نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد ۵، شماره ۱، بهار ۱۳۹۲، ص. ۴۷-۳۹

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 5, No. 1, Spring 2013, p. 39-47

برآورد فرایند تخمیری جیره حاوی سطوح مختلف ساپونین و اسید تانیک در شرایط *in vitro*

محمد مهدی محقی[1*]- عبدالمنصور طهماسبی[2]- رضا ولی زاده[3]- عباسعلی ناصریان[4]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۷/۱
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۱۱/۲۹

چکیده

به منظور ارزیابی تاثیر سطوح مختلف ساپونین (۰، ۳۰ و ۶۰ گرم به ازای هرکیلوگرم ماده خشک) با سطوح مختلف اسید تانیک (۰، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و۱۵۰ گرم به ازای هرکیلوگرم ماده خشک) بر پارامترهای تخمیری شکمبه و قابلیت هضم مواد مغذی، مطالعه ای در دو مرحله با استفاده از تکنیک تولید گاز و کشت ثابت انجام گرفت. در مرحله اول میزان گاز تولیدی در زمان های ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۶، ۲۴، ۴۸ ، ۷۲ و ۹۶ ساعت بعد از انکوباسیون اندازه گیری شد. نرخ تولید گاز با افزایش سطوح ساپونین و اسید تانیک به محیط کشت نسبت به شاهد کاهش، ولی در مورد تیمارهایی که در آن‌ها تنها از ساپونین استفاده شده بود، این مقدار افزایش یافت. میزان تولید گاز بصورت تجمعی در زمان های ۲۴، ۴۸ و ۹۶ ساعت انکوباسیون با افزودن اسید تانیک و وجود همزمان ساپونین و اسید تانیک نسبت به شاهد افزایش داشت و بیشترین افزایش در تیمارهای با سطح پایین ساپونین (۳۰ گرم به ازای هر کیلوگرم ماده خشک) همراه با سطوح پایین اسید تانیک (۲۵و۵۰ گرم به ازای هرکیلوگرم ماده خشک) مشاهده شد. به طور کلی میزان تولید گاز در تیمارهای حاوی ساپونین و اسید تانیک، نسبت به تیمارهای حاوی اسید تانیک به تنهایی و شاهد بیشتر بود. در مرحله دوم آزمایش که با استفاده از کشت ثابت صورت گرفت، میزان pH، نیتروژن آمونیاکی و پتانسیل تجزیه پذیری ماده خشک خوراک اندازه گیری شد. pH کلیه تیمارها نسبت به شاهد به طور معنی داری کمتر بود، اما بین تیمارها اختلاف معنی داری وجود نداشت. میزان تولید نیتروژن آمونیاکی با افزایش سطوح ساپونین و اسید تانیک نسبت به گروه شاهد کاهش داشت و بیشترین کاهش در تیمارهای دارای ساپونین توام با اسید تانیک مشاهده گردید. پتانسیل تجزیه پذیری ماده خشک در همه تیمارها نسبت به گروه شاهد بالاتر بود، اما در تیمارهای دارای ساپونین توام با اسید تانیک این افزایش بیشتر بود. میزان اسیدهای چرب کوتاه زنجیر، انرژی قابل متابولیسم و قابلیت هضم مواد آلی در تمام تیمارها نسبت به گروه شاهد افزایش نشان داد اما در تیمارهای دارای سطوح مختلف ساپونین توام با اسید تانیک این مقدار بیشتر از تیمارهایی بود که درآن ها تنها از اسید تانیک و یا ساپونین استفاده شده بود. نتایج حاصل نشان داد که استفاده توام از ساپونین و تانن در سطوح پایین، تاثیر مثبتی بر روند تخمیر شکمبه و قابلیت هضم مواد مغذی داشته است.

واژه‌های کلیدی: اسید تانیک، اسیدهای چرب کوتاه زنجیر، ساپونین، کشت ثابت، گاز تولیدی، نیتروژن آمونیاکی

مقدمه

بیشینه بهره‌وری از حیوانات در صورتی قابل دسترس است که بازدهی استفاده از خوراک جهت رشد، تولید و تولید مثل در حد مطلوبی باشد. طیف وسیعی از خوراک‌ها با منشاء متفاوت در تغذیه حیوانات بکار برده می‌شود. ارزش غذایی خوراک‌ها تحت تاثیر چندین فاکتور قرار می‌گیرد که می‌توانند بازدهی استفاده از خوراک را جهت تامین احتیاجات حیوان، تحت تاثیر قرار دهند. در این بین حضور مواد ضد تغذیه ای در خوراک‌های حیوانی می‌توانند در عملکرد حیوان تاثیر بسزایی داشته باشد. مواد ضد تغذیه ای به ۴ گروه زیر تقسیم می‌شوند: الف: موادی که بازدهی استفاده و قابلیت هضم پروتئین را می‌کاهند، مانند بازدارنده‌های پروتئازها، ساپونین‌ها، تانن و لکتین‌ها ب: مهار کننده‌های عناصر معدنی مانند اگزالات، فیتات و گوسیپول ج: مواد ضد ویتامینی مانند دای‌کومارین د: سایر مواد ضد تغذیه ای همانند سمومی چون مایکوتوکسین‌ها، مایموزین، سیانوژنین، نیترات، آلکالوئید و ایزوفلاون‌ها (۲۷). در حال حاضر پژوهش‌های قابل ملاحظه ای به منظور ارزیابی پتانسیل ترکیبات ضد تغذیه ای جهت اصلاح تخمیرات شکمبه صورت می‌گیرد. ساپونین‌ها و تانن‌ها جز مهمترین این ترکیبات هستند که در رابطه با اصلاح تخمیر شکمبه بسیار موثر عمل می‌کند (۴۰). تحقیقات متعددی نشان می‌دهد که مصرف غلظت بالای ساپونین و تانن در دام سبب کاهش فعالیت‌های تخمیری شکمبه، تغییر اکوسیستم میکروبی و بروز نفخ در دام می‌شود (۴ و ۱۸) که به طور مستقیم بر عملکرد حیوان، قابلیت هضم مواد

۱، ۲، ۳ و۴- به ترتیب دانشجوی دکتری، دانشیار و استادان گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
(*-نویسنده مسئول: Email: m.moheghi@gmail.com)

Archive of SID
www.SID.ir

مغذی و قابلیت دسترسی برخی از عناصر تاثیر می‌گذارند (۲۷) همچنین این مواد سبب تغییر منفی بر شیب غلظت الکتروشیمیایی دو طرف غشاء سلول‌های روده باریک می‌شوند (۱۱ و ۳۵). تاباکو و همکاران (۴۰) در آزمایشی با استفاده از گیاهان دارای تانن در محیط کشت، نشان دادند که استفاده از تانن موجب کاهش گاز تولیدی گردیده است. این محققین بیان نمودند که ممکن است تانن اثر منفی بر فعالیت باکتریایی داشته باشد و از فعالیت تخمیری آنها جلوگیری کند. استفاده از سطوح کم یا متوسط ساپونین و تانن می‌تواند باعث بهبود تخمیر شکمبه ای از جمله کاهش تجزیه پذیری پروتئین شکمبه، ابقا نیتروژن آمونیاکی تولیدی در شکمبه، کاهش تولید گاز متان و افزایش جریان نیتروژن غیر آمونیاکی و اسیدهای آمینه ضروری به ویژه متیونین از شکمبه به روده باریک شود (۱۵، ۲۱ و ۲۶). ساپونین می‌تواند با آمونیاک باند شود و از افزایش بیش از حد آمونیاک درون شکمبه جلوگیری کند و هنگام کاهش غلظت آمونیاک شکمبه آن را آزاد کند و به ساخت پروتئین میکروبی کمک کند. البته ساپونین در شرایطی می‌تواند نقش میانجی را ایفا کند که NH_4 به اندازه کافی و دائما در دسترس باشد (۱۶).

