Effect Different Levels of Oak Fruit Processed With Sodium Hydroxide and Urea on Ruminal Fermentation, Morphology, Ruminal Degradability and Microbial Protein Synthesis in Crossed Zell and Atabai Fattening Male Lambs

Mohammad Norozi[1], Yadollah Chshnidel[*2], Mostafa Yousefelahi[3], Asadolah Teymouri Yanesari [4]

[1]PhD student in Animal Nutrition, Faculty of Animal Sciences and Fisheries, Sari University of Agricultural Sciences and Natural Resources
[2,4] Faculty member of Department of Animal Sciences, Faculty of Animal Sciences and Fisheries, Sari University of Agricultural Sciences and Natural Resources
[3] Faculty member of Department of Animal Sciences, Faculty of Agricultural, Zabol University
[*]Email: ychashnidel2002@yahoo.com
DOI: 10.22067/ijasr.2023.82697.1149

Introduction: Nowadays, excessive exploitation of natural resources and excessive grazing of pastures has led to a sharp decrease in feed sources for ruminant animals. Considering the fact that today most of the feed materials needed by livestock are expensive, replacing them with cheaper feed materials, in a way that does not result in a decrease in livestock productivity is of great importance. Oak fruit is one of the cheap feed that can be used in animal feed. Livestock feeding with oak fruit is particularly important due to high production per unit area, non-competition with human nutrition and easy access. The Alborz Mountains in the northern part of the country are covered by oak forests, from Talash forests to Naharkhoran forests in Gorgan, according to the climatic conditions and altitude, there are several species of oak trees. Therefore, considering the abundance of oak fruit in the forests of the central part of Mazandaran province and also the lack of scientific studies on the effects of consumption of oak fruit processed with sodium hydroxide and urea on degradability indicators and microbial protein production, the present study is to investigate the effect different levels of oak fruit processed with sodium hydroxide and urea on ruminal fermentation, morphology, ruminal degradability and microbial protein synthesis in crossed Zell and Atabai fattening male lambs**.**

Material and methods: In the first study, from the number of 20 fattening male lambs mixed with Zel and Atabai with an mean age of 5.5±0.38 months and an initial weight of 27±0.4 kg in a completely randomized design with 4 treatments and 5 repetitions for 90 The day was used. The experimental treatments included the control group (no oak fruit + polyethylene glycol) and treatments containing levels of 10, 20 and 40% in the dry matter of oak fruit processed with sodium hydroxide and urea in the diet. In the second study, the number of 3 fistulaized Zell sheep with a mean weight of about 40 kg and an average age of approximately 10 months were used to estimate the parameters of degradability. The oak fruit used in this study was randomly collected from oak trees of the Bolandmazo species (*Quercus castaneifolia* C. A. Mey) in different forest areas of Mazandaran province from late summer to early autumn. Data obtained were analyzed by statistical software SAS (version 1.9).

Results and discussion: The results of rumen fermentation parameters showed that there was a significant difference between experimental treatments in ammonia nitrogen, total volatile fatty acids, bacterial population and protozoa of rumen fluid ($P<0.05$). The highest and lowest

concentrations of ammonia nitrogen were observed in the control group and the 20% processed oak fruit treatment, respectively. In the concentration of total volatile fatty acids, the treatment of 20% of processed oak fruit had the highest concentration and the treatment of 40% of processed oak fruit had the lowest concentration. There was no significant difference between the experimental treatments in the results of the morphological characteristics of the rumen villi. Degradability parameters of dry matter and crude protein were determined under the influence of experimental treatments ($P<0.05$). In the parameters of degradability of dry matter and crude protein, rapidly degraded fraction, constant rate of degradation and effective degradability with different passage rate had significant differences between experimental treatments ($P<0.05$). In dry matter degradability parameters, the control group and the treatment group of 40% processed oak fruit had the highest and lowest value of rapidly degraded fraction and constant rate of degradation, respectively. The results of gas production parameters showed that there was a significant difference between experimental treatments in gas production potential, short chain acids, digestibility of organic matter and metabolizable energy ($P<0.05$). The results of excretion of purine derivatives and microbial protein production showed that there was a significant difference between the experimental treatments in the amounts of excreted allantoin, xanthine+hypoxanthine, excreted purine derivatives, absorbed purine derivatives and microbial protein ($P<0.05$).

Conclusion: The general results of the current research showed that an increase in the concentration of volatile fatty acids, degradability of dry matter and crude protein, as well as the production of microbial protein was observed with the consumption of 40% processed oak fruit. Also, an increase in the population of ruminal fluid bacteria and protozoa was observed in the treatment of 20% processed oak fruit. In general, it is recommended to use the level of 40% of processed oak fruit in feeding fattening lambs.

Key words: Lamb fattening, Microbial protein, Degradability, Rumen parameters, Oak fruit processing

اثر سطوح مختلف میوه بلوط فرآوری‌شده با هیدروکسید سدیم و اوره بر فراسنجه‌های تخمیر، ریخت‌شناسی، تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای و ساخت پروتئین میکروبی در بره‌های نر پرواری آمیخته زل با آتابای

محمد نوروزی[۱]، یداله چاشنی دل *[۲]، مصطفی یوسف الهی[۳]، اسداله تیموری یانسری [۴]

[۱] دانشجوی دوره دکتری تغذیه دام، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

[۲و۴] عضو هیات علمی گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

۳ عضو هیئت علمی گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل

ایمیل نویسنده مسئول:* ychashnidel2002@yahii.com

چکیده

به منظور بررسی اثر سطوح مختلف میوه بلوط فرآوری‌شده با هیدروکسید سدیم و اوره بر فراسنجه‌های تخمیر و ریخت‌شناسی شکمبه‌ای، تجزیه‌پذیری و ساخت پروتئین میکروبی در بره‌های نر پرواری آمیخته زل، از تعداد ۲۰ رأس بره نر پرواری آمیخته زل با آتابای با میانگین سن ۵±۰/۵ ماه و وزن اولیه ۲±۲۷ کیلوگرم در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تیمار و ۵ تکرار به مدت ۹۰ روز استفاده شد. دام‌ها در هر تیمار بعد از گذراندن دوره عادت‌پذیری دو هفته‌ای، در قفس‌های انفرادی برای انجام تحقیق نگهداری شدند. تیمارهای آزمایشی شامل گروه شاهد (فاقد میوه بلوط+پلی‌اتیلن گلیکول) و تیمارهای حاوی سطوح ۱۰، ۲۰ و ۴۰ درصد در ماده خشک میوه بلوط فرآوری شده با هیدروکسید سدیم و اوره بودند. مایع شکمبه بره‌های آزمایشی در روز ۹۰ آزمایش سه ساعت پس از خوراک‌دهی نوبت صبح با استفاده از لولهٔ مری به‌منظور تعیین فراسنجه‌های تخمیر شکمبه‌ای، جمعیت کل باکتری‌ها و پروتوزوآی مایع شکمبه گرفته شد. به‌منظور تخمین فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری از تعداد ۳ رأس گوسفند نژاد زل فیستولاگذاری شده با میانگین وزن حدود ۲±۴۲ کیلوگرم و با میانگین سنی تقریباً ۱۰ ماه استفاده شد. نتایج فراسنجه‌های تخمیر شکمبه‌ای نشان داد که در نیتروژن آمونیاکی، کل اسیدهای چرب فرار، جمعیت باکتری‌ها و پروتوزآی مایع شکمبه تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی وجود داشت ($P<۰/۰۵$). بالاترین و پایین‌ترین غلظت نیتروژن آمونیاکی به ترتیب در گروه شاهد و تیمار ۲۰ در صد میوه بلوط فرآوری شده مشاهده شد. در غلظت کل اسیدهای چرب فرار، تیمار ۲۰ در صد میوه بلوط فرآوری شده دارای بالاترین غلظت و تیمار ۴۰ درصد میوه بلوط فرآوری شده دارای پایین‌ترین غلظت بود. در نتایج خصوصیات ریخت شناسی پرزهای شکمبه تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی وجود نداشت. فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری ماده خشک و پروتئین خام تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت ($P<۰/۰۵$). در فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری ماده خشک و پروتئین خام، بخش سریع‌تجزیه، ثابت نرخ تجزیه و تجزیه‌پذیری مؤثر با سرعت‌های عبور مختلف دارای تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی بودند ($P<۰/۰۵$). در فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری ماده خشک، گروه شاهد و تیمار ۴۰ درصد میوه بلوط فرآوری شده به‌ترتیب دارای بالاترین و پایین‌ترین مقدار بخش سریع تجزیه و ثابت نرخ تجزیه‌پذیری بودند. نتایج فراسنجه‌های تولید گاز نشان داد که در پتانسیل تولید گاز، اسیدهای کوتاه زنجیر، قابلیت هضم مواد آلی و انرژی قابل متابولیسم تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی وجود داشت ($P<۰/۰۵$). نتایج دفع مشتقات پورینی و تولید پروتئین میکروبی نشان داد که در مقادیر آلانتوئین دفعی، گزانتین+هیپوگزانتین، مشتقات پورینی دفع شده، مشتقات پورینی جذب شده و پروتئین میکروبی تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی وجود داشت ($P<۰/۰۵$). نتایج کلی تحقیق حاضر نشان داد که بهبود فراسنجه‌های تخمیر شکمبه‌ای، تجزیه پذیری و ساخت پروتئین میکروبی با مصرف ۴۰ درصد میوه بلوط فرآوری شده مشاهده شد و استفاده از سطح ۴۰ درصد میوه بلوط فرآوری شده در تغذیه بره‌های پرواری قابل توصیه است.

