

اثر سطوح مختلف پوست انار بر فراسنجه‌های تخمیر شکمبه، تجزیه پذیری، تولید گاز و جمعیت پروتوزوا در گوسفند زل

- **یداله چاشنی دل** (نویسنده مسئول)
استادیار گروه علوم دامی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
- **میلاذ قدیری پایین لموکی**
دانش آموخته کارشناسی ارشد تغذیه دام دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
- **اسداله تیموری یانسری**
دانشیار گروه علوم دامی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

تاریخ دریافت: اسفند ۱۳۹۶ تاریخ پذیرش: شهریور ۱۳۹۷

شماره تماس نویسنده مسئول: ۰۹۱۱۳۵۴۴۲۵۳

Email: ychashnidel2002@yahoo.com

شناسه دیجیتال (DOI): 10.22092/asj.2018.121168.1663

چکیده

هدف از این آزمایش بررسی سطوح مختلف پوست انار بر تولید گاز در شرایط آزمایشگاهی و تجزیه پذیری شکمبه‌ای، جمعیت پروتوزوا، فراسنجه‌های تخمیر شکمبه و در گوسفند زل بود. در این مطالعه از ۳ رأس میش دارای فیستولا شکمبه ای نژاد زل با میانگین وزن $40 \pm 2/10$ کیلوگرم و سن تقریبی ۲۴ ماه در قالب یک طرح کاملاً تصادفی، استفاده شد. تیمارهای آزمایشی شامل تیمار شاهد (بدون پوست انار) و تیمارهای حاوی سطوح ۵، ۱۰ و ۱۵ درصد پوست انار بودند. تجزیه پذیری شکمبه‌ای ماده خشک و ایاف نامحلول در شوینده خنثی نشان داد که مقدار بخش تندتجزیه، کندتجزیه و بالقوه قابل تجزیه در تیمار شاهد نسبت به سایر تیمارها به طور معنی داری بیشتر بود ($P < 0/05$). نتایج تجزیه پذیری پروتئین خام بخش تندتجزیه، کندتجزیه و بالقوه قابل تجزیه در تیمار شاهد و تیمار حاوی ۵ درصد پوست انار نسبت به سایر تیمارها به طور معنی داری بالاتر بود ($P < 0/05$). بالاترین میزان کل گاز تولید شده در ۹۶ ساعت، انرژی قابل متابولیسم و قابلیت هضم ماده آلی در جیره شاهد مشاهده گردید و بین جیره‌های آزمایشی نیز تفاوت معنی داری وجود داشت ($P < 0/05$). جمعیت پروتوزوای شکمبه در تیمارهای حاوی سطوح ۱۰ و ۱۵ درصد پوست انار نسبت به تیمارهای شاهد و ۵ درصد پوست انار کم تر بود ($P < 0/05$). pH مایع شکمبه در تیمار حاوی ۱۵ درصد پوست انار نسبت به تیمار شاهد کاهش معنی داری داشت ($P < 0/05$). غلظت اسید بوتیریک و مجموع اسید پروپیونیک و اسید ایزوبوتیریک در تیمار شاهد نسبت به سایر تیمارها بالاتر بود ($P < 0/05$). به طور کلی نتایج نشان داد که مصرف پوست انار تا سطح ۵ درصد در جیره باعث کمترین اثرات منفی روی فراسنجه‌های شکمبه‌ای مانند تجزیه پذیری مواد مغذی و جمعیت پروتوزوا شد.

واژه‌های کلیدی: تجزیه پذیری شکمبه‌ای، پروتوزوا، اسیدهای چرب فرار، پوست انار، گوسفند زل

Animal Science Journal (Pajouhesh & Sazandegi) No 123 pp: 183-196

Effects of different levels of pomegranate peel on ruminal fermentation, degradation parameters, gas production and protozoa population in Zell sheep

By: Yadollah Chashnidel^{1*} Milad Ghadiri Paein lamoki² Asdolah Teymouri Yansari³

1,3-Associate Prof, Dept. of Animal Sciences, Sari University of Agricultural Sciences and Natural Resources

2-MSC Animal Nutrition, Sari University of Agricultural Sciences and Natural Resources

Received: March 2018

Accepted: September 2018

The aim of this experiment was to evaluate the effects of different levels of pomegranate peel on gas production and also ruminal degradation, protozoa population and rumen fermentation parameters in Zell sheep. In this study, three fistulated Zell ewes with a mean weight of 40 ± 2.1 kg and 24 months age were used in a CRD model. The experimental treatments were control (without pomegranate peel) and treatments containing 5, 10 and 15 percent of pomegranate peel in diets. The results of dry matter and NDF degradability showed that the amount of rapidly (a), slowly (b) and potential degradable (a+b) fractions in control treatment was significantly higher than the other treatments ($P < 0.05$). The CP degradability results of rapidly (a), slowly (b) and potential degradable (a+b) fractions in control and treatment containing 5 percent of pomegranate peel were significantly higher than the other treatments ($P < 0.05$). The highest amount of total gas produced in 96 hours, ME and digestibility of OMD were observed in control diet and significant differences were observed between experimental diets ($P < 0.05$). The rumen protozoa population in treatment containing 10 and 15 percent of pomegranate peel were significantly lower compared to control and 5 percent of pomegranate peel treatments ($P < 0.05$). The amounts of ruminal pH was significantly reduced in treatment containing 15 percent pomegranate peel compared to control ($P < 0.05$). Butyric acid and propionic+isobutyric acids concentrations in control treatment was higher than the other treatments ($P < 0.05$). In general, the results showed that the use of pomegranate peel up to 5 percent in the diet caused at least negative effects on rumen parameters such as nutrient degradation and protozoal population.

Key words: Ruminal degradability, Protozoa population, Volatile fatty acids, Pomegranate peel, Zell Sheep.

مقدمه

ها، ساپونین‌ها و روغن‌های اسانسی در این محصولات است (Min و همکاران، ۲۰۰۲). نوع اثر این متابولیت‌ها به مقدار، ساختار شیمیایی و منبع این ترکیبات بستگی دارد (Goel و همکاران، ۲۰۰۵). پوست انار یکی از محصولات فرعی کارخانه‌های آب میوه‌گیری در ایران می‌باشد که میزان تولید سالانه آن حدود ۱۲۰ هزار تن برآورد شده است (Mirzaei-Aghsaghali و همکاران، ۲۰۱۱) و حاوی مقادیر زیادی متابولیت‌های ثانویه مانند اسیدپونیسیک، ساپونین و ترکیبات فنولیک (عمدتاً پونیکالاجین و الاجی‌تانن) است که استفاده از آن‌ها را برای تغذیه دام محدود می‌نماید (Oliveira و همکاران،

شرایط آب و هوایی خشک و نیمه‌خشک و کمبود منابع آبی در برخی کشورها منجر به کاهش کمی و کیفی خوراک‌های دامی شده است. بنابراین استفاده از منابع خوراکی غیر قابل مصرف انسانی می‌تواند با جایگزینی بخشی از مواد خوراکی معمول، سبب جبران بخشی از این کمبودها شود (Alipour و Rouzbehan، ۲۰۰۷). محصولات فرعی کشاورزی از جمله ضایعات حاصل از صنایع تبدیلی محصولات کشاورزی می‌تواند بخشی از جیره نشخوارکنندگان را تشکیل داده و سبب کاهش هزینه جیره غذایی شود. محدودیت اصلی استفاده از برخی از پسماندهای کشاورزی و صنایع تبدیلی، وجود مقادیر زیاد متابولیت‌های ثانویه مانند تانن-

مواد و روش‌ها

این پژوهش در سال ۱۳۹۴ در ایستگاه تحقیقاتی نشخوارکنندگان، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری انجام شد.

