جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مجله علوم دامی ایران
دوره ۴۱، شماره ۳، ۱۳۸۹ (۲۵۲-۲۴۳)

تأثیر دوره عادت‌دهی به برگ بلوط بر گوارش‌پذیری آزمایشگاهی و فراسنجه‌های شکمبه بز الموت

سید مهدی مالدار[۱]، یوسف روزبهان[۲]* و داریوش علیپور[۳]
۱، ۲، دانشجوی سابق کارشناسی ارشد و عضو هیأت علمی دانشکده کشاورزی
دانشگاه تربیت مدرس، ۳، استادیار دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعلی سینا، همدان
(تاریخ دریافت: ۸۹/۳/۱۰ - تاریخ تصویب: ۸۹/۹/۳)

چکیده

هدف این پژوهش، بررسی تأثیر عادت‌دهی به تانن برگ بلوط بر غلظت آمونیاک، pH، جمعیت میکروبی شکمبه، تولید گاز و گوارش‌پذیری حقیقی ماده خشک (IVTDMD) در بزهای الموت (بدون پیشینه مصرف برگ بلوط) در مقایسه با بز مرخز (با پیشینه مصرف برگ بلوط) بود. بدین منظور، بزها به مدت ۲۱ روز با جیره برگ بلوط یا یونجه تغذیه تغذیه شدند. مقادیر ماده خشک (DM)، ماده آلی (OM)، پروتئین خام (CP)، چربی خام (EE)، الیاف نامحلول در شوینده خنثی (NDF)، الیاف نامحلول در شوینده اسیدی (ADF)، لیگنین (ADL) و ترکیبات فنولیک موجود در برگ بلوط با استفاده از روش‌های آزمایشگاهی تعیین شد. علاوه بر این، جمعیت باکتری‌ها (سلولایتیک و پروتئولایتیک) و پروتوزوئرهای شکمبه، میزان pH و غلظت آمونیاک شکمبه اندازه‌گیری شد. روش آزمایشگاهی تولید گاز برای تعیین گوارش‌پذیری ماده آلی (OMD) و برآورد انرژی قابل متابولیسم (ME) و IVTDMD استفاده گردید. مقادیر DM، OM، CP، EE، NDF، ADF، ADL، کل ترکیبات فنولی، تانن کل، تانن متراکم و تانن قابل هیدرولیز برگ بلوط به ترتیب برابر ۹۴۰، ۹۵۰، ۱۱۵، ۳۵/۰، ۵۲۰، ۳۲۰، ۹۸/۰، ۱۱۳، ۱۰۰، ۲۰/۰ و ۹۰/۰ گرم در کیلوگرم ماده خشک بود. میانگین pH، غلظت آمونیاک شکمبه، جمعیت باکتری‌ها (سلولایتیک و پروتئولایتیک) و کل پروتوزوئرهای شکمبه بز الموت به ترتیب برابر ۶/۶۴، ۲۲/۲۶ میلی‌گرم در هر دسی‌لیتر شیرابه شکمبه، ۷/۷۶، ۸/۳۹ و ۵/۶۷ بر اساس لگاریتم در مبنای ۱۰ بود، که پس از عادت‌دهی به برگ به صورت معنی‌داری کاهش یافت ($p<0/01$). حجم گاز تولیدی حاصل از تخمیر آزمایشگاهی برگ بلوط، OMD، ME و ضرایب b و c و IVTDMD برآورد شده با استفاده از شیرابه شکمبه بز الموت تغذیه شده با یونجه برابر ۱۹/۲ میلی‌لیتر، ۳۸/۹ گرم در کیلوگرم ماده خشک، ۵/۸ مگاژول در کیلوگرم ماده خشک، ۲۷/۵ میلی‌لیتر، ۰/۰۵ در ساعت و ۴۹۰ گرم در کیلوگرم ماده خشک بود، که پس از عادت‌دهی به برگ بلوط افزایش یافت ($p<0/01$). از سوی دیگر، افزودن PEG به نمونه‌ها مقادیر مذکور را افزایش داد ($p<0/01$). در مجموع، عادت‌دهی بز الموت به برگ بلوط، تأثیر منفی تانن را کاهش داد و باعث تغییر شرایط تخمیر شکمبه و افزایش گوارش‌پذیری این محصول جانبی شد.

واژه‌های کلیدی: بز، برگ بلوط، عادت‌دهی، فراسنجه‌های شکمبه، گوارش‌پذیری.