واژه‌های کلیدی: بره پرواری، پروتئین میکروبی، تجزیه‌پذیری، فراسنجه‌های شکمبه‌ای، فرآوری میوه بلوط

مقدمه

امروزه بهره‌برداری بی‌رویه از منابع طبیعی و چرای مفرط مراتع، منجر به کاهش شـــدید منابع خوراکی برای دام‌های نشخوارکننده شده است. با در نظر گرفتن این واقعیت که امروزه هزینه مواد خوراکی مورد نیاز دام‌ها گران قیمت می‌باشند، جایگزینی آنها با مواد خوراکی ارزان‌تر و غیرمرسوم، به نحوی که کاهش بازده دام‌ها را در پی نداشته باشد، از اهمیت بالایی برخوردار است (Harsini et al., 2013). یکی از مواد غذایی ارزان قیمت که امکان استفاده در تغذیه دام را دارد، میوه بلوط می‌باشد. تغذیه دام با میوه بلوط، به‌دلیل تولید زیاد در واحد سطح، عدم رقابت با تغذیه انسان و دسترسی آسان از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (Harsini et al., 2013). بخش‌هایی از کوه‌های البرز در بخش شمال کشور، به‌وسیله درختان بلوط پوشـــیده شـــده که از جنگل‌های تالش تا جنگل‌های نهارخوران گرگان با توجه به شـــرایط اقلیمی و ارتفاع از ســـطح دریا، رویشگاه چندین گونه از درختان بلوط است. درخت بلوط متعلق به خانواده فاگاسه و جنس کوئرکوس می‌باشد. نام عمومی گونه بلوط، *Oak* بوده و نام علمی گونه بلوط ایرانی واقع در جنگل‌های مازندران *Quercus Castanifolia* می‌باشـــد (Amiri et al., 2008). تجزیه تقریبی میوه بلوط نشان می‌دهد که، ترکیب شیمیایی بلوط مشابه غلات است. میوه بلوط به علت داشتن مقادیر بالایی کربوهیدرات که به‌طور عمده نشاسته (۸۰ تا ۹۰ درصد مواد قندی) می‌باشد، دارای انرژی بالایی اســـت (Bouderoua et al., 2009). لذا نتایج برخی مطالعات نشـــان داد که می‌توان از میوه بلوط به‌عنوان منبع انرژی در تغذیه دام‌های پرواری استفاده کرد (Mekki et al., 2019; Mekki et al., 2022). میوه بلوط حاوی مقادیر قابل‌توجهی از ترکیبات فنولی و تانن می‌باشد که این ترکیبات از ترکیبات ضدتغذیه‌ای گیاهان برای حیوانات هستند (Bouderoua et al., 2009). میوه بلوط حاوی ۹۱ در صد ماده خشک، ۴/۷۵ در صد پروتئین خام و ۵ در صد چربی خام می‌باشد، همچنین، دانه بلوط حاوی ۸/۸ درصد تانن بوده که ۵۷ درصد آن تانن قابل هیدرولیز است. تانن‌های قابل هیدرولیز مشتقاتی از اسید گالیک (۳، ۴ و ۵ تری‌هیدروکسی اسید بنزوییک) می‌باشند (Bouderoua et al., 2009). پژوهشگران نشان دادند که میوه بلوط به روش‌های مختلف در تغذیه دام‌های می‌تواند مورد اســـتفاده قرار می‌گیرد (Yousef Elahi and Rouzbehan, 2008). مطالعات نشان داد که فرآوری میوه بلوط به روش‌های مختلف شیمیایی مانند پلی اتیلن گلیکول (Fagundes et al., 2014) و هیدروکســـید ســـدیم و اوره (Makkar and Singh, 1993) می‌تواند در کاهش ســـطح تانن کل مؤثر باشـــد. نتایج تحقیقات علمی مختلف نشان داد که مصرف میوه بلوط فرآوری شده سبب افزایش جمعیت پروتوزوآ (Yanez-Ruiz et al., 2004) و افزایش غلظت اســـیدهای چرب فرار مایع شـــکمبه (Hoseinpour-Mohammadabadi and Chaji, 2019) در دام‌های نشخوارکننده شد. همچنین مطالعات نشان دادند که فرآوری خوراک‌های حاوی تانن با هیدروکسید سدیم و اوره ســـبب بهبود فراســـنجه‌های تجزیه‌پذیری شـــکمبه (Mahdavi et al., 2008) و ســـاخت پروتئین میکروبی (Yarahmadi et al., 2017) شـــد. بنابراین، با توجه به‌وفور میوه بلوط در جنگل‌های بخش مرکزی اســـتان مازندران و نیز کم بودن مطالعات علمی درباره اثر مصـــرف میوه بلوط فرآوری شـــده با هیدروکســـید ســـدیم و اوره در بره‌ها، پژوهش حاضر به‌منظور بررسی اثر سطوح مختلف میوه بلوط فرآوری‌شده با هیدروکسید سدیم و اوره بر فراسنجه‌های تخمیر، ریخت‌شناسی شکمبه‌ای، تجزیه‌پذیری و ساخت پروتئین میکروبی در بره‌های نر پرواری آمیخته زل و آتابای انجام شد.

مواد و روش‌ها

این مطالعه در پاییز ۱۴۰۰ در یک واحد خصوصی پرواربندی بره واقع در استان مازندران، شهرستان ساری انجام شـــد. در مرحله اول آزمایش، از تعداد ۲۰ رأس بره نر پرواری آمیخته زل با آتابای با میانگین ســـن ۰/۵± ۵ ماه و وزن اولیه۲±۲۷

کیلوگرم در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با ۴ تیمار و ۵ تکرار استفاده شد. طول دوره ۹۰ روز و طول دوره عادت‌پذیری به جیره‌های آزمایشی و نیز قفس‌های متابولیکی (با ابعاد ۱/۵×۱/۱ مترمربع) ۱۴ روز بود. تیمارهای آزمایشی شامل گروه شاهد (فاقد میوه بلوط+پلی‌اتیلن گلیکول) و تیمارهای حاوی سطوح ۱۰، ۲۰ و ۴۰ درصد در ماده خشک میوه بلوط فرآوری شده با هیدروکسید سدیم و اوره در جیره بودند. جیره‌های آزمایشی توسط نرم افزار سیستم تغذیه نشخوارکنندگان کوچک (SRNS[1]) (Tedeschi et al., 2010) بر ا ساس احتیاجات جداول NRC (NRC, 2007) تنظیم و به صورت جیره کاملاً مخلوط تهیه شد (جدول ۱). خوراک مصرفی بره‌ها به‌صورت کاملاً مخلوط در حد اشتها در دو نوبت (ساعت ۸:۰۰ و ۱۷:۰۰) در اختیار دام‌ها قرار گرفت.

جدول ۱– اقلام خوراکی و ترکیبات شیمیایی جیره‌های آزمایشی مورد استفاده (درصد ماده خشک)

Table 1- Ingredients and chemical composition of the experimental diets (% DM)

اقلام (Ingredients)	*تیمارهای آزمایشی Experimental treatments			
	1	2	3	
یونجه Alfalfa	20.0	20.0	20.0	20.0
کاه گندم Wheat straw	10.0	10.0	10.0	10.0
دانه جو Barley grain	22.0	16.0	14.0	6.5
دانه ذرت Corn grain	25.0	22.0	15.0	4.5
میوه بلوط فرآوری شده Processed oak fruit	0.0	10	20	40
کنجاله سویا Soybean meal	9.5	10.0	10.0	13.0
سبوس گندم Wheat bran	8.0	6.5	5.5	2.0
تفاله چغندر قند Sugar beet pulp	2.5	2.5	2.50	1.50
مکمل معدنی+ویتامینی [1] Mineral + Vitamin premix	0.5	0.5	0.5	0.5
نمک معمولی Common Salt	0.5	0.5	0.5	0.5
بیکربنات سدیم Sodium bicarbonate	1	1	1	1
کربنات کلسیم Calcium carbonat	1	1	1	1
ترکیب شیمیایی Chemical composition				
انرژی قابل سوخت و ساز ME (مگاکالری/کیلوگرم) (Mcal/kg)	2.52	2.61	2.65	2.70
پروتئین خام (درصد) Crude protein (%)	14.03	14.10	14.08	14.06

1- Small Ruminant Nutrition System (SRNS)

الیاف نامحلول در شوینده خنثی (درصد) NDF (%)	37.20	38.25	38.25	38.40
کلسیم (درصد) Calcium (%)	0.77	0.82	0.85	0.88
فسفر کل (درصد) Total Phosphorus (%))	0.49	0.47	0.46	0.40

*تیمارهای آزمایشی شامل: ۱-گروه شاهد (فاقد میوه بلوط+PEG)، ۲-تیمار حاوی ۱۰ در صد میوه بلوط فرآوری شده با هیدروکسید سدیم+اوره، ۳-تیمار حاوی ۲۰ در صد میوه بلوط فرآوری شده با هیدروکسید سدیم+اوره و ۴-تیمار حاوی ۴۰ درصد میوه بلوط فرآوری شده با هیدروکسید سدیم+اوره بودند.

*Experimental treatments include: 1- control group (no oak fruit + PEG), 2- treatment containing 10% oak fruit processed with sodium hydroxide + urea, 3- treatment containing 20% oak fruit processed with sodium hydroxide + urea and 4 - The treatment contained 40% oak fruit processed with sodium hydroxide + urea

[۱] هر کیلوگرم از مکمل ویتامینی شامل ۵۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین A، ۱۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین D_3 و ۱/۰ گرم ویتامین E. هر کیلوگرم از مکمل معدنی شامل ۱۸۰ :گرم کلسیم، ۹۰ گرم فسفر، ۲۰ گرم منیزیم، ۶۰ گرم سدیم، ۲ گرم منگنز، ۳ گرم آهن، ۰/۳ گرم مس، ۳ گرم روی، ۱/۰ گرم کبالت، ۱/۰ گرم سلنیم، ۱/۰ گرم ید، ۴ گرم آنتی‌اکسیدانت.

[1]Mineral vitamin mix composition: 500,000 IU/kg of vitamin A; 100,000 IU/kg of vitamin D_3; 1.0 g/kg of vitamin E; Mineral mineral mix composition: Mg; 180 g/kg of Ca; 90 g/kg of P; 20 g/kg of Mn; 60 g/kg of Na; 2.0 g/kg of Mn; 3.0 g/kg of Zn; 1.0 g/kg of Co; 1.0 g/kg of Se; 1.0 g/kg of I; 3.0 g/kg of Antioxidants.

میوه بلوط مورد استفاده در این تحقیق از درختان بلوط گونه بلندمازو (*Quercus castaneifolia* C. A. Mey) در مناطق مختلف جنگلی استان مازندران از اواخر فصل تابستان تا اوایل فصل پاییز به‌طور تصادفی جمع‌آوری شد. به‌دلیل بالا بودن محتوای رطوبت، میوه‌های بلوط به‌مدت ۴۸ ساعت در شرایط محیط در سایه خشک تا رسیدن به رطوبت حداقل، خشک شد. به‌دلیل غیریکنواخت بودن شکل و اندازه مغزهای بلوط، پس از جداکردن پوسته چوبی و پوشش داخلی مقداری از میوه‌ها کوبیده و از الک با شماره مش ۲۰ عبور داده شد تا نمونه‌هایی یکنواخت با ابعاد کوچک‌تر به‌دست آید. روش فرآوری میوه بلوط بدین‌صورت بود که به ازای هر کیلوگرم میوه بلوط، ۳۵ گرم اوره با ۳۵ گرم هیدروکسید سدیم در ۲۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر محلول و بر روی میوه بلوط آسیاب شده اسپری شد. سپس نمونه‌های بلوط در ظروف پلاستیکی در بسته به مدت ۳۰ روز به‌منظور عمل‌آوری شیمیایی نگهداری و بعد از خشک شدن آماده مصرف در جیره دام های پرواری شد (Ghaderi et al., 2011). ماده خشک، ماده آلی، پروتئین خام، عصاره اتری و خاکستر خام نمونه‌های میوه بلوط بر اساس روش‌های استاندارد (AOAC, 2003) و مقادیر الیاف نامحلول در شوینده اسیدی بر اساس روش ون سوست و همکاران اندازه‌گیری شد (Van Soest et al., 1991). ترکیبات شیمیایی و فنولی میوه بلوط خام و فرآوری شده مورد استفاده در این تحقیق در جدول ۲ نشان داده شده است.