پوست انار مورد استفاده در این مطالعه به صورت تازه از میوه باغات انار شهرستان بهشهر واقع در استان مازندران (از ۵۰ باغ مختلف) جمع‌آوری و به وسیله آون در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد خشک شد و برای تجزیه ترکیبات شیمیایی آن به آزمایشگاه تغذیه دام دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری انتقال یافت.

ابتدا نمونه‌های خشک شده پوست انار به وسیله آسیاب دارای الک با قطر منافذ یک میلی‌متر آسیاب شد و سپس مقادیر ماده آلی، خاکستر خام، پروتئین خام، و چربی خام بر اساس روش‌های AOAC (۲۰۰۲) اندازه‌گیری شد. الیاف نامحلول در شوینده خنثی و اسیدی نیز طبق روش Van Soest و همکاران (۱۹۹۱) تعیین شد.

جیره‌های آزمایشی شامل جیره شاهد (بدون پوست انار) و جیره-های حاوی سطوح ۵، ۱۰ و ۱۵ درصد پوست انار خشک شده بود که جایگزین کاه گندم شدند. جیره‌های غذایی به‌وسیله نرم‌افزار جیره‌نویسی^۱ SRNS و بر اساس جداول احتیاجات غذایی^۲ (NRC, ۲۰۰۷) تهیه و آماده‌سازی شدند. مواد خوراکی مورد استفاده و ترکیب شیمیایی جیره‌های آزمایشی در جدول ۱ نشان داده شده است. کل ترکیبات فنولیک، تانن کل و تانن متراکم به روش Makkar (۲۰۰۰) انجام شد. به‌طور خلاصه مقدار ۲۰۰ میلی‌گرم پودر پوست انار در محلول استن: آب (۱۰ میلی‌لیتر، ۷۰:۳۰) حل شد و برای ۱۰ دقیقه در حمام التراسونیک قرار داده شد. سپس در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه در ۳۰۰۰ سانتریفیوژ شد و محلول بالایی تا زمان اندازه‌گیری ترکیبات فنولی در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. کل ترکیبات فنولیک با استفاده از معرف فولین سیوکالتو اندازه‌گیری شد. ترکیبات فنولیک غیرتاننی با استفاده از جذب به پلی‌وینیل-پیرولیدون غیرقابل حل تعیین شد. مقدار تانن کل از تفاوت بین

پوست انار به طور متوسط حاوی ۴ تا ۵ درصد تانن است و تغذیه آن در سطوح بالا می‌تواند سبب بروز مشکلاتی نظیر کاهش قابلیت هضم ماده خشک (Abarghuei و همکاران، ۲۰۱۰) در نشخوارکنندگان شود. عادت کردن دام به مصرف مواد خوراکی حاوی ترکیبات فنولی و تانن باعث کاهش آثار منفی ترکیبات ضدتغذیه‌ای آن‌ها خواهد شد (Stewart و Acamovic، ۲۰۰۰). مقادیر متفاوتی از ترکیبات فنولی در پوست انار در تحقیقات مختلف گزارش شده است. در یک مطالعه روی رقم-های مختلف انار ایرانی، میزان کل فنول‌ها ۲۹۵/۷۹ تا ۹۸۵/۵ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم و تانن متراکم ۵/۵۶ تا ۳۰/۱۱ میلی‌گرم سیانیدین در ۱۰۰ گرم گزارش شد (Tehranifar و همکاران، ۲۰۱۰). همچنین در مطالعه دیگر نیز میزان کل فنول‌های پوست انار در دو رویشگاه استان گلستان بین ۲۸۴ تا ۳۷۲ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم گزارش گردید (مازندرانی و همکاران، ۱۳۸۹).

پوست انار تقریباً ۲۶ الی ۳۰ درصد وزن کل میوه را تشکیل می‌دهد، در سال‌های اخیر فعالیت‌های بیویوژنیک پلی‌فنلی‌های پوست انار توجه بسیاری از پژوهشگران را به خود جلب کرده است. اثرات تانن بر میکروارگانیزم‌های تولیدکننده متان در شکمبه و پروتوزوا به اثبات رسیده است (Mirzaei-Aghsaghali و همکاران، ۲۰۱۱؛ Taher-Maddah و همکاران، ۲۰۱۲)، همچنین تأثیر آن بر کنتیک تولید گاز و تخمیر شکمبه‌ای با توجه به نوع گیاه بسیار متفاوت گزارش شده است (Abarghuei و همکاران، ۲۰۱۳؛ رزم آذر و همکاران، ۱۳۹۵). نتایج مطالعات روی تفاله انار حاکی از تأثیرات متفاوت آن روی برخی فراسنجه-های شکمبه‌ای شامل اسیده‌های چرب فرار (کرمپور و کفیل‌زاده، ۱۳۹۵) و نیتروژن آمونیاکی (رجبی و همکاران، ۱۳۹۴) مایع شکمبه نشخوارکنندگان است. با توجه به این‌که اطلاعات محدودی در مورد اثرات پوست انار و متابولیت‌های ثانویه آن بر فراسنجه‌های شکمبه‌ای گوسفند وجود دارد، در آزمایش حاضر تأثیر سطوح مختلف پوست انار بر تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای، جمعیت پروتوزوا، فراسنجه‌های شکمبه و تولید گاز در گوسفند نژاد زل مورد مطالعه قرار گرفت.

تانن کل و تانن متراکم به دست آمد. ترکیبات شیمیایی و فنولی پوست انار در جدول ۲ ارائه شده است.

کل ترکیبات فنولیک و ترکیبات فنولیک غیرتاننی محاسبه گردید. تانن متراکم به وسیله روش بوتانول اسید کلریدریک تعیین شد (Makkar, ۲۰۰۰). میزان تانن قابل هیدرولیز نیز از تفاوت بین

جدول ۱- مواد خوراکی (درصد در ماده خشک) و ترکیب شیمیایی جیره‌های آزمایشی

جیره‌های آزمایشی				مواد خوراکی
۴	۳	۲	۱	
۲۰/۸۳	۲۰/۸۳	۲۰/۸۳	۲۰/۸۳	دانه جو
۲/۷۸	۲/۷۸	۲/۷۸	۲/۷۸	کنجاله کنجد
۲۷/۷۸	۲۷/۷۸	۲۷/۷۸	۲۷/۷۸	سیلاژ ذرت
۱۲/۷۸	۱۷/۷۸	۲۲/۷۸	۲۷/۷۸	کاه گندم
۲۰/۸۳	۲۰/۸۳	۲۰/۸۳	۲۰/۸۳	سبوس گندم
۱۵/۰۰	۱۰/۰۰	۵/۰۰	۰	پوست انار
۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	مکمل مواد معدنی و ویتامینی ^۲
ترکیب شیمیایی				
۴۰/۹۵	۴۱/۱۲	۴۱/۳۲	۴۱/۵۱	ماده خشک (درصد)
۱۱/۷۲	۱۱/۶۵	۱۱/۵۰	۱۱/۰۸	پروتئین خام (درصد)
۵/۸۰	۵/۵۰	۵/۰۰	۴/۸۵	عصاره اتری (درصد)
۵۰/۲۰	۵۱/۲۰	۵۵/۷۵	۵۷/۲۰	الیاف نامحلول در شوینده خنثی (درصد)
۲/۱۵	۲/۱۲	۲/۱۴	۲/۱۳	انرژی قابل متابولیسم (مگا کالری در کیلوگرم ماده خشک)

۱- جیره‌های آزمایشی شامل: تیمار شاهد (۱) بدون افزودن پوست انار خشک شده، تیمار ۲؛ ۵ درصد پوست انار خشک شده، تیمار ۳؛ ۱۰ درصد پوست انار خشک شده و تیمار ۴؛ ۱۵ درصد پوست انار خشک شده.