* نویسنده مسئول: یوسف روزبهان تلفن: ۰۹۱۲-۳۹۰۵۴۸۱ E-mail: rozbeh_y@modares.ac.ir

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مقدمه

افزایش روز افزون جمعیت و افزایش نیاز به منابع غذایی حاصل از بخش زراعت موجب شده تا تولید محصولات کشاورزی به سوی کشت منابع غذایی مورد مصرف انسان پیش رود. به همین دلیل، تولید و قیمت خوراک‌های متداول دامی با فراز و نشیب زیادی همراه بوده است. بنابراین، فراورده‌های جنبی حاصل از تولید خوراک انسان، سرشاخه درختان و سایر خوراک‌های نامتداول کاربرد بیشتری در تغذیه دام پیدا کرده است. مشکل عمده در استفاده از این خوراک‌ها وجود مواد ضدتغذیه‌ای، از جمله تانن‌ها و اثر منفی آنها بر دام‌های مصرف‌کننده می‌باشد. تانن‌ها بر اساس ساختار ملکولی به دو گروه تانن متراکم و تانن قابل هیدرولیز طبقه‌بندی می‌شوند (Makkar, 2003). وجود تانن‌ها در خوراک موجب کاهش pH (Yanez Ruiz et al., 2004)، غلظت آمونیاک (Min et al., 2002) و اسیدهای چرب فرار (Snyder et al., 2007) در شکمبه گردیده است. همچنین، این ترکیبات به‌عنوان مهارکننده‌های رشد میکروارگانیسم‌های شکمبه شناخته شده‌اند. هرچند، مکانیسم‌های ایجادکننده این مهار چندان شناخته شده نیست (Mcsweeney et al., 2001a). به‌هر حال، پژوهشگران بیان کرده‌اند که در صورت عادت کردن دام به مصرف این نوع مواد خوراکی، مکانیسم‌هایی در آنها شکل می‌گیرد که باعث کاهش آثار منفی ترکیبات ضدتغذیه‌ای آنها خواهد شد (Acamovic & Stewart, 2000). یکی از منابع تانن‌دار در مناطق غرب ایران (از جمله استان‌های کردستان، کرمانشاه و مناطقی از آذربایجان) برگ درخت بلوط می‌باشد که در فصول سرد سال بخشی از خوراک دام را فراهم می‌کند. برگ بلوط حاوی مقدار زیادی ترکیبات فنولیک، از جمله تانن (یک ماده ضدتغذیه‌ای) می‌باشد (Singh et al., 1998) که به‌طور کلی ممکن است باعث کاهش استفاده از مواد مغذی، به ویژه پروتئین و کاهش رشد دام گردد (Norton, 2000). به‌هر حال، در بزهای مرخزی که از بدو تولد به‌صورت سنتی با برگ بلوط تغذیه شده‌اند، هیچگونه اختلالی بروز نمی‌کند، که این امر نشان‌دهنده توانایی بز مرخز (در مقایسه با سایر دام‌ها، مانند بز الموت بدون سابقه قبلی مصرف خوراک تانن‌دار) در استفاده مؤثر از خوراک‌های تانن‌دار، مانند برگ بلوط است. نشخوارکنندگانی که به‌طور مداوم با جیره‌های غنی از تانن تغذیه می‌شوند، معمولاً دارای جمعیت میکروبی توسعه‌یافته‌ای در شکمبه هستند که این جمعیت میکروبی قادر به تحمل تانن بیش از حد است (Tjakradidjaja et al., 2000). در ایران، اطلاعات جامعی در مورد اثر تانن‌ها بر فراسنجه‌ها و جمعیت میکروبی شکمبه بزهای الموت گزارش نشده است. همچنین، در مورد اثر عادت‌دهی این گونه‌ی بز به خوراک‌های تانن‌دار، بویژه برگ بلوط اطلاعاتی وجود ندارد. لذا هدف پژوهش حاضر، بررسی تأثیر عادت‌دهی به برگ بلوط بر گوارش‌پذیری و فراسنجه‌های شکمبه بز الموت (بدون سابقه قبلی مصرف برگ بلوط) بود.

مواد و روش‌ها

تهیه دام و جیره‌های آزمایشی

بزهای نر الموت بالغ ۲ ساله اخته شده با میانگین وزن زنده ۱/۵±۳۶ کیلوگرم (بدون سابقه قبلی مصرف خوراک تانن‌دار) و بزهای مرخز با میانگین وزن زنده ۱/۵±۴۶ کیلوگرم (که از بدو تولد با برگ بلوط تغذیه شده بودند و به این خوراک عادت داشتند) انتخاب گردیدند. دام‌ها مجهز به فیستوله شکمبه بودند. دو نوع جیره غذایی (۱. جیره بر پایه یونجه؛ ۲. جیره بر پایه برگ بلوط) بدون آسیاب کردن به میزان ۱/۱۵ برابر نیاز نگهداری، دو وعده در روز (در ساعت‌های ۸۰۰ و ۱۶۰۰) و به مدت ۲۱ روز در اختیار دام‌ها قرار داده شد. آب تازه نیز به‌طور مداوم در اختیار آنها قرار داشت.

ترکیب شیمیایی خوراک

میزان ماده خشک، پروتئین خام (CP) و خاکستر خوراک بر اساس روش‌های استاندارد AOAC (1990) تعیین شد. دیواره سلولی (NDF) و دیواره سلولی بدون همی‌سلولز (ADF) با استفاده از محلول‌های شوینده خنثی و اسیدی اندازه‌گیری گردید (Van Soest et al., 1991). غلظت لیگنین نامحلول در شوینده اسیدی (ADL) با قرار دادن ADF تحت اثر اسید سولفوریک ۷۲ درصد تعیین شد (Robertson & Van Soest, 1981). برای تعیین ترکیبات فنلی از روش اسپکتروفتومتری استفاده شد. کل ترکیبات فنولی با استفاده از معرف

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

فولین سیوکالتو[1] تعیین شد و با کسر ترکیبات فنولی غیر تاننی از کل ترکیبات فنولی میزان کل تانن به‌دست آمد (Makkar et al., 1993; Makkar, 2000). میزان تانن متراکم طبق روش بوتانول-HCl و میزان تانن قابل هیدرولیز با استفاده از معرف رودانین به‌دست آمد (Makkar, 2000).

فراسنجه‌های شکمبه

برای تعیین pH و آمونیاک شکمبه، در زمان‌های ۰، ۳، ۶ و ۸ ساعت پس از خوراک‌دهی صبحگاهی، از طریق فستوله و از نقاط مختلف شکمبه شیرابه جمع‌آوری شد. میزان pH با استفاده از pH متر (MAFF, 1986)، و غلظت آمونیاک با استفاده از روش فنول- هیپوکلرایت و کاربرد دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد (Broderick & Kang, 1980).

کشت، شمارش و تشخیص جمعیت باکتریایی و پروتوزوایی شکمبه

در پایان تیمارهای آزمایشی، پیش از خوراک‌دهی صبحگاهی نمونه‌گیری از شیرابه شکمبه انجام شد. برای کشت و شمارش جمعیت باکتری‌های سلولایتیک و پروتئولایتیک شکمبه از روش Dehority (2003) استفاده گردید. برای تعیین جمعیت پروتوزوئرهای شکمبه، بخشی از شیرابه شکمبه با محلول نرمال سالین به نسبت ۱ به ۵ رقیق شد و با استفاده از لام هموسیتومتر و میکروسکوپ نوری شمارش پروتوزوئرها صورت گرفت (Ogimato & Imai, 1981; Dehority, 2003).

آزمون تولید گاز

میزان گاز تولیدی حاصل از تخمیر آزمایشگاهی نمونه‌ها بر طبق روش Makkar (2004) اندازه‌گیری شد. شیرابه شکمبه به‌صورت مجزا از بزهای تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی (جیره بر پایه برگ بلوط به منظور عادت‌دهی و جیره بر پایه یونجه) جمع‌آوری گردید. مقدار ۳۷۵ میلی‌گرم برگ بلوط بدون پلی‌اتیلن گلیکول (PEG) یا به‌همراه ۳۷۵ میلی‌گرم PEG 6000 در داخل سرنگ‌های ۱۰۰ میل ی‌لیتری شیشه‌ای ریخته شد و حجم گاز تولیدی در زمان‌های انکوباسیون ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۲، ۲۴، ۳۶، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت قرائت گردید. از PEG به‌عنوان عامل پیوندکننده فنولیک برای پیش‌بینی اثر منفی تانن‌ها استفاده شد (Seresinhe & Iben, 2003). گوارش‌پذیری ماده آلی (OMD) و انرژی قابل متابولیسم (ME) با استفاده از روابط ارائه شده توسط Menke et al. (1979) برآورد شد. داده‌های تولید گاز با استفاده از مدل تغییر یافته $Y=b(1-e^{-ct})$ برازش شد (Ørskov & McDonald, 1979)، که در آن، b گاز تولید شده از بخش ماده آلی به آرامی قابل تخمیر (بخش نامحلول) و c سرعت تخمیر (سرعت تولید گاز) بود.