جدول ۲- ترکیبات شیمیایی و فنولی میوه بلوط خام و فرآوری شده به‌روش هیدروکسید سدیم و اوره (درصد ماده خشک)

Table 2- Chemical and phenolic composition of raw oak fruit and processed by sodium hydroxide and urea method (% dry matter)

ترکیبات شیمیایی و فنولی Chemical and phenolic composition	نوع میوه بلوط مورد استفاده The type of oak fruit used	
	میوه بلوط فرآوری شده Oak fruit processed	میوه بلوط خام Raw oak fruit
ماده خشک Dry matter	92.23	91.63
ماده آلی Organic matter	94.86	95.15
پروتئین خام Crude protein	10.12	5.45

عصاره اتری Ether extract	8.95	8.12
خاکستر Ash	2.85	2.66
الیاف نامحلول در شوینده خنثی NDF	33.13	32.02
الیاف نامحلول در شوینده اسیدی ADF	20.24	21.11
کل ترکیبات فنلی قابل استخراج بر اساس اسید تانیک (TP) Total extractable phenolic compounds based on tannic acid	7.12	8.01
کل تانن‌های قابل استخراج بر حسب اسید تانیک (TT) Total extractable tannins according to tannic acid	4.13	4.85
تانن‌های متراکم قابل استخراج (CT) Condensed extractable tannins	0.88	0.86
تانن‌های قابل هیدرولیز بر حسب اسید گالیک (HT) Hydrolyzable tannins according to gallic acid	3.20	3.74

فراسنجه‌های شکمبه‌ای و ریخت‌شناسی بافت شکمبه: مایع شکمبه بره‌های آزمایشی در روز ۹۰ آزمایش سه ساعت پس از خوراک‌دهی نوبت صبح با استفاده از لولهٔ مری، از شکمبه گرفته شد. با استفاده از دستگاه pH متر دیجیتال قابل حمل (مدل CD 500-WPA، ساخت کشور انگلستان) اندازه‌گیری pH مایع شکمبه بلافاصله بعد از گرفتن نمونه مایع شکمبه بره‌ها انجام شد. سپس نمونه مایع شکمبه با پارچه چهار لایه کرباسی تمیز مخصوص صاف شد و نمونه‌ای از آن برای تعیین نیتروژن آمونیاکی و ترکیب اسیدهای چرب فرار مایع شکمبه به‌طور جداگانه برداشته (۱۰ میلی‌لیتر) شد. پس از افزودن ۱ میلی‌لیتر اسید متافسفریک ۲۵ درصد به ازای هر ۴ میلی‌لیتر مایع شکمبه، نمونه‌ها در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (Broderick and Kang, 1980). اندازه‌گیری نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه با استفاده از روش تیتراسیون (Conway, 1950) و ترکیب اسیدهای چرب فرار مایع شکمبه شامل استیک، پروپیونیک، بوتیریک، والریک و ایزووالریک با استفاده از دستگاه گاز کروماتوگرافی (GC–PU4410–PHILIPS) انجام شد (Ottenstein and Bartley, 1971). برای بررسی خصوصیات ریخت‌شناسی بافت دیواره شکمبه پس از شستن شکمبه و نگاری با آب سرد، توسط کارد باز شد و از ۹ نقطه (کیسه شکمی) و از هر نقطه سه نمونه به اندازه یک سانتی‌متر مربع نمونه‌گیری و نمونه با محلول ۲۰ درصد فرمالین ثابت شد و به‌وسیله دستگاه بینی‌کولار با بزرگنمایی ۲۰، به روش گرینوود و همکاران اندازه‌گیری شد (Greenwood et al., 1997).

جمعیت کل باکتری‌ها و پروتوزوآ مایع شکمبه: برای اندازه‌گیری جمعیت کل باکتری‌های مایع شکمبه، بعد از جمع‌آوری نمونه‌های مایع شکمبه بره‌های آزمایشی در روز ۹۰ آزمایش با استفاده از لوله مری و پمپ وکیوم (۳ ساعت بعد از مصرف وعده خوراک صبح) بلافاصله در فلاسک آب گرم به آزمایشگاه منتقل شد. در آزمایشگاه جمعیت باکتری‌ها با استفاده از جداول MPV (محتمل‌ترین روش) شمارش شد (Dehority, 2003). برای اندازه‌گیری جمعیت پروتوزوآ مایع شکمبه بره های آزمایشی در روز ۹۰ آزمایش، تعداد ۳ رأس بره از هر تیمار انتخاب شد. ۲۰ میلی‌لیتر مایع شکمبه با استفاده از لوله

پلا ستیکی و پمپ وکیوم ، ۳ ساعت بعد از وعده خوراک صبح از شکمبه حیوانات اخذ شد. با ا ستفاده از پارچه چهار لایه کرباسی تمیز مخصوص صاف و با حجم مساوی از فرمالین ۱۸ درصد مخلوط و پس از رنگ‌آمیزی با رنگ متیلن بلو، بریلیانت گرین و لوگول در تاریکی و در دمای اتاق به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شد. نتایج شمارش پروتوزوآ به‌صورت غلظت (تعداد پروتوزوآ در هر میلی‌لیتر از مایع شکمبه) با استفاده از معادله (۱)؛ $N= 10.4\times a \times d$ گزارش شد (Dehority, 2003). در معادله (۱)، N تعداد مژه‌داران در یک میلی‌لیتر از مایع شکمبه، a تعداد مژه‌داران در ۴ بخش در لام هماسیستومتر (نئوبار) و d نرخ رقت نمونه است.

فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری: در مرحله دوم انجام آزمایشات، از تعداد ۳ رأس گوسفند نژاد زل فیستولاگذاری شده با میانگین وزن حدود ۲±۴۲ کیلوگرم و با میانگین سنی تقریباً ۱۰ ماه به‌منظور تخمین فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری استفاده شد. گوسفندان در جایگاهی مسقف و نیمه باز، داخل قفس متابولیکی با جیره‌ای کمی بیش از سطح نگهداری، قرار داشتند. در این آزمایش از کیسه‌های نایلونی با جنس پلی‌ا ستر (داکرون) با قطر منافذ ۵±۴۵ میکرومتر و به ابعاد ۷×۹ سانتی‌متر استفاده شد. برای هر نمونه در هر زمان مورد نظر تعداد چهار کیسه (تکرار) تهیه و حداقل در دو گوسفند فیستوله‌دار شکمبه‌گذاری شد. همه کیسه‌های حاوی نمونه‌های جیره‌های آزمایشی (۳ گرم) را قبل از قرار دادن در شکمبه، در یک ظرف حاوی آب ولرم با دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۵ دقیقه خیسانده تا رطوبت کافی را جذب نمایند. این عمل به خاطر مرطوب شدن نمونه‌ها و دسترسی سریع میکروارگانیسم‌ها به سوبسترا است. سپس کیسه‌های حاوی نمونه با اتصال به یک شیلنگ لا ستیکی از طریق فیستولا وارد شکمبه شد. کیسه‌های حاوی نمونه در فواصل زمانی ۴، ۸، ۱۲، ۲۴، ۳۶، ۴۸، ۷۲و ۹۶ ساعت پس از انکوباسیون از شکمبه خارج شد و پس از شستشو در ماشین لباسشویی و خشک نمودن برای تعیین اجزای ترکیبات مغذی تجزیه نشده در نمونه‌ها آنالیز شد. برای تعیین تجزیه‌پذیری در زمان صفر، کیسه‌ها بدون انکوباسیون در شکمبه و با استفاده از ماشین لباسشویی به مدت ۱۵ دقیقه با آب ولرم مورد شستشو قرار گرفت. میزان ناپدید شدن مواد مغذی و فراسنجه‌های هضمی آن با استفاده از معادله اورسکوف و مکدونالد، (Ørskov and McDonald, 1979) تخمین زده شد و سپس درصد تجزیه پذیری با استفاده از معادله (۲) زیر مشخص شد:

معادله (۲):

$$\text{درصد تجزیه پذیری} = ۱ - \frac{\text{مقدار باقیمانده نمونه در کیسه}}{\text{مقدار نمونه اولیه در کیسه}} \times ۱۰۰$$

با استفاده از نرم‌افزار Neway میزان ناپدید شدن مواد در زمان‌های مختلف و همچنین فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری مواد مغذی بر ا ساس معادله (۳)؛ $P=a+b(1-e^{-ct})$ برای زمان‌های مختلف محا سبه شد. در این معادله P : تجزیه‌پذیری ماده مغذی، a: بخش سریع تجزیه شونده در شکمبه، b: بخش کند تجزیه شونده در شکمبه، c:ثابت نرخ تجزیه، e: عدد نپر و t: زمان انکوباسیون در شکمبه (ساعت) بود.

آزمون تولید گاز: از ۳ رأس گوسفند فیستولادار به‌منظور تهیه شیرابه شکمبه استفاده شد. شیرابه شکمبه گوسفندان قبل از خوراک صبح به‌وسیله دستگاه پمپ خلاء، جمع‌آوری و در دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد به آزمایشگاه انتقال داده شد. شیرابه با ا ستفاده از چهار لایه پارچه و تحت جریان گاز دی‌اکسیدکربن و دمای ۳۹ درجه سانتیگراد صاف شد. مخلوط بافر حاوی نسبت ۱ به ۴ شیرابه شکمبه و بزاق مصنوعی خواهد بود (Menke and Steingass, 1988). به ازای هر نمونه ۲ تکرار

(سرنگ) و ۳ سرنگ نیز برای بلانک در نظر گرفته شد. حجم گاز تولیدی در زمان‌های ۲، ۴، ۸، ۱۶، ۲۴، ۳۶، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ بعد از انکوباسیون قرائت شد. فراسنجه‌های تولید گاز از معادله نمایی (۴)؛ $Y = b(1-e^{-ct})$ محاسبه شد (Ørskov and McDonald, 1979). میزان انرژی قابل متابولیسم از معادله (۵)؛ $ME = 2.2 + 0.136\ GP + 0.0057\ CP + 0.00029\ CP^2$ محاسبه شد (Menke and Steingass, 1988). در این معادله ME: انرژی قابل متابولیسم (مگاژول بر کیلوگرم)، GP: حجم گاز تولیدی تصحیح شده برای ۲۴ ساعت (میلی‌لیتر به ازای ۲۰۰ میلی‌گرم ماده خشک) و CP: پروتئین خام (گرم در کیلوگرم ماده خشک) بود. همچنین قابلیت هضم ماده آلی با استفاده از معادله (۵) $OMD = 14.88 + 0.889\ GP + 0.045\ CP + 0.0651\ Ash$ محاسبه شد. در این معادله OMD: قابلیت هضم ماده آلی (گرم در کیلوگرم ماده خشک)، GP: حجم گاز تولیدی تصحیح شده برای ۲۴ ساعت (میلی‌لیتر به ازای ۲۰۰ میلی گرم ماده خشک)، CP: پروتئین خام (گرم در کیلوگرم ماده خشک) و Ash: خاکستر خام (گرم در کیلوگرم ماده خشک) است.