پن و همکاران (۳۴) تاثیر گیاه حاوی ساپونین یوکا را بر تخمیر و دفع متان شکمبه در شرایط *in vitro* مورد بررسی قرار دادند و نشان دادند که تولید گاز متان با افزایش سطح ساپونین بطور معنی دار کاهش یافته است که بنظر آنها دلیل کاهش متان ناشی از تاثیر مهار کنندگی ساپونین بر پروتوزآ مژکدار و باکتریهای سلولوتیک تولید کننده H_2 می‌باشد. چون پروتوزآ مژکدار و باکتریهای سلولوتیک وظیفه آماده نمودن H_2 به عنوان سوبسترا را برای آرکاهای متانوژن دارند لذا حذف پروتوزآ مانع تامین نیاز H_2 برای متانوژنها می‌گردد.

میزان مصرف مطلوب این مواد همچنین باعث کاهش تعداد پروتوزآ و افزایش نفوذ پذیری سلولهای حاشیه ای برای جذب ماکروملکول ها می‌گردد (۱۰ و ۲۵) طی پژوهشی که هو و همکاران (۱۷) در شرایط برون تنی انجام دادند مشاهده کردند که بعد از کشت ۲۴ ساعته، شمار پروتوزآ ۱۹، ۲۵، ۴۵ و ۷۹ درصد به ترتیب طی سطوح (۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۴۵ گرم بر کیلوگرم ماده خشک ساپونین چای)، به طور معنی داری کاسته شد. از بین رفتن پروتوزآ موجب کاهش شکارگری باکتری‌ها توسط پروتوزآ می‌گردد که نتیجه آن کاهش دگرساخت پروتئین از طریق بازیابی باکتری هاست. با توجه به اثرات مثبت سطوح کم ساپونین و تانن بر فرایندهای تخمیری، متاسفانه مطالعات اندکی در زمینه استفاده توام این مواد بر روند فعالیت‌های تخمیری صورت گرفته و اطلاعات در این زمینه ناقص می‌باشد، لذا هدف از انجام این پژوهش بررسی تاثیر سطوح مختلف ساپونین و اسید تانیک و استفاده توام این دو ترکیب بر برخی از پارامترهای تخمیری شکمبه به منظور به دست آوردن سطوح مناسبی از این ترکیبات است.

مواد و روش‌ها

محل آزمایش و تهیه تیمارهای آزمایشی

این آزمایش، در آزمایشگاه گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد صورت گرفت. تیمارهای آزمایشی شامل سطوح مختلفی از ساپونین خالص (Loba Chemie PVT. LTD. Mumbai. India) به نسبتهای صفر، ۳۰ و ۶۰ گرم به ازای هر کیلوگرم ماده خشک توام با اسید تانیک (Merck, Germany) به نسبتهای ۰، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ گرم به ازای هرکیلوگرم به ماده خشک بود که به جیره پایه که مخلوطی از علوفه (۵۰ درصد) و کنسانتره (۵۰ درصد) بود اضافه شد. ترکیب شیمیایی جیره پایه مورد استفاده در جدول ۱ نشان داده شده است.

جدول۱- اجزا و ترکیب شیمیایی جیره آزمایشی

اجزا	مقدار(درصد ماده خشک)
یونجه	۳۰
کاه	۲۰
جو	۲۵
کنجاله کلزا	۸
سبوس	۱۳
مکمل ویتامین و مینرال	۰/۵
نمک	۰/۳
آهک	۰/۲
روغن آفتابگردان	۳
ترکیب شیمیایی	
پروتیین خام	۱۲/۴
چربی خام	۵/۸
فیبر نامحلول در شوینده خنثی	۳۹/۲
کربوهیدراتهای غیر فیبری	۳۷/۴
انرژی قابل متابولیسم (مگاکالری در هر کیلوگرم ماده خشک)	۲/۴۷

اندازه گیری میزان تولید گاز در شرایط آزمایشگاهی

اندازه گیری مقدار تولید گاز با استفاده تکنیک پیشنهادی روش منک و استینگاس (۳۲) با استفاده از فشارسنج و بطری‌های شیشه‌ای حاوی بزاق و مایع شکمبه صاف شده به نسبت ۲:۱ (حدود ۳۰ میلی لیتر) و ۲۰۰ میلیگرم ماده خشک از تیمارهای آزمایشی (۵ تکرار) انجام شد. خوراک با استفاده از الک ۱/۵ میلی متری آسیاب شده و داخل شیشه‌های ۱۲۰ میلی لیتری استریل ریخته شد. مایع شکمبه از سه رأس گوسفند نر بلوچی دارای فیستولای شکمبه ای تغذیه شده با جیره آزمایشی و قبل از خوراک وعده صبح تهیه شد. درب بطری های شیشه ای با استفاده از در پوش لاستیکی و پوشش آلومینیومی به طور کامل بسته و سپس در دمای ۳۹ درجه سانتی گراد حمام بن ماری قرار

Archive of SID

www.SID.ir

داده شد. فشار گاز تولید شده در زمان های صفر، ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۲، ۲۴، ۳۶، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت ثبت شد و حجم گاز تولید شده در هر زمان بر اساس فشار اندازه گیری شده محاسبه گردید (۴۳).

تخمین مواد مغذی

تخمین انرژی قابل متابولیسم و قابلیت هضم ماده آلی به وسیله معادله منک و استینگاس (۳۲) و میزان اسیدهای چرب کوتاه زنجیر نیز بوسیله معادله ماکار (۲۸) صورت گرفت.

