

## اثر تانن میوه بلوط (*Quercus persica*)

### بر کینتیک تخمیر شکمبه بزهای بومی در اواخر دوره آبستنی

• هوشنگ جعفری

مری بخش تحقیقات علوم دامی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان ایلام،

سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی؛ دانشجوی دکتری علوم دامی، دانشگاه ایلام

• فرشید فتاح‌نیا (نویسنده مسئول)

دانشیار گروه علوم دامی، دانشگاه ایلام

• علی خطیب‌جو

استادیار گروه علوم دامی، دانشگاه ایلام

• حسن فضائلی

استاد مؤسسه تحقیقات علوم دامی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج

• گلناز تأسلی

استادیار گروه علوم دامی، دانشگاه ایلام

• صیغعلی ورمقانی

استادیار بخش تحقیقات علوم دامی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان ایلام،

سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، ایران

تاریخ دریافت: مرداد ۱۳۹۶ تاریخ پذیرش: مهر ۱۳۹۶

شماره تماس نویسنده مسئول: ۰۸۴-۳۲۲۲۷۰۱۵

Email: ffatahnia@Yahoo.com

#### چکیده

هدف از این پژوهش بررسی اثر دو سطح میوه بلوط با و بدون پلی اتیلن گلیکول بر فراسنجه‌های تخمیر و جمعیت پروتوزوای شکمبه بزهای بومی در ۶۰ روز آخر آبستنی بود. از ۴۰ رأس بز آبستن ( $2/3 \pm 1/8$  کیلوگرم وزن زنده) در یک طرح بلوک‌های کامل تصادفی در قالب آزمایش فاکتوریل  $2 \times 2$  استفاده شد. میوه بلوط در دو سطح ۲۰ یا ۴۰ درصد ماده خشک جیره با (۲۰ گرم در روز به ازای هر رأس) و بدون پلی اتیلن گلیکول استفاده شد. علاوه بر این، یک جیره بدون میوه بلوط و مکمل پلی اتیلن گلیکول به عنوان شاهد نیز در نظر گرفته شد. نتایج نشان داد که غلظت نیتروژن آمونیاکی ( $P < 0/01$ )، کل اسیدهای چرب فرار ( $P < 0/05$ ) و پروپیونات ( $P < 0/01$ ) مایع شکمبه بزهای دریافت کننده جیره شاهد بالاتر بود. تعداد پروتوزا با افزایش سطح میوه بلوط در جیره به صورت خطی کاهش یافت ( $P < 0/05$ ). افزودن پلی اتیلن گلیکول به جیره‌ها باعث افزایش نیتروژن آمونیاکی شکمبه ( $P < 0/05$ )، کل اسیدهای چرب فرار ( $P < 0/01$ ) و غلظت پروپیونات ( $P < 0/01$ ) شد. جیره حاوی ۴۰ درصد در مقایسه با ۲۰ درصد میوه بلوط باعث کاهش تولید بالقوه گاز ( $P < 0/01$ ) و نیمه عمر تولید گاز ( $P < 0/05$ ) شد. به طور کلی نتایج این پژوهش نشان داد که تغذیه میوه بلوط مخصوصاً سطح بالای آن در بزهای آبستن بر فراسنجه‌های تخمیر شکمبه اثر منفی داشت و افزودن پلی اتیلن گلیکول به جیره تا حدودی این اثرات منفی تانن را کاهش داد.

واژه‌های کلیدی: بز آبستن، میوه بلوط، پلی اتیلن گلیکول، تخمیر شکمبه، تولید گاز

Animal Science Journal (Pajouhesh & Sazandegi) No 118 pp: 209-224

### Effect of oak acorn (*Quercus persica*) tannin on ruminal fermentation kinetics of native goats in late pregnancy

By: H. Jafari<sup>1</sup>, F. Fatahnia<sup>2\*</sup>, A. Khatibjoo<sup>3</sup>, H. Fazaeli<sup>4</sup>, G. Taasoli<sup>3</sup>, S. Varmaghany<sup>5</sup>

1: Scientific Member of Animal Science Research Department, Ilam Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Iran; PhD Student of Animal Science, Ilam University, Iran.

2\*: Corresponding Author; Associate professor, Department of Animal Science, Ilam University, Iran, Email: ffatahnia@Yahoo.com, Tel: 084-32227015.

3: Assistant professor, Department of Animal Science, Ilam University, Iran.

4: Professor, Animal Science Research Institute of Iran, AREEO, Karaj, Iran.

5: Assistant professor, Animal Science Research Department, Ilam Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Ilam, Iran.

Received: August 2017

Accepted: October 2017

The aim of this experiment was to study the effect of two levels of oak (*Quercus persica*) acorn (OA) with or without polyethylene glycol (PEG) on ruminal fermentation parameters and protozoa population of native goats during the last 60 d of pregnancy. Forty multiparous pregnant goats (41.8±2.3 kg BW) were used in a completely randomized block design with the 2×2 factorial arrangement. Oak acorn was used in two levels of 20 or 40% of diet dry matter with (20 gram/head/day) or without PEG. In addition, a control (C) diet without OA and PEG was used. The results showed that goats fed the C diet had higher ruminal NH<sub>3</sub>-N (P<0.01), total volatile fatty acids (VFA, P<0.05) and propionate (P<0.01) concentrations. Total protozoa count decreased linearly with increasing the level of OA in the diet (P<0.05). Addition of PEG to the diet increased ruminal NH<sub>3</sub>-N (P<0.05), total VFA (P<0.01) and propionate (P<0.01) concentrations. Diet containing 40% compare to 20% OA decreased asymptotic gas production (P<0.01) and half time of gas production (P<0.05). It is concluded that feeding OA especially high level has negative effects on rumen fermentation parameters and addition of PEG to diet reduced some of these negative effects of tannins.

**Key words:** Pregnant goat, Oak acorn, Polyethylene glycol, Ruminal fermentation, Gas production..

#### مقدمه

مشجر می باشد و در زمان هایی از سال که کمیت و کیفیت علوفه مراتع پائین است، میوه بلوط به روش های مختلف در تغذیه دام های سبک به ویژه بز مورد استفاده قرار می گیرد. فراوانی میوه بلوط در فصل پائیز در این مناطق، هم زمان با دو ماه آخر آبستنی بزها می باشد و در این هنگام اثرات منفی تغذیه سطح بالای میوه بلوط بر عملکرد بزهای آبستن توسط دامداران محلی گزارش شده است.

جنگل های زاگرس در غرب کشور حدود ۵ میلیون هکتار وسعت دارند. تیپ غالب این جنگل ها را گونه های مختلف بلوط (*Quercus persica*, *Quercus infectoria* and *Q. libani*) تشکیل می دهند که گونه *Q. persica* بیشترین سطح را دارا می باشد (قربانی، ۱۳۸۶). تولید سالانه میوه بلوط در ایران حدود ۸۰۰ هزار تن برآورد گردیده است (Froutan و همکاران، ۲۰۱۵). پرورش دام به ویژه دام های سبک در این مناطق تا حد زیادی وابسته به مراتع مشجر و غیر

می‌گیرند (Makkar, ۲۰۰۳). استفاده از سطوح مختلف میوه بلوط در گوسفند سنجابی (Aghamohamadi و همکاران، ۲۰۱۴) یا برگ بلوط در گوسفند فزل (Abarghuei و همکاران، ۲۰۱۱) تعداد کل جمعیت پروتوزوای شکمبه را کاهش داد. اگرچه در آزمایش Aghamohamadi و همکاران (۲۰۱۴)، تولید بالقوه گاز تحت تاثیر سطح بلوط در جیره قرار نگرفت. با این حال Mohamadabadi و همکاران (۲۰۰۹) کاهش تولید گاز در نتیجه افزودن تانن برگ درخت بلوط (۲۵ و ۴۵ گرم در کیلوگرم ماده خشک) به کنجاله سویا را در شرایط آزمایشگاه گزارش کردند. افزودن پلی اتیلن گلیکول به جیره‌های حاوی تانن بر تعداد پروتوزوا اثری نداشت (Abarghuei و همکاران، ۲۰۱۱؛ Aghamohamadi و همکاران، ۲۰۱۴). با توجه به اطلاعات موجود، در ارتباط با اثر تانن میوه بلوط با و بدون پلی اتیلن گلیکول بر بزهای آبستن گزارشی منتشر نشده است، بنابراین این هدف از پژوهش حاضر مطالعه اثر دو سطح میوه بلوط با یا بدون پلی اتیلن گلیکول بر فراسنجه‌های تخمیر و جمعیت پروتوزوای شکمبه بزهای بومی در ۶۰ روز آخر آبستنی بود.

### مواد و روش‌ها

#### حیوانات و جیره‌های آزمایشی

تعداد ۵۰ رأس بز بومی از دامداران محلی استان ایلام خریداری گردید. ملاحظات بهداشتی براساس توصیه‌های اداره دامپزشکی شهرستان انجام شد. حیوانات در طول روز (ساعت ۰۹:۰۰ تا ۱۸:۰۰) در مراتع و پس‌چر مزارع تغذیه و شب در جایگاه نگهداری شدند. تغذیه تکمیلی فلاشینگ (۲۵۰ گرم در روز به ازای هر حیوان) از سه هفته قبل تا دو هفته بعد از هم‌زمانی فعلی انجام شد. ترکیب کنسانتره فلاشینگ شامل دانه جو (۴۰٪)، دانه ذرت (۳۰٪)، کنجاله سویا (۱۵٪)، سبوس گندم (۱۳٪) و مکمل مواد معدنی و ویتامین (۲٪) بود. هم‌زمان سازی فعلی با استفاده از اسفنج‌های درون واژن (Esponjavit, Hipra, Spain) به مدت ۱۴ روز انجام شد و به دنبال آن ۵۰۰ واحد بین‌المللی هورمون PMSG (Gonaser, Hipra, Spain) به صورت درون عضلانی در زمان برداشت اسفنج به هر حیوان تزریق شد.