ساخت پروتئین میکروبی: پس از جمع‌آوری ادرار، با اضافه کردن اسید سولفوریک ۱۰، مقدار ۲۰ میلی‌لیتر از آن برای آنالیز شیمیایی نمونه‌گیری و در دمای ۵ درجه سانتیگراد نگهداری شد. برای اندازه‌گیری آلانتوئین، گزانتین و هیپوگزانتین ادرار از روش اسپکتوفتومتری استفاده و با روش چن و گومز (Chen and Gomes, 1992) محاسبه شد. اندازه‌گیری اسید اوریک با استفاده از کیت شرکت درمان کاو انجام شد. پروتئین میکروبی تولید شده (بر حسب گرم در روز) به کمک معادله (۶)؛ $Y = ۰/۸۴\ X + (۰/۱۵\ W^{۰/۷۵}\ EXP)(-۰/۲۵X)$ محاسبه شد (Chen and Gomes, 1992). در این معادله؛ Y، نیتروژن میکروبی تولید شده (بر حسب گرم در روز)؛ ضریب ۰/۸۴، مقدار پورین جذب شده که به صورت ترکیب پورینی در گوسفند از طریق ادرار دفع می‌شود؛ X، مشتقات پورینی دفعی ادرار با منشأ میکروبی (میلی‌مول در روز)؛ $W^{۰/۷۵}$، وزن متابولیکی حیوان (بر حسب کیلوگرم) و ضریب ۰/۱۵، میلی‌مول پورین دفعی ادرار با منشأ داخلی به ازای هر کیلوگرم وزن متابولیکی است.

تجزیه‌وتحلیل داده‌ها

داده‌ها با استفاده از رویه مدل‌های آمیخته (Mixed) نرم‌افزار آماری SAS ویرایش ۹/۱ (SAS, 2001) و با در نظر گرفتن اثر تیمار به‌عنوان اثر ثابت و وزن اولیه پروار به‌عنوان متغیر کمکی تجزیه شد (معادله ۶). به‌دلیل عدم معنی‌داری وزن اولیه پروار به‌عنوان اثر متغیر کمکی، از مدل آنالیز آماری حذف شد. که در این معادله Y_{ij}، صفت مورد نظر؛ μ، میانگین کل داده‌ها؛ T_i، اثر ثابت تیمار آزمایشی و e_{ij}، اثر خطای آزمایش می‌باشد. مقایسه میانگین تیمارها نیز با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد (Duncan, 1955).

معادله ۶) $Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij}$

نتایج و بحث

فراسنجه‌های تخمیر شکمبه‌ای

نتایج فراسنجه‌های تخمیر شکمبه‌ای بره‌های پرواری در جدول ۳ نشان داد که در نیتروژن آمونیاکی، کل اسیدهای چرب فرار، جمعیت باکتری‌ها و پروتوزآ مایع شکمبه تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی وجود داشت ($P<۰/۰۵$). بالاترین و پایین‌ترین غلظت نیتروژن آمونیاکی به ترتیب در گروه شاهد و تیمار ۲۰ درصد میوه بلوط فرآوری شده مشاهده شد. در

غلظت کل اسیدهای چرب فرار، تیمار ۲۰ درصد میوه بلوط فرآوری شده دارای بالاترین غلظت و تیمار ۴۰ درصد میوه بلوط فرآوری شـــده دارای پایین‌ترین غلظت بود. همچنین بالاترین و پایین‌ترین جمعیت باکتری‌ها و پروتوزوآ مایع شـــکمبه به ترتیب در تیمار ۲۰ درصد میوه بلوط فرآوری شده و گروه شاهد وجود داشت.

جدول ۳- اثر سطوح مختلف میوه بلوط فرآوری شده با هیدروکسید سدیم+اوره روی فراسنجه‌های تخمیر شکمبه‌ای، جمعیت باکتری‌ها و پروتوزآی مایع شکمبه

Table 3- Effect of different levels of oak fruit processed with sodium hydroxide + urea on parameters of rumen fermentation and population of bacteria and protozoa in rumen fluid

فراسنجه‌ها Parameters	*تیمارهای آزمایشی Experimental treatments 1	2	3	4	خطای استاندارد میانگین SEM	احتمال معنی‌داری P-Value
pH مایع شکمبه Ruminal fluid pH	6.54	6.45	6.29	6.34	0.15	0.849
نیتروژن آمونیاکی (میلی‌گرم در دسی لیتر) Ammonia nitrogen (mg/dL)	14.66[a]	13.75[a]	11.33[b]	12.24[b]	0.47	0.024
کل اسیدهای چرب فرار (میلی مول در لیتر) Volatile fatty acids (mmol/L)	82.45[b]	83.22[b]	86.90[a]	78.60[a]	1.22	0.016
اسیدهای چرب فرار (درصد از کل VFA) Volatile fatty acids (% of total VFA)						
اسید استیک Acetic acid	54.33	55.24	56.99	57.11	1.02	0.463
اسید پروپیونیک Propionic acid	16.64	17.23	18.04	18.33	0.65	0.519
اسید بوتیریک Butyric acid	9.68	9.09	1.24	10.33	1.21	0.789
اسید والریک Valeric acid	1.16	1.19	1.09	1.24	0.08	0.659
اسید ایزووالریک Isovaleric acid	0.65	0.47	0.55	0.60	0.13	0.325
جمعیت کل باکتری‌ها (تعداد در هر میلی‌لیتر مایع شکمبه×۱۰[۹]) Total population of bacteria (Number per milliliter of rumen fluid×10^9)	5.33[b]	5.52[b]	6.03[a]	5.86[a]	0.11	0.024
جمعیت پروتوزوآها (تعداد در هر میلی‌لیتر مایع شکمبه×۱۰[۴]) Protozoa population (Number per milliliter of rumen fluid×10^4)	3.50[b]	4.24[a]	4.62[a]	4.55[a]	0.14	0.010

*تیمارهای آزمایشی شامل: ۱-گروه شاهد (فاقد میوه بلوط+PEG)، ۲-تیمار حاوی ۱۰ درصد میوه بلوط فرآوری شده با هیدروکسید سدیم+اوره، ۳-تیمار حاوی ۲۰ درصد میوه بلوط فرآوری شده با هیدروکسید سدیم+اوره و ۴-تیمار حاوی ۴۰ درصد میوه بلوط فرآوری شده با هیدروکسید سدیم+اوره بودند.

*Experimental treatments include: 1- control group (no oak fruit + PEG), 2- treatment containing 10% oak fruit processed with sodium hydroxide + urea, 3- treatment containing 20% oak fruit processed with sodium hydroxide + urea and 4 - The treatment contained 40% oak fruit processed with sodium hydroxide + urea.

میانگین‌های هر ردیف با حروف غیر مشترک دارای تفاوت معنی‌دار می‌باشند (P<۰/۰۵).

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

در مطالعه‌ای با بررسی تأثیر تانن متراکم با منشأ لگوم‌های برزیلی در شاخص‌های شکمبه‌ای بزهای سانن، مشاهده شد pH مایع شـــکمبه بالاتر و نیتروژن آمونیاکی کمتر در تیمارهای حاوی تانن نســـبت به تیمارهای حاوی اتیلن گلیکول بود(Guimarães-Beelen et al., 2006). اهمیت تانن مصرفی علاوه بر سطح مورد استفاده می‌تواند عامل نتایج متفاوت در مطالعات انجام‌شـده باشـد. تانن متراکم با ایجاد پیوند با پروتئین محلول، خوراک، پلیمرهای دیواره سـلولی و پروتئازهای باکتریایی و تغییر مرفولوژی گونه‌های خاص باکتری موجب کاهش سـاخت پروتئین میکروبی می‌شـود؛ از طرفی با کاهش هضم پروتئین خوراک در شکمبه باعث کاهش سطح نیتروژن آمونیاکی و بازچرخ نیتروژن در شکمبه می‌شود (Kozloski et al., 2012). در یک تحقیق بیشـترین غلظت اسـید اسـتیک مایع شـکمبه بزغاله‌های پرواری مربوط به جیره حاوی ۴۲ درصـــد مغز میوه بلوط و کمترین غلظت مربوط به گروه شـــاهد بود. اما غلظت اســـیدهای پروپیونیک، بوتیریک، والریک، ایزووالریک، نســـبت اســـتیک به پروپیونیک و کل اســـیدهای چرب فرار تحت تأثیر تیمارهای آزمایشـــی قرار نگرفت (Hoseinpour-Mohammadabadi and Chaji, 2019). در برخی مطالعات میزان pH و غلظت نیتـــــروژن آمونیاکی مایع شکمبه گوسفند نژاد عربی با افزایش سطح بلوط در جیره به طور خطی کاهش یافت (Harsini et al., 2013). کاهش تجزیه‌پـذیری پـروتئین در شکمبه به دلیل باند شدن تانن با پـروتئین خـوراک در شـرایط خنثـی شکمبه و همچنین کاهش رشد باکتری هـای پروتئولیتیـک باعث کاهش تولید نیتروژن آمونیاکی در شـکمبه و افـزایش نیتـروژن آمونیاکی وارد شده به دوازدهه می شود (Waghorn et al., 1994). کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی در تیمار شاهد و افزایش آن پس از تانن زدایی با هیدوکســید ســدیم و اوره در آزمایش حاضــر، می‌تواند به‌دلیل وجود تانن و ترکیبات پلی‌فنلی در این مواد خوراکی باشـــد. تانن‌ها با اتصـــال به پروتئین و کاهش نرخ تجزیه‌پذیری پروتئین ســـبب کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی می‌شـــوند (Naumann et al., 2017)، در نتیجه تانن‌زدایی توسط باکتری‌های استفاده شده در آزمایش حاضر منجر به رفع این مانع می‌شـــود. همچنین، تانن موجود در خوراک ممکن اســـت با کاهش جمعیت پروتوزوآیی نیز باعث ممانعت از تجزیه پروتئین میکروبی توسط پروتوزوآها شده باشد (Sharifi et al., 2019). تانن‌هـا از طریـق مهـار آنـزیم دآمیناز میکروبی و مهار فعالیت آنزیم اوره‌آز نیز می‌توانند سـبب کاهش آزاد سـازی مقدار آمونیاک شـکمبه شـوند (Makkar et al., 1988). علت افزایش اسیدهای چـرب فرار شکمبه در تحقیق حاضر را احتمالاً می‌توان به افزایش فعالیت باکتری‌هـای شـکمبه به سبب کاهش سطح تـانن موجود در میوه بلوط در اثر فرآوری ارتباط داد (Ghasemi et al., 2012).