ME (MJ/ kg DM) = ۲/۲۰ + ۰/۱۳۶ Gp +۰/۰۵۷ Cp;

OMD (g/100 g DM) = ۱۴/۸۸ + ۰/۸۸۹ Gp + ۰/۴۵ Cp + ۰/۰۶۵۱Ash

SCFA (mmol) = ۰/۰۲۲۲Gp – ۰/۰۰۴۲۵

در این معادلات: Cp مقدار پروتیین خام (g/100 g DM)، Gp تولید گاز در زمان ۲۴ ساعت (ml /200 mg)، Ash مقدار خاکستر (g/100 g DM)

تعیین قابلیت هضم، نیتروژن آمونیاکی و pH

جهت تعیین مولفه‌های قابلیت هضم، نیتروژن آمونیاکی و pH از مایع شکمبه سه راس گوسفند نر بلوچی (۲/۵±۴۹/۵ کیلوگرم) تغذیه شده با ۵۰ درصد علوفه و ۵۰ درصد کنسانتره و دارای فیستولای شکمبه ای استفاده شد. نسبت بافر به مایع شکمبه ۲:۱ بود که بافر به روش منک و استینگاس (۳۲) آماده شد و ۲۰۰ میلی گرم ماده خشک از تیمارها، داخل شیشه‌های ۱۲۰ میلی لیتری ریخته شد. سپس هر شیشه با درپوش های پلاستیکی و درب های آلومینیومی کاملا بسته شد و در حمام آب گرم با دمای ۳۹ درجه سانتی گراد قرار داده شد. به منظور عدم انباشتگی گاز تولیدی، در زمانهای مختلف گازهای تولیدی از شیشه‌ها خارج شدند. بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون به منظور پایان تخمیر، شیشه‌ها به ترتیب به سردخانه منتقل و سپس شیشه‌ها باز و pH (Metrhom pH meter, Model 691) آن اندازه گیری شد. سپس محتویات هر شیشه صاف شد (پارچه با قطر منفذ ۴۲ میکرومتر) و به منظور اندازه گیری نیتروژن آمونیاکی ۵ میلی لیتر نمونه از هر شیشه صاف شده با ۵ میلی لیتر اسید کلریدریک ۰/۲ نرمال مخلوط شده و در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد منجمد شد. جهت تعیین میزان نیتروژن‌آمونیاکی از روش کجلدال (Kjeltec 2300 Auto analyzer, Foss Tecator AB, Hoganas, Sweden) استفاده شد. باقیمانده محتویات صاف شده، در آون قرار گرفت (۶۰ درجه سانتی گراد برای ۴۸ ساعت) میزان ماده خشک باقی مانده بعد از خارج شدن از آون جهت برآورد قابلیت هضم ماده خشک مورد استفاده قرار گیرد (۴۱).

آنالیز آماری

به منظور تعیین فراسنجه‌های تولید گاز از معادله $P= b\ (1-e^{-ct})$ استفاده شد. تولید تجمعی گاز بر حسب زمان محاسبه و بر اساس برازش رابطه بهینه سازی شده‌ی فوق به کمک نرم افزار آماری SAS، میزان تولید گاز بصورت تجمعی(b) و نرخ تولید گاز در زمان (c) به دست آمد. اطلاعات این آزمایش به روش فاکتوریل و بصورت ۳×۵ (سه سطح ساپونین و پنج سطح اسید تانیک) با استفاده از نرم افزار آماری SAS(9.1) آنالیز شد.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از تولید گاز به صورت تجمعی در زمان های ۲۴، ۴۸ و ۹۶ ساعت انکوباسیون و نرخ تولید گاز در جدول ۲ گزارش شده است. نرخ تولید گاز با افزایش سطوح مختلف ساپونین توام با اسید تانیک نسبت به محیط کشت شاهد کاهش یافت و در تیمارهای سطوح اسید تانیک به تنهایی نیز این کاهش وجود داشت ولی در محیط کشت حاوی ساپونین تنها، این مقدار افزایش یافت ($P<۰/۰۵$) که بیشترین کاهش در نرخ تولید گاز مربوط به تیمارهای سطوح ساپونین (۳۰ و ۶۰ گرم به ازای هرکیلوگرم ماده خشک) و اسید تانیک (۱۰۰،۱۵۰ گرم به ازای هرکیلوگرم ماده خشک) بود و به طور کلی اثر اسید تانیک و اثرات متقابل ساپونین و اسید تانیک در مورد نرخ تولید گاز معنی دار ($P<۰/۰۱$)، ولی اثر ساپونین معنی دار نبود. مطالعه ای که توسط ال وزیری و همکاران (۸) انجام گرفت نشان دادند که میزان فراسنجه c با سطوح مختلف اسید تانیک در مورد کنجاله سویا کاهش یافت. تانن‌ها با تشکیل کمپلکس‌های پروتئینی با آنزیم‌های موجود در دیواره سلولی باکتریایی مانع فعالیت آنزیم‌های میکروبی گردیده و لذا از این طریق سبب کاهش قابلیت هضم کربوهیدرات ها بویژه کربوهیدراتهای ساختمانی توسط میکروب‌های سلولوتیک می‌گردند. بنابراین از طریق این مکانیسم اثر خود را بر هضم کل مواد غذایی می‌گذارند (۳۴). نشاسته و سلولز با تانن‌ها بخصوص پروآنتوسیانیدین‌ها تشکیل کمپلکس می‌دهند. ماکار و همکاران (۳۰) گزارش کردند که تاثیر تانن بر کاهش نرخ تجزیه پذیری خوراک باعث کمک به همزمانی آزاد شدن مواد غذایی می‌شود و این می‌تواند مسئول افزایش بازدهی میکروبی باشد.

تحقیقات نشان داده است هنگام مصرف علوفه های حاوی تانن میزان نیتروژن غیر آمونیاکی وارد شده به روده باریک بیشتر از نیتروژن مصرفی بوده است، که بخشی از آن را به افزایش تولید پروتئین میکروبی نسبت می‌دهند.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۲-تاثیر سطوح مختلف ساپونین توام با سطوح مختلف اسید تانیک بر میزان تولید گاز بصورت تجمعی در زمان‌های ۲۴ ، ۴۸ و ۹۶ ساعت انکوباسیون و نرخ تولید گاز