۲- هر کیلوگرم از مکمل ویتامینه و معدنی شامل ۵۰۰۰۰ واحد بین المللی ویتامین آ، ۱۰۰۰۰ واحد بین المللی ویتامین د و ۱/۱ گرم ویتامین ای، 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، ۰/۱ گرم کبالت، ۰/۰۱ گرم سلنیم، ۰/۱ گرم ید و ۳ گرم آنتی اکسیدان بود.

جدول ۲- ترکیب شیمیایی پوست انار مورد استفاده در مطالعه (درصد در ماده خشک)

درصد	ترکیبات فنولی	درصد	ترکیب شیمیایی
۱۴/۸۹	کل ترکیبات فنولی	۹۳/۷۵	ماده خشک
۸/۹۴	ترکیبات فنلی غیر تاننی	۴/۶۷	پروتئین خام
۵/۹۴	تانن کل	۹۱/۹۰	ماده آلی
۲/۳۲	تانن متراکم	۹/۱۰	خاکستر
۳/۶۱	تانن قابل هیدرولیز	۳/۵۰	عصاره اتری
		۲۹/۴۵	الیاف نامحلول در شوینده خنثی
		۱۹/۴۱	الیاف نامحلول در شوینده اسیدی

فراسنجه‌های تجزیه پذیری

قرار گرفت. در این آزمایش از کیسه‌های نایلونی با جنس پلی‌استر (داکرون) با قطر منافذ 40 ± 5 میکرومتر و به ابعاد 9×7 سانتی-متر استفاده شد. همه کیسه‌های حاوی نمونه‌های جیره‌های آزمایشی را قبل از قرار دادن در شکمبه، در یک ظرف حاوی آب ولرم با

از تعداد سه رأس گوسفند نژاد زل فیستولاگذاری شده با میانگین وزن $40 \pm 2/10$ کیلوگرم و با میانگین سن ۲۴ ماه به منظور تخمین-فراسنجه‌های تجزیه پذیری استفاده شد. گوسفندان در قفس‌های متابولیکی نگهداری شدند. آب به طور آزاد در اختیار حیوانات

OMD = 14.88 + 0.889 GP + 0.045 CP + 0.0651 Ash
 OMD: قابلیت هضم ماده آلی (گرم در کیلوگرم ماده

خشک)

GP: حجم گاز تولیدی تصحیح شده برای ۲۴ ساعت (میلی

لیتر به ازای ۲۰۰ میلی گرم ماده خشک)

CP: پروتئین خام (گرم در کیلوگرم ماده خشک)

Ash: خاکستر خام (گرم در کیلوگرم ماده خشک)

به منظور شمارش پروتوزوا، مایع شکمبه از طریق فیستولای شکمبه ۱ ساعت قبل از وعده خوراک صبح و همچنین ۱ و ۳ ساعت بعد از آن جمع‌آوری و با استفاده از پارچه ۴ لایه کتان، صاف (Beauchemin و همکاران، ۲۰۰۳) و با حجم مساوی از فرمالین ۱۸ درصد مخلوط شد و پس از رنگ آمیزی با رنگ متیلن بلو، بریلیانت گرین و لوگول در تاریکی و در دمای اتاق به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شد و برای شمارش یک میلی‌لیتر از نمونه رنگ آمیزی شده و با ۹ میلی‌لیتر گلیسرول ۳۰ درصد رقیق کرده و سپس شمارش پروتوزوا با استفاده از لام نئوبار و میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی X40 انجام گرفت. هر نمونه ۴ بار با لام هماتوسیترمتر (نئوبار) مورد شمارش قرار گرفت. نتایج شمارش به صورت غلظت (تعداد پروتوزوا در هر میلی‌لیتر از مایع شکمبه) با استفاده از معادله زیر گزارش شد (Dehority, ۱۹۹۳).

$$N = 10/4 \times a \times d$$

که در آن N تعداد مژه‌داران در ۱ میلی‌لیتر از مایع شکمبه، a تعداد مژه‌داران در ۴ بخش در لام نئوبار و d نرخ رقت نمونه بود.

فراسنجه‌های تخمیر شکمبه

مقدار ۲۰ میلی‌لیتر مایع شکمبه از طریق فیستولای شکمبه در هر دوره از گوسفندان جمع‌آوری و بلافاصله pH آن تعیین شد. برای نگهداری مایع شکمبه به منظور اندازه‌گیری نیتروژن آمونیاکی و اسیدهای چرب فرار، به ۱۰ میلی‌لیتر از مایع شکمبه، ۲ میلی‌لیتر به ترتیب اسید کلریدریک و اسید متافسفریک اضافه و در فریزر (۲۰- درجه سانتی‌گراد) قرار داده شد (Harvatine و همکاران، ۲۰۰۲). برای اندازه‌گیری نیتروژن آمونیاکی از روش

دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه خیسانده شد. کیسه‌های حاوی نمونه در فواصل زمانی ۲، ۴، ۸، ۱۶، ۲۴، ۳۶، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت پس از انکوباسیون از شکمبه خارج شدند و درصد تجزیه‌پذیری ماده خشک، پروتئین خام و لیاف نامحلول در شوینده خنثی نمونه‌ها محاسبه شد. فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری با استفاده از معادله Orskov و McDonald (۱۹۷۹) و با استفاده از نرم‌افزار Neway تخمین زده شدند.

آزمون تولید گاز

از سه رأس گوسفند فیستولادار به منظور تهیه شیرابه شکمبه استفاده شد. شیرابه شکمبه گوسفندان قبل از خوراک صبح به وسیله دستگاه پمپ خلاء جمع‌آوری و در دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد به آزمایشگاه انتقال داده شد. شیرابه با استفاده از چهار لایه پارچه و تحت جریان گاز دی‌اکسید کربن و دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد صاف شد. تیمارهای آزمایشی مورد آزمون شامل شاهد (بدون پوست انار) و تیمارهای حاوی سطوح ۵، ۱۰ و ۱۵ درصد پوست انار بودند. مخلوط بافر حاوی نسبت ۱ به ۴ شیرابه شکمبه و بزاق مصنوعی بود. (Steingass و Menke, ۱۹۸۸). 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 $Y = b(1 - e^{-ct})$ محاسبه شد (Orskov و McDonald, ۱۹۷۹). میزان انرژی قابل متابولیسم از رابطه ۱ و قابلیت هضم ماده آلی با استفاده از رابطه ۲ محاسبه شد (Menke و Steingass, ۱۹۸۸).

