نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد ۵، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۲، ص. ۱۳۵-۱۲۷

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 5, No. 2, Summer 2013, p. 127-135

تأثیر مغز میوه بلوط بر قابلیت هضم و خصوصیات تخمیر شکمبه ای گوسفند نژاد عربی

مریم هرسینی[۱]- محمد بوجارپور[۲]- موسی اسلامی[۳]- مرتضی چاجی[۴*]- طاهره محمدآبادی[۵]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۳/۳۰
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۴/۲۳

چکیده

این آزمایش به منظور بررسی اثر مغز میوه بلوط بر خصوصیات هضم پذیری و تخمیر شکمبه ای گوسفند نژاد عربی انجام گرفت. بدین منظور از ۱۶ رأس گوسفند ماده نژاد عربی با میانگین وزن ۳ ± ۴۵ کیلوگرم در قالب طرح کاملاً تصادفی استفاده شد. تیمارهای آزمایشی شامل چهار سطح میوه بلوط (۰، ۲۱، ۴۲ و ۶۳ درصد بلوط در ماده خشک خوراک) بودند. دام‌ها به مدت ۲۸ روز با جیره‌های آزمایشی تغذیه شدند. مدفوع همراه با باقیمانده خوراک گوسفندان جهت اندازه‌گیری قابلیت هضم ظاهری در ۷ روز آخر دوره آزمایش جمع‌آوری شدند. در پایان دوره نیز جهت اندازه گیری فراسنجه های تخمیری با تکنیک تولید گاز از تمامی دام‌ها مایع شکمبه گرفته شد. نتایج نشان داد که قابلیت هضم ظاهری ماده خشک جیره‌ها (به ترتیب ۶۳/۵۵، ۷۰/۷۰، ۷۱/۷۳ و ۷۵/۸۰ درصد) با افزایش مقدار بلوط به طور خطی افزایش یافت. میزان pH (به ترتیب ۶/۲۹، ۶/۲۳، ۶/۱۷ و ۵/۹۰) و غلظت نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه (به ترتیب ۱۵/۶۶، ۱۳/۷۵، ۱۳/۵۸ و ۱۳/۱۱) با افزایش سطح بلوط در جیره به طور خطی کاهش یافتند. پتانسیل تولید گاز، ماده خشک مصرفی، قابلیت هضم ظاهری فیبر نامحلول در شوینده خنثی و فیبر نامحلول در شوینده اسیدی تحت تأثیر جیره‌های آزمایشی قرار نگرفتند. بنابراین با توجه به عدم تاثیر منفی تانن بلوط، می‌توان از میوه بلوط به عنوان منبع با ارزشی از کربوهیدرات و انرژی در جیره گوسفند استفاده نمود.

واژه‌های کلیدی: تکنیک تولید گاز، فراسنجه های تخمیری، هضم الیاف نامحلول در شوینده خنثی و اسیدی

مقدمه

شرایط اقلیمی خشک و نیمه خشک و کمبود نزولات آسمانی در ایران همراه با کاهش تولیدات زراعی موجب شده است تا تغذیه دام بخش قابل توجهی از هزینه دامپروری را به خود اختصاص دهد و درآمدهای ناشی از تولید فراورده‌های دامی را متأثرسازد. همچنین طی دهه‌های اخیر، در ایران تقاضا برای فراورده های دامی در نتیجه رشد جمعیت و پیشرفت‌های اقتصادی رشد روز افزونی را در پی داشته است (۱۰). از طرفی با پیشرفت تکنولوژی و بکارگیری روش های نوین برای تبدیل و فرآوری مواد غذایی، مقادیر متنابهی از منابع خوراک دامی قابل رقابت با منابع غذایی انسانی شده است. از جمله این مواد می‌توان از منابع انرژی‌زای نشاسته‌ای مثل ذرت، گندم و جو نام برد (۱)، به طوری که ضرورت جایگزینی منابع انرژی‌زایی که کمتر مورد استفاده انسان بوده و هزینه تولید آن‌ها کمتر باشد احساس می‌شود. مشکل عمده در استفاده ازاین خوراک های نامتعادل وجود مواد ضد تغذیه ای ازجمله تانن و اثر منفی آن روی دام می‌باشد. تانن‌ها براثر ساختار مولکولی به دو گروه تانن متراکم و تانن قابل هیدرولیز طبقه بندی می‌شوند (۲۷). وجود تانن درخوراک موجب کاهش غلظت آمونیاک (۳۳) و کاهش pH (۴۱) در شکمبه می‌شود. همچنین، این ترکیبات به عنوان مهار کننده رشد میکروارگانیسم های شکمبه شناخته شده اند، هرچند مکانیسم ایجاد کننده این مهار چندان مشخص نیست (۲۹). یکی از منابع تانن دار در کشور ما میوه درخت بلوط است. سطح وسیعی از کشور را جنگل‌های بلوط پوشش داده است که وسیع‌ترین مناطق رویش آن استان‌های کرمانشاه، ایلام، لرستان، چهارمحال بختیاری، کهکیلویه و بویراحمد، فارس، مازندران، گیلان و شمال شرق خوزستان است (۲). میوه بلوط به علت داشتن مقادیر بالایی هیدرات کربن که عمدتاً نشاسته می‌باشد (۸۰ تا ۹۰ درصد مواد قندی) دارای انرژی بالایی است (۵). بهمنی نیا (۵)، گزارش نمود که میوه بلوط حاوی ۹۱درصد ماده خشک، ۴/۷۵ درصد پروتئین و ۵ درصد چربی می باشد همچنین بیان نمود دانه بلوط حاوی ۸/۸ درصد تانن بوده که ۵۷ درصد آن قابل هیدرولیز بوده و اصلی‌ترین ماده تاننی آن اسیدتانیک است. بنابراین با توجه به فراوانی میوه بلوط در مناطقی از کشور و ارزش تغذیه ای آن به عنوان یک

۱، ۲، ۳، ۴ و ۵- به ترتیب دانش آموخته کارشناسی ارشد، استادیار، دانشیار و استادیاران گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان
(*- نویسنده مسئول: Email: mortezachaji@yahoo.com)

منبع انرژی به لحاظ نشاسته بالا از یک طرف و وجود تانن به عنوان یک ماده ضد تغذیه ای که ممکن است ارزش غذایی آن را متاثر سازد از طرف دیگر، آزمایش حاضر طراحی گردید تا ارزش آن را به عنوان جزئی از جیره تعیین نماید.