تیمار	سطوح ساپونین (گرم در کیلوگرم ماده خشک)	سطوح تانن (گرم در کیلوگرم ماده خشک)	نرخ تولید گاز (میلی لیتر در ساعت به ازای یک گرم ماده خشک)	تولید گاز (۲۴ ساعت بعد انکوباسیون به میلی لیتر)	تولید گاز (۴۸ ساعت بعد انکوباسیون به میلی لیتر)	مجموع گاز تولیدی در زمان ۹۶ ساعت (میلی لیتر به ازای ۲۰۰ میلی گرم جیره آزمایشی)
۱	۰	۰	۰/۰۴۲^{bc}	۲۶/۵۶^{f}	۳۹/۹۹^{g}	۴۶/۸۰^{fg}
۲	۰	۲۵	۰/۰۴۴^{b}	۳۲/۵۶^{cd}	۴۴/۷۱^{f}	۵۴/۰۲^{e}
۳	۰	۵۰	۰/۰۳۷^{bcd}	۳۱/۹۶^{cde}	۴۶/۱۲^{f}	۵۵/۲۴^{e}
۴	۰	۱۰۰	۰/۰۳۱^{cde}	۳۱/۵۰^{cde}	۴۸/۱۴^{ef}	۶۱/۵۵^{d}
۵	۰	۱۵۰	۰/۰۲۶^{de}	۲۸/۴۰^{ef}	۴۸/۰۲^{ef}	۶۶/۲۳^{cd}
۶	۳۰	۰	۰/۰۶۱^{a}	۳۴/۶۴^{bc}	۴۵/۷۸^{f}	۵۰/۶۴^{ef}
۷	۳۰	۲۵	۰/۰۳۱^{cde}	۳۹/۲۹^{a}	۵۶/۷۹^{abc}	۷۳/۷۹^{b}
۸	۳۰	۵۰	۰/۰۳۴^{bcde}	۳۹/۸۱^{a}	۵۹/۱۱^{ab}	۷۱/۵۹^{bc}
۹	۳۰	۱۰۰	۰/۰۲۵^{e}	۳۴/۱^{bc}	۵۴/۴۱^{bcd}	۷۶/۵۵^{b}
۱۰	۳۰	۱۵۰	۰/۰۲۳^{e}	۳۲/۰۶^{cde}	۵۱/۲۳^{de}	۷۵/۹۸^{b}
۱۱	۶۰	۰	۰/۰۵۶^{a}	۲۹/۹۵^{def}	۳۹/۴۱^{g}	۴۳/۳۸^{g}
۱۲	۶۰	۲۵	۰/۰۳۵^{bcde}	۳۶/۸۷^{ab}	۵۲/۹۷^{cd}	۶۵/۹۳^{cd}
۱۳	۶۰	۵۰	۰/۰۳۴^{bcde}	۳۷/۷۳^{ab}	۵۴/۶۲^{abcd}	۶۷/۰۴^{cd}
۱۴	۶۰	۱۰۰	۰/۰۲۸^{de}	۳۷/۵۶^{ab}	۵۹/۳۱^{a}	۷۸/۰۴^{ab}
۱۵	۶۰	۱۵۰	۰/۰۲۵^{e}	۳۷/۴۵^{ab}	۵۸/۸۹^{ab}	۸۳/۴۸^{a}
SEM			۰/۰۰۳	۱/۲۸	۱/۴۸	۲/۰۹
			اثرات فاکتوریل			
ساپونین			NS	***	***	***
تانن			***	***	***	***
ساپونین × تانن			**	**	***	***

میانگین‌های هر ستون با حروف غیرمشترک دارای اختلاف معنی دار می‌باشند ($P <$ ۰/۰۵)

*P< ۰/۰۵; **P< ۰/۰۱; ***P< ۰/۰۰۱; ****P< ۰/۰۰۰۱; NS:not significant.

بنابراین استفاده توام ساپونین و تانن که باعث کاهش بیشتر نرخ تجزیه پذیری خوراک شده است می‌تواند کمکی باشد به همزمانی آزاد شدن مواد غذایی که در نتیجه بازدهی را افزایش دهد و در واقع میزان فراهمی انرژی و آمونیاک برای سنتز پروتئین میکروبی به حد اعتدال خود رسیده و میکروارگانیزم‌های درون شکمبه قادر هستند که یک پروتئین با ارزش غذایی بهتری (پروتئین میکروبی) را سنتز کنند.

میزان تولید گاز بصورت تجمعی در زمان ۲۴، ۴۸ و ۹۶ ساعت انکوباسیون در مورد تیمارهایی که در آنها تنها از ساپونین (۳۰ گرم در کیلوگرم ماده خشک) استفاده شده بود به طور معنی داری بالاتر از تیمار شاهد بود. دلیل احتمالی این افزایش تولید گاز می‌تواند به واسطه ویژگی پروتوزوآزدایی ساپونین باشد که از بلع کربوهیدرات‌های سهل التخمیر توسط پروتوزوآ جلوگیری می‌کند و موجب بروز تخمیر و تولید گاز بیشتری در شرایط آزمایشگاهی می‌گردد (۳۸) و در مورد تیمار دارای ساپونین بالا (۶۰ گرم در کیلوگرم ماده خشک) این میزان کمتر از شاهد بود گرچه این تفاوت معنی دار نبود که می‌توان بخشی از آن را به اثر ساپونین بر مهار باکتریهای سلولوتیک و مهار قارچها نسبت داد (۴۴). وانگ و همکاران (۴۸) در شرایط آزمایشگاهی نشان دادند که استفاده از ساپونین در سطح ۷۵ میکروگرم در لیتر، باعث کاهش تولید گاز و VFA می‌گردد و نیز نشان دادند که قارچها حتی به غلظتهای کم ساپونین حساس هستند و رشد آنها را مهار می‌کند. وانگ و همکاران (۴۷) همچنین نتیجه گرفتند که ساپونین بیشتر بر باکتری‌های گرم مثبت تاثیر می‌گذارد تا باکتری‌های گرم منفی و این محققین در آزمایش خود نشان دادند که باکتری‌های سلولوتیک نسبت به آمیلولتیک به ساپونین حساسیت بیشتری دارند و در همین پژوهش در سیستم آزمایشگاهی روستیک زمانی که ۷۵ گرم در کیلوگرم ماده خشک ساپونین عصاره یوکا به علوفه یونجه در محیط کشت اضافه

Archive of SID

www.SID.ir

گردید، شمار باکتری‌های سلولوتیک با کاهش ۳۰ درصدی روبرو شد. میزان گاز تولیدی بصورت تجمعی در همه ساعات انکوباسیون در مورد تیمارهای که در آنها اسید تانیک به تنهایی استفاده شده بود نسبت به گروه شاهد افزایش یافت (P<۰/۰۵). اما در زمان ۲۴ ساعت بعد از انکوباسیون با افزایش سطح اسید تانیک روند کاهشی در تولید گاز مشاهده شد.

استفاده توام ساپونین و اسید تانیک در سطوح مختلف باعث افزایش تولید گاز در ساعات ۲۴، ۴۸ و کل گاز تولیدی در زمان ۹۶ ساعت انکوباسیون نسبت به کنترل و تیمارهای که در آنها تنها از اسید تانیک و ساپونین استفاده شده بود، گردید (P<۰/۰۵) و این افزایش تولید گاز در تیمارهای سطوح ساپونین کم (۳۰ گرم در کیلوگرم ماده خشک) و اسید تانیک کم (۲۵ و۵۰ گرم در کیلوگرم ماده خشک) بیشتر بود (P<۰/۰۵). در مجموع تاثیر ساپونین و اسید تانیک و اثرات متقابل ساپونین و اسید تانیک معنی دار بود (P<۰/۰۱) که می‌تواند نتیجه خنثی شدن اثر سمیت تانن و ساپونین در اثر استفاده توام این دو افزودنی باشد (۹ و ۲۳). در مطالعه ای که ماکار و همکاران (۳۱)، انجام دادند پی بردند که استفاده همزمان از ساپونین و تانن بازدهی تولید پروتیین میکروبی و تخمیرات شکمبه را افزایش و اثرات تنهای هر یک از آنها را خنثی می‌کند. در آزمایشی که توسط فری لند و همکاران (۹) روی موشها صورت گرفت نیز نشان داد که افزایش میزان تولید گلوکورونید (glucuronides) ادرار نشان دهنده جذب، سوخت و ساز و دفع تانن و ساپونین است و کاهش تولید گلوکورونید ادرار با تغذیه توام تانن و ساپونین نشان دهنده کاهش جذب و نیز مهار متقابل سوخت و ساز و دفع آنهاست.