سرشاخه و میوه درخت بلوط دارای سطوح بالایی از تانن‌ها می‌باشند (Makkar, ۲۰۰۳؛ Yousef Elahi and Rouzbehan, ۲۰۰۸). تانن‌ها ترکیبات پلی فنولیک هستند که به دو دسته عمده شامل تانن‌های قابل هیدرولیز<sup>۱</sup> (HT) و متراکم<sup>۲</sup> (CT) تقسیم می‌شوند و دارای میل ترکیبی بسیار بالایی برای اتصال به پروتئین‌ها و کربوهیدرات‌ها می‌باشند (Patra and Saxena, ۲۰۱۱). مصرف گیاهان دارای سطح بالای تانن باعث کاهش مصرف اختیاری خوراک، قابلیت هضم مواد مغذی (به ویژه پروتئین) و اختلال در تخمیر شکمبه می‌شود (Ben Salem و همکاران، ۲۰۰۳؛ Frutos و همکاران، ۲۰۰۴؛ Mueller-Harvey, ۲۰۰۶؛ Doce و همکاران، ۲۰۰۹) که منجر به تغییر غلظت اسیدهای چرب فرار و جمعیت میکروبی شکمبه می‌شود (Buccioni و همکاران، ۲۰۱۵؛ Carreno و همکاران، ۲۰۱۵). علاوه بر این، تانن‌ها با کاهش فعالیت آنزیم‌ها، اختلال در غشای سلول و کاهش دسترسی یون‌های فلزی و مواد معدنی باعث مهار رشد میکروارگانیسم‌های شکمبه می‌شوند (Goel و همکاران، ۲۰۰۵).

اثر تانن‌ها در حیوانات به سطح آن در جیره، وزن ملکولی، ساختمان شیمیایی و فعالیت بیولوژیکی آن بستگی دارد (Barry و همکاران، ۲۰۰۱؛ Makkar, ۲۰۰۳؛ Mueller-Harvey, ۲۰۰۶). معمولاً مصرف خوراک‌های حاوی سطح بالای تانن قابل هیدرولیز با مسمومیت کبدی و کلیوی، منجر به مرگ حیوان می‌گردد (Min و همکاران، ۲۰۰۳؛ Makkar, ۲۰۰۳؛ Wieland و همکاران، ۲۰۱۵). اگرچه مصرف سطوح پائین تا متوسط آن می‌تواند اثرات سودمندی در دام‌ها داشته باشد (Reed, ۱۹۹۵؛ Waghorn, ۲۰۰۸). افزودن ترکیبات متصل شونده به تانن از قبیل پلی اتیلن گلیکول<sup>۳</sup> اثرات منفی آنها را کاهش می‌دهد (Ben Salem و همکاران، ۲۰۰۱؛ Silanikove و همکاران، ۲۰۰۳؛ Abarghuei و همکاران، ۲۰۱۱). پلی اتیلن گلیکول با اتصال به تانن و غیرفعال کردن آن مانع از اتصال تانن به مواد مغذی از قبیل پروتئین‌ها و کربوهیدرات‌ها شده و این مواد مغذی بیشتر در اختیار میکروارگانیسم‌های شکمبه قرار

ترکیبات فنلی میوه بلوط در جدول ۱ نشان داده شده است. جیره‌های آزمایشی (جدول ۲) به گونه‌ای تنظیم شدند که احتیاجات مواد مغذی بزهای بالغ (غیرشیرده) در طی ۶۰ روز آخر آبستنی را تأمین نماید (NRC، ۲۰۰۷) و محتوای انرژی و پروتئین آنها یکسان بود. جیره‌های آزمایشی شامل جیره شاهد (بدون میوه بلوط و پلی‌اتیلن گلیکول)، جیره دارای ۲۰ درصد (بر اساس ماده خشک) میوه بلوط بدون پلی‌اتیلن گلیکول، جیره دارای ۲۰ درصد میوه بلوط با پلی‌اتیلن گلیکول و جیره دارای ۴۰ درصد میوه بلوط بدون پلی‌اتیلن گلیکول و جیره دارای ۴۰ درصد میوه بلوط با پلی‌اتیلن گلیکول بود. پلی‌اتیلن گلیکول (وزن مولکولی، ۶۰۰۰؛ ۲۰ گرم در روز به ازای هر رأس بز) به عنوان بخشی از جیره کاملاً مخلوط<sup>۴</sup> (TMR) به صورت انفرادی و به طور روزانه در دو وعده صبح و عصر (ساعات ۰۸:۰۰ و ۱۸:۰۰) در اختیار حیوانات قرار گرفت. آب به صورت آزاد در اختیار دام‌ها بود.

دام‌ها ۲۴ ساعت پس از برداشت اسفنج به مدت ۵ روز در مجاورت بزهای نر (یک بز نر به ازای هر ۵ رأس بز ماده) قرار داده شدند. تشخیص آبستنی ۴۰ روز پس از جفت‌گیری از طریق اندازه‌گیری سطح پروژسترون سرم با استفاده از کیت آزمایشگاهی (Monobind, USA) به روش الیزا و دستگاه اولتراسونوگرافی حیوانی (Inserbo S.L., Model Future-1, Spain) انجام گردید. تعداد ۴۰ رأس بز آبستن  $41/8 \pm 2/3$  کیلوگرم وزن زنده انتخاب و بر اساس وزن بدن بلوک‌بندی شده و به صورت تصادفی به جیره‌های آزمایشی اختصاص داده شدند و در ۶۰ روز آخر آبستنی در جایگاه انفرادی (۲×۱) نگهداری شدند. میوه بلوط (*Quercus persica*) از جنگل‌های بلوط کوه لنه واقع در شهرستان سیروان از توابع استان ایلام در پاییز سال ۱۳۹۵ جمع‌آوری، در سایه خشک و مشابه سایر خوراکی‌ها آسیاب گردید. ترکیب شیمیایی موادخوراکی، میوه بلوط و محتوای

جدول ۱- ترکیب شیمیایی مواد خوراکی مورد استفاده در جیره‌های آزمایشی

عنوان	یونجه خشک	کاه گندم	سبوس گندم	کنجاله سویا	دانه جو	دانه ذرت	میوه بلوط
ترکیب شیمیایی (درصد در ماده خشک)							
ماده خشک	۹۱/۰۲	۹۳/۰۵	۹۳/۰۳	۹۳/۰۰	۹۴/۰۶	۹۳/۰۲	۹۱/۰۱
ماده آلی <sup>۱</sup>	۹۲/۰۴	۹۱/۰۷	۹۴/۰۱	۹۲/۰۵	۹۴/۰۶	۹۸/۰۳	۹۷/۰۸
پروتئین خام	۱۴/۰۴	۳/۰۳	۱۵/۰۷	۴۶/۰۳	۱۱/۰۷	۷/۰۸	۴/۰۵
کربوهیدرات غیر الیافی <sup>۲</sup>	۲۹/۲۰	۷/۲۰	۲۹/۵۰	۲۶/۳۸	۵۹/۳۰	۷۷/۷۴	۵۸/۰۸
دیواره سلولی	۴۶/۰۳	۷۹/۰۰	۴۳/۰۵	۱۵/۰۵	۱۸/۰۹	۸/۰۵	۲۸/۰۷
چربی خام	۲/۰۴	۱/۰۹	۵/۰۳	۴/۰۳	۴/۰۸	۴/۰۳	۶/۰۵
خاکستر	۷/۹۶	۸/۹۳	۵/۹۸	۷/۹۵	۵/۹۳	۱/۹۶	۲/۹۲
ترکیب فنلی (درصد در ماده خشک)							
کل فنل‌ها	ND <sup>۳</sup>	ND	ND	ND	ND	ND	۱۲/۷۹
کل تانن‌ها	ND	ND	ND	ND	ND	ND	۸/۸۰
تانن‌های قابل هیدرولیز	ND	ND	ND	ND	ND	ND	۶/۷۸
تانن‌های متراکم	ND	ND	ND	ND	ND	ND	۲/۰۱

<sup>۱</sup> OM = 100 - %ash

<sup>۲</sup> NFC = 100 - (%NDF + %CP + %EE + %ash)

<sup>۳</sup> ND = not determined

جدول ۲- درصد مواد خوراکی و ترکیب شیمیایی جیره‌های آزمایشی

جیره‌های آزمایشی			عنوان
میوه بلوط ۴۰٪	میوه بلوط ۲۰٪	شاهد (بدون میوه بلوط)	
مواد خوراکی (درصد در ماده خشک)			
۳۱/۲۰	۳۵/۸۰	۲۹/۷۰	یونجه خشک
۹/۴۵	۱۴/۱۲	۲۵/۰۰	کاه گندم
۳/۱۰	۱/۰۲	۰/۰۰	سبوس گندم
۴/۹۰	۱۸/۱۰	۳۵/۶۰	دانه جو
۴۰/۰۰	۲۰/۰۰	۰/۰۰	میوه بلوط
۱/۴۰	۳/۷۳	۳/۵۰	دانه ذرت
۸/۹۵	۶/۲۳	۵/۲۰	کنجاله سویا
۱/۰۰	۱/۰۰	۱/۰۰	مکمل معدنی و ویتامینی <sup>۱</sup>
ترکیب شیمیایی (درصد در ماده خشک)			
۹۳/۰۸	۹۳/۰۱	۹۲/۰۳	ماده آلی
۱۲/۰۰	۱۲/۰۱	۱۲/۰۱	پروتئین خام
۴۰/۰۳	۳۸/۰۶	۳۵/۰۷	کربوهیدرات غیر الیافی
۳۷/۰۲	۳۸/۰۶	۴۱/۰۳	دیواره سلولی
۴/۰۸	۳/۰۸	۳/۰۳	چربی خام
۶/۱۶	۶/۸۸	۷/۶۷	خاکستر
۰/۵۱	۰/۵۳	۰/۴۴	کلسیم
۰/۲۴	۰/۲۵	۰/۲۶	فسفر
۹/۶۰	۹/۶۰	۹/۶۰	انرژی قابل متابولیسم (مگاژول در کیلوگرم ماده خشک)
ترکیب فنلی (درصد در ماده خشک)			
۴/۶۰	۲/۴۳	<sup>۲</sup> ND	کل فنل‌ها
۳/۶۰	۱/۸۴	ND	کل تانن‌ها
۲/۸۶	۱/۴۲	ND	تانن‌های قابل هیدرولیز
۰/۷۴	۰/۴۲	ND	تانن‌های متراکم