از مهمترین دلایلی که می‌تواند افزایش جمعیـــــت باکتریایی را توجیه کند می‌توان به نقش بازدارندگی تانن بر جمعیت پروتوزوآ اشاره نمـود کـه در نتیجـه بـه‌دلیل کـاهش شـکار باکتری‌ها توسط پروتوزوآها جمعیت آنها افزایش مـی‌یابـد (Lu and Jorgensen, 1987). افزودن هیدروکسید سدیم+اروه به میوه بلوط به‌عنوان باندکننده تانن سبب افزایش تعداد پروتوزوآ شد (Yanez Ruizet et al., 2010). افزودن پلی اتیلن گلیکول به جیره حاوی مواد تانن‌دار باعث افزایش جمعیت پروتوزوآ و غلظت نیتروژن آمونیاکی شکمبه شده است (Abarghuei et al., 2010).

نتایج خصوصیات ریخت‌شناسی پرزهای شکمبه بره‌های پرواری در جدول ۴ نشان داد که تفاوت معنی‌داری در صفات مورد مطالعه بین تیمارهای آزمایشی وجود نداشت. در یک مطالعه بیان شد که تیمارهای آزمایشی حاوی سطوح ۸، ۱۷ و ۲۵ درصـــد میوه بلوط در جیره بزغاله‌های نر مرخز اثر معنی‌داری بر مورفولوژی شـــکمبه (ارتفاع پرز، ســـطح پرز و تراکم پرز، و ضخامت دیواره شکمبه) نداشت (Azizi et al., 2016).

جدول ٤– اثر سطوح مختلف میوه بلوط فرآوری شده با هیدروکسید سدیم+اوره روی خصوصیات ریخت‌شناسی پرزهای شکمبه بره‌های پرواری

Table 4- The effect of different levels of oak fruit processed with sodium hydroxide + urea on the morphological characteristics of the rumen villi of fattening lambs

فراسنجه‌ها Parameters	*تیمارهای آزمایشی Experimental treatments 1	2	3	4	خطای استاندارد میانگین SEM	احتمال معنی‌داری P-Value
وزن شکمبه–نگاری (کیلوگرم) Rumen-reticulum weight (kg)	1.75	1.80	1.87	1.89	0.24	0.368
حجم شکمبه– نگاری (لیتر) Rumen-reticulum volume (liter)	7.34	8.12	8.09	8.23	0.94	0.745
ضخامت دیواره شکمبه (میلی‌متر) Ruminal wall thickness (mm)	1.78	1.80	1.96	1.87	0.12	0.486
ارتفاع پرزهای شکمبه (میلی‌متر) Height of rumen villi (mm)	3.86	4.16	4.65	4.17	0.17	0.136
عرض پرزهای شکمبه (میلی‌متر) Width of rumen villi (mm)	2.29	2.36	2.60	2.07	0.11	0.469
تراکم پرزها (تعداد در سانتی‌متر مربع) Density of villi (number per cm^2)	89.14	93.13	94.25	94.84	2.49	0.216

*تیمارهای آزمایشی شامل: ۱–گروه شاهد (فاقد میوه بلوط+PEG)، ۲–تیمار حاوی ۱۰ درصد میوه بلوط فرآوری شده با هیدروکسید سدیم+اوره، ۳–تیمار حاوی ۲۰ درصد میوه بلوط فرآوری شده با هیدروکسید سدیم+اوره و ۴–تیمار حاوی ۴۰ درصد میوه بلوط فرآوری شده با هیدروکسید سدیم+اوره بودند.

*Experimental treatments include: 1- control group (no oak fruit + PEG), 2- treatment containing 10% oak fruit processed with sodium hydroxide + urea, 3- treatment containing 20% oak fruit processed with sodium hydroxide + urea and 4 - The treatment contained 40% oak fruit processed with sodium hydroxide + urea.

فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری ماده خشک و پروتئین خام

نتایج فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری در جدول ۵ نشان داد که در فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری ماده خشک، بخش‌های سریع تجزیه، ثابت نرخ تجزیه و تجزیه‌پذیری مؤثر با سرعت‌های عبور مختلف دارای تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی بود (P<۰/۰۵). گروه شاهد و تیمار ۴۰ درصد میوه بلوط فرآوری شده به‌ترتیب دارای بالاترین و پایین‌ترین مقدار بخش سریع تجزیه بودند. ثابت نرخ تجزیه‌پذیری در گروه شاهد دارای بالاترین و تیمار ۴۰ در صد میوه بلوط فرآوری شده دارای پایین‌ترین مقدار بود. در بخش تجزیه‌پذیری مؤثر در ساعت‌های مختلف، تیمار ۴۰ درصد میوه بلوط فرآوری شده دارای بالاترین مقدار و گروه شاهد دارای پایین‌ترین مقدار بود. در فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری پروتئین خام، بخش‌های سریع تجزیه و ثابت نرخ تجزیه دارای تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی بود (P<۰/۰۵). گروه شاهد دارای بالاترین مقدار بخش سریع تجزیه و تیمار ۴۰ در صد میوه بلوط فرآوری شده دارای پایین‌ترین مقدار بود. در نرخ ثابت تجزیه، گروه شاهد و تیمار ۲۰ درصد میوه بلوط فرآوری شده به ترتیب دارای بالاترین و پایین‌ترین مقدار بودند. در بخش تجزیه پذیری مؤثر در نرخ عبور ۰/۰۵ و ۰/۰۸، تیمار ۴۰ درصد میوه بلوط فرآوری شده دارای بالاترین مقدار و گروه شاهد دارای پایین‌ترین مقدار و در نرخ عبور ۰/۰۲، تیمار ۲۰ درصد میوه بلوط فرآوری‌شده دارای بالاترین مقدار و گروه شاهد دارای پایین‌ترین مقدار بودند. افزایش فرا سنجه‌های تجزیه‌پذیری با افزایش سطح بلوط فرآوری شده در تحقیق حا ضر می‌تواند مربوط به کاهش عوامل ضدتغذیه‌ای بلوط در اثر کاهش ایجاد کمپلکس بین تانن و کربوهیدرات‌ها، پروتئین‌ها و پلی‌ساکاریدها و نیز آنزیم‌های هضم کننده پروتئین و مواد معدنی باشد (Dentinho et al., 2007).

جدول ۵- اثر سطوح مختلف میوه بلوط فرآوری شده با هیدروکسید سدیم+اوره روی فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری ماده خشک و پروتئین خام (درصد)

Table 5- Effect of different levels of oak fruit processed with sodium hydroxide+urea on ruminal degradability parameters of dry matter and crude protein (%)

فراسنجه‌ها Parameters	*تیمارهای آزمایشی Experimental treatments 1	2	3	4	خطای استاندارد میانگین SEM	احتمال معنی‌داری P-Value
فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری ماده خشک Degradability parameters of dry matter						
بخش سریع تجزیه (a) (درصد) Rapidly degraded fraction (a) (%)	33.02^{a}	31.66^{a}	29.22^{b}	28.24^{b}	0.68	0.021
بخش کند تجزیه (b) (درصد) Slowly degraded fraction (b) (%)	51.06	52.55	58.04	57.33	2.09	0.521
بخش بالقوه قابل تجزیه (a+b) Potentially degradable fraction (a+b)	84.06	84.21	87.26	85.57	1.75	0.350
ثابت نرخ تجزیه (c) (درصد در ساعت) Constant rate of degradation (c) (%/h)	0.028^{a}	0.026^{a}	0.020^{b}	0.019^{b}	0.002	0.001
تجزیه‌پذیری مؤثر با سرعت‌های عبور مختلف (درصد درساعت) Effective degradability with different passage rate (%/h)						
0.02	63.55^{b}	65.23^{ab}	65.45^{ab}	66.72^{a}	0.39	0.002
0.05	46.65^{b}	48.45^{a}	49.23^{a}	50.05^{a}	0.41	0.002
0.08	40.30^{b}	42.55^{a}	43.38^{a}	44.01^{a}	0.40	0.012
فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری پروتئین خام Degradability parameters of crude protein						
بخش سریع تجزیه (a) (درصد) Rapidly degraded fraction (a) (%)	31.33^{a}	31.01^{a}	28.45^{b}	27.60^{b}	0.59	0.012
بخش کند تجزیه (b) (درصد) Slowly degraded fraction (b) (%)	58.45	59.36	61.17	60.24	2.13	0.231
بخش بالقوه قابل تجزیه (a+b) Potentially degradable fraction (a+b)	86.05	87.81	92.18	91.57	2.05	0.063
ثابت نرخ تجزیه (c) (درصد در ساعت) Constant rate of degradation (c) (%/h)	0.026^{a}	0.019^{b}	0.016^{b}	0.017^{b}	0.002	0.002
تجزیه‌پذیری مؤثر با سرعت‌های عبور مختلف (درصد درساعت) Effective degradability with different passage rate (%/h)						
0.02	58.23^{b}	59.12^{b}	62.66^{a}	62.33^{a}	0.43	0.014
0.05	40.24^{b}	41.46^{b}	44.33^{a}	45.60^{a}	0.45	0.010
0.08	35.23^{b}	36.32^{b}	38.11^{a}	38.33^{a}	0.44	0.002

*تیمارهای آزمایشی شامل: ۱-گروه شاهد (فاقد میوه بلوط+PEG)، ۲-تیمار حاوی ۱۰ درصد میوه بلوط فرآوری شده با هیدروکسید سدیم+اوره، ۳-تیمار حاوی ۲۰ درصد میوه بلوط فرآوری شده با هیدروکسید سدیم+اوره و ۴-تیمار حاوی ۴۰ درصد میوه بلوط فرآوری شده با هیدروکسید سدیم+اوره بودند.