تاثیر سطوح مختلف ساپونین همراه با سطوح مختلف اسید تانیک بر pH، نیتروژن آمونیاکی و تجزیه پذیری ماده خشک در محیط کشت ثابت در زمان ۲۴ ساعت بعد از انکوباسیون در جدول شماره ۳ نشان داده شده است. pH تمام تیمارها جز تیمار۳۰ گرم در کیلوگرم ماده خشک ساپونین نسبت به کنترل به طور معنی داری کمتر بود (P<۰/۰۵). اما بین تیمارهای اختلاف معنی داری وجود نداشت. در مجموع اثر ساپونین و تانن معنی دارد بود (P<۰/۰۱). اما اثرات متقابل ساپونین و تانن معنی دار نبود. کاهش pH بوسیله ساپونین و تانن در مطالعات دیگری نیز مشاهده شده است (۱۳، ۱۴ و۲۵). احتمالایکی از دلائل کاهش pH می‌تواند تغییر در الگوی باکتریهای شکمبه بویژه باکتریهای سلولو لتیک باشد. از طرفی پروتوزوآزدایی الگوی تولید اسیدهای چرب فرار را به سمت تولید پروپیونات بیشتر و استات و بوتیرات کمتر سوق می‌دهد (۱۰). سیلانکو و همکاران (۳۹)، بیان نمود که در شرایط درون تنی، کاهش جذب اسیدهای چرب فرار از دیواره شکمبه و افزایش تولید اسیدهای چرب در شکمبه عامل اصلی کاهش pH می‌باشد.

میزان تولید نیتروژن آمونیاکی در تیمارهای دارای ساپونین و اسید تانیک نسبت به گروه شاهد کاهش داشت (P<۰/۰۵). بیشترین کاهش در تیمارهای دارای ساپونین توام با اسید تانیک بود. در همین مورد اثر ساپونین، تانن و اثرات متقابل ساپونین و اسید تانیک معنی دار بود (P<۰/۰۰۱). تاثیر ساپونین در کاهش غلظت آمونیاک هم در شرایط برون تنی (۱ و۴۵) و هم در شرایط درون تنی (۱۶)، به اثبات رسیده است. برخی از محققین معتقدند که یکی از دلایل احتمالی در کاهش آمونیاک شکمبه، کاهش فعالیت آنزیم اوره آز توسط ساپونین و تانن می‌باشد (۷، ۱۶، ۲۷ و۳۶). اما وانگ و همکاران (۴۸)، بیان نمودند که فعالیت آنزیم پروتئاز با افزایش ساپونین افزایش می‌یابد. اما فعالیت آنزیم دی آمیناز ثابت باقی می‌ماند درنتیجه مانع تجزیه کامل پروتئین به آمونیاک می‌شود. از طرفی مطالعه ای دیگر نشان داد که در اثر مهار فعالیت دآمیناز میکروبی توسط تانن، میزان تولید آمونیاک کاهش می‌یابد (۲۲). از مهمترین دلایلی که می‌تواند افزایش جمعیت باکتریائی را توجیه کند می‌توان به نقش بازدارندگی ساپونین و تانن بر جمعیت پروتوزوائی اشاره نمود که در نتیجه بدلیل کاهش شکار باکتری‌ها توسط پروتوزواها جمعیت آنها افزایش می‌یابد (۲۵ و ۳۰). بنابراین کاهش ترن اور پروتئین در شکمبه باعث افزایش ازت باکتریایی جریان یافته به دئودنوم می‌شود. از آنجایی که پروتوزوآ در شرایط *in vitro* باکتری را می‌بلعند حضورشان در شکمبه مفید نمی‌باشد (۶) ساپونین می‌تواند با آمونیاک موجود در شکمبه در هنگامی که مقدار زیادی آمونیاک تولید شده باند شود و وقتی آمونیاک شکمبه کم باشد آمونیاک را دوباره منتشر کند در این صورت یک منبع مداوم و کافی آمونیاک جهت سنتز پروتئین میکروبی فراهم می‌شود (۱۶). تحقیقات رید و همکاران (۳۶)، نشان داده است که تانن‌ها باعث افزایش ترشح محتوای گلیکوپروتئین های بزاق شده در نتیجه باعث کاهش نرخ تجزیه پروتئین و آمونیاک تولیدی درشکمبه می‌گردند. میزان نیتروژن اوره‌ای پلاسما، نیتروژن آمونیاکی شکمبه و نیتروژن دفعی ادرار در گوسفندانی که از علوفه‌های حاوی تانن استفاده می‌کردند کاهش یافت. تانن‌ها با پروتئین‌ها در شکمبه ترکیب شده و پروتئین‌ها را از دسترس آنزیم های میکروبی حفاظت می‌کنند. گروه فنولی تانن یک دهنده هیدروژن قوی برای تشکیل پیوند با گروه کربوکسیل پروتئین می‌باشد. به همین دلیل تمایل تانن‌ها برای تشکیل پیوند با پروتئین‌ها نسبت به نشاسته بیشتر می‌باشد. این اتصالات در pH اسیدی ناپایدار بوده و پروتئین را برای هضم قابل دسترس می‌کند (۱۲ و ۱۸).

تانن‌ها باعث کاهش نرخ تجزیه پذیری پروتئین و دآمیناسیون در شکمبه شده و موجب می‌گردد که آمونیاک شکمبه کاهش یافته و به دنبال آن سبب کاهش نیتروژن اوره ای پلاسما (BUN) و دفع نیتروژن ادراری در حیوانات شوند (۴۶).

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۳- تاثیر سطوح مختلف ساپونین توام با سطوح مختلف اسیدتانیک بر pH، نیتروژن آمونیاکی و تجزیه پذیری ماده خشک در محیط کشت ثابت در زمان ۲٤ ساعت بعد از انکوباسیون