۱ هر کیلوگرم مکمل دارای: ویتامین A، ۵۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی (IU)؛ ویتامین D<sub>3</sub>، ۱۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی (IU)؛ ویتامین E، ۱۰۰ میلی‌گرم؛ مواد معدنی کلسیم، فسفر، منیزیم، سدیم، منگنز، آهن، مس، روی، کبالت، ید و سلنیوم به ترتیب ۱۸۰۰۰۰، ۹۰۰۰۰، ۱۹۰۰۰، ۶۰۰۰۰، ۲۰۰۰، ۳۰۰۰، ۳۰۰۰، ۳۰۰۰، ۱۰۰، ۱۰۰ و ۱ میلی‌گرم.

<sup>۲</sup>ND = not determined

### نمونه‌گیری از جیره‌های آزمایشی و مایع شکمبه

تنی<sup>۵</sup>، مایع شکمبه ۳۰ روز پس از شروع تغذیه با جیره‌های آزمایشی جمع‌آوری شد. انتخاب روز ۳۰ پس از شروع تغذیه با جیره‌های آزمایشی برای جمع‌آوری نمونه مایع شکمبه به این دلیل بود که در نشخوارکنندگان جهت عادت‌پذیری

نمونه جیره‌های آزمایشی هر دو هفته یک‌بار در سه روز متوالی آخر هفته دوم جمع‌آوری شد. نمونه‌های جمع‌آوری شده در دامی ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری و در انتهای آزمایش با هم مخلوط شدند. برای اندازه‌گیری فراسنجه‌های تخمیر شکمبه به روش درون

نگهداری شد. کل ترکیبات فنلی قابل استخراج توسط واکنش با معرف فولین-سیوکالتو تعیین شد. فنل‌های غیر تاننی با استفاده از جذب به پلی‌وینیل‌پیرولیدون تعیین شد. برای بخش تانن متراکم، عصاره نمونه با بوتانل-اسید کلریدریک در حضور معرف فریک آمونیوم سولفات مورد آزمایش قرار گرفت و به صورت گرم معادل لوکوسیانیدین به ازای هر کیلوگرم ماده خشک محاسبه شد. تانن کل با کم کردن فنل‌های غیر تاننی از کل فنل‌های قابل استخراج محاسبه گردید (Makkar, 2000).

شمارش پروتوزا و تشخیص تفریقی آنها با استفاده از لام هماتوسیتومتر (Neubauer improved, Marienfeld, Germany) و میکروسکوپ با بزرگ‌نمایی  $40\times$  انجام شد (Dehority, 2003). نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه براساس روش فنل-هیپوکلریت (Broderick and Kang, 1980) با استفاده از منحنی استاندارد و دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد.

برای تعیین غلظت اسیدهای چرب فرار، نمونه‌های مایع شکمبه به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت  $3000 \times g$  سانتریفیوژ گردیدند. یک میلی‌لیتر از مایع فوقانی آن با  $0.2$  میلی‌لیتر اسید ۴-متیل - Nوالریک ۲۰ میلی‌مولار به عنوان استاندارد داخلی مخلوط گردید. الگوی اسیدهای چرب فرار با دستگاه گاز کروماتوگرافی (GC Agilent 6890 N, USA) و روش Cottyn Bernard and Boucque (1968) انجام شد. سپس غلظت کل اسیدهای چرب فرار از مجموع تک تک اسیدهای چرب محاسبه شد.

### تولید گاز

مایع شکمبه قبل از تغذیه نوبت صبح از دو رأس گوسفند دارای فیستولای شکمبه‌ای جمع‌آوری شد که روزانه با جیره دارای ۵۰ درصد علوفه یونجه، ۲۰ درصد کاه گندم، ۱۵ درصد دانه جو، ۹ درصد دانه ذرت، ۵ درصد سبوس گندم و یک درصد مکمل معدنی و ویتامینی تغذیه شدند. سپس با پارچه نظیف سه لایه، صاف و در دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد در شرایط بی‌هوای نگهداری شد. آزمایش تولید گاز بر اساس روش Menke and

میکروارگانیزم‌های شکمبه به هر نوع تغییر جیره به ۳-۴ هفته زمان نیاز می‌باشد (Church, 1993). سه ساعت پس از تغذیه نوبت صبح، ۵۰ میلی‌لیتر مایع شکمبه از هر دام با استفاده از لوله مری گرفته شد. برای جلوگیری از مخلوط شدن بزاق با مایع شکمبه، مقدار ابتدایی نمونه جمع‌آوری شده دور ریخته شد. نمونه‌ها با پارچه نظیف چهار لایه صاف و بلافاصله pH آنها توسط pH متر (WTW, pH 330i / SET, Weilheim, Germany) اندازه‌گیری شد. برای تعیین نیتروژن آمونیاکی، ۵ میلی‌لیتر مایع شکمبه از هر دام با یک میلی‌لیتر اسید کلریدریک  $0.2$  نرمال مخلوط و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید. برای آنالیز اسیدهای چرب فرار، ۴ میلی‌لیتر از مایع شکمبه با یک میلی‌لیتر اسید متا فسفریک ۲۵٪ (وزن/حجم) مخلوط و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. برای شناسایی مژکداران شکمبه، دو میلی‌لیتر مایع شکمبه هر دام به داخل لوله آزمایش حاوی دو میلی‌لیتر فرمالین ۵۰٪ ( $18/5$  درصد فرمالدئید) منتقل شد (Dehority, 2003).

### آنالیز آزمایشگاهی

نمونه‌های خوراک به مدت ۷۲ ساعت در آون با دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد خشک و به قطعات یک میلی‌متری آسیاب (Wiley Mill, Thomas Scientific, Swedesboro, NJ, USA) شدند. ماده خشک (روش ۹۳۴/۰۱)، خاکستر (روش ۹۴۲/۰۵)، پروتئین خام (روش ۹۷۶/۰۵) و چربی خام (روش ۹۷۳/۱۸) آنها تعیین شد (AOAC, 2007). دیواره سلولی<sup>۶</sup> (NDF) با استفاده از سدیم سولفیت و بدون آمیلاز اندازه‌گیری شد (Van Soest و همکاران، ۱۹۹۱). ماده آلی از اختلاف ماده خشک و خاکستر و کربوهیدرات‌های غیر الیافی<sup>۷</sup> (NFC) بر اساس روش NRC (2001) محاسبه گردید.

کل فنل‌های قابل استخراج (TP)، تانن کل (TT) و تانن‌های متراکم (CT) جیره‌های آزمایشی و میوه بلوط با استفاده از روش Makkar (2000) تعیین گردید. به طور خلاصه، عصاره نمونه خشک شده (۲۰۰ میلی‌گرم) با استفاده از مخلوط استن و آب (۱۰ میلی‌لیتر؛ به نسبت ۷۰ به ۳۰، حجم/حجم) در حمام اولتراسونیک استخراج شد. پس از سانتریفیوژ عصاره حاصل به مدت ۱۰ دقیقه ( $3000 \times g$ )، فاز فوقانی جدا شده و تا هنگام آنالیز بر روی یخ

تولیدی مجدداً اندازه‌گیری گردید. میزان متان با توجه به جذب دی‌اکسیدکربن توسط سود محاسبه شد.

تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه آماری داده‌های مربوط به فراسنجه‌های تخمیر شکمبه و شمارش پروتوزوا در قالب آزمایش فاکتوریل ۲×۲ بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی با استفاده از رویه MIXED نرم‌افزار SAS (نسخه ۹/۴؛ ۲۰۱۴) انجام شد که مدل آماری آن به صورت ذیل بود:

$$Y_{ijklm} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + B_k + A_l + ((\alpha\beta)B)_{ijk} + \varepsilon_{ijklm}$$

$Y_{ijklm}$ ، صفت اندازه‌گیری شده؛  $\mu$ ، میانگین صفت؛  $\alpha_i$ ، اثر سطح میوه بلوط؛  $\beta_j$ ، اثر پلی‌اتیلن گلیکول؛  $(\alpha\beta)_{ij}$ ، اثر متقابل سطح میوه بلوط در پلی‌اتیلن گلیکول؛  $B_k$ ، اثر بلوک؛  $A_l$ ، اثر تصادفی حیوان؛  $((\alpha\beta)B)_{ijk}$ ، اثر متقابل تیمار و بلوک و باقیمانده خطای آزمایش می‌باشد. داده‌های مربوط به تولید گاز در قالب آزمایش فاکتوریل ۲×۲ بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی با استفاده از رویه GLM نرم‌افزار SAS تجزیه آماری شدند که مدل آماری آن به صورت زیر بود:

$$Y_{ijkl} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + B_k + ((\alpha\beta)B)_{ijk} + \varepsilon_{ijkl}$$