رابطه (۱)

$$ME = 2.2 + 0.136 GP + 0.0057 CP + 0.00029 CP^2$$

ME: انرژی قابل متابولیسم (مگاژول بر کیلوگرم)

GP: حجم گاز تولیدی تصحیح شده برای ۲۴ ساعت (میلی

لیتر به ازای ۲۰۰ میلی گرم ماده خشک)

CP: پروتئین خام (گرم در کیلوگرم ماده خشک)

رابطه (۲)

تجزیه پذیری شکمبه‌ای ماده خشک شد، نتایج برخی مطالعات نیز، چنین مکانیسمی را برای کاهش تجزیه پذیری شکمبه‌ای ماده خشک در دام‌های نشخوارکننده توجیه می‌کند (Bhatta و همکاران، ۲۰۰۹). همچنین نتایج مطالعه بخشی‌زاده و همکاران (۱۳۹۰) روی گوسفند نشان داد که تفاله دانه انار دارای کمترین میزان تجزیه پذیری شکمبه‌ای ماده خشک در مقایسه با تفاله انگور بود.

تجزیه پذیری شکمبه‌ای پروتئین خام

نتایج حاصل از تجزیه پذیری شکمبه‌ای پروتئین خام در تیمارهای آزمایشی مختلف در جدول ۳ ارائه شده است. بخش تند تجزیه در تیمارهای حاوی ۱۰ و ۱۵ درصد پوست انار نسبت به سایر تیمارها کاهش معنی داری داشت ($P < 0.05$) و همچنین بخش کند تجزیه و بالقوه قابل تجزیه در تیمار با ۱۵ درصد پوست انار نسبت به سایر تیمارها کاهش معنی داری داشت ($P < 0.05$). نتایج نشان داد که مقادیر تجزیه پذیری شکمبه‌ای پروتئین خام در تحقیق حاضر با افزایش سطح پوست انار در جیره، به طور معنی داری کاهش یافت. همسو با نتایج این آزمایش، نتایج یک مطالعه نشان داد که پس از ۹۶ ساعت انکوباسیون، کمترین میزان تجزیه پذیری پروتئین خام مربوط به تیمار حاوی تفاله انار بود (بخشی‌زاده و همکاران، ۱۳۹۰). کاهش تجزیه پذیری شکمبه‌ای پروتئین خام با افزایش سطح پوست انار در تیمارهای آزمایشی می‌تواند به این دلیل باشد که احتمالاً دسترسی میکروارگانیزم‌های شکمبه به پروتئین، نشاسته و کربوهیدرات‌های محتویات مواد خوراکی در شکمبه کاهش یافته و سبب کاهش تجزیه پذیری شکمبه‌ای ماده خشک و پروتئین خام جیره آزمایشی حاوی سطوح مختلف پوست انار شده است (خسروی و فتحی نسری، ۱۳۹۱؛ McSweeney و همکاران، ۲۰۱۰). پوسته انار از لحاظ میزان پروتئین فقیر است (حدود ۳/۶ درصد براساس ماده خشک) و از لحاظ میزان تانن غنی است، به گونه‌ای که میزان بالای تانن نیز می‌تواند منجر به کاهش قابلیت هضم و عدم دسترسی پروتئین توسط دام شود (Feizi و همکاران، ۲۰۰۷).

تیتراسیون Simpson و Crooke (۱۹۷۱) استفاده شد. اندازه‌گیری اسیدهای چرب فرار مایع شکمبه با دستگاه کروماتوگرافی گازی مدل PHILIPS, PU4410 با ستون 10PEG (طول ۲ متر، قطر ۴۵ میلی‌متر) با دکتور FID و استاندارد ۴- متیل اسید والریک انجام شد (Ottenstein و Bartley، ۱۹۷۱).

تجزیه آماری

طرح آماری مورد استفاده در این آزمایش، طرح کاملاً تصادفی بود و تجزیه آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS (۲۰۰۲) نسخه (۱/۹) با رویه GLM انجام شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن با سطح معنی داری ۰/۰۵ انجام شد. مدل آماری آن به صورت زیر بود:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij}$$

که در آن Y_{ij} ، متغیر وابسته؛ μ ، میانگین کل؛ T_i ، اثر تیمار و e_{ijk} ، اثر خطای آزمایشی می‌باشند.

نتایج و بحث

تجزیه پذیری شکمبه‌ای ماده خشک

نتایج حاصل از تجزیه پذیری شکمبه‌ای ماده خشک تیمارهای مختلف در جدول ۳ ارائه شده است. نتایج نشان داد که مقدار بخش تند تجزیه، کند تجزیه و بالقوه قابل تجزیه در تیمار شاهد نسبت به تیمارهای حاوی پوست انار به طور معنی داری بیشتر بود ($P < 0.05$). نرخ ثابت تجزیه پذیری ماده خشک در تیمارهای مختلف تفاوت معنی داری نداشت. یکی از دلایل احتمالی کاهش تجزیه پذیری شکمبه‌ای ماده خشک با افزایش سطح تانن در مطالعه حاضر می‌تواند به دلیل اتصال تانن‌ها به مولکول‌های بزرگ مثل پروتئین‌ها، کربوهیدرات‌های ساختمانی و نشاسته باشد که آن‌ها را از دسترس فلور میکروبی شکمبه خارج نموده و تجزیه-پذیری شکمبه‌ای را کاهش می‌دهد (Silanikove و همکاران، ۲۰۰۱). همسو با نتایج این آزمایش که افزایش سطح تانن به خصوص در تیمار حاوی ۱۵ درصد پوست انار موجب کاهش نرخ

($P < 0/05$). با توجه به نتایج حاصل، با افزایش سطح پوست انار در جیره و در ادامه آن افزایش مقادیر تانن، کاهش مقادیر تجزیه-پذیری شکمبه‌ای الیاف نامحلول در شوینده خنثی مشاهده شد. همسو با نتایج تحقیق حاضر، نتیجه یک تحقیق در شرایط *in vivo* نیز نشان داد که قابلیت هضم ماده آلی، پروتئین خام و الیاف نامحلول در شوینده خنثی به طور معنی‌داری در تیمار شاهد نسبت به تیمار حاوی تفاله انار بالاتر بود (Shaani و همکاران، ۲۰۱۵).

تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای الیاف نامحلول در شوینده خنثی

نتایج تجزیه‌پذیری بخش تند تجزیه الیاف نامحلول در شوینده خنثی در تیمارهای حاوی ۱۰ و ۱۵ درصد پوست انار نسبت به سایر تیمارها کاهش معنی‌داری داشت ($P < 0/05$) و همچنین بخش کند تجزیه و بالقوه قابل تجزیه در تیمار حاوی ۱۵ درصد پوست انار نسبت به سایر تیمارها کاهش معنی‌داری داشت.