تعیین گوارش‌پذیری حقیقی در شکمبه (IVTDMD)

برای تعیین گوارش‌پذیری حقیقی، از آزمون تولید گاز استفاده شد. پس از پایان ۲۴ ساعت از شروع آزمون، مقدار گاز تولیدی ثبت شد و محتویات داخل سرنگ به داخل یک بالن حاوی محلول شوینده خنثی (NDS) منتقل، و به مدت یک ساعت جوشانده شد. سپس، با استفاده از پمپ خلأ و کروسیبول فیلتر دار محتویات بالن صاف شد و به آون منتقل گردید و پس از آن توزین گردید. گوارش‌پذیری حقیقی (IVTDMD) در شکمبه با استفاده از رابطه ذیل برآورد شد.

$$\text{گوارش‌پذیری حقیقی در شکمبه} = \frac{\text{وزن نمونه فیلتر شده پس از آون- وزن نمونه اولیه}}{\text{وزن نمونه اولیه}}$$

تجزیه آماری

اطلاعات مربوط به آزمون تولید گاز بر اساس آزمایش فاکتوریل ۲×۲×۲ با استفاده از دو نژاد بز (مرخز و الموت)، دو نوع جیره (جیره برگ بلوط و جیره یونجه) و دو سطح PEG تجزیه گردید و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام شد.

اطلاعات مربوط به میانگین pH شکمبه با استفاده از روش اندازه‌گیری‌های تکراری[2]، براساس مدل $Y_{ijkl}=\mu+D_i+G_{ij}+P_k+e_{ijkl}$ و با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS (1996) تجزیه گردید. سایر اطلاعات به‌دست آمده در این پژوهش، با استفاده از آزمون t-student آنالیز شد.

1. Folin Ciocalteau

2. Repeated measurements

نتایج و بحث

ترکیب شیمیایی برگ بلوط

ترکیب شیمیایی و ترکیبات فنولیک برگ بلوط در جدول ۱ نشان داده شده است. مقادیر به‌دست آمده برای CP، NDF و ADF با نتایج به‌دست آمده توسط Yildiz et al. (2005) و Yousef-Elahi & Rouzbehan (2007) مطابقت داشت، اما با نتایج گزارش شده توسط Ben Salem et al. (2005) هماهنگ نبود. کل ترکیبات فنولیک، تانن متراکم و تانن قابل‌هیدرولیز در پژوهش حاضر در مقایسه با نتایج به‌دست آمده توسط Kamalak et al. (2004) و Ben Salem et al. (2005) بیشتر بود، ولی با نتایج گزارش شده توسط Yousef-Elahi & Rouzbehan (2007) هماهنگی داشت. علت تفاوت ترکیب شیمیایی در این پژوهش‌ها، احتمالاً به محل رویش و گونه بلوط مورد آزمایش مربوط است (Kamalak et al., 2004; Ben Salem et al., 2003).

تأثیر جیره‌های آزمایشی بر pH شکمبه

مقادیر pH شکمبه در جدول ۲ نشان داده شده است. در کل، میانگین pH شکمبه بز الموت تغذیه شده با برگ بلوط در مقایسه با سایر تیمارها کمتر بود (p<۰/۰۱). از لحاظ زمانی، در هنگام مصرف یونجه، میزان pH شکمبه در هیچکدام از زمان‌ها تفاوت معنی‌داری نداشت (p<۰/۰۱)، ولی پس از مصرف برگ بلوط pH شکمبه کاهش معنی‌داری یافت (p<۰/۰۱). در کل، میزان pH شکمبه پیش از مصرف خوراک بیشترین مقدار بود و ۳ ساعت پس از مصرف وعده غذایی به کمترین حد کاهش یافت و سپس در زمان‌های ۶ و ۸ ساعت دوباره افزایش یافت. به‌هر حال، علی‌رغم تفاوت‌های آماری مشاهده شده، میزان pH از لحاظ بیولوژیکی در دامنه طبیعی pH شکمبه (۶/۹-۶/۱) قرار داشت (McDonald et al., 1995).

از لحاظ نوع خوراک، میانگین pH شکمبه در هر دو گونه بز تغذیه شده با برگ بلوط در مقایسه با بزهای تغذیه شده با یونجه اندکی کمتر بود (p<۰/۰۱). نتیجه به‌دست آمده در پژوهش حاضر با برخی پژوهش‌های دیگر مطابقت دارد، که گزارش کرده‌اند تانن‌ها pH را کاهش خواهند داد (Min et al., 2002; Yanez Ruiz et al., 2004). کاهش جمعیت پروتوزوئرها (جدول ۴) در بزهای مصرف‌کننده برگ بلوط احتمالاً در کاهش pH شکمبه نقش داشته است (Eryavuz & Dehority, 2004)، زیرا پروتوزوئرها دارای خاصیت پایدارکنندگی شکمبه هستند (Hristov et al., 2001). به‌هر حال، برخی پژوهشگران نیز گزارش کرده‌اند که خوراک‌های تانن‌دار اثری بر میزان pH شکمبه نداشته است (Bhatta et al., 2005a,b; Yildiz et al., 2005).

جدول ۱- میانگین ترکیب شیمیایی و ترکیبات فنولیک برگ بلوط (گرم در کیلوگرم ماده خشک)

	DM	OM	CP	EE	NDF	ADF	ADL	TP	TT	CT	HT
برگ بلوط	۹۴۰	۹۵۰	۱۱۵	۳۵/۰	۵۲۰	۳۲۰	۹۸/۰	۱۱۳	۱۰۰	۲۰/۰	۹۰/۰

DM؛ ماده خشک، OM؛ ماده آلی، CP؛ پروتئین خام، EE؛ چربی خام، NDF؛ دیواره سلولی، ADF؛ دیواره سلولی بدون همی‌سلولز، ADL؛ لیگنین نامحلول در شوینده اسیدی، TP؛ کل ترکیبات فنولیک، TT؛ تانن کل، CT؛ تانن متراکم، HT؛ تانن قابل هیدرولیز.