$Y_{ijklm}$ ، صفت اندازه‌گیری شده؛  $\mu$ ، میانگین صفت؛  $\alpha_i$ ، اثر سطح میوه بلوط؛  $\beta_j$ ، اثر پلی‌اتیلن گلیکول؛  $(\alpha\beta)_{ij}$ ، اثر متقابل سطح میوه بلوط در پلی‌اتیلن گلیکول؛  $B_k$ ، اثر بلوک (ران)؛  $((\alpha\beta)B)_{ijk}$ ، اثر متقابل تیمار و بلوک؛  $\varepsilon_{ijkl}$ ، باقیمانده خطای آزمایش می‌باشد. مقایسه میانگین تیمارها توسط آزمون توکی انجام شد. اثرات عوامل مذکور در مدل در سطح احتمال کمتر یا مساوی ۰/۰۵ معنی‌دار تلقی شدند و تمایل به معنی‌داری در سطح احتمال بیشتر از ۰/۰۵ و کمتر یا مساوی ۰/۱۰ در نظر گرفته شد. مقایسه مستقل<sup>۸</sup> بین جیره شاهد با سایر جیره‌ها انجام شد. تابعیت خطی<sup>۹</sup> و درجه دوم<sup>۱۰</sup> برای مطالعه اثر جیره‌های دارای سطوح مختلف میوه بلوط (صفر، ۲۰ و ۴۰ درصد) بدون پلی‌اتیلن گلیکول انجام شد.

Steingass (۱۹۸۸) و در سه مرحله (در ۳ هفته متوالی) انجام شد. مقدار ۲۰۰ میلی‌گرم بر اساس ماده خشک از نمونه جیره‌های خشک شده توزین و در هر شیشه ریخته شد. سپس ۳۰ میلی‌لیتر مایع شکمبه بافری شده به آن اضافه گردید و پس از بی‌هوازی‌سازی با گاز CO<sub>2</sub> درب شیشه بسته و در حمام ۳۹ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. محلول بافر بر اساس روش Menke and Steingass (۱۹۸۸) تهیه و با نسبت دو به یک با مایع شکمبه مخلوط شد. در هر مرحله ۳ تکرار برای جیره‌های آزمایشی و ۳ شیشه (حاوی مخلوط بافر و مایع شکمبه) نیز به عنوان بلانک در نظر گرفته شد. گاز تولیدی در زمان‌های ۱، ۴، ۷، ۱۰، ۱۳، ۱۶، ۱۹، ۲۳، ۲۶، ۲۹، ۳۲، ۳۶، ۴۰، ۴۵، ۵۰، ۵۵، ۶۱، ۶۹، ۸۰، ۹۶، ۱۲۰ و ۱۴۴ ساعت پس از انکوباسیون، قرائت گردید. داده‌های تولید گاز بر اساس معادله Groot و همکاران (۱۹۹۶) با استفاده از رویه غیرخطی نرم‌افزار SAS برازش شد (معادله ۱):

$$GP = \frac{A}{1 + (B^C/t^C)}$$

که در آن GP، کل گاز تولید شده (میلی‌لیتر بر گرم ماده آلی)؛ A، تولید بالقوه گاز (میلی‌لیتر بر گرم ماده آلی)؛ B، نیمه عمر مجانب تولید گاز ( $\frac{1}{2}$  زمان، ساعت)؛ C، فاکتور تعیین کننده شکل منحنی تولید گاز، t: زمان (ساعت) می‌باشد. حداکثر میزان تولید گاز ( $R_{max}$ ، میلی‌لیتر در ساعت) بر اساس معادله Bauer و همکاران (۲۰۰۱) محاسبه شد (معادله ۲):

$$R_{max} = \frac{A \times B^C \times C \times TR_{max}^{(-C-1)}}{(1 + B^C \times TR_{max}^{-C})^2}$$

که در آن زمان رسیدن به حداکثر تولید گاز ( $TR_{max}$ ، ساعت) به صورت زیر محاسبه گردید (معادله ۳):

$$TR_{max} = B \times \left[ \frac{C-1}{C+1} \right]^{(1/C)}$$

گاز متان تولید شده با استفاده از روش Fievez و همکاران (۲۰۰۵) اندازه‌گیری شد. به طور خلاصه، ۲۰۰ میلی‌گرم نمونه توزین و ۳۰ میلی‌لیتر محلول بافر-مایع شکمبه تهیه شده به روش فوق به داخل شیشه محتوی نمونه منتقل گردید. پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون، ۴ میلی‌لیتر سود (۱۰ نرمال) به آن اضافه شد و گاز

## نتایج و بحث

## الگوی تخمیر شکمبه

اثر سطوح مختلف میوه بلوط با یا بدون پلی اتیلن گلیکول بر فراسنجه‌های تخمیر شکمبه در جدول ۳ ارائه شده است. با افزایش سطح میوه بلوط میزان نیتروژن آمونیاکی شکمبه به صورت خطی کاهش یافت ( $P < 0/01$ ) و افزودن پلی اتیلن گلیکول آن را افزایش داد ( $P < 0/05$ ). این نتیجه با نتایج Aghamohamadi و همکاران (۲۰۱۴) مطابقت داشت که کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه گوسفندان بالغ سنجابی تغذیه شده با جیره‌های دارای سطوح مختلف میوه بلوط را گزارش کردند. با این حال Krueger و همکاران (۲۰۱۰) و Abarghuei و همکاران (۲۰۱۱) به ترتیب گزارش کردند که عصاره شاه بلوط و برگ بلوط بر غلظت نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه تأثیر نداشت. تفاوت در نتیجه آزمایش حاضر و آزمایش‌های Krueger و همکاران (۲۰۱۰) و Abarghuei و همکاران (۲۰۱۱) ممکن است به گونه حیوان، منبع تانن و میزان آن و نسبت کنسانتره به علوفه در جیره پایه ارتباط داشته باشد (Patra and Saxcena, ۲۰۱۱). کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی در مایع شکمبه بزهای تغذیه شده با جیره دارای میوه بلوط ممکن است تا حدی مربوط به کاهش دامیناسیون اسیدهای آمینه و تجزیه پروتئین در شکمبه (Patra and Saxcena, ۲۰۱۱) و کاهش جمعیت پروتوزوا (جدول ۵) باشد. پروتوزوا با بلعیدن باکتری‌ها و تجزیه آنها باعث آزاد شدن آمونیاک به محیط شکمبه می‌شوند. از طرفی خود آنها قادر به استفاده از آمونیاک برای سنتز پروتئین مورد نیاز نیستند، لذا هرگونه کاهش در جمعیت پروتوزوا می‌تواند سبب کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه گردد (Bach و همکاران، ۲۰۰۵). با افزایش سطح میوه بلوط pH مایع شکمبه از ۲۰ به ۴۰ درصد افزایش یافت ( $P < 0/01$ ) که با نتایج Aghamohamadi و

همکاران (۲۰۱۴) مطابقت نداشت. آنها هیچ گونه تغییری در pH مایع شکمبه گوسفندان تغذیه شده با سطوح ۱۰ و ۳۰ درصد میوه بلوط را گزارش نکردند. در پژوهش حاضر کاهش pH مایع شکمبه در بزهای تغذیه شده با ۲۰ درصد در مقایسه با ۴۰ درصد میوه بلوط، ممکن است تا حدی مرتبط با نسبت بالاتر دانه جو (NRC، ۲۰۰۱) در این جیره‌ها باشد (جدول ۲). تا کنون اطلاعاتی در مورد نرخ تجزیه پذیری نشاسته میوه بلوط در شکمبه گزارش نشده است، اما ممکن است نرخ تجزیه پذیری نشاسته دانه جو از میوه بلوط بالاتر باشد زیرا Martinez و همکاران (۲۰۰۶) کاهش میزان هضم نشاسته در حضور تانن را گزارش نمودند. علاوه بر آن، تانن‌های قابل هیدرولیز گروه‌های هیدروکسیل آزاد فراوانی دارند که ممکن است با  $H^+$  آزاد تشکیل پیوند هیدروژنی داده و سبب افزایش pH مایع شکمبه گردند.

با افزایش سطح میوه بلوط در جیره، غلظت کل اسیدهای چرب فرار، استات و پروپیونات به صورت خطی کاهش یافت ( $P < 0/01$ ). غلظت کل اسیدهای چرب فرار، استات و پروپیونات مایع شکمبه با افزودن پلی اتیلن گلیکول به جیره افزایش یافت ( $P < 0/01$ ). این افزایش در غلظت اسیدهای چرب فرار در حضور پلی اتیلن گلیکول با نتایج سایرین مطابقت داشت (Bhatta و همکاران، ۲۰۰۹؛ Aghamohamadi و همکاران، ۲۰۱۴) و ممکن است به علت کاهش اثرات مهارتی تانن‌ها بر میکروارگانیسم‌های شکمبه (Aghamohamadi و همکاران، ۲۰۱۴) و به دنبال آن افزایش قابلیت هضم ماده آلی با افزودن پلی اتیلن گلیکول به جیره‌های حاوی میوه بلوط باشد.