جدول ۳- اثر سطوح مختلف پوست انار جیره‌های آزمایشی بر فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری ماده خشک، پروتئین خام و الیاف نامحلول در شوینده خنثی

احتمال معنی‌داری	خطای استاندارد میانگین‌ها	جیره‌های آزمایشی ^۱				فراسنجه‌ها
		۴	۳	۲	۱	
ماده خشک						
<0/01	0/32	20/69 ^b	21/10 ^b	20/14 ^b	22/90 ^a	a
<0/01	0/19	51/41 ^b	51/12 ^b	51/71 ^b	54/39 ^a	b
<0/01	0/53	72/10 ^b	72/16 ^b	72/85 ^b	77/29 ^a	a+b
<0/01	0/0001	0/39 ^c	0/53 ^b	0/45 ^a	0/45 ^a	c
<0/01	0/12	42/76 ^c	45/36 ^a	44/36 ^b	42/00 ^d	K=0/02
<0/01	0/11	47/80 ^c	50/46 ^a	49/70 ^b	47/43 ^c	K=0/04
<0/01	0/10	56/40 ^c	58/46 ^a	57/76 ^b	57/26 ^b	K=0/06
پروتئین خام						
<0/01	0/18	15/97 ^b	16/23 ^b	18/29 ^a	18/65 ^a	a
<0/01	0/11	50/45 ^c	51/20 ^b	52/08 ^a	52/33 ^a	b
<0/01	0/11	66/42 ^c	67/93 ^b	70/63 ^a	70/73 ^a	a+b
<0/01	0/0004	0/38 ^b	0/42 ^a	0/43 ^a	0/43 ^a	c
<0/01	0/16	56/46 ^c	58/53 ^a	57/63 ^b	57/50 ^b	K=0/02
<0/01	0/29	48/02 ^b	50/60 ^a	50/20 ^a	47/60 ^b	K=0/04
<0/01	0/14	42/86 ^c	45/36 ^a	44/34 ^b	42/08 ^d	K=0/06
الیاف نامحلول در شوینده خنثی						
<0/01	0/20	12/25 ^c	12/62 ^c	13/81 ^b	14/73 ^a	a
<0/01	0/11	37/73 ^d	39/07 ^c	40/02 ^b	43/19 ^a	b
<0/01	0/32	49/99 ^d	51/69 ^c	53/85 ^b	57/92 ^a	a+b
<0/01	0/0004	0/45 ^c	0/47 ^b	0/48 ^{ab}	0/49 ^a	c
<0/01	0/43	40/85 ^b	39/03 ^c	41/83 ^b	45/86 ^a	K=0/02
<0/01	0/51	34/29 ^b	32/43 ^c	35/30 ^b	39/54 ^a	K=0/04
<0/01	0/31	28/86 ^c	30/68 ^b	31/25 ^b	35/37 ^a	K=0/06

۱-جیره‌های آزمایشی شامل: تیمار شاهد (۱) بدون افزودن پوست انار خشک شده، تیمار ۲؛ ۵ درصد پوست انار خشک شده، تیمار ۳؛ ۱۰ درصد پوست انار خشک شده و تیمار ۴؛ ۱۵ درصد پوست انار خشک شده.

میانگین‌ها با حروف غیر مشابه تفاوت معنی‌داری با یکدیگر دارند ($P < 0/05$).

a بخش تند تجزیه؛ b بخش کند تجزیه؛ a+b تجزیه پذیری بالقوه؛ c، ثابت نرخ تجزیه؛ K تجزیه پذیری مؤثر با فرض سرعت عبورهای ۰/۰۲، ۰/۰۴ و ۰/۰۶ درصد در ساعت.

فراسنجه‌های تولید گاز

نداشت (Abarghuei و همکاران، ۲۰۱۴). Mirzaei-Aghsaghali و همکاران (۲۰۱۱) بیان کردند که میزان تولید گاز حاصل از تخمیر به روش آزمون گاز پوست انار نسبت به دانه انار بیشتر بود. ترکیبات شیمیایی مهمترین عامل تعیین کننده فراسنجه‌ها و میزان گاز تولیدی هر ماده خوراکی است و احتمالاً سرعت بالای تولید گاز در تیمار شاهد نسبت به تیمارهای حاوی سطوح مختلف پوست انار تحت تأثیر کربوهیدرات‌هایی قرار می‌گیرد که به تانن‌ها متصل نیستند و نیز به سهولت در دسترس جمعیت میکروبی هستند (Mirzaei-Aghsaghali و همکاران، ۲۰۱۱؛ Anele و همکاران، ۲۰۱۱).

نتایج حاصل از تخمیر پذیری تیمارهای مختلف با آزمون تولید گاز در جدول ۴ ارائه شده است. نتایج نشان داد که میزان کل گاز تولیدی در ۹۶ ساعت و قابلیت هضم ماده آلی در تیمار حاوی ۱۵ درصد پوست انار نسبت به سایر تیمارها کاهش معنی داری داشت ($P < 0/05$). نتایج نشان داد که با افزایش سطح پوست انار در جیره، کاهش معنی داری در فراسنجه‌های تولید گاز مشاهده شد، که همسو با نتایج، مطالعه‌ای است که افزودن ۴/۵ و ۶ درصد عصاره پوست انار سبب کاهش حجم گاز تولیدی در شرایط *in vitro* شد (Maleki Baladi و همکاران، ۲۰۱۴). مخالف با نتایج آزمایش حاضر نیز تفاله انار اثری بر فراسنجه‌های تولید گاز

جدول ۴- اثر سطوح مختلف پوست انار جیره‌های آزمایشی بر فراسنجه‌های تولید گاز

احتمال معنی داری	خطای استاندارد میانگین‌ها	جیره‌های آزمایشی ^۱				فراسنجه‌ها
		۴	۳	۲	۱	
<0/01	0/20	66/27 ^d	72/67 ^c	75/31 ^b	91/84 ^a	تولید بالقوه گاز ^۲
<0/01	<0/001	0/051 ^a	0/050 ^a	0/046 ^b	0/046 ^b	ثابت میزان تولید گاز (در ساعت)
<0/01	0/22	66/13 ^c	68/31 ^b	67/99 ^b	79/78 ^a	قابلیت هضم ماده آلی (درصد)
<0/01	0/29	67/40 ^d	72/05 ^c	76/00 ^b	95/05 ^a	کل گاز تولیدی در ۹۶ ساعت (میلی لیتر)

۱- جیره‌های آزمایشی شامل: تیمار شاهد (۱) بدون افزودن پوست انار خشک شده، تیمار ۲؛ ۵ درصد پوست انار خشک شده، تیمار ۳؛ ۱۰ درصد پوست انار خشک شده و تیمار ۴؛ ۱۵ درصد پوست انار خشک شده.

۲- تولید بالقوه گاز (میلی لیتر به ازای ۲۰۰ میلی گرم ماده خشک خوراک) میانگین‌ها با حروف غیر مشابه در هر سطر تفاوت معنی داری با یکدیگر دارند ($P < 0/05$).