جدول ۲- میزان pH شکمبه در زمان‌های مختلف پس از تغذیه

تیمار	زمان پس از تغذیه (ساعت)				میانگین
	۰	۳	۶	۸	
MO	۶/۵۸[ab]	۶/۳۱[b]	۶/۴۳[b]	۶/۵۱[b]	۶/۴۶[ab]
ML	۶/۷۸[a]	۶/۴۷[a]	۶/۵۶[a]	۶/۶۸[a]	۶/۶۲[a]
AO	۶/۴۷[b]	۶/۲۳[c]	۶/۳۲[b]	۶/۴۰[b]	۶/۳۶[b]
AL	۶/۷۹[a]	۶/۵۱[a]	۶/۶[a]	۶/۷۱[a]	۶/۶۴[a]
SEM	۰/۰۰۴	۰/۰۰۲	۰/۰۰۵	۰/۰۰۳	۰/۰۴۱
Sig	**	**	**	**	**

MO؛ بز مرخز تغذیه شده با برگ بلوط، ML؛ بز مرخز تغذیه شده با یونجه، AO؛ بز الموت تغذیه شده با برگ بلوط، AL؛ بز الموت تغذیه شده با یونجه، SEM؛ انحراف معیار میانگین‌ها. حروف لاتین متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح p<۰/۰۵ می‌باشد.

تأثیر جیره‌های آزمایشی بر غلظت آمونیاک شکمبه

غلظت آمونیاک شکمبه دام‌های مورد آزمایش در جدول ۳ نشان داده شده است. منبع اصلی تأمین نیتروژن برای تولید پروتئین باکتریایی در شکمبه آمونیاک حاصل از تجزیه پروتئین خوراک است (Makkar, 2003) و حداقل غلظت مناسب آمونیاک برای رشد میکروبی شکمبه ۵ میلی‌گرم در دسی‌لیتر شیرابه شکمبه می‌باشد (Bhatta et al., 2005a).

غلظت آمونیاک شکمبه بزهای الموت در مقایسه با بزهای مرخز کمتر بود و در هر دو نژاد بز در زمان مصرف برگ بلوط در مقایسه با زمان مصرف یونجه کاهش معنی‌داری یافت (p<۰/۰۱)، که البته این کاهش در بز الموت (بدون پیشینه مصرف برگ بلوط) بسیار قابل توجه‌تر بود. دلایل کاهش غلظت آمونیاک در شکمبه با مصرف برگ بلوط (به ویژه در بز الموت)، احتمالاً تشکیل کمپلکس تانن-پروتئین، مهار فعالیت دی‌آمینازی میکروبی توسط تانن قابل هیدرولیز و در نتیجه کاهش تجزیه پروتئین در شکمبه (Sliwiniski et al., 2002) و همچنین، کاهش رشد باکتری‌های پروتئولایتیک (Min et al., 2005) بوده است.

کاهش غلظت آمونیاک شکمبه در اثر تانن‌ها توسط دیگر پژوهشگران نیز گزارش گردیده است (McSweeney et al., 2001a; Sliwiniski et al., 2002; Bhatta et al., 2005a,b). به‌هر حال، Yildiz et al. (2005) نشان داده‌اند که مصرف برگ بلوط تأثیر معنی‌داری بر غلظت آمونیاک در شکمبه نداشته، هرچند، با افزایش میزان برگ بلوط در جیره، غلظت آمونیاک شکمبه تمایل به کاهش داشته است. در مجموع، غلظت آمونیاک شکمبه در تمامی تیمارها در دامنه غلظت بهینه آمونیاک شکمبه (۳۰-۸/۵ میلی‌گرم در دسی‌لیتر شیرابه شکمبه) قرار داشت (McDonald et al., 1995).

جمعیت باکتری‌های سلولایتیک و پروتئولایتیک و پروتوزوئرهای شکمبه

جمعیت باکتری‌های سلولایتیک و پروتئولایتیک در جدول ۴ نشان داده شده است.

جدول ۳- غلظت آمونیاک در شکمبه (میلی‌گرم در دسی‌لیتر شیرابه شکمبه)

	تیمار				SEM	Sig
	MO	ML	AO	AL		
آمونیاک	۲۰/۹^{c}	۲۲/۷^{a}	۱۶/۲۹^{d}	۲۲/۲۶^{b}	۰/۰۰۵	**

MO؛ بز مرخز تغذیه شده با برگ بلوط، ML؛ بز مرخز تغذیه شده با یونجه، AO؛ بز الموت تغذیه شده با برگ بلوط، AL؛ بز الموت تغذیه شده با یونجه. SEM؛ انحراف استاندارد میانگین‌ها، حروف لاتین مختلف در ردیف نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح (p<0.05) می‌باشد.

جدول ۴- جمعیت باکتری‌های سلولایتیک و پروتئولایتیک و پروتوزوئرهای شکمبه (بر اساس لگاریتم در مبنای ۱۰)

	MO	ML	AO	AL	SEM	Sig
باکتری‌ها						
سلولایتیک	۷/۵۸^{c}	۸/۲۶^{a}	۶/۹۴^{d}	۷/۷۶^{b}	۰/۰۰۲	**
پروتئولایتیک	۸/۱۲^{c}	۸/۶۸^{a}	۷/۸۹^{d}	^{b}۸/۳۹	۰/۰۰۱	**
پروتوزوئرها						
ایزوتریکا (ایزوتریش)[۱]	۲/۸۰^{b}	۲/۹۳^{ab}	۲/۹۰^{ab}	۳/۱۶^{a}	۰/۰۱	Ns
داسیتریکا (داسیتریش)[۲]	۱/۷۳^{c}	۲/۳^{a}	۱/۷۳^{c}	۱/۹۳^{b}	۰/۷۴	**
انتودینیوم[۳]	۳/۰۲^{b}	۳/۱۲^{b}	۳/۱۴^{b}	۳/۳۵^{a}	۰/۰۱	**
دیپلودینیوم[۴]	۰/۹۷^{c}	۲/۹۶^{a}	۱/۸۳^{b}	۳/۰۴^{a}	۰/۰۱	**
اپیدینیوم[۵]	۰/۰۰^{c}	۰/۰۰^{c}	۰/۸۶^{b}	۲/۰۸^{a}	۰/۳۷	**
افریوسکولکس[۶]	۱/۷۳^{b}	۲/۸۱^{a}	۱/۷۳^{b}	۱/۷۳^{b}	۰/۶۳	*
کل جمعیت پروتوزوایی	۴/۶۹^{d}	۵/۲۴^{b}	۴/۹۸^{c}	۵/۶۷^{a}	۰/۰۱	**