مواد و روش ها

جهت اجرای این آزمایش ۱۶ رأس گوسفند عربی با میانگین وزن زنده ۳ ± ۴۵ کیلوگرم انتخاب شدند و به صورت تصادفی به هر جیره ۴ راس دام اختصاص یافت. گوسفندان در قفس های متابولیکی به صورت انفرادی نگه داری شدند. آزمایش در یک دوره ۲۸ روزه شامل ۲۱ روز عادت پذیری و ۷ روز رکوردگیری در قالب طرح کاملا تصادفی انجام گرفت. جیره‌ها برطبق استانداردهای غذایی NRC (۳۴) تنظیم شدند (جدول ۱). جیره‌های آزمایشی شامل سه سطح میوه بلوط (۲۱، ۴۲ و ۶۳ درصد بلوط در ماده خشک) و تیمار شاهد (بدون بلوط) بودند. جیره ها به صورت کاملا مخلوط (۳۰ درصد علوفه و ۷۰ درصد کنسانتره) تهیه و روزانه در ساعت های ۸ و ۱۶ در اختیار دام ها قرار داده شدند. آب تازه نیز به طور مداوم در اختیار آنها قرار گرفت.

به منظور مطالعه قابلیت هضم ظاهری جیره ها (شرایط *in vivo*) نمونه گیری از خوراک، باقیمانده خوراک و مدفوع در ۷ روز آخر دوره انجام گرفت. در دوره نمونه گیری مقدار خوراک مصرفی و باقیمانده آن به طور روزانه ثبت شد. کل مدفوع دفعی گوسفندان جمع آوری شده و پس از توزین روزانه، نمونه ای برداشته شد و در ۲۰- درجه قرار گرفت. پس از مخلوط کردن نسبی نمونه های مدفوع روزانه، نمونه نهایی جهت تعیین ترکیب مواد مغذی آن تهیه شد. نمونه‌ها در آون با دمای ۶۰ درجه سلسیوس به مدت ۴۸ ساعت خشک شدند، با آسیاب دارای الک یک میلی متری پودر شد و سپس الیاف نامحلول در شوینده خنثی (NDF) نمونه ها با استفاده از روش ون سوست و همکاران (۳۹)، الیاف نامحلول در شوینده اسیدی (ADF) و ماده خشک با روش استاندارد (۱۳) اندازه گیری شد. قابلیت هضم هر یک از این مواد مغذی بر اساس مقدار آن در خوراک مصرفی، باقیمانده و مدفوع اندازه گیری شد.

برای بررسی خصوصیات تخمیری شکمبه، در آخرین روز دوره ۳ ساعت بعد از خوراک‌دهی صبح شیرابه شکمبه به روش لوله معدی به صورت مجزا از گوسفندان تغذیه شده با جیره های آزمایشی جمع‌آوری گردید. بلافاصله میزان pH با دستگاه pH متر اندازه گیری شد. برای اندازه گیری نیتروژن آمونیاکی، نمونه هایی از مایع شکمبه صاف شده با نسبت مساوی با اسید کلریدریک ۰/۲ نرمال مخلوط شده و نگهداری شدند. غلظت نیتروژن آمونیاکی شکمبه با استفاده از روش فنول-هیپوکلرایت با روش اسپکتروفتومتری و منحنی استاندارد اندازه گیری شد (۱۵).

در آزمایش حاضر برای بررسی تاثیر حضور بلوط و تانن آن در جیره بر ارزش تغذیه ای جیره ها برای گوسفندان، با توجه به اینکه تکنیک تولید گاز روش مناسبی برای تعیین اثر مواد ضد تغذیه ای می باشد از گوسفندانی که با مقادیر مختلف بلوط تغذیه شده بودند به صورت مجزا مایع شکمبه به روش لوله معدی اخذ شد و ارزش غذایی جیره های آزمایش مربوط به دام های هر تیمار با تکنیک تولید گاز مطالعه گردید. میزان گاز تولیدی حاصل از تخمیر شکمبه‌ای بر طبق روش منک و استینگس (۳۰)، اندازه گیری شد. شیرابه شکمبه به صورت مجزا از گوسفندان تغذیه شده با جیره های آزمایشی جمع‌آوری گردید. مقدار ۰/۵ گرم از ماده خشک جیره های آزمایشی در داخل سرنگ‌های ۱۰۰ میلی لیتری شیشه‌ای ریخته شد و همراه با مایع شکمبه و بزاق مصنوعی (با نسبت یک به دو) انکوبه شد. حجم گاز تولیدی در زمان‌های ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۲، ۲۴، ۳۶، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت قرائت گردید. داده‌های گاز تولیدی با استفاده از مدل نمایی $Y = b(1 - e^{-ct})$ برازش شد (۳۵). در مدل، b گاز تولید شده از بخش قابل تخمیر و c نرخ تخمیر (سرعت تولید گاز) بود. همچنین گوارش پذیری ماده آلی (OMD) با استفاده از رابطه منک و استینگس (۳۰) برآورد شد:

قابلیت هضم ماده آلی (گرم بر کیلو گرم ماده آلی) = ۰/۶۵۱ Ash+ ۴/۵CP + ۸/۸۹GP +۱۴۸/۸

در این معادله:

GP = گاز تولیدی در زمان ۲۴ ساعت

CP = درصد پروتئین ماده انکوبه شده

Ash = درصد خاکستر ماده انکوبه شده

شمارش پروتوزآ: برای شمارش پروتوزوآهای شکمبه پس از تهیه مایع شکمبه، برای ثابت کردن (کشتن) پروتوزوآها، از محلول ثابت کننده فرم آلدهید ۱۰ درصد استفاده شد (۱۰ میلی لیتر مایع شکمبه با ۱۰ میلی لیتر فرم آلدهید ۱۰ درصد مخلوط گردید). سپس نمونه ها جهت رنگ آمیزی و شمارش به آزمایشگاه منتقل گردید. رنگ آمیزی با متیلن بلو و شمارش با استفاده از میکروسکوپ نوری و لام انجام پذیرفت (۲۴ و ۴۱).

نتایج و بحث

خوراک مصرفی

میزان خوراک مصرفی برای تیمار های آزمایشی در جدول ۲ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که مصرف اختیاری ماده خشک (کیلوگرم در روز) تحت تأثیر جیره های آزمایشی قرار نگرفت ($P>0/05$)، اگر چه با افزایش سطح بلوط خوراک مصرفی به طور خطی کاهش جزئی یافت.

