویی بر پارامترهای شکمبه به روش آزمایشگاهی. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس.
- Agarwal, N., Kamra, D.N. and Chaudhary, L.C. (2006). Effect of *Sapindus mukorossi* extracts on *in vitro* methanogenesis and fermentation characteristics in buffalo rumen liquor. *Journal of Applied Animal Research.* 30 (1): 1-4.
- AOAC. (2005). Official Methods of Analysis, 18<sup>th</sup> Edition. Association of Official Analytical Chemists, Maryland, USA.
- Barl, P., Roberts, K., Larsson, K., Ljusberg-Wahren, H. and Norin, T. (1979). Phase equilibria in a ternary system saponin sunflower oil monoglycerides–water; Interactions between aliphatic and alicyclic amphiphiles. *Journal of the Science of Food and Agriculture.* 30: 864-868.
- Benchaar, C., McAllister, T.A. and Chouinard, P.Y. (2008). Digestion, ruminal fermentation, ciliate protozoal populations, and milk production from dairy cows fed cinnamaldehyde, *quebracho* condensed tannin, or *Yucca schidigera* saponin extracts. *Journal of Dairy Science.* 91: 4765-4777.
- Cheeke, P.R. (2000). Actual and potential applications of *Yucca schidigera* and *Quillaja saponaria* saponins in human and animal nutrition. *Journal of Animal Science.* 77: 1-10.
- Eryavuz, A. and Dehority, B.A. (2004). Effect of *Yucca schidigera* extract on the concentration of rumen microorganisms in sheep. *Animal Feed Science and Technology.* 117: 215-222.
- Goel, G., Makkar, H.P.S. and Becker, K. (2008). Effect of *Sesbania sesban* and *Carduus pycnocephalus* leaves and fenugreek (*Trigonella foenum-graecum L.*) seeds and their extracts on partitioning of nutrient from roughage and concentrate based feeds to methane. *Animal Feed Science and Technology.* 147: 72-89.
- Goetsch, A.L. and Owens, F.N. (1985). Effects of sarsaponin on digestion and passage rates in cattle fed medium to low concentrates. *Journal of Dairy Science.* 68: 2377–2384.
- Guo, Y.Q., Liu, J.X., Lu, Y., Zhu, W.Y., Denman, S.E. and McSweeney, C.S. (2008). Effect of tea saponin on methanogenesis, microbial community structure and expression of *mcrA* gene, in cultures of rumen micro organisms. *Letters in Applied Microbiology.* 47: 421-426.

- Gutierrez, J., Davis, R.E. and Lindahl, I.L. (1959). Characteristics of saponin-utilizing bacteria from the rumen of cattle. *Applied Microbiology*. 7: 304-308.
- Han, L.K., Nose, R., Li, W., Gong, X.J., Zheng, Y.N., Yoshikawa, M., Koike, K., Nikaido, T., Okuda, H. and Kimura, Y. (2006). Reduction of fat storage in mice fed a high-fat diet long term by treatment with saponins prepared from *Kochia scoparia* fruit. *Phytotherapy Research*. 20: 877-882.
- Headon, D.R., Buggle, K., Nelson, A. and Killeen, G. (1991). Glycofractions of the *Yucca* plant and their role in ammonia control. In: Proceeding of the Alltech's Seventh Annual Symposium of Biotechnology Feed Industry, Nicholasville, Kentucky, USA, pp: 95-108.
- Hess, H.D., Beuret, R.A., Lotscher, M., Hindrichsen, I.K., Machmuller, A., Carulla, J.E. Lascano, C.E. and Kreuzer, M. (2004). Rumen fermentation, methanogenesis and nitrogen utilization of sheep receiving tropical grass hay-concentrate diets offered with *Sapindus saponaria* fruits and *Cratylia argentea* foliage. *Journal of Animal Science*. 79: 177-189.
- Holtshausen, L., Chaves, A.V., Beauchemin, K.A., McGinn, S.M., McAllister, T.A., Odongo, N.E., Cheeke, P.R. and Benchaar, C. (2009). Feeding saponin-containing *Yucca schidigera* and *Quillaja saponaria* to decrease enteric methane production in dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 92: 2809-2821.