جدول ۳- اثر سطح میوه بلوط (۲۰ در مقابل ۴۰ درصد) با و بدون پلی اتیلن گلیکول بر الگوی تخمیر شکمبه

عنوان	جیره آزمایشی				P-value <sup>1</sup>			SEM	جیره شاهد <sup>۲</sup>	SEM	P-value		
	۲۰٪ میوه بلوط		۴۰٪ میوه بلوط		PEG	PEG	OA				خطی <sup>۴</sup>	مستقل <sup>۳</sup>	درجه دو <sup>۵</sup>
	+PEG	-PEG	+PEG	-PEG									
نیتروژن آمونیاکی (میلی گرم در دسی لیتر)	۶/۵۶	۸/۲۷	۵/۸۵	۸/۴۸	۰/۷۸	۰/۰۲	۰/۶۱	۰/۸۰	۱۰/۶۱	۰/۸۶	۰/۰۳	<۰/۰۱	<۰/۰۱
pH	۶/۷۸	۶/۷۸	۷/۳۳	۷/۲۸	<۰/۰۱	۰/۸۴	۰/۸۷	۰/۱۲	۶/۹۷	۰/۱۳	۰/۰۴	۰/۰۳	۰/۶۴
کل اسید چرب فرار (میلی مول در لیتر)	۷۹/۷۲ <sup>b</sup>	۸۶/۴۸ <sup>a</sup>	۷۷/۱۶ <sup>b</sup>	۸۹/۹۰ <sup>a</sup>	۰/۷۲	<۰/۰۱	۰/۰۴	۱/۲۴	۸۶/۱۹	۱/۳۴	۰/۲۱	<۰/۰۱	۰/۰۵
اسید چرب فرار (میلی مول در لیتر)	۵۲/۳۴	۵۶/۸۱	۵۰/۹۲	۵۷/۹۹	۰/۹۱	<۰/۰۱	۰/۲۵	۱/۰۶	۵۶/۴۶	۱/۰۷	۰/۳۳	۰/۰۱	۰/۱۰
استات	۹/۲۴	۹/۲۶	۹/۰۷	۱۱/۶۷	۰/۴۲	۰/۳۴	۰/۳۵	۱/۱۹	۸/۹۱	۱/۳۳	۰/۸۹	۰/۹۲	۰/۴۹
بوتیرات	۱۵/۷۸	۱۸/۱۴	۱۵/۲۰	۱۸/۰۲	۰/۶۱	<۰/۰۱	۰/۷۳	۱۹/۲۲	۱۹/۲۲	۰/۶۷	۰/۰۶	۰/۰۱	<۰/۰۱
پروپیونات	۰/۷۱	۰/۷۵	۰/۶۵	۰/۷۱	۰/۶۷	۰/۶۷	۰/۹۳	۰/۱۰	۰/۶۹	۰/۱۱	۰/۶۶	۰/۶۹	۰/۸۷
ایزوبوتیرات	۰/۵۶	۰/۵۶	۰/۳۹	۰/۴۹	۰/۳۱	۰/۶۹	۰/۶۹	۰/۱۲	۰/۲۲	۰/۱۰	۰/۱۳	۰/۲۸	۰/۰۴
ایزووالرات	۱/۰۹	۰/۹۶	۰/۹۲	۱/۰۲	۰/۶۴	۰/۹۰	۰/۳۰	۰/۱۲	۰/۶۹	۰/۰۹	۰/۱۸	۰/۲۵	۰/۰۲

<sup>1</sup> OA = سطح میوه بلوط؛ PEG = پلی اتیلن گلیکول؛ OA×PEG = اثر متقابل میوه بلوط با پلی اتیلن گلیکول.

<sup>2</sup> جیره شاهد بدون میوه بلوط و پلی اتیلن گلیکول.

<sup>3</sup> مقایسه مستقل (Orthogonal contrast) جیره شاهد در مقابل سایر جیره‌های حاوی میوه بلوط.

<sup>4</sup> <sup>5</sup> به ترتیب تابعیت خطی (Linear) و درجه دو (Quadratic) با استفاده از جیره‌های شاهد (صفر)، ۲۰ و ۴۰ درصد میوه بلوط بدون پلی اتیلن گلیکول.

تجزیه کننده سلولز باشد (Aghamohamadi و همکاران، ۲۰۱۴). غلظت بالاتر پروپیونات در مایع شکمبه بزهای تغذیه شده با جیره شاهد در مقایسه با جیره‌های دارای میوه بلوط ممکن است مربوط به منابع نشاسته مختلف (دانه جو در مقابل میوه بلوط) در این جیره‌ها و کاهش تجزیه پذیری نشاسته در حضور تانن‌ها باشد (Martinez و همکاران، ۲۰۰۶). از طرفی دیگر تانن‌ها رشد باکتری‌های *Ruminobacter amilophilus* و *Prevotella bryantii* را به عنوان باکتری‌های اصلی تولید کننده پروپیونات کاهش می‌دهند (Jones و همکاران، ۱۹۹۴؛ Narvaez و همکاران، ۲۰۱۳).

کاهش خطی غلظت اسیدهای چرب فرار با افزایش میوه بلوط در پژوهش حاضر با نتایج Aghamohamadi و همکاران (۲۰۱۴) مطابقت داشت. در آزمایش حاضر با افزایش سطح میوه بلوط در جیره، مصرف اختیاری خوراک کاهش یافت (داده گزارش نشده) که می‌تواند تا حدی بر کاهش غلظت اسیدهای چرب فرار در شکمبه مؤثر باشد. همسو با نتایج این پژوهش، افزودن پلی اتیلن گلیکول به مایع شکمبه حاوی تانن قابل هیدرولیز در آزمایش برون تنی باعث افزایش غلظت استات و پروپیونات شد (Bhatta و همکاران، ۲۰۰۹). این افزایش ممکن است به دلیل کاهش اثر مهار تانن‌ها توسط پلی اتیلن گلیکول بر باکتری‌های

## تولید گاز

اثر جیره‌های آزمایشی بر فراسنجه‌های تولید گاز و تولید متان در جدول ۴ ارائه شده است. با افزایش سطح میوه بلوط در جیره، تولید بالقوه گاز (A) و نیمه عمر تولید گاز (B) کاهش یافت ( $P < 0/05$ ). حداکثر میزان تولید گاز در ساعت ( $R_{max}$ ) در جیره شاهد در مقایسه با جیره‌های دارای میوه بلوط تمایل به افزایش داشت ( $P = 0/08$ ). زمان رسیدن به حداکثر تولید گاز ( $TR_{max}$ ) نیز در جیره شاهد بالاتر از جیره‌های دارای میوه بلوط بود و با افزایش سطح میوه بلوط به صورت خطی کاهش یافت ( $P < 0/01$ ). در مطالعه Aghamohamadi و همکاران (۲۰۱۴) سطوح مختلف میوه بلوط در جیره بر تولید بالقوه گاز اثری نداشت ولی نیمه عمر تولید گاز در گروه شاهد بالاتر ( $P < 0/01$ ) از جیره‌های دارای میوه بلوط بود. Mohamadabadi و همکاران (۲۰۱۰) کاهش تولید بالقوه و نرخ تولید گاز با افزودن اسید تانیک (۲۰ و ۳۰ گرم در کیلوگرم ماده خشک) به کنجاله گلرنگ را مشاهده کردند. همچنین در آزمایش Mohamadabadi و همکاران (۲۰۰۹) کاهش تولید گاز در نتیجه افزودن تانن برگ بلوط (۲۵ و ۴۵ گرم در کیلوگرم ماده خشک) به کنجاله سویا در شرایط آزمایشگاه گزارش شده است. گاز تولید شده یا به طور مستقیم حاصل از تخمیر ماده خوراکی و تولید متان و دی اکسید کربن بوده و یا به طور غیرمستقیم نتیجه بافری شدن اسیدهای چرب کوتاه زنجیر می‌باشد (Makkar, ۲۰۱۰). از آنجا که جیره‌های آزمایشی در پژوهش حاضر تقریباً دارای مقادیر مشابهی پروتئین و چربی (جدول ۲) بودند، بنابراین به نظر می‌رسد بخش عمده تغییر در تولید گاز جیره‌های حاوی میوه بلوط به تخمیر نشاسته قابل دسترس در آنها ارتباط داشته باشد، زیرا نشاسته منابع مختلف خوراک با سرعت و مقدار متفاوتی در شکمبه تجزیه می‌شود (NRC, ۲۰۰۱). تانن‌های مواد خوراکی مختلف با غلظت یکسان، تأثیر متفاوتی بر میزان و نسبت گاز تولیدی و قابلیت هضم حقیقی دارند (Makkar, ۲۰۰۳). در مطالعه Pellikaan و همکاران (۲۰۱۱) کل تولید گاز تحت تأثیر

خوراک دارای تانن متراکم قرار نگرفت اما در خوراک‌های حاوی تانن قابل هیدرولیز کاهش یافت. تأثیر تانن بر میزان گاز تولیدی بستگی به نوع ماده خوراکی، نوع تانن و غلظت تانن دارد (Frutos و همکاران، ۲۰۰۲). افزایش نیمه عمر تولید گاز در جیره حاوی میوه بلوط را می‌توان به زمان مورد نیاز برای تکثیر و تشکیل کلنی جمعیت میکروبی روی ذرات خوراک ارتباط داد که این مرحله برای هضم ترکیبات غیر قابل حل خوراک لازم است (Getachew و همکاران، ۲۰۰۴). تانن‌ها چسبیدن باکتری‌ها به مواد جامد شکمبه را کاهش می‌دهند یا مهار می‌کنند و از این طریق تشکیل کلنی باکتری‌ها روی مواد مغذی را تحت تأثیر قرار می‌دهند (Patra and Saxena, ۲۰۱۱). همچنین میزان دیواره سلولی و کربوهیدرات‌های غیر الیافی جیره نیز بر تغییرات در نیمه عمر تولید گاز مؤثر است. با افزایش میزان سلولی خوراک فاز تاخیر در تولید گاز بیشتر است، زیرا سرعت تخمیر دیواره سلولی در مقایسه با کربوهیدرات‌های غیرالیافی کمتر می‌باشد، بنابراین زمان مورد نیاز برای رسیدن نیمه عمر تولید گاز افزایش می‌یابد (Getachew و همکاران، ۲۰۰۴).