تیمار	سطوح ساپونین (گرم در کیلوگرم ماده خشک)	سطوح تانن (گرم در کیلوگرم ماده خشک)	pH	نیتروژن آمونیاکی (میلی گرم بر دسی لیتر)	تجزیه پذیری ماده خشک(٪)
۱	۰	۰	۶/۸۳^{a}	۱۸/۱۸^{a}	۴۴/۰۰^{e}
۲	۰	۲۵	۶/۷۷^{abc}	۱۷/۹۸^{abc}	۵۵/۰۰^{bcd}
۳	۰	۵۰	۶/۷۳^{c}	۱۷/۵۰^{abcd}	۵۳/۲۵^{bcd}
۴	۰	۱۰۰	۶/۷۱^{c}	۱۷/۰۳^{de}	۵۱/۴۰^{cd}
۵	۰	۱۵۰	۶/۸۳^{a}	۱۶/۳۸^{ef}	۴۹/۲۵^{de}
۶	۳۰	۰	۶/۸۰^{ab}	۱۷/۲۳^{abcde}	۶۵/۸۵^{a}
۷	۳۰	۲۵	۶/۷۳^{bc}	۱۸/۰۷^{ab}	۶۶/۸۰^{a}
۸	۳۰	۵۰	۶/۷۴^{bc}	۱۳/۸۶^{i}	۶۷/۷۵^{a}
۹	۳۰	۱۰۰	۶/۷۳^{bc}	۱۷/۰۸^{cde}	۵۵/۰۰^{bcd}
۱۰	۳۰	۱۵۰	۶/۷۲^{c}	۱۵/۰۸^{h}	۵۶/۳۵^{bc}
۱۱	۶۰	۰	۶/۷۳^{bc}	۱۶/۰۵^{gh}	۴۹/۸۵^{d}
۱۲	۶۰	۲۵	۶/۷۳^{bc}	۱۵/۲۳^{gh}	۵۱/۵۰^{cd}
۱۳	۶۰	۵۰	۶/۷۰^{c}	۱۶/۴۷^{ef}	۶۶/۷۶^{a}
۱۴	۶۰	۱۰۰	۶/۷۲^{c}	۱۴/۳۵^{hi}	۵۶/۵۸^{a}
۱۵	۶۰	۱۵۰	۶/۷۳^{c}	۱۳/۷۶^{i}	۵۸/۷۵^{b}
SEM			۰/۰۲	۰/۳۰	۱/۹۱
		اثرات فاکتوریل			
ساپونین			**	***	***
تانن			**	***	***
ساپونین × تانن			NS	***	***

میانگین‌های هر ستون با حروف غیرمشترک دارای اختلاف معنی دار می‌باشند (P <۰/۰۵)

*P< ۰/۰۵; **P< ۰/۰۱; ***P< ۰/۰۰۱; ****P< ۰/۰۰۰۱; NS:not significant.

وجود تانن های متراکم می‌تواند مقدار ماده آلی تجزیه شده در شکمبه و همچنین اتلاف انرژی به صورت متان را کاهش دهد (۴۴) و اثر آنها به صورت غیرمستقیم با کاهش تولید H_2 و به صورت مستقیم با مهار عمل باکتری‌های متانوژنزها رخ میدهد (۴۱).

پتانسیل تجزیه پذیری ماده خشک در تیمارها به طور معنی داری بیشتر از گروه شاهد بود (P<۰/۰۵). البته روند مشخصی در بین تیمارهای آزمایشی مشاهده نشد. در مجموع پتانسیل تجزیه پذیری ماده خشک تیمارهای دارای ساپونین توام با اسید تانیک بیشتر از تیمارهای دارای ساپونین یا اسید تانیک بود در این مورد اثر ساپونین، اسید تانیک و اثرات متقابل ساپونین و اسید تانیک معنی دار بود (P<۰/۰۰۱).

تاثیر سطوح مختلف ساپونین توام با سطوح مختلف اسید تانیک بر قابلیت هضم ماده آلی، میزان اسیدهای چرب کوتاه زنجیر و انرژی قابل متابولیسم در جدول شماره ۴ گزارش شده است. قابلیت هضم ماده آلی، میزان اسیدهای چرب کوتاه زنجیر و انرژی قابل متابولیسم در تمامی تیمارها بیشتر از شاهد بود (P<۰/۰۵). بیشترین افزایش در مورد تیمارهای دارای ساپونین توام با اسید تانیک مشاهده شد و در این بین بیشترین افزایش در مورد تیمارهای با ساپونین کمتر (۳۰ گرم در کیلوگرم ماده خشک ساپونین) همراه با اسید تانیک کمتر (۲۵ و ۵۰ گرم در کیلوگرم ماده خشک) بود. همبستگی مثبتی بین میزان گاز تولیدی و تولید اسیدهای چرب کوتاه زنجیر وجود دارد (۳۲) و از تولید گاز می‌توان میزان تولید اسیدهای چرب فرار را پیشگویی کرد و یک رابطه مثبتی نیز با تولید توده میکروبی دارد (۲۴). ساپونین میزان پروپیونات را افزایش داده و نسبت استات به پروپیونات را کاهش می‌دهد. البته افزایش نسبت پروپیونات ممکن است نتیجه کاهش استات و بوتیرات باشد که هر دو نتیجه تولیدات پایانی تخمیرات پروتوزآ هستند (۴۹). بنابراین کاهش پروتوزآ بوسیله ساپونین باعث افزایش معنی دار پروپیونات خواهد شد. سطح بالای پروپیونات ممکن است نتیجه افزایش در بهره وری استفاده از محصولات نهایی تخمیرات شکمبه نشخوارکنندگان نیز باشد (۲۰). برخی از مطالعات نیز

Archive of SID

www.SID.ir

افزایش قابلیت هضم ماده آلی و فیبر را در حضور ساپونین گزارش کرده‌اند. گوئچ و اونز (۱۳)، افزایش هضم ماده آلی و فیبر را در حضور ساپونین یوکا در جیره گاوهای شیری گزارش کردند. والدز و همکاران (۴۲)، افزایش در قابلیت هضم ماده آلی و یک تمایل به افزایش هضم ADF را در حضور ساپونین گزارش کردند. پن و همکاران (۳۵) گزارش کردند حضور ساپونین در جیره گوسفندان موجب افزایش قابلیت هضم NDF شده است و مشابه با آن حضور ساپونین در جیره با کنسانتره بالا در گوسفند موجب افزایش قابلیت هضم فیبر و ماده آلی در کل دستگاه گوارش می‌شود (۲۵).

نتیجه گیری

نتایج بدست آمده از این آزمایش نشانگر آن است که استفاده توام تانن و ساپونین می‌تواند الگوی تخمیر شکمبه ای را تغییر و به نفع دام سوق دهد. در این بین بهترین عملکرد در مورد تیمارهایی با ساپونین کمتر (۳۰ گرم در کیلوگرم ماده خشک ساپونین) همراه با اسید تانیک کمتر (۲۵ و ۵۰ گرم در کیلوگرم ماده خشک) مشاهده شد. اما سطوح بالاتر این ترکیبات می‌تواند اثرات سویی بر فعالیت میکروارگانیسم‌های دستگاه گوارش، تولید پروتئین میکروبی و تخمیر شکمبه ای بگذارد.