جدول ۱ - اجزاء و ترکیب مواد مغذی جیره های آزمایشی

	جیره های آزمایشی			
	تیماریک	تیماردو	تیمارسه	تیمارچهار
اجزاء جیره ها (درصد ماده خشک)				
سویا	۰	۵	۹	۷
ذرت	۲۰	۰	۰	۰
بلوط	۰	۲۱	۴۲	۶۳
جو	۱۶	۴۴	۱۹	۰
سبوس	۳۴	۰	۰	۰
کاه	۳۰	۲۵	۲۰	۰
یونجه	۰	۵	۱۰	۳۰
ترکیب مواد مغذی (درصد)				
تانن	۰	۲/۰۳	۴/۰۶	۶/۰۹
ADF	۱۵/۵۳۳	۱۲/۱۶۳	۱۱	۹/۳۳
NDF	۳۷/۲۴۵	۳۰/۰۴۰	۲۵/۶۶۳	۱۷/۸۸۸
انرژی قابل متابولیسم (کیلوکالری بر کیلوگرم)	۲۵۰۰	۲۵۰۰	۲۵۰۰	۲۵۰۰
کربوهیدرات‌های غیر الیافی (NFC[1])	۲۸/۴	۲۹/۱	۳۳/۶۹	۳۶/۴۹
پروتئین	۱۱	۱۱	۱۱	۱۱

1- Non-fibrous carbohydrate

وهمنی (۱۲)، گزارش کرد مصرف ماده خشک (بر حسب درصد وزن بدن) در گاوهایی که از ۶ درصد ماده خشک فراورده فرعی پسته (حاوی ۴/۱ درصد تانن) در جیره مصرف می‌کردند، نسبت به جیره شاهد و جیره حاوی ۲ درصد ماده خشک فراورده فرعی پسته به طور معنی داری کاهش یافت، در حالی که مصرف ماده خشک (کیلوگرم در روز) تحت تأثیر تیمارها قرار نگرفت و تنها با افزایش سطح فراورده فرعی پسته در جیره، روند کاهشی دیده شد. این محقق کاهش مصرف خوراک را به خوش خوراک نبودن آن که ناشی از تانن می باشد، فیبری بودن و تجزیه پذیری کند فراورده فرعی پسته در شکمبه نسبت داد. شارما و همکاران (۳۶)، بیان نمودند با افزایش جایگزینی کاه گندم با سطوح مختلف برگ بلوط در جیره گوساله در شرایط *in vivo* میزان مصرف خوراک افزایش یافت. آن‌ها علت این افزایش را وجود کربوهیدرات‌های غیر ساختمانی و خوشخوراکی بیشتر برگ بلوط نسبت به علوفه های خشبی بیان کردند. لذا با توجه به آزمایش های فوق، علت کاهش مصرف ماده خشک در آزمایش حاضر را می‌توان به تانن ها و اثر منفی این ترکیبات بر خوشخوراکی جیره ها مرتبط دانست و علت این که این کاهش خطی مصرف خوراک با افزایش سطح بلوط در جیره جزئی بوده و معنی دار نشده است، می‌تواند بالا بودن کربوهیدرات‌های غیر ساختمانی در بلوط باشد. با توجه به اینکه مصرف ماده خشک به ازای وزن بدن با افزایش سطح بلوط در جیره نیز روند کاهشی نشان داد؛ دلیل دیگر کاهش مصرف را شاید بتوان pH شکمبه پایین تر که ناشی از نشاسته بالاتر است دانست، زیرا جیره های حاوی بلوط بیشتر، فیبر کمتری دارند و انتظار می رفت بیشتر مصرف شوند. اما همانطور که در جدول ۲ مشاهده می شود هضم فیبر با افزایش بلوط کمتر شده است (غیر معنی دار) لذا کاهش مصرف را می توان به هضم کمتر نسبت داد اما افزایش هضم ماده خشک می تواند ناشی از هضم جبرانی در بخش‌های بعد از شکمبه باشد در غیر این صورت ممکن است مربوط به اختلاف وزن باشد.

قابلیت هضم ظاهری ماده خشک

نتایج قابلیت هضم ماده خشک که به طور معنی داری تحت تأثیر تیمارها قرار گرفت در جدول ۲ نشان داده شده است. قابلیت هضم ماده خشک تیمارهای آزمایشی به طور خطی با افزایش سطح بلوط در جیره افزایش یافت. اختلاف بین تیمارهای آزمایشی با تیمار شاهد معنی دار بود ($P<۰/۰۵$). به طوری که قابلیت هضم ظاهری ماده خشک برای تیمار چهار با ۶۳ درصد بلوط بیشترین و برای تیمار شاهد کمترین بوده است. همان‌طور که نتایج نشان می‌دهد وجود بلوط در جیره نه تنها اثر منفی بر قابلیت هضم ظاهری کل نداشته است بلکه تا حدی قابلیت هضم را بهبود بخشیده است. بیشتر شدن قابلیت هضم به طور مشخص می تواند به کمتر بودن مقدار الیاف و بیشتر

بودن مقادیر کربوهیدرات‌های غیرالیافی در جیره های حاوی بلوط بیشتر نسبت داده شود (۳۶). زیرا میوه بلوط حاوی مقادیر بالایی از کربوهیدرات‌های غیر ساختمانی بوده و همچنین نتایج آنالیز خوراک (جدول ۱) نشان داده است که جیره های حاوی بلوط بیشتر مقدار الیاف کمتری داشته اند. البته با توجه به این که سهم بیشتر تانن بلوط، تانن قابل هیدرولیز می‌باشد و اکثر باندهای بین تانن قابل هیدرولیز و مواد خوراکی که در محیط خنثی شکمبه ایجاد شده‌اند، در محیط اسیدی بعد از شکمبه شکسته می‌شوند نیز بی‌تأثیر نمی‌باشد (۹). شارما و همکاران (۳۶) با جایگزینی کاه گندم با برگ بلوط (حاوی ۵/۸ درصد تانن) تا ۳۰ درصد جیره گوساله، افزایش خطی در قابلیت هضم مواد مغذی مشاهده کردند. این محققین علت این امر را بالا بودن میزان کربوهیدرات‌های غیر الیافی در دسترس، در جیره‌های حاوی برگ بلوط دانستند. همچنین قاسمی و همکاران (۹) نشان دادند جایگزینی پوست پسته (حاوی۷/۷ درصد ترکیبات فنلی) به جای علف یونجه تا ۵۰ درصد جیره گوسفندان بلوچی منجر به افزایش قابلیت هضم ظاهری ماده خشک شد که علت آن را به بیشتر بودن مقادیر کربوهیدرات‌های غیرالیافی در این جیره‌ها در مقایسه با جیره‌های حاوی علف یونجه نسبت دادند. با این حال فروغ عامری (۷)، با جایگزینی ۵۰ درصد از جیره پایه یونجه با فرآورده فرعی خشک یا سیلو شده پسته، تفاوت معنی‌داری در قابلیت هضم ظاهری ماده خشک، در گوسفندان نر کرمانی گزارش نکرد. در صورتی که بهلولی و همکاران (۴)، با جایگزینی فرآورده فرعی پسته (حاوی ۴/۱ درصد تانن) به جای سیلاژ ذرت، کاهش خطی در قابلیت هضم ظاهری ماده خشک مشاهده کردند. این محققین بیان کردند که در میزان قابلیت هضم ماده خشک عوامل فیزیکوشیمیایی، نوع و میزان کربوهیدرات‌های ساختمانی همراه با حضور تانن و همچنین منشأ تانن مؤثر هستند.