در مطالعه حاضر با افزودن پلی‌اتیلن گلیکول به جیره‌های حاوی میوه بلوط، تولید بالقوه گاز تمایل به افزایش داشت ( $P = 0/10$ ). مشابه نتایج پژوهش حاضر، استفاده از مکمل پلی‌اتیلن گلیکول در جیره‌های حاوی برگ بلوط (Canbolate و همکاران، ۲۰۰۵) و درختچه‌های حاوی ترکیبات فنولی (Guerrero و همکاران، ۲۰۱۲) باعث افزایش تولید گاز شد. در صورتی که افزودن مکمل پلی‌اتیلن گلیکول به سرشاخه‌های حاوی ترکیبات فنولی در آزمایش دیگر (Getachew و همکاران، ۲۰۰۲) بر تولید گاز اثری نداشت. افزایش تولید گاز در زمان استفاده از مکمل پلی‌اتیلن گلیکول را می‌توان به کاهش اثرات منفی تانن بر میکروارگانیسم‌ها و تخمیر خوراک ارتباط داد (Makkar, ۲۰۰۳).

جدول ۴- اثر سطح میوه بلوط (۲۰ در مقابل ۴۰ درصد) با و بدون پلی اتیلن گلیکول بر کینتیک تولید گاز و متان

عنوان	جیره آزمایشی												
	۲۰٪ میوه بلوط				۴۰٪ میوه بلوط								
	SEM	P-value <sup>1</sup>			SEM	P-value <sup>1</sup>							
	مستقل <sup>۳</sup>	خطی <sup>۴</sup>	درجه دو <sup>۵</sup>	شاهد <sup>۲</sup>	جیره	OA×PEG	PEG	OA	+	-	+	-	
A	۱۱/۹۴	۰/۸۶	۰/۲۲	۰/۲۴	۴۹۸/۰۱	۰/۰۴	۰/۱۰	۰/۰۱	۱۴/۰۲	۴۹۴/۴۸ <sup>ab</sup>	۴۶۹/۶۲ <sup>b</sup>	۵۲۸/۷۷ <sup>a</sup>	۵۰۷/۷۱ <sup>ab</sup>
B	۲/۶۱	<۰/۰۱	۰/۴۶	۰/۰۲	۳۱/۸۸	۰/۱۹	۰/۵۵	۰/۰۴	۳/۳۳	۳۸/۹۸	۳۵/۵۷	۴۴/۶۷	۴۴/۰۹
C	۰/۰۵	<۰/۰۱	۰/۰۲	۰/۲۹	۱/۵۴	۰/۴۶	۰/۴۶	۰/۲۲	۰/۰۶	۱/۲۱	۱/۲۹	۱/۳۲	۱/۳۳
R <sub>max</sub>	۰/۴۰	۰/۰۸	۰/۸۷	۰/۰۲	۹/۷۲	۰/۰۵	۰/۸۹	<۰/۰۱	۰/۴۸	۹/۶۰ <sup>a</sup>	۹/۶۱ <sup>a</sup>	۸/۲۴ <sup>b</sup>	۸/۱۰ <sup>b</sup>
TR <sub>max</sub>	۰/۸۷	<۰/۰۱	<۰/۰۱	۰/۹۴	۱۱/۱۳	۰/۰۳	۰/۴۸	<۰/۰۱	۱/۱۲	۴/۴۰ <sup>b</sup>	۵/۸۴ <sup>ab</sup>	۸/۴۶ <sup>a</sup>	۸/۵۸ <sup>a</sup>
CH <sub>4</sub>	۱/۴۱	<۰/۰۱	<۰/۰۱	۰/۰۳	۳۷/۹۳	۰/۶۳	۰/۵۵	۰/۰۳	۱/۶۹	۲۳/۰۱	۲۴/۹۰	۲۸/۳۱	۲۸/۵۰

<sup>1</sup> OA=سطح میوه بلوط؛ PEG=پلی اتیلن گلیکول؛ OA×PEG=اثر متقابل سطح میوه بلوط و پلی اتیلن گلیکول. جیره شاهد بدون میوه بلوط و پلی اتیلن گلیکول.

<sup>۲</sup> مقایسه مستقل (Orthogonal contrast) جیره شاهد در مقابل سایر جیره‌های حاوی میوه بلوط.

<sup>۳</sup> به ترتیب تابعیت خطی (Linear) و درجه دو (Quadratic) با استفاده از جیره‌های شاهد (صفر)، ۲۰ و ۴۰ درصد میوه بلوط بدون پلی اتیلن گلیکول.

<sup>۴</sup> A، مجانب تولید گاز (میلی‌لیتر بر گرم ماده آلی)؛ B، نیمه عمر مجانب تولید گاز (زمان، ساعت)؛ C، فاکتور تعیین کننده شکل منحنی تولید گاز؛ R<sub>max</sub>، حداکثر میزان تولید گاز (میلی‌لیتر بر گرم ماده آلی در ساعت)؛ TR<sub>max</sub>، زمان رسیدن به حداکثر تولید گاز (ساعت).  
CH<sub>4</sub>، متان (میلی‌لیتر در میلی‌لیتر گاز تولید شده).

همکاران، ۲۰۰۸؛ Bhatta و همکاران، ۲۰۰۹؛ Jayanegara و همکاران، ۲۰۰۹). پروتوزوا با بلع مواد آلی به خصوص باکتری‌ها و به دنبال تجزیه و تخمیر آنها در واکنش‌های گوارشی خود دو اسید چرب فرار عمده شامل استات و بوتیرات را تولید می‌کنند که تولید استات با تولید یون هیدروژن شرایط را برای تولید متان توسط باکتری‌های تولید کننده متان مهیا می‌کند (Morgavi و همکاران، ۲۰۱۰). در مطالعه حاضر پلی اتیلن گلیکول اثری بر تولید متان در جیره‌های حاوی میوه بلوط نداشت. Pellikaan و همکاران (۲۰۱۱) گزارش نمودند اثر پلی اتیلن گلیکول بر منابع مختلف تانن متفاوت است به گونه‌ای که پلی اتیلن گلیکول در منابع خوراکی دارای تانن متراکم سبب افزایش متان گردید ولی در خوراکی‌های دارای تانن قابل هیدرولیز اثری نداشت. اثر پلی اتیلن گلیکول بر تولید گاز بستگی به نوع خوراک و نوع تانن آنها دارد، زیرا توانایی پلی اتیلن گلیکول برای اتصال و تغییر فعالیت بیولوژیکی تانن‌ها بستگی به خصوصیات خوراک و نوع تانن آنها دارد (Pellikaan و همکاران، ۲۰۱۱).

با افزایش سطح میوه بلوط در جیره میزان تولید گاز متان به صورت خطی کاهش یافت ( $P < 0/01$ ) که با مطالعه Aghamohamadi و همکاران (۲۰۱۴) در گوسفند مطابقت داشت. مطالعات متعددی اثر تانن بر کاهش تولید متان را در نشخوارکنندگان گزارش نموده‌اند (Waghorn و همکاران، ۲۰۰۲؛ Kamra و همکاران، ۲۰۰۶). کاهش میزان تولید متان ممکن است به علت اثرات مهاري تانن میوه بلوط بر جمعیت پروتوزوا و برخی باکتری‌های شکمبه باشد (Aghamohamadi و همکاران، ۲۰۱۴). اثر تانن منابع مختلف خوراک بر نرخ و میزان تولید گاز متان در شکمبه متفاوت است و نشان دهنده این است که تولید متان نمی‌تواند تنها مرتبط با تانن خوراک‌ها باشد (Pellikaan و همکاران، ۲۰۱۱). به دلیل تنوع زیاد در ساختمان تانن‌ها، اثر آنها بر تولید متان در شکمبه بستگی به منبع، نوع و سطح تانن دارد (Mueller-Harvey، ۲۰۰۶؛ Patra و همکاران، ۲۰۰۶). مطالعات متعددی نشان داده‌اند که تانن‌های متراکم و قابل هیدرولیز فعالیت ضد تولید متان را به طور مستقیم از طریق مهار تولیدکننده‌های متان یا به طور غیر مستقیم از طریق مهار پروتوزوا اعمال می‌نمایند (Animut و

### جمعیت پروتوزوا

اثر سطوح متفاوت میوه بلوط و پلی اتیلن گلیکول بر جمعیت پروتوزوای شکمبه در جدول ۵ نشان داده شده است. تعداد کل پروتوزوا با افزایش سطح میوه بلوط در جیره به صورت خطی کاهش یافت ( $P < 0.05$ ) که با نتایج سایر محققین مطابقت داشت (Bhatta و همکاران، ۲۰۰۹؛ Abarghuei و همکاران، ۲۰۱۱؛ Aghamohamadi و همکاران، ۲۰۱۴). کاهش جمعیت پروتوزوا با مصرف جیره‌های حاوی تانن احتمالاً به کاهش تخمیر شکمبه توسط تانن‌ها (Vaithiyanathan و همکاران، ۲۰۰۷) و در نتیجه تفاوت در مصرف خوراک، هضم خوراک و افزایش میزان بزاق (Eryavuz and Dehority، ۲۰۰۴) ارتباط دارد. اثرات ضد پروتوزوایی تانن‌ها بیشتر مربوط به ساختمان فنلی آن‌ها می‌باشد که می‌تواند باعث اختلال در غشاء سلولی، غیر فعال شدن آنزیم‌ها و کاهش دسترسی به مواد و یون‌های فلزی شوند که برای

متابولیسم پروتوزوا ضروری می‌باشند (Goel و همکاران، ۲۰۰۵). اثرات تانن‌ها بر جمعیت پروتوزوا شکمبه متغیر بوده و اغلب به نوع تانن، منبع تانن‌ها و میزان آن‌ها (Patra and Saxena، ۲۰۱۱)، تنوع در شکل جیره، تفاوت‌های گونه‌ای و روش‌های نمونه‌گیری (Yanez Ruiz و همکاران، ۲۰۰۴) بستگی دارد. با افزودن پلی اتیلن گلیکول به جیره کل جمعیت پروتوزوا ( $P = 0.10$ ) و انتودینیوم ( $P = 0.07$ ) تمایل به افزایش داشت. با این حال سایر جنس‌های پروتوزوا تحت تأثیر پلی اتیلن گلیکول قرار نگرفتند ( $P > 0.05$ ). همسو با نتایج پژوهش حاضر، Abarghuei و همکاران (۲۰۱۱)، Bhatta و همکاران (۲۰۱۳) و Aghamohamadi و همکاران (۲۰۱۴) افزایش تعداد پروتوزوا را با افزودن پلی اتیلن گلیکول به جیره گزارش کردند.