جمعیت پروتوزوا مایع شکمبه

سطوح عصاره تفاله انار، جمعیت کل پروتوزوا مایع شکمبه کاهش یافت. همچنین در یک تحقیق تفاله انار جمعیت پروتوزوا مایع شکمبه را نسبت به تیمار شاهد کاهش داد (Abarghuei و همکاران، ۲۰۱۴). کاهش جمعیت پروتوزوا به وسیله متابولیت‌های ثانویه پوست انار احتمالاً به دلیل ساختار فنولیکی متابولیت‌های آن است که این ساختار منجر به پاره شدن غشاء سلول، غیرفعال شدن آنزیم‌ها و کاهش سوبسترا و یون‌های فلزی مورد نیاز برای متابولیسم سلولی می‌شود (Goel و همکاران، ۲۰۰۵). نتایج یک

نتایج حاصل از شمارش تعداد پروتوزوا مایع شکمبه در تیمارهای مختلف در جدول ۵ ارائه شده است. جمعیت پروتوزوا در تیمارهای حاوی ۱۰ و ۱۵ درصد پوست انار نسبت به تیمارهای شاهد ۵ و ۱۰ درصد پوست انار کاهش معنی داری داشت ($P < 0/05$). نتایج حاصل نشان داد که افزایش سطح پوست انار در جیره که با افزایش سطح تانن نیز همراه است، کاهش معنی داری در جمعیت پروتوزوا مایع شکمبه ایجاد کرد. همسو با این نتایج، رجیبی و همکاران (۱۳۹۰) در آزمایش خود نشان دادند که با افزایش

لذا مهار پروتوزوآ منجر به مهار متانوژن‌ها و کاهش تولید گاز متان می‌شود (Cieslak و همکاران، ۲۰۱۴).

تحقیق روی گاوهای شیری نشان داد که تانن متراکم با کاهش تولید گاز متان منجر به کاهش تولید پروتوزوآ شد و همچنین بین پروتوزوآ شکمبه با متانوژن‌ها رابطه همزیستی مفیدی وجود دارد،

جدول ۵- اثر سطوح مختلف پوست انار جیره‌های آزمایشی بر جمعیت پروتوزوآ مایع شکمبه (میلی لیتر/۱۰^۶ ×)

احتمال معنی داری	خطای استاندارد میانگین‌ها	جیره‌های آزمایشی ^۱				زمان جمع‌آوری مایع شکمبه
		۴	۳	۲	۱	
<۰/۰۱	۰/۰۰۰۹	۰/۴۹ ^b	۰/۵۳ ^b	۰/۶۸ ^a	۰/۷۳ ^a	۱ ساعت قبل از مصرف خوراک
<۰/۰۱	۰/۰۰۰۶	۰/۳۲ ^b	۰/۳۶ ^b	۰/۶۳ ^a	۰/۶۵ ^a	۱ ساعت بعد از مصرف خوراک
<۰/۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۶۰ ^b	۰/۶۲ ^b	۰/۸۴ ^a	۰/۸۸ ^a	۳ ساعت بعد از مصرف خوراک

۱-جیره‌های آزمایشی شامل: تیمار شاهد (۱) بدون افزودن پوست انار خشک شده، تیمار ۲؛ ۵ درصد پوست انار خشک شده، تیمار ۳؛ ۱۰ درصد پوست انار خشک شده و تیمار ۴؛ ۱۵ درصد پوست انار خشک شده.

میانگین‌ها با حروف غیر مشابه در هر سطر تفاوت معنی داری با یکدیگر دارند ($P < ۰/۰۵$).

فراسنجه‌های تخمیر شکمبه

pH مایع شکمبه

نتایج pH مایع شکمبه تیمارهای مختلف در جدول ۶ ارائه شده است. نتایج نشان داد که مقدار pH در تیمار شاهد و ۱۵ درصد پوست انار به ترتیب بیشترین و کمترین مقدار بود و pH تیمارهای حاوی ۵ و ۱۰ درصد پوست انار تفاوت معنی داری با آن‌ها نداشت. احتمالاً یکی از دلایل کاهش pH مایع شکمبه در تحقیق حاضر، تغییر در الگوی باکتری‌های شکمبه به ویژه باکتری‌های تجزیه کننده سلولز باشد (Silanikove و همکاران ۲۰۰۶؛ Gee و همکاران، ۱۹۹۶)، طوری که کاهش pH به ۵/۸ احتمالاً فعالیت باکتری‌ها و سایر میکروارگانیسم‌های تجزیه کننده سلولز در شکمبه را محدود کرده و قابلیت هضم الیاف خام و انرژی قابل متابولیسم را کاهش می‌دهد (Khafipour و همکاران، ۲۰۰۹). همچنین Silanikove و همکاران (۲۰۰۶) بیان نمودند که در شرایط درون تنی، کاهش جذب اسیدهای چرب فرار از دیواره شکمبه در اثر تانن عامل اصلی کاهش pH می‌باشد. همسو با نتایج آزمایش حاضر، کاهش pH بوسیله ساپونین و تانن در مطالعات دیگری نیز مشاهده شده است (محققی و همکاران، ۱۳۹۲؛ Lu و همکاران، ۱۹۸۷).

نیترژن آمونیاکی مایع شکمبه

نتایج غلظت نیترژن آمونیاکی در مایع شکمبه تیمارهای مختلف در جدول ۶ ارائه شده است. غلظت نیترژن آمونیاکی مایع شکمبه در تیمارهای حاوی ۱۰ و ۱۵ درصد پوست انار نسبت به سایر تیمارها کاهش معنی داری داشت ($P < ۰/۰۵$). افزایش معنی دار نیترژن آمونیاکی در تیمار شاهد نسبت به سایر تیمارهای حاوی پوست انار احتمالاً به این دلیل است که زمانی که جمعیت پروتوزوآ در شکمبه تیمارهای فاقد پوست انار زیاد می‌شود به دنبال آن افزایش تجزیه باکتریایی اتفاق می‌افتد، در نتیجه مقدار نیترژن آمونیاکی در شکمبه نیز بیشتر می‌شود (Williams و Coleman، ۱۹۹۱). همسو با نتایج آزمایش حاضر، آزمایش رجیبی و همکاران (۱۳۹۴) نشان دادند که با افزایش سطوح تفاله انار در جیره بره‌های پرواری، غلظت نیترژن آمونیاکی مایع شکمبه کاهش یافت. همچنین در یک مطالعه کاهش معنی دار نیترژن آمونیاکی مایع شکمبه در تیمار حاوی عصاره تفاله انار نسبت به تیمار شاهد مشاهده شد (Abarghuei و همکاران، ۲۰۱۴). برخی از محققین کاهش غلظت نیترژن آمونیاکی مایع شکمبه را افزایش میزان برخی متابولیت‌ها مانند تانن و نقش آن‌ها در آزاد شدن آهسته تر آمونیاک از جیره نسبت دادند (Theodoridou و همکاران، ۲۰۱۱؛ Niderkorn و همکاران، ۲۰۱۲).

جدول ۶- اثر سطوح مختلف پوست انار جیره‌های آزمایشی بر فراسنجه‌های تخمیر شکمبه

احتمال معنی داری	خطای استاندارد میانگین‌ها	جیره های آزمایشی ^۱				فراسنجه‌ها
		۴	۳	۲	۱	
۰/۰۱	۰/۰۹	۹/۷۳ ^b	۹/۸۴ ^b	۱۰/۸۰ ^a	۱۰/۸۵ ^a	نیتروژن آمونیاکی (میلی گرم در دسی لیتر)
۰/۰۲	۰/۰۲	۵/۸۸ ^b	۵/۹۷ ^{ab}	۵/۹۹ ^{ab}	۶/۲۶ ^a	pH
						اسیدهای چرب فرار (میلی مول در لیتر)
۰/۱۴	۰/۷۷	۴۶/۰۷	۴۵/۸۰	۴۵/۸۵	۴۴/۸۵	استیک
۰/۰۳	۰/۶۰	۲۰/۴۲ ^b	۲۰/۴۵ ^b	۲۱/۱۵ ^b	۲۳/۳۲ ^a	بوتیریک
۰/۰۱	۰/۱۱	۲۱/۲۷ ^b	۲۱/۵۰ ^b	۲۱/۷۰ ^b	۲۲/۶۲ ^a	پروپیونیک + ایزو بوتیریک
۰/۶۳	۰/۳۸	۳/۲۲	۳/۱۰	۳/۱۲	۳/۷۷	ایزو والریک
۰/۵۰	۰/۲۵	۲/۴۵	۲/۸۷	۲/۶۰	۳/۳۵	والریک

۱- جیره‌های آزمایشی شامل: تیمار شاهد (۱) بدون افزودن پوست انار خشک شده، تیمار ۲؛ ۵ درصد پوست انار خشک شده، تیمار ۳؛ ۱۰ درصد پوست انار خشک شده و تیمار ۴؛ ۱۵ درصد پوست انار خشک شده. میانگین‌ها با حروف غیر مشابه در هر سطر تفاوت معنی داری با یکدیگر دارند ($P < 0.05$).