قابلیت هضم ظاهری الیاف نامحلول در شوینده خنثی و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی برای تیمار های آزمایشی در جدول ۲ نشان داده شده است. بر اساس نتایج مشخص شد که بین قابلیت هضم الیاف نامحلول در شوینده اسیدی و الیاف نامحلول در شوینده خنثی در تیمارهای مختلف اختلاف معنی داری وجود ندارد ($P>0/05$)، یعنی اینکه قابلیت هضم الیاف نامحلول در شوینده خنثی و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی تحت تأثیر تیمارها قرار نگرفته‌اند. اگر چه قابلیت هضم الیاف نامحلول در شوینده خنثی با افزایش سطح بلوط جیره به میزان ۲۱ و ۶۳ درصد (تیمار ۲ و ۴ به ترتیب) نسبت به تیمار شاهد کاهش اما در تیمار حاوی ۴۲ درصد بلوط (تیمار ۳) مقداری افزایش داشت.

نتایج پژوهش حاضر احتمالاً بیان کننده این موضوع است که تانن موجود در بلوط نتوانسته است با الیاف موجود در خوراک کمپلکس تشکیل دهد، زیرا اگر این کمپلکس تشکیل می‌شد مطمئناً بر روی قابلیت هضم الیاف تأثیر منفی داشت این کمپلکس حتی اگر در مراحل هضمی بعد از شکمبه شکسته می‌شد تأثیری بر قابلیت هضم الیاف نداشت. زیرا هضم عمده الیاف، میکروبی بوده و در شکمبه رخ می‌دهد (۱۸). همچنین با توجه به اینکه اتصالات تانن با خوراک در محیط اسیدی شکسته می شوند (۹)، می توان بیان داشت که محیط اسیدی تر شکمبه در تیمارهای حاوی سطوح بالاتر بلوط با سست کردن اتصالات احتمالی تانن با الیاف خوراک باعث عدم تاثیر تانن بر قابلیت هضم الیاف گشته است.

فروغ عامری و همکاران (۷)، نیز با افزودن فرآورده فرعی خشک یا سیلو شده پسته که حاوی تانن می‌باشند به جیره گوسفندان نر کرمانی، تغییری در قابلیت هضم ظاهری الیاف خام مشاهده نکردند که موافق نتایج حاضر می‌باشد. مک‌سوینی و همکاران (۲۹)، گزارش کردند که تانن‌ها می‌توانند هضم الیاف را از طریق تشکیل کمپلکس با لیگنوسلولز و کاهش اتصال آن‌ها با میکروارگانیسم‌ها و یا مهار مستقیم میکروارگانسیم‌ها کاهش دهند که با کاهش غیر معنی‌دار هضم الیاف در آزمایش حاضر همخوانی دارد. بیشترین تمایل تانن‌ها برای اتصال به آنزیم‌های خارج سلولی است، بنابراین آن دسته از موادی مانند همی‌سلولز که هضم آنها وابسته به آنزیم‌های خارج سلولی است بیشتر تحت تأثیر تانن قرار می‌گیرد (۲۳).

میزان pH شکمبه یکی دیگر از عوامل مؤثر بر قابلیت هضم الیاف می‌باشد. تغییرات pH شکمبه بین ۷ تا ۶/۲ اثر ناچیزی روی فعالیت میکروبی دارد. ولی، زمانی که pH به پایین‌تر از ۶/۲ سقوط می‌کند کاهش قابل ملاحظه‌ای در تجزیه الیاف دیده می‌شود، در pH کمتر از ۵ هضم الیاف کاملاً قطع می‌شود (۶). یکی از علل کاهش قابلیت هضم الیاف در تیمار چهار نسبت به تیمار شاهد را می‌توان به پایین بودن pH شکمبه در این تیمار نسبت داد (جدول ۳). با این حال ون سوست (۳۸)، ذکر کرد که کاهش در قابلیت هضم الیاف همیشه به علت کاهش pH شکمبه‌ای نیست. طبق نظر تایت گمیر و همکاران (۳۷)، تجزیه‌پذیری دیواره سلولی بیشتر به ساختمان آن برمی‌گردد تا به شرایطی که بر محیط شکمبه حاکم است. در تحقیق حاضر با افزایش سطح بلوط در جیره نسبت کاه به یونجه کاهش یافته است. که تفاوت‌های ناچیز بین قابلیت هضم الیاف در تحقیق حاضر را می‌توان به متفاوت بودن قسمت علوفه‌ای (کاه و یونجه) جیره‌ها نیز مربوط دانست.

غلظت نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه برای تیمارهای آزمایشی در جدول ۳ نشان داده است که به طور معنی داری تحت تأثیر تیمارها قرار گرفت ($P<0/05$). همان‌طور که مشاهده می‌شود با افزایش سطح بلوط در جیره، غلظت نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه به طور خطی کاهش یافته است ($P<0/05$) که شاید بتوان آن را به اثر تانن بلوط نسبت داد.