جدول ۵- اثر سطح میوه بلوط (۲۰ در مقابل ۴۰ درصد) با و بدون پلی اتیلن گلیکول بر جمعیت پروتوزوای شکمبه

عنوان	جیره آزمایشی				SEM	P-value <sup>1</sup>	جیره شاهد <sup>2</sup>	SEM	P-value
	میوه بلوط ۲۰٪		میوه بلوط ۴۰٪						
	+PEG	-PEG	+PEG	-PEG					
جنس پروتوزوا <sup>۱</sup> (Log <sub>10</sub> ) در هر گرم ماده هضمی									
بوشلیا	۰/۲۷	۰/۵۷	۰/۵۷	۱/۰۲	۰/۴۲	۰/۳۹	۰/۸۶	۰/۳۹	۰/۳۹
داسی تریشا	۰/۰۰ <sup>b</sup>	۰/۰۰ <sup>b</sup>	۰/۰۰ <sup>b</sup>	۱/۰۸ <sup>a</sup>	۰/۳۴	۰/۴۶	۰/۴۶	۰/۳۵	۰/۰۵
دیپلودینیوم	۰/۰۰	۰/۵۴	۰/۳۷		۰/۴۱	۰/۷۴	۰/۵۸	۰/۹۴	۰/۰۷
انتودینیوم	۵/۷۸	۵/۳۶	۵/۷۰	۵/۳۸	۰/۱۹	۰/۸۸	۰/۰۷	۰/۳۰	۰/۰۳
ایزوتریشا	۲/۶۳	۲/۰۵	۲/۴۶		۰/۸۵	۰/۶۷	۰/۸۱	۰/۷۴	۰/۸۵
افریواسکولکس	۰/۰۰	۰/۶۵	۰/۰۰		۰/۴۲	۰/۱۸	۰/۱۸	۰/۱۸	۰/۰۱
کل پروتوزوا	۵/۸۲	۵/۴۵	۵/۷۴	۵/۵۲	۰/۱۷	۰/۹۸	۰/۶۷	۰/۴۵	۰/۰۲

<sup>1</sup> OA = سطح میوه بلوط؛ PEG = پلی اتیلن گلیکول؛ OA×PEG = اثر متقابل سطح میوه بلوط و پلی اتیلن گلیکول.  
<sup>2</sup> جیره شاهد بدون میوه بلوط و پلی اتیلن گلیکول.  
<sup>3</sup> مقایسه مستقل (Orthogonal contrast) جیره شاهد در مقابل سایر جیره‌های حاوی میوه بلوط.  
<sup>4</sup> به ترتیب تابعیت خطی (Linear) و درجه دو (Quadratic) با استفاده از جیره‌های شاهد (صفر)، ۲۰ و ۴۰ درصد میوه بلوط بدون پلی اتیلن گلیکول.  
<sup>5</sup> جنس‌های پروتوزوا به ترتیب *Ophrioscolex* و *Isotricha*، *Entodinium*، *Diplodinium*، *Dasytricha*، *Boshelia*

- Animut, G., Puchala, R., Goetsch, A.L., Patra, A.K., Sahl, T., Varel, V.H. and Wells, J. (2008). Methane emission by goats consuming different sources of condensed tannins. *Animal Feed Science and Technology*. 144:228–241.
- Bach A., Calsamiglia S., and Stern M.D. (2005). Nitrogen metabolism in the rumen. *Journal of Dairy Science*. 88:E9–E21.
- Barry, T.N., McNeill, D.M. and McNabb, W.C. (2001). Plant secondary compounds: their impact on forage nutritive value and upon animal production. In: Proceedings of the XIX International Congress. pp. 445–452.
- Bauer, E., Williams, B.A., Voigt, C., Mosenthin, R. and Verstegen, M.W.A. (2001). Microbial activities of faeces from unweaned and adult pigs in relation to selected fermentable carbohydrates. *Journal of Animal Science*. 73:313–322.
- Ben Salem, H., Ben Salem, I., Nefzaoui, A. and Ben Said, M.S. (2003). Effect of PEG and olive cake feed blocks supply on feed intake, digestion, and health of goats given kermes oak (*Quercus coccifera* L.) foliage. *Animal Feed Science and Technology*. 110:45–59.
- Bhatta, R., Baruah, L., Saravanan, M., Suresh, K.P. and Sampath, K.T. (2013). Effect of medicinal and aromatic plants on rumen fermentation, protozoa population and methanogenesis *in vitro*. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*. 97:446–456.
- Bhatta, R., Uyeno, Y., Tajima, K., Takenaka, A., Yabumoto, Y., Nonaka, I., Enishi, O. and Kurihara, M. (2009). Difference in the nature of tannins on *in vitro* ruminal methane and volatile fatty acid production and on methanogenic archaea and protozoal populations. *Journal of Dairy Science*. 92:5512–5522.
- Broderick, G. and Kang, J.H. (1980). Automated simultaneous determination of ammonia and total amino acids in ruminal fluid and *in vitro* media. *Journal of Dairy Science*. 63:64–75.

## نتیجه گیری

نتایج این پژوهش نشان داد تغذیه میوه بلوط مخصوصاً سطح بالای آن با کاهش میزان نیتروژن آمونیاکی، غلظت کل اسیدهای چرب فرار و پروبیونات اثر منفی بر فراسنجه‌های تخمیر شکمبه داشت و استفاده از مکمل پلی اتیلن گلیکول تا حدودی این اثرات منفی تانن میوه بلوط را کاهش داد.

## تشکر و قدردانی

بدین وسیله نویسندگان از حمایت مالی سازمان جهاد کشاورزی استان ایلام و مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی ایلام و همچنین از همکاری کارشناسان آزمایشگاه‌های تغذیه دام دانشگاه ایلام و تغذیه و فیزیولوژی مؤسسه تحقیقات علوم دامی کشور سپاسگزاری می‌نمایند.

## پانویس

- 1- Hydrolysable tannins (HT)
- 2- Condensed tannins (CT)
- 3- Polyethylene glycol (PEG)
- 4- Total mixed ration (TMR)
- 5- *In vivo*
- 6- Neutral detergent fiber (NDF)
- 7- Non-fiber carbohydrates (NFC)
- 8- Orthogonal contrast
- 9- Linear
- 10- Quadratic

## منابع

- قربانی، ح. (۱۳۸۶). تعیین میزان بذر بلوط در کلاسه های قطری مختلف و شرایط رویشگاهی متفاوت در غرب ایران- ایلام. گزارش نهایی پروژه تحقیقاتی. مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان ایلام، سازمان تحقیقات و آموزش کشاورزی. ۷۲ صفحه.
- Abarghuei, M.J., Rouzbehan, Y. and Alipour, D. (2011). Effect of oak (*Quercus libani*) leave tannin on ruminal fermentation of sheep. *Journal of Agricultural Science and Technology*. 13:1021-1032.
- Aghamohamadi, N., Hozhabri F. and Alipour, D. (2014). Effect of oak acorn (*Quercus persica*) on ruminal fermentation of sheep. *Small Ruminant Research*. 120:42-50.