- Hristov, A.N., McAllister, A., Van Herk, F.H., Cheng, K.J., Newbold, C.J. and Cheeke, P.R. (1999). Effect of *Yucca schidigera* on ruminal fermentation and nutrient digestion in heifers. *Journal of Animal Science*. 77: 2554-2563.
- Hu, W.L., Liu, J., Ye, J.A., Wu, Y.M. and Guo, Y.Q. (2005). Effect of tea saponin on rumen fermentation *in vitro*. *Animal Feed Science and Technology*. 120: 333-339.
- Hussain, I. and Cheeke, P.R. (1995). Effect of dietary *Yucca schidigera* extract on rumen and blood profiles of steers fed concentrate or roughage-based diets. *Animal Feed Science and Technology*. 51: 231-242.
- Ivan, M., Mir, P.S., Koenig, K.M., Rode, L.M., Neill, L., Entz, T. and Mir, Z. (2001). Effects of dietary sunflower seed oil on rumen protozoa population and tissue concentration of conjugated linoleic acid in sheep. *Small Ruminant Research*. 41: 215-227.
- Jouany, J.P. (1996). Effect of rumen protozoa on nitrogen utilization by ruminants. *Journal of Nutrition*. 126: 1335S-1346S.
- Khiaosa-ard, R., Bryner, S.F., Scheeder, M.R.L., Wettstein, H.R., Leiber, F., Kreuzer, M. and Soliva, C.R. (2009) Evidence for the inhibition of the terminal step of ruminal  $\alpha$ -linolenic acid biohydrogenation by condensed tannins. *Journal of Dairy Science*. 92: 177-188.
- Klita, P.T., Mathison, G.W., Fenton, T.W. and Hardin, R.T. (1996). Effects of alfalfa root saponins on digestive function in sheep. *Journal of Animal Science*. 74: 1144-1156.
- Lila, Z.A., Mohammed, N., Kanda, S., Kamada, T. and Itabashi, H. (2003). Effect of sarsaponin on ruminal fermentation with particular reference to methane production *in vitro*. *Journal of Dairy Science*. 86: 3330-3336.
- Lila, Z.A., Mohammed, N., Kanda, S., Kurihara, M. and Itabashi, H. (2005). Sarsaponin effects on ruminal fermentation and microbes, methane production, digestibility and blood metabolites in steers. *Asian-Australian Journal of Animal Science* 18: 1746-1751.

- Lourenco, M., Cardozo, P.W., Calsamiglia, S. and Fievez, V. (2008). Effects of saponins, quercetin, eugenol, and cinnamaldehyde on fatty acid biohydrogenation of forage polyunsaturated fatty acids in dual-flow continuous culture fermenters. *Journal of Animal Science*. 86(11): 3045-3053.
- Lovett, D.K., Stack, L., Lovell, S., Callan, J., Flynn, B., Hawkins, M. and Mara, F.P.O. (2006). Effect of feeding *Yucca schidigera* extract on performance of lactating dairy cows and ruminal fermentation parameters in steers. *Livestock Science*. 102: 23-32.
- Lu, C.D. and Jorgensen, N.A. (1987). Alfalfa saponins affect site and extent of nutrient digestion in ruminants. *Journal of Nutrition*. 117: 919-927.
- Makkar, H.P.S. and Becker, K. (1996). Effect of quillaja saponins on *in vitro* rumen fermentation. *Advances in Experimental Biology*. 405: 387-394.
- Mao, H.L., Wang, J.K., Zhou, Y.Y. and Liu, J.X. (2010). Effects of addition of tea saponins and soybean oil on methane production, fermentation and microbial population in the rumen of growing lambs. *Livestock Science*. 129(1-3): 56-62.
- Mathison, G.W., Soofi-Siawask, R., Klita, P.T., Okine, E.K. and Sedgwick, G. (1999). Degradability of alfalfa saponins in the digestive tract of sheep and their accumulation in rumen fluid. *Canadian Journal of Animal Science*. 79: 315-319.