جدول ۲- مصرف خوراک و قابلیت هضم جیره های حاوی مغز بلوط در بره های عربی

	تیمار یک	تیمار دو	تیمار سه	تیمار چهار	SEM
ماده خشک مصرفی					
(گرم در روز)	۱۵۵۳/۴۴	۱۴۵۹/۷۲	۱۴۳۲/۸۲	۱۴۰۱/۶۳	۴۶/۴۳
(گرم در روز به ازای وزن زنده بدن)	۳۳/۶۵	۳۱/۱۱	۳۱/۰۴	۳۰/۵۶	۱/۶۲
قابلیت هضم (درصد)					
ماده خشک جیره	۶۳/۵۵[b]	۷۰/۷۰[a]	۷۱/۷۳[a]	۷۵/۸۰[a]	۱/۷۸
NDF	۴۹/۷۰	۴۳/۰۰	۵۳/۱۳	۴۴/۹	۴/۰۹
ADF	۳۹/۹	۲۵/۱۴	۲۱/۸۰	۳۰/۰۰	۵/۲۰

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها، در هر ستون اعداد دارای حروف غیر مشابه از نظر آماری اختلاف معنی داری دارند (P<۰/۰۵). تیمار یک بدون بلوط، تیمار دو حاوی ۲۱ درصد بلوط، تیمار سه حاوی ۴۲ درصد بلوط تیمار چهار حاوی ۶۳ درصد بلوط

در آزمایش دوچی و همکاران (۱۶)، نیز با افزایش سطح برگ بلوط در جیره گاو غلظت نیتروژن آمونیاکی شکمبه کاهش یافت. با این حال یلدیز و همکاران (۴۲)، بیان نمودند که مصرف برگ بلوط کاهشی در غلظت آمونیاک شکمبه ایجاد نکرده است منبع اصلی تأمین نیتروژن برای سنتز پروتئین باکتریایی در شکمبه، آمونیاک حاصل از تجزیه پروتئین خوراک است (۲۷)؛ افزایش قابلیت هضم پروتئین خام در شکمبه و عدم هم‌زمانی بین نیتروژن تولید شده در شکمبه و انتشار کربوهیدرات‌ها باعث افزایش غلظت نیتروژن آمونیاکی در شکمبه می‌شود (۲۲). کاهش تجزیه پذیری پروتئین در شکمبه به دلیل باند شدن تانن با پروتئین خوراک در شرایط خنثی شکمبه (۴۰) و همچنین کاهش رشد باکتری‌های پروتئولیتیک (۳۲) باعث کاهش تولید نیتروژن آمونیاکی در شکمبه و افزایش نیتروژن آمونیاکی وارد شده به دوازدهه می‌شود.

میزان pH شکمبه برای تیمارهای آزمایشی در جدول ۳ نشان داده شده است. که به طور معنی داری تحت تأثیر تیمارها قرار گرفت (P>۰/۰۵). pH شکمبه به طور خطی با افزایش سطح بلوط در جیره کاهش یافت. اختلاف بین تیمارهای آزمایشی با تیمار شاهد معنی دار بود (P<۰/۰۵). به طوری که pH شکمبه برای تیمار شاهد بیشترین و برای تیمار چهار با ۶۳ درصد بلوط کمترین بوده است. مالدار و همکاران (۱۱)، در آزمایشی تأثیر مصرف برگ بلوط را بر pH شکمبه بررسی کرده و گزارش کردند که مصرف برگ بلوط باعث کاهش pH شکمبه می‌شود. با این حال بهلولی و همکاران (۴)، در آزمایشی تأثیر محصولات فرعی پوست پسته بر فراسنجه های شکمبه را بررسی کرده و گزارش کردند که استفاده از تانن در جیره گاوهای هلشتاین تأثیری بر pH شکمبه نداشته است. افزایش محتوای الیاف نامحلول در شوینده اسیدی و الیاف نامحلول در شوینده خنثی خوراک، با تحریک فعالیت نشخوار در دام باعث افزایش pH شکمبه می‌شود (۳).

با توجه به اینکه با افزایش سطح بلوط در جیره محتوای دیواره سلولی کاهش یافته است می‌توان یکی از علل کاهش pH شکمبه با افزایش بلوط را این مسأله دانست. پروتوزوآهای شکمبه دارای خاصیت پایدارکنندگی شکمبه می‌باشند، این احتمالاً به علت هضم سریع و ذخیره نشاسته به وسیله پروتوزوآهای مژکدار است (۲۴)، لذا یکی دیگر از علل کاهش pH شکمبه در آزمایش حاضر می‌تواند کاهش جمعیت پروتوزوآهای شکمبه باشد. زیرا با افزایش بلوط جیره میزان پروتوزوآهای شکمبه کاهش یافت (جدول ۳).

تعیین ارزش غذایی جیره های حاوی بلوط با تکنیک تولید گاز

پارامتر های تولید گاز برای جیره‌های آزمایشی در جدول ۴ نشان داده است در پتانسیل تولید گاز اختلاف معنی داری از نظر آماری بین تیمارهای آزمایشی مشاهده نشد. کاهش بسیار جزئی توان بالقوه تولید گاز با افزایش بلوط در جیره را شاید بتوان به وجود تانن (۱۹، ۲۰ و ۲۲)، و یا فیبرکم تر در جیره دام تغذیه شده با مقدار بیشتر بلوط نسبت داد (۱۷). همبستگی زیادی بین تولید گاز در شرایط آزمایشگاهی همراه با مایع شکمبه و قابلیت هضم ظاهری در شرایط مزرعه‌ای وجود دارد (۳۱). منشأ گاز تولیدی یکی از طریق تخمیر مستقیم و تولید CO_2 و متان و دیگری از طریق بافری شدن اسیدهای چرب تولیدی توسط بیکربنات و تولید CO_2 است.

در اصل بخش بیشتر گاز تولیدی در اثر تولید مستقیم CO_2 و متان است. نرخ تولید متان در دام تحت تأثیر چندین عامل است که شامل، سطح خوراک مصرفی، نوع کربو هیدرات‌های جیره، عمل آوری خوراک، اضافه کردن لیپیدها یا یونوفرها به جیره و تغییر در فلور میکروبی شکمبه و میکرو فلور است (۲۵).

جدول ۳- فراسنجه‌های تخمیری و جمعیت پروتوزوآهای شکمبه گوسفندان تغذیه شده با جیره های حاوی بلوط

تیمار(درصد بلوط)	pH شکمبه	نیتروژن آمونیاکی (میلی گرم/ ۱۰۰ میلی لیتر)	جمعیت پروتوزوآهای شکمبه (سلول در میلی‌لیتر مایع شکمبه)
یک (۰)	۶/۲۹^{a}	۱۵/۶۶^{a}	۸۱×۱۰^{۴a}
دو (۲۱)	۶/۲۳^{ab}	۱۳/۷۵^{b}	۷۸×۱۰^{۴a}
سه (۴۲)	۶/۱۷^{b}	۱۳/۵۸^{bc}	۵۲×۱۰^{۴b}
چهار (۶۳)	۵/۹^{c}	۱۳/۱۱^{c}	۲۸×۱۰^{۴c}
SEM	۰/۰۲۷۸	۰/۱۵۶۵	۲/۲۹۱

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها، در هر ستون اعداد دارای حروف غیر مشابه از نظر آماری اختلاف معنی داری دارند (P<۰/۰۵).