*Experimental treatments include: 1- control group (no oak fruit + PEG), 2- treatment containing 10% oak fruit processed with sodium hydroxide + urea, 3- treatment containing 20% oak fruit processed with sodium hydroxide + urea and 4 - The treatment contained 40% oak fruit processed with sodium hydroxide + urea.

میانگین‌های هر ردیف با حروف غیر مشترک دارای تفاوت معنی‌دار می‌باشند (P<۰/۰۵).

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

محققین نشان دادند که بخش کندتجزیه، پتانسیل تجزیه‌پذیری و تجزیه‌پذیری مؤثر ماده خشک و پروتئین خام در تیمار حاوی ۳۱/۵۸ درصد مغز بلوط در گاو و گاومیش نسبت به گروه شاهد بالاتر بود (Rahmatimoghadam et al., 2016). شاید یکی از دلایل افزایش فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری بالا بودن کربوهیدرات‌های محلول و پروتئین و همزمانی بین آنها در شکمبه باشد. با افزایش میزان پروتئین در گونه‌های گیاهی تجزیه‌پذیری بالقوه ماده خشک هم افزایش می‌یابد (Sallamab et al., 2010). اما کاهش فرا سنجه‌های تجزیه‌پذیری در تیمار شاهد می‌تواند به وجود عوامل ضدتغذیه‌ای مثل تانن بلوط مرتبط باشد (Frutos et al., 2004). تانن‌ها نیز با ایجاد اتصالات عرضی با پروتئین‌ها از تجزیه سریع پروتئین‌ها در شکمبه جلوگیری می‌کنند (Makkar, 2003). در یک مطالعه گزارش شـــد که میزان تجزیه‌پذیری، تجزیه‌پذیری مؤثر و پروتئین قابل متابولیسم به صورت معنی‌داری در اثر فرآوری علوفه ا سپرس به‌روش سدیم هیدروکسید برای کاهش تانن، افزایش یافت (Khalilvand-Behrouziar et al., 2010). در تحقیقی تانن زدایی به‌روش پلی‌اتیلن گلیکول سبب افزایش معنی‌دار تجزیه‌پذیری ماده خشک نسبت به گروه شاهد شد (Bakshizadeh et al., 2013). نشان داده شد که پلی‌اتیلن گلیکول باعث افزایش بخش محلول نسـبت به تیمار شـاهد شـده اسـت. نرخ ثابت تجزیه‌پذیری ماده خشـک به‌واسـطه افزودن پلی‌اتیلن گلیکول افزایش یافت (Mahdavi et al., 2008). افزایش نرخ ثابت تجزیه‌پذیری ماده خشک به‌واسطه افزودن هیدروکسید سدیم در تحقیق حا ضر، احتمالاً به‌دلیل آزاد شدن باندهای تشکیل شده تانن با کربوهیدرات‌ها و سایر مواد مغذی تو سط هیدروکسـید سـدیم و به تبع آن باعث سـهولت دسـترسـی میکروارگانیسـم‌های شـکمبه به کربوهیدرات‌ها گردیده اسـت (Alipour and Rouzbehan, 2007).

فراسنجه‌های آزمون تولید گاز

نتایج فرا سنجه‌های تولید گاز در جدول ۶ نشان داد که در پتانسیل تولید گاز، اسیدهای کوتاه زنجیر، قابلیت هضم مواد آلی و انرژی قابل متابولیسم تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی وجود داشت (P<۰/۰۵). در بخش پتانسیل تولید گاز بیشترین و کمترین مقدار به ترتیب در تیمار ۱۰ درصد میوه بلوط فرآوری شده و تیمار ۲۰ درصد میوه بلوط فرآوری شده، در بخش اسیدهای کوتاه زنجیر، قابلیت هضم مواد آلی و انرژی قابل متابولیسم بیشترین و کمترین مقدار به‌ترتیب در تیمار ۴۰ درصد میوه بلوط فرآوری شده و گروه شاهد مشاهده شد.

جدول ٦- اثر سطوح مختلف میوه بلوط فرآوری شده با هیدروکسید سدیم+اوره روی فراسنجه‌های تولید گاز (میلی‌لیتر در ۲۰۰ میلی گرم ماده خشک)

Table 6- Effect of different levels of oak fruit processed with sodium hydroxide + urea on gas production parameters (ml in 200 mg of dry matter)

فراسنجه‌ها Parameters	*تیمارهای آزمایشی Experimental treatments				خطای استاندارد میانگین SEM	احتمال معنی‌داری P-Value
	1	2	3	4		
پتانسیل تولید گاز (میلی‌لیتر) Gas production potential (ml)	69.33[b]	65.16[b]	74.24[a]	73.11[a]	1.45	0.024
نرخ تولیدگاز (میلی‌لیتر/ساعت) Gas production rate (ml/hour)	0.041	0.038	0.042	0.040	0.003	0.375
اسیدهای کوتاه زنجیر (میلی‌مول) Short chain acids (mmol)	1.16[b]	1.20[ab]	1.26[a]	1.28[a]	0.008	0.023
قابلیت هضم مواد آلی (درصد) Digestibility of organic matter (%)	74.25[b]	74.05[ab]	79.04[a]	78.33[a]	0.24	0.010

انرژی قابل متابولیسم (مگاژول/کیلوگرم ماده خشک) Metabolizable energy (MJ/kg of dry matter)	8.23^{b}	9.16^{ab}	9.33^{ab}	10.04^{a}	0.07	0.010

*تیمارهای آزمایشی شامل: ۱-گروه شاهد (فاقد میوه بلوط+PEG)، ۲-تیمار حاوی ۱۰ درصد میوه بلوط فرآوری شده با هیدروکسید سدیم+اوره، ۳-تیمار حاوی ۲۰ درصد میوه بلوط فرآوری شده با هیدروکسید سدیم+اوره و ۴-تیمار حاوی ۴۰ درصد میوه بلوط فرآوری شده با هیدروکسید سدیم+اوره بودند.

*Experimental treatments include: 1- control group (no oak fruit + PEG), 2- treatment containing 10% oak fruit processed with sodium hydroxide + urea, 3- treatment containing 20% oak fruit processed with sodium hydroxide + urea and 4 - The treatment contained 40% oak fruit processed with sodium hydroxide + urea.

میانگین‌های هر ردیف با حروف غیر مشترک دارای تفاوت معنی‌دار می‌باشند (P<۰/۰۵).

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

در یک پژوهش تیمارهای حاوی پلی‌اتیلن گلیکول دارای تولید گاز بیشتری نسبت به تیمار شاهد بودند که این روند تا ساعات آخر انکوباسیون ادامه داشت. همچنین تیمارهای حاوی پلی‌اتیلن گلیکول از لحاظ مقادیر انرژی متابولیسم و قابلیت هضم ماده آلی دارای تفاوت معنی‌دار با تیمار شاهد بودند (Bakshizadeh et al., 2013). با توجه به اینکه مهم‌ترین خاصیت تانن‌ها قابلیت آنها در ترکیب با پروتئین‌ها است، موجب بازدارندگی عمل آنزیم‌ها شده و از طریق کاهش تجزیه‌پذیری کربوهیدرات‌ها، تولید گاز را در شکمبه حیوان کاهش می‌دهند (Makkar and Singh, 1993). در نتیجه به کمک روش‌های فرآوری می‌توان مقدار تولید گاز را افزایش داد که در تحقیق حاضر چنین نتایجی به کمک فرآوری با هیدروکسید سدیم و اوره حاصل شد. نتایج مطالعات نشان داد که تانن‌های موجود در مواد خوراکی سبب کاهش تولید گاز (Lu and Foo, 1999) و کاهش تجزیه‌پذیری پروتئین خام در شکمبه و نیز کاهش غلظت آمونیاک مایع شکمبه شدند که این امر به دلیل مهار آنزیم‌های پروتئولیتیک (تریپسین) در شکمبه می‌باشد (Jones et al., 2000). در نتیجه فرآوری مواد خوراکی حاوی تانن، به‌عنوان یک پلیمر غیرسنتیک، تمایل بالایی برای تشکیل باند با تانن داشته و پروتئین‌ها را از کمپلکس تانن-پروتئین خارج می‌کند (Makkar, 2004).

افزایش قابلیت هضم و انرژی قابل متابولیسم در اثر به‌کارگیری روش‌های تانن‌زدایی به خوراک‌های حاوی تانن، توسط چندین محقق گزارش شده است (Khazaal et al., 1994; Madibela et al., 2006). تانن‌زدایی تفاله انگور به‌روش پلی‌اتیلن گلیکول باعث افزایش تولید گاز متان و اسید چرب زنجیره کوتاه شد (Safaei et al., 2014). در یک تحقیق افزودن پلی‌اتیلن گلیگول به حبوبات علوفه‌ای حاوی تانن به‌طور معنی‌داری مقادیر تولید گاز و اسید چرب کوتاه زنجیره را افزایش داد (Getachew et al., 2000). در خصوص تأثیر اوره بر ترکیبات فنولی عنوان می‌شود که اوره در شرایط بی‌هوازی به آمونیاک تبدیل می‌شود و در این محیط قلیایی علاوه بر بهبود قابلیت هضم دیواره سلولی به‌دلیل شکستن اتصالات لیگنین با کربوهیدرات‌ها، اکسید شدن فنل‌ها و در نتیجه کاهش سطح تانن اتفاق می‌افتد (Salem et al., 2005). یکی دیگر از دلایل احتمالی افزایش گاز تولیدی در عمل‌آوری میوه بلوط با هیدروکسید سدیم و اروه می‌تواند تأثیر کمتر تانن‌ها باشد (Makkar, 2010). بر این اساس تولید گاز بیشتر در اثر عمل‌آوری میوه بلوط می‌تواند به‌دلیل افزایش قابلیت دسترسی میکروارگانیسم‌های شکمبه به مواد مغذی به‌خصوص نیتروژن باشد (Theodoridou et al., 2011). در آزمایشی نشان داده شد که افزودن پلی‌اتیلن‌گلیکول روی پسماندهای پسته به‌صورت تاره و خشک، باعث افزایش قابلیت هضم ماده خشک، قابلیت هضم ماده آلی و انرژی قابل متابولیسم می‌شود (Bagheripour et al., 2008).

دفع مشتقات پورینی و تولید پروتئین میکروبی

نتایج دفع مشتقات پورینی و تولید پروتئین میکروبی در جدول ۷ نشان داد که در مقادیر آلانتوئین دفعی، گزانتین+هیپوگزانتین، مشتقات پورینی دفع شده، مشتقات پورینی جذب شده و پروتئین میکروبی تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی وجود داشت (P<۰/۰۵). نتایج نشان داد با افزایش سطح میوه بلوط فرآوری شده تا سطح ۴۰ در صد، مقادیر مورد اشاره به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه شاهد افزایش یافت.