- Matsuura, M. (2001). Saponins in garlic as modifiers of the risk of cardiovascular disease. *Journal of Nutrition*. 131: 1000S-1005S
- McDonald, P., Edwards, R.A., Greenhalgh, J.F.D. and Morgan C.A. (1995). *Animal Nutrition*. 5nd Edition. John Wiley and Sons Inc., New York, NY.
- Mitra, S. and Dungan, S.R. (1997). Micellar properties of *Quillaja saponin*. 1. Effects of temperature, salt, and pH on solution properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 45: 1587-1595.
- Nasri, S., Salem, H.B., Vasta, V., Abidia, S., Makkar, H.P.S. and Priolo, A. (2011). Effect of increasing levels of Quillaja saponaria on digestion, growth and meat quality of Barbarine lamb. *Animal Feed Science and Technology*. 164: 71-78.
- Navas-Camacho, A., Laredo, M.A. and Cuesta, A. (1993). Effect of supplementation with a tree legume forage on rumen function. *Livestock Research for Rural Development*. 5 (2).
- Newbold, C.J., El Hassan, S.M., Wang, J., Ortega, M.E. and Wallace, R.J. (1997). Influence of foliage from African multipurpose trees on activity of rumen protozoa and bacteria. *British Journal of Nutrition*. 78: 237-249.
- NRC. (2007). *Nutrient Requirements of Small Ruminants: Sheep, Goats, Cervids, and New World Camelids*. 6nd Edition. National Academy Press, Washington, USA.
- Oakenfull, D.G., Fenwick, D.E. and Hood, R.L. (1979). Effects of saponins on bile acids and plasma lipids in the rat. *British Journal of Nutrition*. 42: 209-216.
- Oakenfull, D.G. and Sidhu, G.S. (1989) Saponins. In *Toxicants of Plant Origin*. P: 97-141, In: Cheeke, P.R. (eds.). *Toxicant of plant origin*. CRC Press.
- Oakenfull, D.G. and Sidhu, G.S. (1990). Could saponins be a useful treatment for hypercholesterolemia?. *European Journal of Clinical Nutrition*. 44: 79-88.
- Odenyo, A.A., Osuji, P.O. and Karanfil, O. (1997). Effects of multipurpose tree (MPT) supplements on ruminant ciliate protozoa. *Animal Feed Science and Technology*. 67: 169-180.

- Ogimoto, K. and Imai, S. (1981). *Atlas of rumen microbiology*. 1nd Edition. Japan Scientific Societies Press, Tokyo, Japan.
- Ottenstein, D. and Bartley, D. (1971). Improved gas chromatography separation of free acids C2-C5 in dilute solution. *Analytical Chemistry*. 43(7): 952-955.
- Patra, A.K. and Saxena, J. (2009). The effect and mode of action of saponins on the microbial populations and fermentation in the rumen and ruminant production. *Nutrition Research Reviews*. 22: 204–219.
- Pen, B., Sar, C., Mwenya, B., Kuwaki, K., Morikawa, R. and Takahashi, J. (2006). Effects of *Yucca schidigera* and *Quillaja saponaria* extracts on *in vitro* ruminal fermentation and methane emission. *Animal Feed Science and Technology*. 129: 175–186.
- Potter, J.D., Illman, R.J., Calvert, G.D., Oakenfull, D.G. and Topping, D.L. (1980). Soya saponins, plasma lipids, lipoproteins and fecal bile acids: A double blind cross-over study. *Nutrition Reports International*. 22: 521-528.
- Potter, S.M., Jimenez-Flores, R., Pollack, J., Lone, T.A. and Berber-Jimenez, M.D. (1993). Protein saponin interaction and its influence on blood lipids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 41: 1287–1291.
- Ramirez, J.E., Alvarez, E.G., Chai, W., Montano, M.F. and Zinn, R.A. (1998). Influence of saponins on fatty acid digestion in steers fed a high-fat finishing diet. *Journal of Dairy Science*. 81(SUPPL 1): 290.
- SAS/STAT. (2004). User's Guide. Version 9.1, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.