از آنجایی که جیره های حاوی مقادیر بیشتر بلوط، فیبر کمتری داشتند، لذا کم تر شدن جزئی گاز در آنها دور از انتظار نیست، زیرا در جیره های فیبری تر تولید دی اکسیدکربن و متان بیشتر است (۱۷).

حسن سلام و همکاران (۲۲)، بیان نمودند که تانن باعث کاهش تولید گاز در شکمبه می‌شوند که این کاهش تولید گاز به دلایلی همچون کاهش اتصال میکروارگانیسم‌ها به ذرات غذایی (۲۸)، مهار رشد میکروارگانیسم‌ها و مهار فعالیت آنزیم‌های میکروبی (۲۹) رخ می‌دهد. مالدار و همکاران (۱۱)، بیان نمودند که استفاده از برگ بلوط در جیره بزهای نر الموت بدون سابقه قبلی مصرف خوراک تانن دار باعث کاهش پتانسیل تولید گاز در شرایط *in vitro* نسبت به بزهای مرخز با سابقه قبلی مصرف برگ بلوط شده است، اما برخی از محققین نشان داده‌اند که غلظت کم تانن متراکم (کمتر از ۵ درصد ماده خشک) در جیره تأثیر مهمی بر فعالیت تخمیری شکمبه نداشته است (۱۴). دوچی و همکاران (۱۶) بیان داشتند که افزایش سطح برگ بلوط در جیره گاو میزان تولید گاز ناشی از انکوبه کردن علف خشک با مایع شکمبه این دام ها را کاهش ولی برای برگ بلوط افزایش یافته است. همچنین هرواس و همکاران (۲۳)، گزارش کردند که ۸/۳ درصد عصاره تانن در جیره بر پتانسیل تولید گاز کاه گندم اثری نداشته ولی پتانسیل تولید گاز و همچنین نرخ تولید گاز را در یونجه خشک کاهش داده است، بنابراین میزان اثر تانن بر تولید گاز به نوع خوراک انکوبه شده هم بستگی دارد. این محققین همچنین بیان نموده‌اند که مصرف ۲/۸ درصد تانن بر تخمیر شکمبه اثری ندارد. هادی و همکاران (۲۱)، بیان نمودند که بین میزان الیاف نامحلول در شوینده اسیدی و الیاف نامحلول در شوینده خنثی و نرخ تولید گاز همبستگی منفی وجود دارد که این موضوع ممکن است مربوط به کاهش فعالیت میکروبی از طریق افزایش شرایط محیطی مضر هم‌زمان با پیشرفت زمان انکوباسیون باشد. در پژوهش حاضر هیچ‌کدام از سطوح بلوط بر پتانسیل تولید گاز در شرایط تأثیر معنی داری نداشته‌اند ولی بر نرخ تولید گاز اثر داشته است به طوری که بیشترین نرخ تولید گاز مربوط به تیمار چهار با ۶۳ درصد بلوط می‌باشد که علت این امر می‌تواند حضور مقادیر بالای کربوهیدرات‌های محلول در بلوط و کمتر بودن میزان الیاف نامحلول در شوینده اسیدی و الیاف نامحلول در شوینده خنثی در جیره مربوط به این تیمار باشد (سریع الهضم بودن). در کل بر اساس گزارشات موجود در اکثر گونه های گیاهی حاوی تانن ارتباط بین تانن و حجم گاز تولیدی منفی می‌باشد (۲۶)، که پژوهش حاضر آن را تایید می‌کند.

قابلیت هضم ماده آلی به روش تولید گاز

نتایج قابلیت هضم ماده آلی در شکمبه در جدول ۴ نشان داده شده است. بین قابلیت هضم ماده آلی تیمارهای آزمایشی از نظر آماری اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (P>۰/۰۵). اما از نظر عددی با افزایش سطح بلوط در جیره قابلیت هضم ماده آلی در شکمبه به طور خطی کاهش یافت.

یکی از علل کاهش جزئی قابلیت هضم ماده آلی با افزایش سطح بلوط در جیره به وجود تانن در این جیره ها مربوط می‌شود. زیرا تانن‌ها در محیط شکمبه از طریق کمپلکس‌هایی که با تعداد زیادی از مواد مغذی از قبیل کربوهیدرات‌ها، پروتئین‌ها و پلی ساکاریده‌ها ایجاد می‌کنند، بر هضم میکروبی مواد آلی اثر می‌گذارند (۱۸). حسن سلام و همکاران (۲۲)، گزارش کردند که بین قابلیت هضم ماده آلی در روش تولید گاز و میزان ترکیبات فنلی رابطه منفی وجود دارد به طوری که با افزایش ترکیبات فنلی میزان قابلیت هضم کاهش می‌یابد. با این حال اثرات مثبتی نظیر محافظت پروتئین‌ها در مقابل تخمیر شکمبه‌ای به این ترکیبات نسبت داده شده است (۲۷). با اینکه قابلیت هضم ماده آلی در شکمبه با افزایش سطح بلوط در جیره کاهش یافته اما این کاهش معنی‌دار نبوده است. که می‌توان بیان نمود سطح تانن در جیره تا حدی نبوده است که اثرات منفی بر قابلیت هضم داشته باشد. زیرا همان‌طور که نتایج پتانسیل تولید گاز نیز مشخص نمود سطوح بلوط در جیره پتانسیل تولید گاز در شکمبه را محدود نکرده بودند. حسن سلام و همکاران (۲۲)، در بررسی اثر منابع تانن بر تخمیر شکمبه‌ای بیان نمودند که وجود سطوح بالای تانن در جیره باعث کاهش معنی‌داری در قابلیت هضم ماده آلی می‌شود. مالدار و همکاران (۱۱)، نیز با استفاده از برگ بلوط در جیره بزهای نر

الموت بدون سابقه قبلی مصرف برگ بلوط، کاهش معنی‌داری در قابلیت هضم ماده آلی در شکمبه مشاهده کردند. نتایج پژوهش حاضر با یافته‌های این محققین مغایر بود. که علت این مغایرت به ترکیب اجزای دیگر خوراک، سطح تانن مورد استفاده و همچنین نوع و منشأ تانن برمی‌گردد (۸).