- Buccioni, A., Pauselli, M., Viti, C., Minieri, S., Pallara, G., Roscini, V. et al. (2015). Milk fatty acid composition, rumen microbial population, and animal performances in response to diets rich in linoleic acid supplemented with chestnut or quebracho tannins in dairy ewes. *Journal of Dairy Science*. 98:1-12.
- Canbolate, O., Kamalak, A., Ozkose, E., Ozkan, C.O., Sahin, M. and Karabay, P. (2005). Effect of polyethylene glycol on *in vitro* gas production, metabolizable energy and organic matter digestibility of *Quercus cerris* leaves. *Livestock Research for Rural Development*. 17:4-10.
- Carreno, D., Hervàs, G., Toral, P.G., Belenguer, A. and Frutos, P. (2015). Ability of different types and doses of tannin extracts to modulate *in vitro* ruminal biohydrogenation in sheep. *Animal Feed Science and Technology*. 202:42-51.
- Church, D.C. (1993). *The Ruminant Animal: Digestive Physiology and Nutrition*. Waveland Press, IL. USA.
- Cottyn Bernard, G. and Boucque, C.V. (1968). Rapid method for the gas-chromatographic determination of volatile fatty acids in rumen fluid. *Journal of Agricultural and Food chemistry*. 16:105-107.
- Dehority, B.A. (2003). *Rumen Microbiology*. Nottingham University Press, Nottingham, UK.
- Doce, R.R., Hervàs, G., Belenguer, A., Toral, P.G., Giráldez, F. J. and Frutos, P. (2009). Effect of the administration of young oak (*Quercus pyrenaica*) leaves to cattle on ruminal fermentation. *Animal Feed Science and Technology*. 150:75-85.
- 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.
- Fievez, V., Babayemi, O.J. and Demeyer, D. (2005). Estimation of direct and indirect gas production in syringes: A tool to estimate short chain fatty acid production that requires minimal laboratory facilities. *Animal Feed Science and Technology*. 123:197-210.
- Froutan, E., Azizi, O., Sadeghi, G., Fatehi, F. and Lashkari, S. (2015). Effects of different concentrations of ground oak acorn on growth performance, blood parameters and carcass characteristics of goat kids. *Animal Production Science*. 55:87-92.
- Frutos, P., Hervàs, G., Giráldez, F.J. and Mantecón, A.R. (2004). An *in vitro* study on the ability of polyethylene glycol to inhibit the effect of quebracho tannins and tannic acid on rumen fermentation in sheep, goats, cows and deer. *Australian Journal of Agricultural Research*. 55:1125-1132.
- Frutos, P., Hervas, G., Ramos, G., Giraldez, F.J. and Mantecon, A.R. (2002). Condensed tannin content of several shrub species from a mountain area in northern Spain, and its relationship to various indicators of nutritive value. *Animal Feed Science and Technology*. 95:215-226.
- Getachew, G., Robinson, P.H., De Peters, E.J., and Taylor, S.J. (2004). Relationships between chemical composition, dry matter degradation and *in vitro* gas production of several ruminant feeds. *Animal Feed Science and Technology*. 111:57-71.
- Getachew, G., Makkar, H.P.S. and Becker, K. (2002). Tropical browses: contents of phenolic compounds, *in vitro* gas production and stoichiometric relationship between short chain fatty acid and *in vitro* gas production. *The Journal of Agricultural Science*. 139:341-352.
- Goel, G., Puniya, A.K., Aguliar, C.N. and Singh, K. (2005). Interaction of gut microflora with tannins in feeds. *Naturwiss*. 92:497-503.
- Groot, J.C.J., Cone, J.W., Williams, B.A., Debersaques, F.M.A. and Lantinga, E.A. (1996). Multiphasic analysis of gas production kinetics for *in vitro* fermentation of ruminant feeds. *Animal Feed Science and Technology*. 64:77-89.
- Guerrero, M., Cerrillo-Soto, M.A., Ramirez, R.G., Salem, A.Z.M., Gonzalez, H. and Juarez-Reyes, A.S. (2012). Influence of polyethylene glycol on *in vitro* gas production profiles and microbial protein

- synthesis of some shrub species. *Animal Feed Science and Technology*. 176:32–39.
- Jayanegara, A., Togtokhbayar, N., Makkar, H.P.S. and Becker, K. (2009). Tannins determined by various methods as predictors of methane production reduction potential of plants by an *in vitro* rumen fermentation system. *Animal Feed Science and Technology*. 150:230–237.
- Jones, G.A., McAllister, T.A., Muir, A.D. and Cheng, K.J. (1994). Effects of sainfoin (*Onobrychis viciifolia* Scop.) condensed tannins on growth and proteolysis by four strains of ruminal bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*. 60:1374–1378.
- Kamra, D.N., Agarwal, N. and Chaudhary, L.C. (2006). Inhibition of ruminal methanogenesis by tropical plants containing secondary compounds. *International Congress Series*. 1293:156–163.
- Krueger, W.K., Gutierrez-Bañuelos, H., Carstens, G.E., Min, B.R., Pinchak, W.E., Gomez, R.R. et al. (2010). Effects of dietary tannin source on performance, feed efficiency, ruminal fermentation, and carcass and non-carcass traits in steers fed a high-grain diet. *Animal Feed Science and Technology*. 159:1-9.
- Makkar, H.P.S. (2010). *In vitro* screening of feed resources for efficiency of microbial protein synthesis. In: Vercoe, P. E., Makkar, H.P.S., and Schlink, A.C. (Eds.), *In vitro* Screening of Plant Resources for Extra-Nutritional Attributes in Ruminants: Nuclear and Related Methodologies. IAEA, Dordrecht, the Netherlands, pp. 107–144.
- Makkar, H.P.S. (2003). Effects and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins, and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds. *Small Ruminant Research*. 49:241–256.
- Makkar, H.P.S. (2000). Quantification of tannins in tree foliage. A laboratory manual for the FAO/ IAEA co-ordinated research project on use of nuclear and related techniques to develop simple tannin assays for predicting and improving the safety and efficiency of feeding ruminants on tanniferous tree foliage. Joint FAO/IAEA of nuclear techniques in food and agriculture. Animal Production and Health Sub-programme, FAO/IAEA Working Document. IAEA, Vienna, Austria, pp. 1-26.
- Makkar, H.P.S., Becker, K., Abel, H.J. and Szegletti, C. (1995). Degradation of condensed tannins by rumen microbes exposed to quebracho tannins (QT) in rumen simulation technique (RUSITEC) and effects of QT on fermentation processes in the RUSITEC. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 69:495–500.
- Martinez, T.F., McAllister, T.A., Wang, Y. and Reuter, T. (2006). Effects of tannic acid and quebracho tannins on *in vitro* ruminal fermentation of wheat and corn grain. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 86:1244-1256.
- Menke, K.H. and Steingass, H. (1988). Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and gas production using rumen fluid. *Animal Research. Development*. 28:7–55.
- Min, B.R., Barry, T.N., Attwood, G.T. and Mc Nabb, W.C. (2003). The effect of condensed tannin on the nutrition and health of ruminants fed fresh temperate forages: a review. *Animal Feed Science and Technology*. 106:3-19.
- Mohamadabadi, T., Chaji, M. and Tabatabaei, S. (2010). The Effect of tannic acid on *in vitro* gas production and rumen fermentation of sunflower meal. *Journal of Animal and Veterinary Advances*. 2:277-280.
- Mohamadabadi, T., Chaji, M., Eslami, M. and Bojarpour, M. (2009). The evaluation of the effect of tannin of oak leave on *in vitro* rumen fermentation of soybean meal. *Research Journal of Biological Sciences*. 4:1190-1192.
- Morgavi, D.P., Forano, E., Martin, C. and Newbold, C.J. (2010). Microbial ecosystem and methanogenesis in ruminants. *Animal*. 4:1024-1036.
- Mueller-Harvey, I. (2006). Unravelling the conundrum of tannins in animal nutrition

- and health. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 86:2010-2037.
- Narvaez, N., Wang, Y., Xu, Z., Alexander, T., Garden, S. and McAllister, T.A. (2013). Effects of hop varieties on ruminal fermentation and bacterial community in an artificial rumen (rusitec). *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 93:45-52.
- NRC. (2007). *Nutrient Requirements of Small Ruminants*. 7th ed. National Academy Press, Washington, DC.
- NRC. (2001). *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*. 7th ed. National Academy Press, Washington, DC.
- Patra, A.K., Kamra, D.N. and Agarwal, N. (2006). Effect of plant extracts on *in vitro* methanogenesis, enzyme activities and fermentation of feed in rumen liquor of buffalo. *Animal Feed Science and Technology*. 128:276-291.
- Patra, A.K. and Saxena, J. (2011). Exploitation of dietary tannins to improve rumen metabolism and ruminant nutrition. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 91:24-37.
- Pellikaan, W.F., Stringano, E., Leenaars, J., Bongers, D.J.G.M., Schuppen, S.S. and plant, J. et al. (2011). Evaluating effects of tannins on extent and rate of *in vitro* gas and CH<sub>4</sub> production using an automated pressure evaluation system (APES). *Animal Feed Science and Technology*. 166-167:377-390.
- Reed, J. D. (1995). Nutritional toxicology of tannins and related polyphenols in forage legumes. *Journal of Animal Science*. 73:1516-1528.
- SAS. (2014). SAS Inc. Statistical Analysis Software. SAS/STAT 9.4. User's Guide. Cary, NC.
- Silanikove, N., Perevolotsky, A. and Provenza, F.D. (2001). Use of tannin binding chemicals to assay for tannins and their negative postingestive effects in ruminants. *Animal Feed Science and Technology*. 91:69-81.
- Vaithyanathan, S., Bhatta, R., Mishra, A.S., Prasad, R., Verma, D.L. and Singh, N.P. (2007). Effect of feeding graded levels of *Prosopis cineraria* leaves on rumen ciliate protozoa, nitrogen balance and microbial protein supply in lambs and kids. *Animal Feed Science and Technology*. 133:117-191.
- Van Soest, P.J., Robertson, J. B. and Leis, B.A. (1991). Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*. 74:3583-3597.
- Waghorn, G.C. (2008). Beneficial and detrimental effects of dietary condensed tannins for sustainable sheep and goat production-Progress and challenges. *Animal Feed Science and Technology*. 147:116-139.
- Waghorn, G.C., Tavendale, M.H. and Woodfield, D.R. (2002). Methanogenesis from forages fed to sheep. *Proceedings of the New Zealand Grassland Association*. 64:167-171.
- Wieland, M., Weber, B.K., Hafner-Marx, A., Sauter-Louis, C., Bauer, J., Knubben-Schweizer, G. and Metzner, M. (2015). A controlled trial on the effect of feeding dietary chestnut extract and glycerol monolaurate on liver function in newborn calves. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*. 99:190-200.
- Yanez Ruiz, D.R., Moumen, A., Martin Garcia, A.I., and Molina Alcaide, E. (2004). Ruminal fermentation and degradation patterns, protozoa population and urinary purine derivatives excretion in goats and wethers fed diets based on two-stage olive cake: Effect of PEG supply. *Journal of Animal Science*. 85:2023-2032.
- Yousef Elahi, M. and Rouzbehan, Y. (2008). Characterization of *Quercus persica*, *Quercus infectoria*, *Quercus libani* as ruminant feeds. *Animal Feed Science and Technology*. 140:78-89.