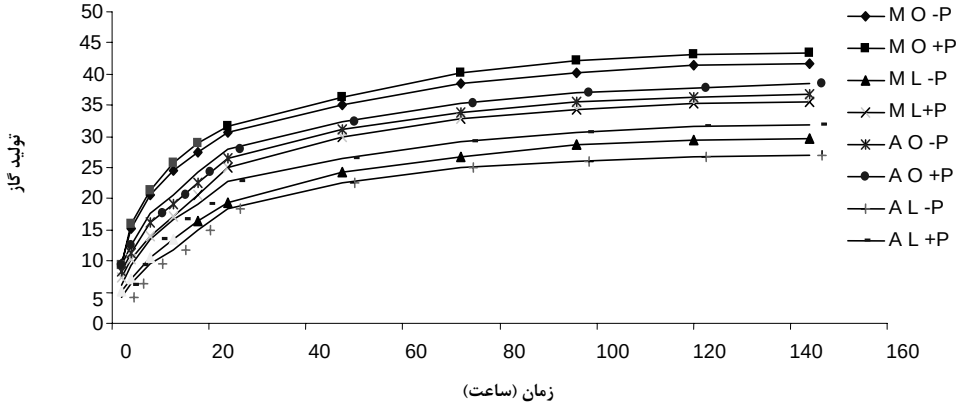
MO؛ بز مرخز تغذیه شده با برگ بلوط، ML؛ بز مرخز تغذیه شده با یونجه، AO؛ بز الموت تغذیه شده با برگ بلوط، AL؛ بز الموت تغذیه شده با یونجه، ۱. Isotricha، ۲. Dasytricha، ۳. Entodininae، ۴. Diplodiniinae، ۵. Epidinium، ۶. Ophryoscolex، SEM؛ انحراف استاندارد میانگین‌ها. حروف لاتین متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح p<۰/۰۵ است.

بیشترین جمعیت باکتریایی در بز مرخز با مصرف یونجه، و کمترین آن در بز الموت با مصرف برگ بلوط مشاهده شد. مصرف برگ بلوط باعث کاهش جمعیت باکتری‌های سلولایتیک و پروتئولایتیک در شکمبه شد (p<۰/۰۱). علت کاهش جمعیت باکتریایی احتمالاً مهار مستقیم میکروارگانیسم‌ها به‌وسیله واکنش‌های متقابل تانن با دیواره سلولی و آنزیم‌های کاتابولیکی ترشح شده و کاهش دسترسی به سوبسترا (به علت ترکیب شدن تانن با کربوهیدرات‌ها، پروتئین و مواد معدنی) می‌باشد (Bae et al., 1993; McSweeney et al., 2001b). همچنین، با مصرف برگ بلوط جمعیت باکتری‌های سلولایتیک کاهش بیشتری در مقایسه با باکتری‌های پروتئولایتیک داشت، به‌طوری که بیشترین نسبت کاهش، مربوط به جمعیت باکتری‌های سلولایتیک در شکمبه بزهای الموت مصرف‌کننده برگ بلوط بود. کاهش بیشتر جمعیت باکتری‌های سلولایتیک شاید به‌صورت غیرمستقیم با جمعیت باکتری‌های پروتئولایتیک در ارتباط باشد، زیرا این عدم تعادل ممکن است منجر به افزایش رقابت بین جمعیت باکتریایی پروتئولایتیک و سلولایتیک و در نهایت کاهش بیشتر باکتری‌های سلولایتیک گردد (McSweeney et al., 2001a). نتایج پژوهش حاضر با گزارش‌های McSweeney et al. (2001b) و Min et al. (2002) مطابقت داشت.

جمعیت پروتوزوئرهای شکمبه در جدول ۴ نشان داده شده است. گونه غالب پروتوزوایی در شکمبه، انتودینیوم بود که مسئول اصلی شکار باکتری‌ها نیز می‌باشد (Baah et al., 2007). انتودینیومورف‌ها مانع کاهش pH شکمبه می‌گردند (Ozutsumi et al., 2005). این جنس بیشترین کاهش را در زمان مصرف برگ بلوط به دنبال داشت، لذا کاهش این دسته می‌تواند دلیلی نیز برای افت pH پس از مصرف برگ بلوط (جدول ۲) باشد. جمعیت کل پروتوزوایی و جمعیت جنس‌های مختلف پروتوزوئرهای شکمبه (به جز جنس افریوسکولکس) با مصرف برگ بلوط، به‌طور معنی‌داری، کاهش یافت (p<۰/۰۱). البته، کل جمعیت پروتوزوایی با مصرف برگ بلوط در بزهای الموت (بدون پیشینه مصرف برگ بلوط) در مقایسه با بزهای مرخز (با پیشینه مصرف برگ بلوط) به‌نسبت بیشتری کاهش یافت. بیشترین کاهش مربوط به جنس دیپلودینیوم بود. این کاهش جمعیت پروتوزوایی با مصرف خوراک تانن‌دار احتمالاً به کاهش تخمیر شکمبه توسط تانن‌ها (Vaithynathun et al., 2007) و ایجاد تفاوت در سرعت مصرف خوراک، تفاوت در میزان تبدیل و تغییر خوراک در شکمبه و افزایش تولید بزاق (Eryavuz & Dehority, 2004) مربوط بوده است.

آزمون تولید گاز

حجم گاز تولیدی حاصل از تخمیر آزمایشگاهی برگ بلوط در زمان‌های مختلف انکوباسیون در شکل ۱ نشان داده شده است.



شکل ۱- میزان تولید گاز در تیمارهای آزمایشی (MO؛ بز مرخز تغذیه شده با برگ بلوط، ML؛ بز مرخز تغذیه شده با یونجه، AO؛ بز الموت تغذیه شده با برگ بلوط، AL؛ بز الموت تغذیه شده با یونجه، P-؛ بدون PEG، P+؛ دارای PEG).