نتیجه گیری

نتایج به دست آمده از این پژوهش نشان داد که استفاده از مغز میوه بلوط برای گوسفند عربی حتی تا ۶۳ درصد جیره نیز امکان پذیر می‌باشد. مشخص گردید میوه بلوط نه تنها بر خصوصیات تخمیری و قابلیت هضم اثر منفی نداشته است بلکه در مواردی نظیر قابلیت هضم ظاهری ماده خشک و ماده آلی جیره اثر مثبت نیز داشته است. لذا، می توان پیشنهاد داد که از میوه بلوط به عنوان منبع با ارزشی از کربوهیدرات و انرژی در جیره گوسفند استفاده شود.

جدول ٤ - فراسنجه های تولید گاز در جیره های حاوی سطوح مختلف بلوط طی ۹٦ساعت انکیوباسیون

تیمار(درصد بلوط)	b (میلی لیتر)	c (میلی لیتر در ساعت)	قابلیت هضم ماده آلی جیره (گرم بر گیلوگرم ماده آلی)
یک (۰)	۱۱۲/۱۶۰±۲/۷۰۷	۰/۰۴۶۴±۰/۰۰۳^{c}	۵۶۴/۹۱۸
دو (۲۱)	۱۰۷/۱۰۵±۲/۹۳۸	۰/۰۳۹۹±۰/۰۰۲^{c}	۵۶۴/۳۹۰
سه (۴۲)	۱۱۰/۸۹۴±۳/۰۶	۰/۰۵۸±۰/۰۰۵^{b}	۵۶۴/۰۸۴
چهار (۶۳)	۹۴/۶۴۹±۴/۵۴۰	۰/۰۷۶±۰/۰۱۱^{a}	۵۴۰/۰۴۸
SEM	۵/۸۲۷	۰/۰۰۳	۳۸/۱۹۶

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها، میانگین های هر ستون با حروف غیرمشترک دارای اختلاف معنی دار می باشند ($P < ۰/۰۵$)

قابلیت هضم ماده آلی. $(g.Kg^{-1}) = ۰/۶۵۱Ash + ۴/۵CP + ۸/۸۹GP + ۱۴۸/۸$

منابع

۱- ابرغانی، ا. ۱۳۸۶. بررسی اثر جایگزینی تفاله چغندرقند بجای جو بر عملکرد و خصوصات لاشه بره‌های مغانی. پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین، ۹۷ صفحه.

۲- آینه چی، ی. ۱۳۶۵. مزایای پزشکی گیاهان دارویی ایران. انتشارات دانشگاه تهران.

۳- بالاخیال، ا.، ع. ناصریان، ع. هروی موسوی و ا. شاهرودی. ۱۳۸۷. اثر سیلاژ علوفه کانولا بر عملکرد تولید شیر و فراسنجه های خونی گاوهای هلشتاین در اوایل شیردهی. سومین کنگره علوم دامی کشور.

۴- بهلولی، ع.، ع. ناصریان، ر. ولی زاده و ف. افتخاری شاهرودی. ۱۳۸۶. اثر مصرف فراورده فرعی پسته بر قابلیت هضم ظاهری مواد مغذی، فعالیت نشخوار و عملکرد گاوهای هلشتاین در اوایل دوره شیردهی. مجله علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی. سال سیزده، شماره ۴۷.

۵- بهمنی نیا، ا. ۱۳۸۵. بررسی جایگزینی میوه بلوط با ذرت در جیره جوجه‌های گوشتی. پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین،۵۷ صفحه.

۶- سوان، جی. آر. ۱۳۸۲. جنبه‌های فیزیولوژی تغذیه نشخوارکنندگان. مترجم: سید محمد مهدی طباطبایی. انتشارات دانشگاه بوعلی سینا. ۷۵۸ صفحه.

۷- فروغ عامری، ن. ۱۳۷۶ . تعیین ارزش غذایی و قابلیت هضم پوسته نرم رویی پسته به صورت خشک و سیلو شده . پایان نامه کارشناسی ارشد علوم دامی. دانشگاه صنعتی اصفهان.

۸- فیضی، ر.، م. زاهدی فر، م. دانش مسگران، م. رئیسیان زاده، و و. کاشکی. ۱۳۸۹. اثر افزودن اوره بر روی میزان تانن و گاز پوست انار سیلوشده. چهارمین کنگره علوم دامی ایران، دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران (پردیس-کرج).

۹- قاسمی، س.، ع. ناصریان، ر. ولی‌زاده، و م. بهگر. ۱۳۸۹. اثر ترکیبات فنلی موجود در پوست پسته بر قابلیت هضم و برخی خصوصیات تخمیری شکمبه گوسفندان بلوچی. چهارمین کنگره علوم دامی ایران، دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران (پردیس-کرج).

۱۰- لطفی، ر. و ی. روزبهانی. ۱۳۸۹. بررسی قابلیت هضم ماده آلی پوست پسته با استفاده از مایع شکمبه گوسفندان عادت پذیر. چهارمین کنگره علوم دامی ایران، دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران (پردیس-کرج).

۱۱- مالدار، س. م.، ی. روزبهان، و د. علیپور. ۱۳۸۹. تأثیر دوره عادت دهی به برگ بلوط بر گوارش پذیری آزمایشگاهی و فراسنجه های شکمبه بز الموت. مجله علوم دامی ایران. دوره ۴۱، شماره ۴۳، صفحات ۲۴۳ تا ۲۵۲.

۱۲- وهمنی، پ. ۱۳۸۴ . ترکیب شیمیایی، تجزیه پذیری و ناپدید شدن شکمبه ای - رود ه ای فراورده فرعی پسته و استفاده از آن در جیره گاوهای

شیرده هلشتاین در اواسط شیردهی .پایان نامه کارشناسی ارشد علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد.