جدول ۷- اثر سطوح مختلف میوه بلوط فرآوری شده با هیدروکسید سدیم+اوره روی دفع مشتقات پورینی ادرار و ساخت پروتئین میکروبی

Table 7- Effect of different levels of oak fruit processed with sodium hydroxide + urea on urinary purine derivatives excretion and microbial protein production

فراسنجه‌ها Parameters	*تیمارهای آزمایشی Experimental treatments				خطای استاندارد میانگین SEM	احتمال معنی‌داری P-Value
	1	2	3	4		
آلانتوئین دفعی (میلی‌مول در روز) Allantoin excretion (mmol / day)	12.95[b]	15.57[a]	15.66[a]	16.76[a]	0.76	0.001
اسید اوریک (میلی‌مول در روز) Uric acid (mmol / day)	2.09	2.16	2.21	2.44	0.16	0.121
گزانتین+هیپوگزانتین (گرم در روز) Xanthine + hypoxanthine (g / day)	1.44[b]	2.06[a]	2.24[a]	2.37[a]	0.14	0.011
مشتقات پورینی دفع شده (میلی‌مول در روز) Excreted purine derivatives (mmol / day)	16.37[b]	20.24[b]	26.12[a]	28.66[a]	1.53	0.002
مشتقات پورینی جذب شده (میلی‌مول در روز) Absorbed purine derivatives (mmol / day)	19.56[b]	25.24[a]	27.95[a]	28.06[a]	1.47	0.001
پروتئین میکروبی (گرم در روز) Microbial protein (g / day)	74.57[b]	80.46[b]	96.19[a]	117.06[a]	5.19	0.013

*تیمارهای آزمایشی شامل: ۱-گروه شاهد (فاقد میوه بلوط+PEG)، ۲-تیمار حاوی ۱۰ درصد میوه بلوط فرآوری شده با هیدروکسید سدیم+اوره، ۳-تیمار حاوی ۲۰ درصد میوه بلوط فرآوری شده با هیدروکسید سدیم+اوره و ۴-تیمار حاوی ۴۰ درصد میوه بلوط فرآوری شده با هیدروکسید سدیم+اوره بودند.

*Experimental treatments include: 1- control group (no oak fruit + PEG), 2- treatment containing 10% oak fruit processed with sodium hydroxide + urea, 3- treatment containing 20% oak fruit processed with sodium hydroxide + urea and 4 - The treatment contained 40% oak fruit processed with sodium hydroxide + urea.

میانگین‌های هر ردیف با حروف غیر مشترک دارای تفاوت معنی‌دار می‌باشند (P<۰/۰۵).

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

یکی از دلایل احتمالی افزایش تولید پروتئین میکروبی در تحقیق حاضر را می‌توان با افزایش مصرف خوراک و در نتیجه سنتز بیشتر پروتئین میکروبی به واسطه کاهش اثرات تانن با روش فرآوری هیدروکسید سدیم نسبت داد (Dentinho et al., 2007). با افزایش مصرف خوراک، رشد و تکثیر میکروارگانیسم‌ها شکمبه به‌دلیل در دسترس قرارگرفتن انرژی برای میکروارگانیسم‌ها افزایش یافته که سبب افزایش تولید پروتئین میکروبی و در نتیجه سبب افزایش تولید آلانتوئین می شود (Taheri et al., 2018). اسپرس عمل‌آوری شده با آب و اوره دارای پتانسیل تولیدگاز و نرخ تولید گاز بالاتری به جهت کاهش سطح تانن بود (Yarahmadi et al., 2017). پتانسیل تولید گاز بیشتر در میوه بلوط عمل‌آوری شده در تحقیق حاضر ممکن است مربوط به تانن باشد که در عمل‌آوری با هیدروکسید سدیم و اوره تانن‌زدایی شده و در نتیجه تولید گاز در اثر رفع ممانعت برای دسترسی میکروارگانیسم‌ها به ماده خوراکی و مزاحمت تانن برای آنزیم‌های میکروبی یا باندکردن خود میکروارگانیسم‌ها برداشته شده است (Salem et al., 2005). افزایش سطح بلوط باعث کاهش تولید گاز کل، متان، قابلیت

هضم مواد آلی و انرژی قابل متابولیسم شد (Rajkumar et al., 2015). در یک مطالعه عصاره تانن بلوط سبب کاهش دفع نیتروژن ادرار در گاوهای شیری شد (Focant et al., 2019).

نتیجه‌گیری کلی

نتیجه تحقیق حاضر نشان داد که افزایش غلظت اسیدهای چرب فرار، تجزیه‌پذیری ماده خشک و پروتئین خام و نیز افزایش دفع مشتقات پورینی و تولید پروتئین میکروبی با مصرف ۴۰ در صد میوه بلوط فرآوری شده مشاهده شد. جمعیت باکتری‌ها و پروتوزوآ نیز در تیمار ۲۰ در صد میوه بلوط فرآوری شده دارای بیشترین مقدار بود. در کل با توجه به نتایج این آزمایش، استفاده از سطح ۴۰ درصد میوه بلوط فرآوری شده با روش هیدروکسید سدیم و اوره در تغذیه بره‌های پرواری قابل توصیه است.

References

1. Abarghuei, M. J., Rouzbehan, Y., & Alipour, D. (2010). The influence of the grape pomace on the ruminal parameters of sheep. *Livestock Science*, 132(1-3), 73-79. https://doi.org/10.1016/j.livsci.2010.05.002.
2. Alipour, D., & Rouzbehan, Y. (2007). Effects of ensiling grape pomace and addition of polyethylene glycol on in vitro gas production and microbial biomass yield. *Animal Feed Science and Technology*, 137(1-2), 138-149.https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2006.09.020.
3. Amiri, M., Dargahi, D., Habashi, H., & Mohammadi, J. (2008). The effects of physiographic factors on natural regeneration of Quercus castaneifolia in Lowe forests, Gorgan. *Pajoohesh and Sazandegi*, 16(4), 116-123 (In Persian).
4. AOAC. (2003). Official Methods of Analysis of AOAC International. 17th edition. 2nd revision. Gaithersburg, MD, USA, Association of Analytical Communities.
5. Azizi, O., Salavati, A., & Vaziry, A. (2016). The effects of different levels of Oak acorn on rumen and small intestine morphology and gastrointestinal pH of Markhoz goat kids. Animal Science Research Journal, 26(3), 179-190 (In Persian).
6. Bakshizadeh, S., Taghizadeh, A., Janmohammadi, H., & Alijani, P. (2013). The effect of polyethylene glycol on the digestive parameters of pistachio skin using a laboratory method, *Animal and Poultry Research Journal*, 2(1), 11-20 (In Persian).
7. Bagheripour, E., Rouzbehan, Y., & Alipour, D. (2008). Effects of ensiling, air-drying and addition of polyethylene glycol on in vitro gas production of pistachio by-products. *Animal Feed Science and Technology*, 146(3-4), 327-336. https://doi.org/10.1016/J.ANIFEEDSCI.2008.01.002.
8. Bouderoua, K., Mourot, J., & Selselet-Attou, G. (2009). The effect of green oak acorn (Quercus ilex) based diet on growth performance and meat fatty acid composition of broilers. Asian-Australasian *Journal of Animal Sciences*, 22(6), 843-848. https://doi.org/10.5713/ajas.2009.80571.
9. Broderick, G. A., & 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(1), 64-75. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(80)82888-8.

10. Chen, X. B., & Gomes, M. J. (1992). Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives: an overview of the technical details.

11. Conway, E. J. (1950). Microdiffusion. Analysis and Volumetric Error. (2nd Ed.). Crosby Lockwood and Son, London. https://doi.org/10.1038/161583a0.

12. Dehority, B. A. (2003). Rumen Microbiology. London, UK. Nottingham University.

13. Dentinho, M. T. P., Moreira, O. C., Pereira, M. S., & Bessa, R. J. B. (2007). The use of a tannin crude extract from Cistus ladanifer L. to protect soya-bean protein from degradation in the rumen. *Animal*, 1(5), 645-650. https://doi.org/10.1017/S1751731107689745.

14. Duncan, D. B. (1955). Multiple range and multiple F tests. *Biometrics*,1, 1-42.

15. Elahi, M. Y., & Rouzbehan, Y. (2008). Characteriztion of Quercus persica, Quercus infectoria and Quercus libani as ruminant feeds. *Animal Feed Science and Technology*, 140(1-2), 78-89. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2007.02.009.

16. Fagundes, G. M., Modesto, E. C., Fonseca, C. E. M., Lima, H. R. P., & Muir, J. P. (2014). Intake, digestibility and milk yield in goats fed Flemingia macrophylla with or without polyethylene glycol. *Small Ruminant Research*, 116(2-3), 88-93. https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2013.10.018.

17. Focant, M., Froidmont, E., Archambeau, Q., Van, Q. D., & Larondelle, Y. (2019). The effect of oak tannin (Quercus robur) and hops (Humulus lupulus) on dietary nitrogen efficiency, methane emission, and milk fatty acid composition of dairy cows fed a low-protein diet including linseed. *Journal of Dairy Science*, 102(2), 1144-1159. https://doi.org/10.3168/jds.2018-15479.

18. Frutos, P., Hervas, G., Giráldez, F. J., & Mantecón, A. R. (2004). Tannins and ruminant nutrition. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 2(2), 191-202. https://doi.org/10.5424/sjar/2004022-73.

19. Getachew, G., Makkar, H. P. S., & Becker, K. (2000). Effect of polyethylene glycol on in vitro degradability ofnitrogen and microbial protein synthesis fromtannin-rich browse and herbaceous legumes. *British Journal of Nutrition*, 84(1), 73-83. https://doi.org/10.1017/S0007114500001252.

20. Ghaderi, M., Sadeghi Mahoonak, A., Alami, M., Khomeiri, M., & Rezaei, R. (2011). Evaluation of antiradical and antimicrobial activity of methanolic extract of two acorn varieties and detection of phenolic compound with high performance liquid chromatography. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 7(3), 180-190 (In Persian). https://doi.org/10.22067/ifstrj.v7i3.10124.

21. Ghasemi, S., Naserian, A. A., Valizadeh, R., Vakili, A. R., Behgar, M., Tahmasebi, A. M., & Ghovvati, S. (2012). Partial and total substitution of alfalfa hay by pistachio byproduct modulated the counts of selected cellulolytic ruminal bacteria attached to alfalfa hay in sheep. *Livestock Science*, 150(1-3), 342-348. https://doi.org/10.1016/j.livsci.2012.09.024.