- Sen, S., Makkar, H.P.S. and Becker, K. (1998). Alfalfa saponins and their implication in animal nutrition. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 46: 131-140.
- Shimoyamada, M., Ikeda, S., Ootubo, R. and Watanabe, K. (1998). Effects of soybean saponins on chymotryptic hydrolyses of soybean proteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 46: 4793-4797.
- Sliwinski, B.J., Kreuzer, M., Wettstein, H.R. and Machmuller, A. (2002). Rumen fermentation and nitrogen balance of lambs fed diets containing plant extracts rich in tannins and saponins and associated emissions of nitrogen and methane. *Archives of Animal Nutrition*. 56: 379-392.
- Southon, S., Johnson, I.T., Gee, G.M. and Price, K.R. (1988). The effect of *Gypsophylla* saponins in the diet on mineral status and plasma cholesterol concentration in the rat. *British Journal of Nutrition*. 59: 49-55.
- Sur, P., Chaudhuri, T., Vedasiromoni, J.R., Gomes, A. and Ganguly, D.K. 2001. Antiinflammatory and antioxidant property of saponins of tea [*Camellia sinensis* (L) O. Kuntze] root extract. *Phytotherapy Research*. 15(2): 174-176.
- Tabacco, E., Borreani, G., Crovetto, G.M., Galassi, G., Colombo, D. and Cavallarm, L. (2006). Effect of chestnut tannin on fermentation quality, proteolysis and protein rumen degradability alfalfa silage. *Journal of Dairy Science*. 89: 4736-4746.
- Takahashi, J., Mwenya, B., Santoso, B., Sar, C., Umetsu, K., Kishimoto, T., Nishizaki, K., Kimura, K. and Hamamoto, O. (2005). Mitigation of methane emission and energy recycling in animal agricultural systems. *Asian-Australian Journal of Animal Science*. 18: 1199-1208.
- Teferedegne, B., McIntosh, F., Osuji, P.O., Odenyo, A., Wallace, R.J. and Newbold, C.J. (1999). Influence of foliage from different accessions of the subtropical leguminous tree, *Sesbania sesban* on rumen protozoa in Ethiopian and Scottish sheep. *Animal Feed Science and Technology*. 78: 11–20.

- Topping, D.L., Storer, G.B., Calvert, G.D., Illman, R.J., Oakenfull, D.J. and Weller, R.A. (1980). Effects of dietary saponins on fecal bile acids and neutral sterols, plasma lipids, and lipoprotein turn over in the pig. *The American Journal of Clinical Nutrition.* 33: 783-786.
- Valdez, F.R., Bush, L.J., Goetsch, A.L. and Owens, F.N. (1986). Effect of steroid saponins on ruminal fermentation and on production of lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science.* 69: 1568-1575.
- Van Soest, P.J., Robertson, J.B. and Lewis B.A. (1991). Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and non-starch polysaccharide in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science.* 74: 3583-3597.
- Wallace, R.J., Arthaud, L. and Newbold, C.J. (1994). Influence of *Yucca shidigera* extract on ruminal ammonia concentrations and ruminal micro-organisms. *Applied and Environmental Microbiology.* 60: 1762-1767.
- Wang, Y., McAllister, T.A., Newbold, C.J., Rode, L.M., Cheeke, P.R. and Cheng, K.J. (1998). Effects of *Quillaja saponaria* extract on fermentation and degradation of steroid saponins in the rumen simulation technique (rusitec). *Animal Feed Science and Technology.* 74: 143-153.
- Wina, E., Muetzel, S. and Hoffmann, E. (2005). Saponins containing methanol extract of *Sapindus rarak* affect microbial fermentation, microbial activity and microbial community structure *in vitro*. *Animal Feed Science and Technology.* 121: 159-174.
- Zhou, Y.Y., Mao, H.L., Jiang, F., Wang, J.K., Liu, J.X. and McSweeney C.S. (2011). Inhibition of rumen methanogenesis by tea saponins with reference to fermentation pattern and microbial communities in Hu sheep. *Animal Feed Science and Technology.* 166-167: 93-100.

• • • • • • • • • •