جدول ٤-تاثیر سطوح مختلف ساپونین توام با سطوح مختلف اسید تانیک بر انرژی قابل متابولیسم، قابلیت هضم ماده آلی و اسیدهای چرب کوتاه زنجیر

تیمار	سطوح ساپونین (گرم در کیلوگرم ماده خشک)	سطوح تانن (گرم در کیلوگرم ماده خشک)	انرژی قابل متابولیسم (مگاژول بر کیلوگرم ماده خشک)	قابلیت هضم ماده آلی(درصد)	اسیدهای چرب کوتاه زنجیر(میلی مول)
۱	۰	۰	۶/۵۲^{f}	۴۴/۵۹۲^{f}	۰/۹۹^{f}
۲	۰	۲۵	۷/۳۳^{cd}	۴۹/۹۲^{cd}	۱/۱۰^{cd}
۳	۰	۵۰	۷/۲۵^{cde}	۴۹/۳۹^{cde}	۱/۱۰^{cde}
۴	۰	۱۰۰	۷/۱۹^{cde}	۴۸/۹۸^{cde}	۱/۹^{cde}
۵	۰	۱۵۰	۶/۷۷^{ef}	۴۶/۲۲^{ef}	۱/۰۲^{ef}
۶	۳۰	۰	۷/۶۲^{bc}	۵۱/۷۷^{bc}	۱/۱۵^{bc}
۷	۳۰	۲۵	۸/۲۶^{a}	۵۵/۹۰^{a}	۱/۲۴^{a}
۸	۳۰	۵۰	۸/۳۳^{a}	۵۶/۳۷^{a}	۱/۲۵^{a}
۹	۳۰	۱۰۰	۷/۵۴^{bc}	۵۱/۲۹^{bc}	۱/۱۳^{bc}
۱۰	۳۰	۱۵۰	۷/۲۷^{cde}	۴۹/۴۸^{cde}	۱/۱۰^{cde}
۱۱	۶۰	۰	۶/۹۸^{def}	۴۷/۶۰^{def}	۱/۰۶^{def}
۱۲	۶۰	۲۵	۷/۹۲^{ab}	۵۳/۷۵^{ab}	۱/۱۹^{ab}
۱۳	۶۰	۵۰	۸/۰۴^{ab}	۵۴/۵۲^{ab}	۱/۲۱^{ab}
۱۴	۶۰	۱۰۰	۸/۰۲^{ab}	۵۴/۳۷^{ab}	۱/۲۰^{ab}
۱۵	۶۰	۱۵۰	۸/۰۰^{ab}	۵۴/۳۷^{ab}	۱/۲۰^{ab}
SEM			۰/۱۷۳	۱/۱۳	۰/۰۲۵
			اثرات فاکتوریل		
ساپونین			***	***	***
تانن			***	***	***
ساپونین × تانن			**	**	**

میانگین‌های هر ستون با حروف غیرمشترک دارای اختلاف معنی دار می‌باشند (P <۰/۰۵)

*P< ۰/۰۵; **P< ۰/۰۱; ***P< ۰/۰۰۱; ****P< ۰/۰۰۰۱; NS:not significant.

منابع

۱- مختار پور، ا.، ع. ناصریان، ر. ولی زاده، ع. طهماسبی. ۱۳۹۱. نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران. جلد ۴. شماره ۱. ص ۶۲-۵۵

2- Bento, M. H. L., H. P. S. Makkar, and T. Acamovic. 2005.Effect of mimosa tannin and pectin on microbial protein synthesis and gas production during in vitro fermentation of 15N-labelled maize shoots. Anim. Feed Sci. Techno.123: 365–377.

Archive of SID

www.SID.ir

3- Bhatta, R., S. Vaithiyanathan., N. P. Singh and D. L. Verma. 2007.Effect of feeding complete diests containing graded levels of *prosopis cineraria* leaves on feed intake, nutrient utilization and rumen fermentation in lambs and kids.Small Ruminant Research. 67:75–83.
4- Cheeke P. R. 1996. Biological effects of feed and forage saponins and their impact on animal production. In Saponins Used in Food and Agriculture (Ed. GR Waller and Y Yamasaki). New York: Plenum Press, 377-386.
5- Cheeke, P. R. 1971. Nutritional and physiological implications of saponins: a review. Canadian. J. Anim. Sci. 51: 621-623.
6- Coleman, G. S. 1988. Protozoal-bacterial interaction in the rumen. In The Roles of Protozoa and Fungi in Ruminant Digestion, Proceedings of the International Seminar at the University of New England, Armidale; Nolan, J. V., Leng, R. A., Demeyer, D. I., Eds. Penambul Books: NSW, Australia. pp 13-28.
7- Ellenberger, M. A., W. V. Rumpler., D. E. Johnson and S. R. Goodall. 1985. Evaluation of the extent of ruminal urease inhibition by sarsaponin and sarsaponin fractions. J. Anim. Sci. 61 (Suppl. 1), 491–492 (abstract).
8- El-Waziry, A. M., M. E. A. Nasser and S. M. A. Sallam. 2005.Processing methods of soybean meal. Effect of roasting and tannic acid treated-soybean meal on gas production and rumen fermentation in vitro. J. Appl. Sci. Res. 1: 313-320.
9- Freeland, W. J., P. H. Calcott and Lisa R. Anderson. 2002.Tannins and saponin: Interaction in herbivore diets. J. Biochemical Systematics and Ecology. Vol. 13, NO. 2, PP: 189–193.
10- Gee, J. M., G. M. Wortley, I. T. Johnson, K. R Price, A. J. L. Rutten, G. F. Houben and A. H. Penninks. 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. Toxicol. 10: 117-128.
11- Gee, J. M., K. R Price, C. L. Ridout, I. T Johnson and G. R. Fenwick. 1989. Effects of some purified saponins on transmural potential difference in mammalian small intestine. Toxicol. 3: 85-90.
12- Getachew, G., W. Pittroff, E. J. DePeters, D. H. Putnam, A. Dandekar and S. Goyal. 2008. Influence of tannic acid application on alfalfa hay: in vitro rumen fermentation, serum etabolites and nitrogen balance in sheep. J. Animal, 2:3, pp 381–390.
13- Goetsch, A. L., and F. N. Owens. 1985.Effects of sarsaponin on digestion and passage rates in cattle fed medium to low concentrate. J. Dairy Sci. 68:2377−2384.
14- Grobner, M. A., D. E. Johnson, S. R. Goodall and D. A. Benz. 1982. Sarsaponin effects on in vitro continuous flow fermentation of a high grain diet. In: Proc. West. Sect. Am. Soc. Anim. Sci. 33:64−65.
15- Hess, H. D., R. A. Beuret, M. Lotscher, I. K. Hindrichsen, A. Machmuller, J. E. Carulla, C. E. Lascano, and M. Kreuzer. 2004. Rumen fermentation, methanogenesis and nitrogen utilization of sheep receiving tropical grass hay-concentrate diets offered with Sapindus saponaria fruits and Cratylia argentea foliage. J.Anim.Sci. 79: 177-189.
16- Hussain, I., and P. R. Cheeke. 1995. Effect of dietary Yucca schidigeraextract on rumen and blood profiles of steers fed concentrate or roughage-based diets. Anim. Feed Sci. Technol. 51: 231-242.
17- Hu, W. L., J. X. Liu., J. A. Ye., Y. M. Wu and Y. Q Guo. 2005a. Effect of tea saponin on rumen fermentation in vitro, Anim. Feed Sci. Technol. 120: 333–339.
18- Jones, G. A., T. A. McAllister., A. D. K. Muir and J. Cheng. 1994. Effects of sainfoin (*viciifolia Scop*.) condensed tannins on growth and proteolysis by four strains of ruminal bacteria. Appl. Environ. Microbiol.60: 1374–1378.
19- Klita, P. T., G. W. Mathison., T. W. Fenton and R. T. Hardin. 1996.Effects of alfalfa root saponins on digestive function in sheep. J. Anim. Sci. 74: 1144–1156.
20- Kreuzer, M., M. Kirchgessner., H. L. Muller. 1986. Effect of defaunation on the loss energy in wethers fed different quantitites of cellulose and normal or steamflaked maize starch. Anim. Feed Sci. Technol. 16: 233-241.
21- Kumar, R., and M. Singh. 1984. Tannins, their adverse role in ruminant nutrition. J. Agric. Food Chem. 32: 447–453.
22- Leinmüller, E., and K. H. Menke. 1990. Tannine in Futtermitteln für Wiederkäuer. 1. Chemische Eigenschaften und Reaktionen mit Makromolekülen. Übers. Tierernähr. 18: 91–114.
23- Leinmüller, E., H. Steingass and K. H. Menke. 1991.Tannine in Futtermitteln für Wiederkäuer. 2. Wirkungen auf den Pansenstoffwechsel in vitro. Übers. Tierernähr. 19: 45–70.
24- Liu, J. X., A. Susenbeth. and K. H. Sudekum. 2002.In vitro gas production measurements to evaluate interacions between untreated and chemicall treated rice straws, grass hay and mulberry. J. Anim. Sci. 80: 517-524.
25- Lu, C. D., and N. A. Jorgensen. 1987.Alfalfa saponins affect site and extent of nutrient digestion in ruminants. J.Nutr. 117: 919–927.
26- Makkar, H. P. S., E. M. Aregheore and K. Becker. 1999.Effects of saponins and plant extracts containing saponins on the recovery of ammonia during urea ammoniation of wheat straw and fermentation kinetics of the treated straw. J. Agric. Sci., Cambridge. 132: 313–321.
27- Makkar, H. P. S. 1993. Antinutritional factors in foods for livestock. In: Animal Production inDeveloping Countries,No. 16. Occasional Publications, British Society of Animal Production, pp. 69–85.
28- Makkar H. P. S .2005. *In vitro* gas methods for evaluation of feeds containing phytochemicals. Anim. Feed Sci.