22. Guimarães-Beelen, P. M., Berchielli, T. T., Beelen, R., & Medeiros, A. N. (2006). Influence of condensed tannins from Brazilian semi-arid legumes on ruminal degradability,

microbial colonization and ruminal enzymatic activity in Saanen goats. *Small Ruminant Research*, 61(1), 35-44. https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2005.01.007.

23. Greenwood, R. H., Morrill, J. L., Titgemeyer, E. C., & Kennedy, G. A. (1997). A new method of measuring diet abrasion and its effect on the development of the forestomach. *Journal of Dairy Science*, 80(10), 2534-2541. https://doi.org/10.3168/JDS.S0022-0302(97)76207-6.

24. Harsini, M., Bojarpour, M., Eslami, M., Chaji, M., & Mohammadabadi, T. (2013). The effect of oak kernel on digestibility and fermentative characteristics in Arabian sheep. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 5(2), 127-135 (In Persian). https://doi.org/10.22067/ijasr.v5i2.28290.

25. Hoseinpour-Mohammadabadi, H., & Chaji, M. (2019). Effect of oak kernel on digestibility, growth performance, protozoa population and ruminal and blood parameters of fattening goat kids. *Iranian Veterinary Journal*, 15(2), 38-49 (In Persian). https://doi.org/10.22055/IVJ.2018.110835.1998.

26. Jones, R. J., Meyer, J. H. F., Bechaz, M., & Stoltz, M. A. (2000). An approach to screening potential pasture species for condensed tannin activity. *Animal Feed Science and Technolog*y, 85(3-4), 269-277. https://doi.org/10.1016/S0377-8401(00)00144-9.

27. Khazaal, K., Boza, J., & Ørskov, E. R. (1994). Assessment of phenolics-related antinutritive effects in Mediterranean browse: a comparison between the use of the in vitro gas production technique with or without insoluble polyvinylpolypyrrolidone or nylon bag. *Animal Feed Science and Technology*, 49(1-2), 133-149. https://doi.org/10.1016/0377-8401(94)90087-6.

28. Khalilvand-Behrouziar, H., Dehghan Benadaki, M., & Rezaizdi, K. (2010). The effect of reducing phenolic compounds using different processes on the chemical composition and classification of crude protein of Spurs fodder using the nylon bag method, CNCPS and AFRC, *Iranian Animal Sciences (Iranian Agricultural Sciences)*, 14(3), 391-403 (In Persian).

29. Kozloski, G. V., Härter, C. J., Hentz, F., de Ávila, S. C., Orlandi, T., & Stefanello, C. M. (2012). Intake, digestibility and nutrients supply to wethers fed ryegrass and intraruminally infused with levels of Acacia mearnsii tannin extract. *Small Ruminant Research*, 106(2-3), 125-130. https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2012.06.005.

30. Lu, C. D., & Jorgensen, N. A. (1987). Alfalfa saponins affect site and extent of nutrient digestion in ruminants. *The Journal of Nutrition*, 117(5), 919-927. https://doi.org/10.1093/jn/117.5.919.

31. Lu, Y., & Foo, L. Y. (1999). The polyphenol constituents of grape pomace. *Food chemistry*, 65(1), 1-8.https://doi.org/10.1016/S0308-8146(98)00245-3.

32. Madibela, O. R., Seitshiro, O., & Mochankana, M. E. (2006). Deactivation effects of polyethylene glycol (PEG) on in vitro dry matter digestibility of Colophospermum mopane (Mophane) and Acacia browse trees in Botswana. *Pakistan Journal of Nutrition*, 5(4), 343-347. https://doi.org/10.3923/pjn.2006.343.347.

33. Makkar, H. P. (2010). In vitro screening of feed resources for efficiency of microbial protein synthesis. In vitro screening of plant resources for extra-nutritional attributes in ruminants, Nuclear and Related Methodologies, 7, 107-144. https://doi.org/ 10.1007/978-90-481-3297-3_7.

34. Makkar, H. P. (2004). Method for evaluation of nutritional quality of feed resources. *Assessing Quality and Safety of Animal Feeds*, (160), 55.

35. 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(3), 241-256. https://doi.org/10.1016/S0921-4488(03)00142-1.

36. Makkar, H. P. S., & Singh, B. (1993). Effect of storage and urea addition on detannification and in Sacco dry matter digestibility of mature oak (*Quercus incana*) leaves. *Animal Feed Science and Technology*, 41(3), 247-259. https://doi.org/10.1016/0377-8401(93)90017-E.

37. Makkar, H. P., Singh, B., & Dawra, R. K. (1988). Effect of tannin-rich leaves of oak (*Quercus incana*) on various microbial enzyme activities of the bovine rumen. *British journal of Nutrition*, 60(2), 287-296. https://doi.org/10.1079/bjn19880100.

38. Mahdavi, A., Zaghari, M., Zahedifar, M., Nikkhah, A., & Aghashahi, A. R. (2008). Determining the nutritional value and investigating the possibility of using different levels of dried pistachio shells on fattening performance of Iranian Afshari lambs. *Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources*, 15(5), 139-146 (In Persian).

39. Menke, H. H., & Steingass, H. (1988) Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and in vitro gas production using rumen fluid. *Animal Research and Development*, 28, 7-55.

40. Mekki, I., Smeti, S., Hajji, H., Yagoubi, Y., Mahouachi, M., & Atti, N. (2019). Effect of oak acorn (*Quercus ilex*) intake during suckling and fattening of Barbarine lambs on growth, meat quality and fatty acid profile. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 28, 22-30. https://doi.org/10.22358/jafs/102757/2019.

41. Mekki, I., Smeti, S., Hajji, H., Mahouachi, M., & Atti, N. (2022). Effects of green oak acorn (*Quercus ilex*) intake on nutrient digestibility, lamb growth, and carcass and non-carcass characteristics. *Archives Animal Breeding*, 65(1), 113-120. https://doi.org/10.5194/aab-65-113-2022.

42. Naumann, H. D., Tedeschi, L. O., Zeller, W. E., & Huntley, N. F. (2017). The role of condensed tannins in ruminant animal production: advances, limitations and future directions. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 46, 929-949. https://doi.org/10.1590/S1806-92902017001200009.

43. NRC. (2007). Nutrient requirements of small ruminants: sheep, goats, cervids, and New World camelids: Natl Academy.

44. Ottenstein, D. M., & Bartley, D. A. (1971). Separation of free acids C2–C5 in dilute aqueous solution column technology. *Journal of Chromatographic Science*, 9(11), 673-681. https://doi.org/10.1093/chromsci/9.11.673.

45. Ørskov, E. R., & McDonald, I. (1979). The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. The *Journal of Agricultural Science*, 92(2), 499-503. https://doi.org/10.1017/S0021859600063048.

46. Rahmatimoghadam, Z., Mohammadabadi, T., Roshanfekr, H., Chaji, M., & Mirzadeh, Kh. (2016). Investigation the effect of diets containing different levels of oak kernel on ruminal digestion and fermentation and degradability of cow and buffalo in Khuzestan. *Animal Science Research Journal*, 28(3), 17-29 (In Persian).

47. Rajkumar, K., Bhar, R., Kannan, A., Jadhav, R. V., Singh, B., & Mal, G. (2015). Effect of replacing oat fodder with fresh and chopped oak leaves on in vitro rumen fermentation, digestibility and metabolizable energy. *Veterinary World*, 8(8), https://doi.org/1021. 10.14202/vetworld.2015.1021-1026.

48. Safaei A, Torbatinejad, N., Mansouri, H., & Zerehdaran, S. (2014). Effects of Adding Poly-Ethylene-Glycol on Methane Production in Rumen, Digestion and Metabolic Energy of Grape and Lime Pomaces. *Research on Animal Production*, 5(9), 83-95 (In Persian).

49. Salem, H. B., Saghrouni, L., & Nefzaoui, A. (2005). Attempts to deactivate tannins in fodder shrubs with physical and chemical treatments. *Animal Feed Science and Technology*, 122(1-2), 109-121. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2005.04.009.

50. Sallamab, S. M. A. H., da Silva Bueno, I. C., de Godoy, P. B., Nozella, E. F., Vitti, D. M. S. S., & Abdalla, A. L. (2010). Ruminal fermentation and tannins bioactivity of some browses using a semi-automated gas production technique. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 12(1), 1-10.

51. SAS. (2001). Statistical Analysis System User's Guide: Statistics. SAS Institute, Cary, NC.

52. Sharifi, A., Chaji, M., & Vakili, A. (2019). Effect of treating recycled poultry bedding with tannin extracted from pomegranate peel on rumen fermentation parameters and cellulolytic bacterial population in Arabian fattening lambs. *Veterinary Research Forum*, 10(2), 145-152. https://doi.org/10.30466/vrf.2019.75050.2007.

53. Taheri, M., Tahmasbi, R., Sharifi Hoseini, M. M., & Dayani, O. (2018). Chemical composition of ensiled licorice with different levels of wasted date and its feeding effect on digestibility and nitrogen balance in Rayeni goat. *Journal of Animal Production*, 20(1), 15-27. https://doi.org/10.22059/jap.2018.232324.623202.

54. Tedeschi, L. O., Cannas, A., & Fox, D. G. (2010). A nutrition mathematical model to account for dietary supply and requirements of energy and other nutrients for domesticated small ruminants: The development and evaluation of the Small Ruminant Nutrition System. *Small Ruminant Research*, 89(2-3), 174-184. https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2009.12.041.

55. Theodoridou, K., Aufrère, J., Niderkorn, V., Andueza, D., Le Morvan, A., Picard, F., & Baumont, R. (2011). In vitro study of the effects of condensed tannins in sainfoin on the digestive process in the rumen at two vegetation cycles. *Animal Feed Science and Technology*, 170(3-4), 147-159. https://doi.org/10.1017/S1751731111001510.

56. Van Soest, P. V., Robertson, J. B., & Lewis, B. A. (1991). Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, 74(10), 3583-3597. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2.

57. Waghorn, G. C., Shelton, I. D., McNabb, W. C., & McCutcheon, S. N. (1994). Effects of condensed tannins in Lotus pedunculatus on its nutritive value for sheep. 2. Nitrogenous aspects. *The Journal of Agricultural Science*, 123(1), 109-119. https://doi.org/10.1079/BJN19870015.

58. Yanez Ruiz, D. R., Moumen, A., Martin Garcia, A. I., & 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*, 82(7), 2023-2032. https://doi.org/10.2527/2004.8272023x.

59. Yarahmadi, B., Chaji, M., Boujarpour, M., Mirzadeh, K., & Rezaei, M. (2017). Effects of sainfoin tannin treated by water or urea on microbial population, gas production parameters, digestibility and in vitro fermentation. *Iranian Veterinary Journal*, 13(3), 97-114. https://doi.org/10.22055/IVJ.2017.42664.1625 (In Persian).

نسخه پیش انتشار