حجم گاز تولیدی حاصل از تخمیر آزمایشگاهی نمونه‌ها برای ۲۴ ساعت (IVGP)، گوارش‌پذیری ماده آلی (OMD)، انرژی قابل متابولیسم (ME)، ضرایب *b* و c و گوارش‌پذیری حقیقی ماده خشک (IVTDMD) در جدول ۵ نشان داده شده است. مؤلفه‌های تولید گاز برگ بلوط تخمیر شده با استفاده از شیرابه شکمبه بز مرخز در مقایسه با بز الموت بیشتر بود؛ یعنی بزهای مرخز در تخمیر برگ بلوط قویتر از بزهای الموت هستند. توانمندی بیشتر بز مرخز (دارای پیشینه مصرف برگ بلوط) با گزارش Smith (1992) همخوانی دارد. وی گزارش کرد وقتی جمعیت میکروبی شکمبه در معرض مواد سمی قرار گیرد، تغییر می‌کند و این پدیده اجازه می‌دهد تحمل نشخوارکنندگان در برابر برخی گیاهان سمی افزایش یابد.

در مورد بز الموت (دام بدون پیشینه مصرف برگ بلوط)، بیشترین میزان ME، OMD، ضرایب *c* و *b* مربوط به تیمار AO+P (شیرابه شکمبه بز الموت عادت‌یافته به برگ بلوط + PEG) و کمترین مقادیر آنها مربوط به تیمار AL-P (شیرابه شکمبه بز الموت بدون عادت‌دهی به برگ بلوط و بدون PEG) بود. در کل، حجم گاز تولیدی حاصل از تخمیر آزمایشگاهی برگ بلوط با استفاده از شیرابه شکمبه بزهای تغذیه شده با جیره برگ بلوط (عادت‌یافته) در مقایسه با بزهای تغذیه شده با جیره یونجه (عادت‌نکرده) بیشتر بود (p<۰/۰۱)؛ یعنی عادت‌دهی دام به خوراک تانن‌دار موجب افزایش حجم گاز تولیدی و گوارش‌پذیری نمونه برگ بلوط گردیده است. مکانیسم‌های احتمالی عادت کردن دام‌ها به اثرات سوء تانن‌ها شامل تولید آنزیم‌های تجزیه‌کننده تانن یا ترکیبات فنولیک (Scalbert, 1991; Lowey et al., 1996)، ترشح پلی‌ساکاریدهایی که توانایی باند شدن با تانن‌ها را دارند (McSweeney et al., 2001a)، و تغییر در جمعیت میکروبی شکمبه (Smith, 1992) بیان گردیده است. نتایج حاصل با گزارش‌های دیگر پژوهشگران مطابقت دارد، که دلیل نتایج به‌دست آمده را به توانایی میکروارگانیسم‌های شکمبه در عادت کردن به ترکیبات فنولیک و تانن‌ها مربوط دانسته‌اند (McSweeney et al., 2001a; Ben Salem et al., 2005; Mlambo et al., 2007).

جدول ۵- فراسنجه‌های تولید گاز مربوط به تخمیر آزمایشگاهی و گوارش‌پذیری حقیقی ماده خشک (IVTDMD) برگ بلوط با استفاده از شیرابه شکمبه بزهای مرخز و الموت تغذیه شده با برگ بلوط یا یونجه

	بز مرخز				بز الموت				SEM	تجزیه فاکتوریل		
	جیره بلوط		جیره یونجه		جیره بلوط		جیره یونجه					
	-PEG	+PEG	-PEG	+PEG	-PEG	+PEG	-PEG	+PEG		نژاد	جیره	PEG
IVGP	۳۰/۵^{b}	۳۱/۵^{a}	۱۹/۴^{g}	۲۵/۹^{e}	۲۶/۵^{d}	۲۷/۳^{c}	۱۹/۲^{h}	۲۲/۸^{f}	۰/۰۹	*	*	*
ME	۷/۴^{b}	۷/۵^{a}	۵/۸^{g}	۶/۷^{c}	۷/۱^{e}	۷/۳^{d}	۵/۸^{g}	۶/۳^{f}	۰/۰۰۳	*	*	*
OMD	۴۹/۰^{b}	۵۰/۰^{a}	۳۹/۱^{g}	۴۴/۹^{e}	۴۸/۰^{d}	۴۹/۰^{c}	۳۸/۹^{g}	۴۲/۱^{f}	۰/۳۶	*	*	*
b	۴۴/۱^{b}	۴۵/۰^{a}	۳۰/۷^{g}	۳۵/۳^{e}	۳۷/۱^{d}	۳۸/۵^{c}	۲۷/۵^{h}	۳۱/۲^{f}	۰/۰۰۵	*	*	*
c	۰/۰۶^{a}	۰/۰۶^{a}	۰/۰۵^{c}	۰/۰۵۷^{ab}	۰/۰۵۵^{b}	۰/۰۵۶^{b}	۰/۰۵^{c}	۰/۰۵۵^{b}	۰/۰۱۰	*	*	*
IVTDMD	۶۵۰^{a}	–	۵۰۰^{c}	–	۵۸۰^{b}	-	۴۹۰^{d}	-	۲/۷	*	*	–

P-: عدم وجودPEG، P+: وجود PEG، IVGP: حجم گاز تولیدی در ۲۴ ساعت (میلی‌لیتر به ازای ۲۰۰ میلی‌گرم ماده خشک تخمیر شده)، ME: انرژی قابل متابولیسم (مگاژول به ازای هر کیلوگرم ماده خشک)، OMD: گوارش‌پذیری ماده آلی (گرم به ازای ۱۰۰ گرم ماده خشک)، *b*: بخش ماده آلی به آرامی قابل تخمیر، *c*: سرعت تخمیر، IVTDMD: گوارش‌پذیری حقیقی ماده خشک (g/kg DM)، SEM: انحراف استاندارد میانگین‌ها، حروف لاتین مختلف در هر ردیف نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ است.