اسیدهای چرب فرار مایع شکمبه

نتایج غلظت اسیدهای چرب فرار در مایع شکمبه تیمارهای مختلف در جدول ۶ ارائه شده است. نتایج نشان داد که غلظت اسید بوتیریک و پروپیونیک + ایزوبوتیریک در تیمارهای حاوی پوست انار نسبت به تیمار شاهد کمتر معنی داری بود ($P < 0.05$). موافق با نتایج آزمایش حاضر، نتیجه مطالعه Abarghuei و همکاران، (۲۰۱۴) نشان داد که تیمار حاوی عصاره تفاله انار نسبت به تیمار شاهد دارای غلظت پایین تر استات و نسبت استات به پروپیونات بود. همچنین Refat و همکاران، (۲۰۱۵) گزارش کردند اضافه شدن تفاله انار به جیره باعث کاهش غلظت اسیدهای چرب فرار و نیتروژن آمونیاکی شد. برخلاف نتایج آزمایش حاضر، نتیجه یک تحقیق نشان داد که غلظت کل اسیدهای چرب فرار و نسبت هریک از اسیدهای چرب فرار تحت تأثیر مکمل تفاله انار در جیره قرار نگرفت (Abarghuei و همکاران، ۲۰۱۳). گزارش کریمپور و کفیل زاده (۱۳۹۵) روی بره‌های پروراری نیز نشان داد که غلظت اسید والریک و همچنین نسبت استات به پروپیونات در گروه‌های دریافت کننده روغن هسته انار به طور معنی داری کاهش یافت.

نتیجه گیری

به طور کلی نتایج نشان داد که مصرف پوست انار تا سطح ۵ درصد در جیره گوسفندان زل باعث ایجاد کمترین اثرات منفی روی فراسنجه‌های شکمبه‌ای مانند تجزیه پذیری مواد مغذی و جمعیت پروتوزوآ شد.

پاورقی

- 1- Small Ruminant Nutrition System (SRNS)
- 2- National Research Council (NRC)
- 3- Non-fiber carbohydrates (NFC)
- 4- Organic Matter Digestible (OMD)
- 5- Metabolizable Energy (ME)
- 6- Neutral Detergent Fiber (NDF)

منابع

- بخشی‌زاده، س.، تقی‌زاده، ا.، علیخانی، ص. و جانمحمدی، ح. (۱۳۹۰). تعیین ارزش غذایی برخی از ضایعات کشاورزی فرآوری شده با پلی‌اتیلن‌گلیکول با استفاده از روش‌های آزمایشگاهی و کیسه نایلونی. پایان‌نامه کارشناسی ارشد در رشته غذا و تغذیه دام، دانشگاه تبریز، دانشکده علوم کشاورزی.
- خسروی، ف. و فتحی‌نسری، م. ح. (۱۳۹۱). تأثیر روش ذخیره کردن تفاله دانه انار بر ترکیب شیمیایی و فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای آن. مجله تولیدات دامی، دوره ۱۴، شماره ۲، ص. ۵۱-۶۱.
- رزم‌آذر، م.، تربتی‌نژاد، ن.م.، سیف‌دواتی، ج. و زره‌داران، س. (۱۳۹۵). تأثیر ارقام مختلف پوست انار بر قابلیت هضم ماده خشک، جمعیت پروتوزا و تولید گاز متان به روش آزمایشگاهی. نشریه پژوهش در نشخوارکنندگان، جلد چهارم، شماره دوم، ص. ۱۱۱-۱۳۲.
- رجبی، م.، روزبهان، ی. و رضایی، ج. (۱۳۹۰). تأثیر افزودن سطوح مختلف عصاره تفاله انار به جیره بر عملکرد بره‌های پرواری. پایان‌نامه برای دریافت درجه کارشناسی ارشد، رشته مهندسی علوم دامی، گرایش تغذیه دام، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده کشاورزی.
- کرمپور، ع. و کفیل‌زاده، ف. (۱۳۹۵). تأثیر استفاده از روغن هسته انار در جیره بر قابلیت هضم مواد مغذی، فراسنجه‌های تخمیر شکمبه و عملکرد بره‌های پرواری، مجله تولیدات دامی، دوره ۱۸، شماره ۳، ص. ۴۹۱-۵۰۰.
- مازندرانی، م.، خوجم‌لی، ز.، بیات، ه. و دانشور، ا. (۱۳۸۹). معرفی و مقایسه مهمترین مواد موثره ثانوی گیاه انار وحشی (*Punica granatum L.*) در رویشگاه‌های متفاوت استان گلستان. فصلنامه پژوهش‌های علوم گیاهی، شماره پیاپی ۱۸، سال پنجم، شماره ۲، ص. ۶۳-۷۰.
- محققی، م. م.، طهماسبی، ع.، ولی‌زاده، ر. و ناصریان، ع. (۱۳۹۲). برآورد فرایند تخمیری جیره حاوی سطوح مختلف ساپونین و اسید تانیک در شرایط *in vitro*. نشریه پژوهش‌های علوم دامی ایران، جلد ۵، شماره ۱، ص. ۳۹-۴۷.
- Abarghuei, M. J., Rouzbehan, Y. and Alipour, D. (2010). The influence of the grape pomace on the ruminal parameters of sheep. *Livestock Science*. 132: 73-79.
- Abarghuei, M. J., Rouzbehan, Y., Salem A. Z. M. and Zamiri, M. J. (2013). Nutrient digestion, ruminal fermentation and performance of dairy cows fed pomegranate peel extract. *Journal of Livestock Science*. 157: 452-61.
- Abarghuei, M. J., Rouzbehan, Y. and Salem, A. F. (2014). The influence of pomegranate-peel extracts on *in vitro* gas production kinetics of rumen inoculum of sheep. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*. 38: 212-219.
- Acamovic, T.C. and Stewart, S. (2000). Plant phenolic compounds and gastrointestinal micro-organism. In: Brooker, J. D. (Ed.), Tannins in Live stock 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, 127-129, ACIAR Proceedings no. 92.
- Alipour, D. and 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 Technology*. 137: 138-149.
- Anele, U. Y., Südekum, K. H., Hummel, J., Arigbede, O. M., Oni, A. O., Olanite, J. A., Böttgera, C., Ojob, V. O. and Jolaoshob, A. O. (2011). Chemical characterization, *in vitro* dry matter and ruminal crude protein degradability and microbial protein synthesis of some cowpea