13- A.O.A.C. 2000. Association of Official Analytical Chemists Official Methods of Analysis Washington, D. C. U.S.A.
14- Barry, T. N., and W. C. McNabb. 1999. The implications of condensed tannins on the nutritive value of temperate forages fed to ruminants. Br. J. Nutr. 81: 263–272.
15- Broderick, G. A., and J. H. Kang. 1980. Automated simultaneous determination of ammonia and total amino acids in ruminal fluid and in vitro media. J. Dairy Sci. 63: 64–75.
16- Doce, R. R., G. Hervás, A. Belenguer, P. G. Toral, F. J. Giráldez, and P. Frutos. 2009. Effect of the administration of young oak (Quercus pyrenaica) leaves to cattle on ruminal fermentation. Anim. Feed Sci. Technol. 150: 75–85.
17- France, J., and J. Dijkstra. 2005. Volatile Fatty Acid Production. 2nd ed. In: quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism, pp 157. Dijkstra, J., J. M. Forbes, J. France. CABI Publishing, 875 Massachusetts Avenue, 7th Floor, Cambridge, MA 02139, USA
18- Frutos, P., G. Hervás, F. J. Giráldez, and A. R. Mantecón. 2004. Review Tannins and ruminant nutrition. Spanish Journal of Agricultural Research. 2(2):191-202.
19- Frutos, P., G. Hervás, G. Ramos, F. J. Giráldez, and A. R. Mantecón. 2002. Condensed tannin content of several shrub species from a mountain area in northern Spain, and its relationship to various indicators of nutritive value. Anim. Feed Sci. Technol. 95, 215–226.
20- Getachew, G., H. P. S. Makkar, and K. Becker. 2000. Effect of polyethylene glycol on in vitro degradability and microbial protein synthesis from tannin-rich browse and herbaceous legumes. Brit. J. Nutr. 84: 73–83.
21- Haddi, M. L., S. Filacorda, K. Meniai, F. Rollin, and P. Susmel. 2003 In vitro fermentation kinetics of some halophyte shrubs sampled at three stages of maturity. Anim. Feed Sci. Technol. 104:215-225.
22- Hassan Sallam, S. M. A., I. C. Da Silva Bueno, P. B. De Godoy, F. N. Eduardo, D. M. S. Schmidt Vittib, and A. L. Abdalla. 2010. Ruminal fermentation and tannins bioactivity of some browses using a semi-automated gas production technique. Tropical and Subtropical Agroecosystems. 12: 1 – 10.
23- Hervás, G., F. Pilar Frutos, Javier Giráldez, R. Ángel, Mantecón, C. Mar´ıa, and P. Álvarez Del. 2003. Effect of different doses of quebracho tannins extract on rumen fermentation in ewes. Animal Feed Science and Technology. 109:65–78.
24- Hristov, A. N., M. Ivan, L. M. Rode, and T. A. Mc Allister. 2001. Fermentation characteristics and rumen ciliate protozoal populations in cattle fed medium or high barley based diets. Journal of Animal Science. 79, 515–524.
25- Johnson, K. A., and D. E. Johnson. 1995. Methane emissions from cattle. J. Anim. Sci. 73, 2483-2492.
26- Khazaal, K., J. Boza, and E. R. Orskov. 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 polyvinylpolpyrrolidone. Anim. Feed Sci. and Technol. 49:133-149.
27- 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 Rumin. Res. 49, 241–256.
28- McAllister, T. A., H. D. Bae, L. J. Yanke, K. J. Cheng, and A. Muir. 1994. Effect of condensed tannins from birdsfoot trefoil on the endoglucanase activity and the digestion of cellulose filter paper by ruminal fungi. Can. J. Microbiol. 40: 298–305.
29- McSweeney, C. S., B. Palmer, D. M. McNeill, and D. O. Krause. 2001. Microbial interactions with tannins: nutritional consequences for ruminants. Anim. Feed Sci. Technol. 91:83–93.
30- Menke, K. H., and H. Steingass. 1988. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and in vitro gas production using rumen fluid. Anim. Res. Develop.28:7-55.
31- Menke, K. H., L. Raab, H. Salewski, D. Fritz, and W. Schneider. 1979. The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminal feedstuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquid in vitro. Journal of Agricultural Science. 93: 217-222.
32- Min, B. R., G. T. Attwood, W. C. McNabbb, A. L. Molanb, and T. N. Barry. 2005. The effect of condensed tannins from Lotus corniculatus on the proteolytic activities and growth of rumen bacteria. J. Anim. Feed. Sci. Technol. 121:45–58.
33- Min, B. R., G. T. Attwood, K. Reilly, W. Sun, J. S. Peters, T. N. Barry, and W. C. McNabb. 2002. Lotus corniculatus condensed tannins decrease in vivo populations of proteolytic bacteria and affect nitrogen metabolism in the rumen of sheep. Can. J. Microbiol. 48, 911–921.
34- NRC. 1985. Nutritional requirements of dairy cattle. National Academy Press. Washington, D. C.
35- Orskov, E. R., and P. McDonald. 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighed according to rate of passage. J. Agric. Sci. 92: 499-503.
36- Sharma, R. K., B. A. Singh, and A. Sahoo. 2008. Exploring feeding value of oak (Quercus incana) leaves: Nutrient intake and utilization in calves. Livestock Science 118:157–165.

37- Titgemeyer, E. C., M. G. Cameron, L. D. Bourquin, and G. C. Fahey. 1991. Digestion of cell wall components by dairy heifers fed diets based on alfalfa and chemically treated oat hulls. J Dairy Sci. 74:102-1037.
38- Van Soest, P. J. 1994. Nutritional Ecology of the Ruminant. 2 ed. Comstock Publ. Assoc., Ithaca, NY
39- Van Soest, P. J., J. B. Robertson, and B. A. Lewis. 1991. Methods of dietary fiber, neutral detergent fiber, and non starch polysaccharides in relation to animal nutrition. J. Dairy Sci. 74: 3583– 3597.
40- Waghorn, G. C., I. D. Shelton, W. C. McNabb, and S. N. McCutcheon. 1994. Effects of condensed tannin in Lotus pedunculatus on nutritive value for sheep. 2. Nitrogenous aspects. J. Agric. Sci. 123:109–119.
41- Y´a˜nez Ruiz, D. R., A. Moumen, A. I. Mart´ın Garc´ıa, and E. Molina Alcaide. 2004a. 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. J. Anim. Sci. 82, 2023–2032.
42- Yildiz, S., I. Kaya, Y. Unal, D. Aksu Elmali, S. Kaya, M. Cenesiz, M. Kaya, and A. Oncuer. 2005. Digestion and body weight change in Tuj lambs receiving oak (Quercus hartwissiana) leaves with and without PEG. J. Anim. Feed. Sci. Technol. 122: 159-172.