با افزودن PEG، حجم گاز تولیدی و گوارش‌پذیری ماده آلی افزایش یافت (p<۰/۰۱)؛ زیرا به علت میل ترکیبی زیاد PEG با تانن‌ها و تشکیل کمپلکس PEG-tannin، تانن‌ها خنثی می‌شوند (Makkar et al., 1995). افزایش تولید گاز، ME، OMD و بخش *b* با افزودن PEG با نتایج Alipour & Rouzbehan (2007) و Mlambo et al. (2007) هماهنگ بود. اثر PEG در زمان کاربرد شیرابه شکمبه بز الموت در مقایسه با بز مرخز بیشتر بود که نشان می‌دهد میکروب‌های شکمبه با تجزیه تانن یا دیگر مکانیسم‌های عادت‌پذیری قادر به

غیر فعال کردن برخی از تانن‌هایی هستند که این تانن‌ها در دام‌های عادت نکرده به وسیله PEG غیرفعال می‌شوند (Acamovic & Stewart, 2000; McSweeney et al., 2001). همانگونه که در جدول ۵ مشاهده می‌شود، افزودن PEG به نمونه تخمیر شده با استفاده از شیرابه شکمبه بز الموت عادت داده‌شده به برگ بلوط اثر کمتری در افزایش گاز تولیدی داشت (۰/۸ واحد افزایش در IVGP پس از افزودن PEG به تیمار AO در برابر ۳/۶۱ واحد افزایش در IVGP پس از افزودن PEG به تیمار AL). علت این امر، کاهش تأثیر منفی تانن‌ها در اثر تغییر جمعیت میکروبی شکمبه دام‌های مصرف‌کننده برگ بلوط می‌باشد (Mlambo et al., 2007). علاوه بر این، مشخص نیست که PEG بتواند تمامی تانن‌های موجود در ماده خوراکی را خنثی سازد (Makkar, 2003) و همچنین، PEG توانایی کمتری برای کاهش اثر سمی تانن قابل هیدرولیز در مقایسه با تانن متراکم دارد (Mlambo et al., 2007).

نتیجه‌گیری

در مجموع، عادت‌دهی بزهای الموت به برگ بلوط تأثیر منفی تانن‌ها را کاهش داد و باعث تغییر جمعیت میکروبی مستقر در شکمبه و شرایط تخمیر شکمبه این دام شد و گوارش‌پذیری برگ بلوط را نیز بهبود داد. لذا عادت‌دهی ممکن است روشی کاربردی برای مبارزه با آثار ضد تغذیه‌ای تانن‌ها باشد. از سوی دیگر، کاربرد پلی‌اتیلن‌گلیکول موجب بهبود شرایط تخمیر و گوارش‌پذیری شکمبه شد، که البته اثر آن در دام عادت داده شده به برگ بلوط کمتر بود.

REFERENCES

1. Acamovic, T. & Stewart, C. S. (2000). Plant phenolic compounds and gastrointestinal micro-organism. In: Brooker, J. D. (Ed.), Tannins in Livestock and Human Nutrition. In: Proceedings of *an International workshop held in Adelaide*, Australia, 31 May – 2 June 1999. Australia Center for International Agricultural Research (ACIAR), Canberra, Australia, pp, 127-129, ACIAR Proceedings no. 92.
2. Alipour, D. & Rouzbehan, Y. (2007). Effect of ensiling grape pomace and addition of polyethylene glycol on in vitro gas production and microbial biomass yield. *Animal Feed Science and Technology*, 137, 138-149.
3. AOAC. (1990). *Official methods of analysis*. (15th ed.). Association of Official Analytical Chemists. Washington, D.C.
4. Baah, J. Ivan, M. Hristov, A. N., Koenig, K. M., Rode, L. M. & McAllister, T. A. (2007). Effects of potential dietary antiprotozoal supplements on rumen fermentation and digestibility in heifers. *Animal Feed Science and Technology*, 137, 126-137.
5. Bae, H. D., McAllister, T. A., Yanke, J., Cheng, K. J. & Muir, A. D. (1993). Effect of condensed tannins on endoglucanase activity and filter paper digestion by *Fibrobacter succinogenes* S85. *Applied Environmental Microbiology*, 59, 2132–2138.
6. Ben Salem, H., Ben Salem, I. & Ben Saïd, M. S. (2005). Effect of the level and frequency of PEG supply on intake, digestion, biochemical and clinical parameters by goats given Kermes oak (*Quercus coccifera* L.)-based diets. *Small Ruminant. Research*, 56, 127-137.
7. Ben Salem, H., Ben Salem, I., Nefzaoui, A. & Ben Saïd, M. S. (2003). Effect of PEG and olive cake feed blocks supply on feed intake, digestion, and health of goats given Keermes oak (*Quercus coccifera* L.) foliage. *Animal Feed Science and Technology*, 110, 45-59.
8. Bhatta, R., Vaithiyanathan, S., Singh, N. P., Shinde, A. K. & Verma, D. L. (2005a). Effect of feeding tree leaves as supplements on the nutrient digestion and rumen fermentation pattern in sheep grazing semi-arid range of India. I. *Small Ruminant. Research*, 60, 273–280.
9. Bhatta, R., Vaithiyanathan, S., Singh, N. P., Shinde, A. K. & Verma, D. L. (2005b). Effect of feeding tree leaf as supplementation on the nutrient digestion and rumen fermentation pattern in sheep grazing semi-arid range of India. II. *Small Ruminant. Research*, 60, 281–288.
10. 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, 64–75.
11. Dehority, B. A. (2003). *Rumen microbiology*. British Library Cataloguing in Publication Data. First published.
12. Eryavuz, A. & Dehority, B. A. (2004). Effect of *Yucca schidigera* extract on the concentration of rumen microorganisms in sheep. *Animal Feed Science and Technology*, 117, 215–222.
13. Hristov, A. N., Ivan, M., Rode, L. M. & Mc Allister, T. A. (2001). Fermentation characteristics and rumen ciliate protozoal populations in cattle fed medium or high barley based diets. *Journal of Animal*