Archive of SID

www.SID.ir

Technol., 123-124: 291-302.
29- Makkar, H. P. S., and Becker, K. 1996. Effect of quillaja saponins on in Vitro rumen fermentation. In Saponins Used in Food and Agriculture; Waller, G. R., Yamasaki, Y., Eds.; Plenum Press:New York. pp 387-394.
30- Makkar, H. P. S., K. Becker., H. J. Abel and T. Szegleti. 1995. Degradation of condensed tannins by rumen microbes exposed to quebracho tannins (QT) in rumen simulation technique (RUSITEC) and effects of QT on fermentative processes in the RUSITEC. J. Sci. Food Agric. 69: 495–500.
31- Makkar, H. P. S., M. Blümmel and K. Becker. 1995.In vitro effects of and interactions between tannins and saponins and fate of tannins in the rumen. J. Sci. Food Agric. 69: 481–493.
32- Menke, K. H., and H. Staingass. 1988. Estimation of energetic feed value obtained from chemical analysis and in vitro gas production using rumen fluid. Anim. Res. Develop. 28: 7-55.
33- Oeliwin ski, B. J., M. Kreuzer., H. R. Wettstein and A. Machmuller. 2002a. Rumen fermentation and nitrogen balance of lambs fed diets containing plant extracts rich in tannins and saponins and associated emissions of nitrogen and methane. Arch. Anim. Nutr. 56: 379-392.
34- Pen, B., C. Sar., B. Mwenya., K. Kuwaki., R. Morikawa and J. Takahashi. 2006. Effects of *Yucca schidigera* and *Quillaja saponaria* extracts on *in vitro* ruminal fermentation and methane emission. Anim. Feed Sci. Technol. 129:175–186.
35- Pen, B., K. Takura., S. Yamaguchia. 2007. Effects of Yucca schidigera and Quillaja saponaria with or without *β*-1,4 galacto-oligosaccharides on ruminal fermentation, methane production and nitrogen utilization in sheep. Anim. Feed Sci, Technol. 138: 75–88.
36- Reed, J. D., H. Soller and A. Woodward. 1990. Fodder tree and straw diets for sheep: Intake, growth, digestibility and the effects of phenolics on nitrogen utilization. Anim. Feed Sci. Techno. 30: 39-50.
37- Reed, J. D. 1995. Nutritional toxicology of tannins and related polyphenols in forage legumes. J. Anim. Sci. 73: 1516-1528.
38- Rode, L. M. 2000. Maintaining a healthy Rumen – An overview, Advances in Dairy Technology, 12:101–108.
39- Silanikove, N., S. Landau., D. Kababya., I. Bruckental., Z. Nitsan. 2006. Analytical approach and effects of condensed tannins in carob pods (Ceratonia siliqua) on feed intake, digestive and metabolic responses of kids. Livestock Sci. 99:29-38.
40- Tabacco, E.,G. Borreani, G. M. Crovetto, G,. Galassi, D. Colombo and L. Cavallarm. 2006. Effect of chestnut tannin on fermentation quality, proteolysis and protein rumen degradability alfalfa silage. J. Dairy Sci. 89: 4736-4746.
41- Theodorou, M. K., B. A. Williams, M. S. Dhanoa, A. B. McAllan and J. France. 1994. A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. Anim. Feed Sci.Technol. 48: 185-197.
42- Valdez, F. R., L. J. Bush, A. L. Goetsch, and F. N. Owens. 1986. Effect of steroidal sapogenins on ruminal fermentation and on production of lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 69:1568–1575.
43- Van Soest, P. J. 1994. *Nutritional Ecology of the Ruminant*, 2nd ed.;Cornell University Press: United States
44- 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. (Cambridge) 123: 109–119.
45- Wallace, R. J., L. Arthaud and C. J. Newbold. 1994. Influence of Yucca shidigera extract on ruminal ammonia concentrations and ruminal micro-organisms. Applied Environ Microbiol. 60:1762-1767.
46- Wang, Y., T. A. McAllister, C. J. Newbold, L. M. Rode, P. R. Cheeke and K. J. Cheng. 1998. Effect of Yucca schidigera extract on fermentation and degradation of steroidal saponins in the rumen simulation technique (RUSITEC). Anim. Feed Sci. Technol. 74:143-153.
47- Wang, Y., T. A. McAllister, L. J. Yanke, Z.J. Xu, P. R. Cheeke, K. J. Cheng. 2000.In Vitro effects of steroidal saponins from Yucca schidigera extract on rumen microbial protein synthesis and rumen fermentation. J. Sci. Food Agric. 80: 2214-2122.
48- Wang, Y., T. A. McAllister, C. J. Newbold, P. R. Cheeke and K. J. Cheng. 1997.Effects of *Yucca* extract on fermentation and degradation of saponins in the Rusitec. Proc. Western Section, Am. Soc. J. Anim. Sci. 48:149–152.
49- Hu, W. L., J. X. Liu, J. A. Ye, Y. M. Wu, Y. Q. Guo. 2005. Effect of tea saponin on rumen fermentation in vitro. Anim. Feed Sci. Technol. 120: 333-339.

Archive of SID

www.SID.ir