- sheep. Proceedings of the 2th congress on animal and aquatic science. 735-739.
- Gee, J. M., Wortley, G. M., Johnson, I. T., Price, K. R., Rutten, A. J. L., Houben, G. F. and Penninks, A. H. (1996). Effect of saponins and glycoalkaloids on the permeability and viability of mammalian intestinal cells and on the integrity of tissue preparations in in vitro. *Toxicology*. 10: 117-128.
- Goel, G., Puniya, A.K., Aguliar, C.N. and Singh, K. (2005). Interaction of gut microflora with tannins in feeds. *Naturwissenschaften*. 92: 497-503.
- Harvatine, D.I., Firkins, J.L. and Eastridge, M.L. (2002). Whole linted cottonseed as a forage substitute fed with ground or steam-flaked corn: digestibility and performance¹, 2. *Journal of Dairy Science*. 8: 1976-1987.
- Khafipour, E. Krause, D.O. and Plaizier, J.C. (2009). Alfalfa pellet-induced subacute ruminal acidosis in dairy cows increases bacterial endotoxin in the rumen without causing inflammation. *Journal Dairy Science*. 92:1712-1724.
- Lu, C. D. and Jorgensen, N. A. (1987). Alfalfa saponins affect site and extent of nutrient digestion in ruminants. *Journal Nutrition*. 117: 919-927.
- Makkar, H.P.S. (2000). Quantification of tannins in tree foliage. A laboratory manual for the FAO/IAEA coordinated research project on use of nuclear and related techniques to develop simple tannin assays for predicting and improving the safety and efficiency of feeding ruminants on tanniferous tree foliage. Joint FAO/IAEA of nuclear techniques in food and agriculture. Animal Production and Health Sub-programme, FAO/IAEA Working Document. IAEA, Vienna, Austria.
- (*Vigna unguiculata* L. Walp) haulm varieties. *Journal Animal feed Science Technology*. 163: 161-169.
- AOAC - Association of Official Analytical Chemist. (2002). AOAC Official Methods of Analysis. Appendix G: Guidelines for Collaborative Study Procedures to validate characteristics of a method of analysis. 12 p.
- Beauchemin, K. A., Yang, W. Z., Morgavi, D. P., Ghorbani, G. R., Kautz, W., Leedle J. A. Z. (2003). Effects of bacterial direct fed microbials and yeast on site and extent of digestion, blood chemistry, and subclinical ruminal acidosis in feedlot cattle. *Journal. Animal. Science*. 81:1628-1640
- Bhatta, R., Uyeno, Y., Tajima, K., Takenaka, A., Yabumoto, Y., Nonaka, I. and Kurihara, M. (2009). Difference in the nature of tannins on in vitro ruminal methane and volatile fatty acid production and on methanogenic archaea and protozoal populations. *Journal of Dairy Science*. 11: 5512-5522.
- Cieslak, A., Zmora, P., Pers-Kamczyc, E., Stochmal, A., Sadowinska, A., Salem, A. Z. and Szumacher-Strabel, M. (2014). Effects of two sources of tannins (*Quercus* L. and *Vaccinium vitis idaea* L.) on rumen microbial fermentation: an in vitro study. *Italian Journal of Animal Science*. 2: 31-33.
- Crooke, W.M. and Simpson, W.E. (1971). Determination of ammonia in kjeldahl digest of crops by an automated procedure. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 22. 903-916.
- Dehority, B.A. (1993). Laboratory manual for classification and morphology of rumen ciliate protozoa. CRC Press.
- Feizi, R., Ghodrathnama, A., Zahedifar, M., Danesh Mesgaran, M. and Raisianzadeh, M. (2007). Determination chemical composition and apparent digestibility of pomegranate seed fed to

- Niderkorn, V., Mueller-Harvey, I., Le Morvan, A. and Aufrère, J. (2012). Synergistic effects of mixing cocksfoot and sainfoin on in vitro rumen fermentation. Role of condensed tannins. *Animal Feed Science and Technology*. 178: 48-55.
- NRC. 2007. Nutrient Requirements of Small ruminants Ruminants. 7th ed. National Academy Press, Washington, DC.
- Oliveira, R.A., Narciso, C.D., Bisinotto, R.S., Perdomo, M.C., Ballou, M.A., Dreher, M. and Santos, J.E.P. (2010). Effects of feeding polyphenols from pomegranate extract on health. Growth, nutrient digestion, and immunocompetence of calves. *Journal Dairy Science*. 93: 4280-4291.
- Ottenstein, D. M. and Bartley, D. A. (1971). Separation of free acids C2-C5 in dilute aqueous solution column technology. *Journal of Chromatographic Science*. 9: 673-681.
- Ørskov, E. R. and 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*. 2: 499-503.
- Refat, B., Anele, U., He, Z.X., Bassiony, S.M., Abdel-Rahman, G.A. and Yang, W.Z. (2015). Effect of sainfoin hay and pomegranate peel extracts on in vitro fermentation and protein degradation using the Rusitec technique. *Canadian Journal Animal Science*. 95: 417-423.
- SAS. (2002). Version 9.1 SAS/STAT user's guide. Statistical Analysis Systems Institute, Cary, NC, USA.
- Silanikove, N., Landau, S., Or, D., Kababya, D., Bruckental, I. and Nitsan, Z. (2006). Analytical approach and effects of condensed tannins in carob pods (*Ceratonia siliqua*) on feed intake, digestive and metabolic responses of kids. *Livestock Science*. 1: 29-38.
- Maleki Baladi, R., Moghaddaszadeh-Ahrabi, S. and Afrouziyeh, M. (2014). Influence of the addition of different levels of tannin extracted from pomegranate pomace, on some nutritive value of soybean meal. *European Journal of Experimental Biology*. 4: 148-154.
- Taher-Maddah, M., Maheri-Sis, N., Salamatdoustnobar, R. and Ahmadzadeh, A. (2012). Comparing nutritive value of ensiled and dried pomegranate peels for ruminants using in vitro gas production technique. *Journal Annals of Biological Research*. 3:1942-1946.
- Tehranifar, A., Zarei, M., Nemati, Z., Esfandiyari, B. and Vazifeshenas, M. R. (2010). Investigation of physico-chemical properties and antioxidant activity of twenty Iranian pomegranate (*Punica granatum L.*) cultivars. *Scientia Horticulturae*. 126: 180-185.
- Menke, K.H., and Steingass, H. (1988). Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and gas production using rumen fluid. *Animal Research and Development*. 28: 7-55.
- McSweeney, C.S., Palmer, B., McNeill, D.M. and Krause, D.O. (2001). Microbial interactions with tannins: nutritional consequences for ruminants. *Animal Feed Science and Technoogy*. 91: 83-93.
- Min, B.R., Attwood, G.T., Reilly, K., Sun, W., Peters, J.S., Barry, T.N. and 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*. 10: 911-921.
- Mirzaei-Aghsaghali, A., Maheri-Sis, N., Mansouri, H., Razeghi, M. E., Shayegh, J. and Aghajanzadeh-Golshani, A. (2011). Evaluating nutritional value of apple pomace for ruminants using *in vitro* gas production technique. *Annals of Biological Research*. 2: 100-106.