Science, 79, 515–524.
14. Kamalak, A., Canbolat, O., Ozay, O. & Aktas, S. (2004). Nutritive value of oak (*Quercus* spp.) leaves. *Animal Feed Science and Technology*, 53,161–165
15. Lowry, J. B., McSweeney, C. S. & Palmer, B. (1996). Changing perceptions of the effect of plant phenolics on nutrient supply in the ruminant. *Australian Journal of Agricultural Research*, 47, 829-842.
16. MAFF. (1986). *The Analysis of Agricultural Materials*, ADAS Reference Book 427. Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, London, UK
17. Makkar, H. P. S. (2004). Recent advances in the in vitro gas method for evaluation of nutritional quality of feed resources. In: FAO Animal Production and Health, Assessing Quality and Safety of Animal Feed, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy.
18. Makkar, H. P. S. (2003). Effects and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins, and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds. *Small Ruminant Research*, 49, 241–256.
19. Makkar, H. P. S. (2000). *Quantification of Tannins in Tree Foliage*. Animal Production and Health Section International Atomic Energy Agency. Wagramer Strasse 5, P.O. Box 100. A-1400 Vienna, Austria.
20. Makkar, H. P. S., Blummel, M. & Becker, K. (1995). Formation of complexes between polyvinyl pyrrolidones or polyethylene glycols and tannins, and their implication in gas production and true digestibility in in vitro techniques. *British Journal of Nutrition*, 73, 897-913.
21. Makkar, H. P. S., Blummel, M., Borowy, N. K. & Becker, K. (1993). Gravimetric determination of tannins and their correlation with chemical and protein precipitation methods. *Journal of Science of Food and Agriculture*, 61, 161-165.
22. Makkar, H. P. S. & Singh, B. (1993). Effect of storage and urea addition on de-tannification and *in sacco* dry matter digestibility of mature oak (*Quercus incana*) leaves. *Animal Feed Science and Technology*, 41, 247-259.
23. McDonald, P., Edwards, R. A., Greenhalgh, J. F. D. & Morgan, C. A. (1995). *Animal Nutrition*. 5th Edition. Oliver and Boyd Publishers (UK), pp. 607.
24. McSweeney, C. S., Palmer, B., McNeill, D. M. & Krause, D. O. (2001a). Microbial interactions with tannins: nutritional consequences for ruminants. *Animal Feed Science and Technology*, 91, 83–93.
25. McSweeney, C. S., Palmer, B., McNeil, D. M. & Krause, D. O. (2001b). Effect of the tropical forage Calliandra calothyrsus on microbial protein synthesis and ecology in the rumen. *Journal of Applied Microbiol*, 90, 78-88.
26. Menke, K. H., Raab, L., Salewski, A., Steingass, H., Fritz, D. & Schneider, W. (1979). The estimation of the digestibility and metabolisable energy content of ruminant feeding stuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor *in vitro*. *Journal of Agriculture and Food Science*, 93, 217–222.
27. Min, B. R., Pinchak, W. E., Fulford, J. D. & Puchala, R. (2005). Effect of feed additives on *in vitro* and *in vivo* rumen characteristics and frothy bloat dynamics in steers grazing wheat pasture. *Animal Feed Science and Technology*, 123, 615–629.
28. Min, B. R., Attwood, G. T., Reilly, K., Sun, W., Peters, J. S., Barry, T. N. & McNabb, W. C. (2002). Lotus corniculatus condensed tannins decrease in vivo populations of proteolytic bacteria and affect nitrogen metabolism in the rumen of sheep. *Canadian Journal of Microbiology*, 48, 911–921.
29. Mlambo, V., Sikosana, J. L. N., Mould, F. L., Smith, T., Owen, E. & Mueller-Harvey, I. (2007). The effectiveness of adapted rumen fluid versus PEG to ferment tannin-containing substrates *in vitro*. *Animal Feed Science and Technology*, 136, 128-136.
30. Norton, B. W. (2000). *The significance of tannins in tropical animal production*. In: Brooker J.D (ed) Tannins in livestock and human nutrition, Vol. 92. In: Proceedings of *an international workshop, Adelaide*, Australia, *31 May–2 June 1999, pp. 14-23.*
31. Ogimato, K. & Imai, S. (1981). *Atlas of Rumen Microbiology*. Japan Scientific Societies Press, Tokyo, Japan.
32. Ørskov, E. R. & McDonald, I., (1979). The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighed according to rate of passage. *Journal of Agricultural Science*, 92, 499–503.
33. Ozutsomi, Y. Kiyoshi, T., Takenaka, A. & Itabashi, H. (2005). The effect of protozoa on the composition of rumen bacteria in cattle using 16s rRNA gene clone libraries. *Bioscience of Biotechnology biochemistry*, 69, 499-506.
34. Robertson, J. B. & Van Soest, P. J. (1981). The detergent system of analysis and its application to human foods. In: James, W.P.T., Theander, O. (Eds.), The Analysis of Dietary Fibre in Food. Marcel Dekker, New York, NY, USA, pp. 123–158 (Chapter 9).

35. SAS. (1996). *User's Guide: Statistics*, Version 6.12. SAS Institute Inc., Cary, USA.
36. Scalbert, A. (1991). Antimicrobial properties of tannin. *Phytochemistry*, 30, 3875-3883.
37. Seresinhe, T. & Iben, C. (2003). *In vitro* quality assessment of two tropical shrub legumes in relation to their extractable tannins content. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 87, 109-115.
38. Singh, P., Verma, A. K. Pathak, N. N. & Biswas, J. (1998). Nutritive value of oak (*Quercus semecarpifolia*) leaves in Pashmina kids. *Animal Feed Science and Technology*, 72, 183-187.
39. Sliwiniski, B. J., Soliva, C. R. Machmuller, A. & Kreuzer, M. (2002). Effects of plant rich in secondary constituents modify rumen fermentation. *Animal Feed Science and Technology*, 72, 183-187.
40. Smith, G. S. (1992). Toxification and detoxification of plant compounds by ruminants: an overview. *Journal of Range Management*, 45, 25-30.
41. Snyder, L. J. U., Luginbuhl, J-M., Mueller, J. P., Conrad, A. P. & Turner, K. E. (2007) Intake, digestibility and nitrogen utilization of Robinia pseudoacacia foliage fed to growing goat wethers. *Small Ruminant Research*, 71, 179-193.
42. Tjakradidjaja, A. S., Brooker, J. D. & Bottema, C. D. K. (2000). Characterization of tannin resistant bacteria from rumen fluid of feral goats and camels with restriction analysis of amplified 16S rDNA. In: Brooker J. D. (ed). Tannins in livestock and human nutrition. Vo. 92. In: Proceedings of *an international workshop, Adelaide*, Australia, pp. 161-165.
43. Van Soest, P. J., Robertson, J. B. & Lewis, B. A. (1991). Methods for dietary fibre, natural detergent fibre and non starch carbohydrate in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, 74, 3583-3597.
44. Yanez Ruiz, D. R., Moumen, A., Martin Garcia, A. I. & Molina Alaide, 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, 2023–2032.
45. Yildiz, S., Kaya, I., Unal, Y., Aksu Elmali, D., Kaya, S., Censiz, M., Kaya, M. & Oncuer, A. (2005). Digestion and body weight change in *Tuj* lambs receiving Oak (*Quercus hartwissiana*) leaves with and without PEG. *Animal Feed Science and Technology*, 122, 159-172.
46. Yousef Elahi, M. & Rouzbehan, Y. (2008). Characteriztion of *Quercus persica*, *Quercus infectoria* and *Quercus libani* as ruminant feeds. *Animal Feed Science and Technology*, 140, 78-89.