

ارزش تغذیه‌ای گیاه خار مریم برای گوسفند و تاثیر آن بر هضم مواد فیبری و پروتئینی

علی مجدم¹ - مرتضی چاجی^{2*} - طاهره محمد آبادی³ - صالح طباطبائی وکیلی⁴

تاریخ دریافت: 1393/12/02

تاریخ پذیرش: 1394/07/07

چکیده

این آزمایش به منظور بررسی گوارش پذیری و تخمیر خار مریم و تاثیر آن بر تخمیر و گوارش مواد فیبری (کاه گندم) و پروتئینی (کنجاله سویا) در گوسفند عربی تغذیه شده با چیره حاوی ذرت انجام پذیرفت. در این آزمایش از 12 راس گوسفند نر با میانگین وزن $37 \pm 1/22$ کیلوگرم در قالب طرح کاملاً تصادفی استفاده شد. چیره‌های آزمایشی شامل، چیره شاهد (فاقد خارمریم) و چیره‌های مکمل شده با سطوح مختلف خارمریم (5، 10 و 20 گرم درصد ماده خشک) و طول مدت آزمایش 84 روز بود. در آزمایش دامی ماده خشک مصرفی، قابلیت هضم، pH مایع شکمبه، غلظت نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه و متابولیت‌های خونی اندازه‌گیری شدند. فراسنجه‌های تولیدگاز و قابلیت هضم آزمایشگاهی مواد مغذی کاه گندم و کنجاله سویا انکوبه شده با مایع شکمبه گوسفندان تغذیه شده با خارمریم نیز اندازه‌گیری شد. ماده خشک مصرفی، نیتروژن آمونیاکی شکمبه، هضم NDF، گلوکز و نیتروژن اوره‌ای خون در چیره‌های حاوی خارمریم کاهش معنی‌داری نسبت با شاهد داشت. اما قابلیت هضم ماده خشک و ADF چیره‌های آزمایشی تحت تاثیر سطوح مختلف خارمریم به صورت عددی افزایش یافت و pH کاهش غیر معنی‌داری نشان داد. چیره‌های حاوی گیاه خارمریم تاثیر منفی بر قابلیت هضم و پتانسیل تولیدگاز کاه و کنجاله سویا نداشتند. به طور کلی، نتایج مشخص نمود که استفاده از خارمریم تا سطح 200 گرم در کیلوگرم در چیره تاثیر منفی بر عملکرد و سلامت حیوان ندارد. همچنین افزودن خارمریم به چیره تاثیر منفی بر هضم مواد الیافی (کاه) و پروتئینی (کنجاله سویا) نداشت.

واژه‌های کلیدی: تولیدگاز، فراسنجه‌های خونی، کاه گندم، گوارش پذیری، نیتروژن آمونیاکی شکمبه.

مقدمه

با توجه به کمبود منابع علوفه‌ای و محدودیت منابع آبی و قیمت بالای مواد خوراکی، به نظر می‌رسد استفاده از منابع علوفه‌ای بومی و ارزان اهمیت داشته باشد (18). خار مریم گیاهی است با نام علمی *Silybum marianum* که از خانواده *Asteraceae* می‌باشد. با نام‌های ماریتیغال، خار علیص و عکوب در فارسی و عربی شناخته می‌شود، نام انگلیسی آن شیر تیغ⁵ می‌باشد (58). این گیاه در گنبدکاووس، گرگان، نوده کلاردشت، دره هزاره، دشت مغان، پشت کوه، ملاثانی در اهواز، شوش، حمیدیه، رامهرمز، ایذه و کازرون می‌روید (21 و 57). عصاره بذر و گیاه خارمریم دارای ترکیبات بسیار زیادی از جمله: سیلیبین A و B، سیلی کریستین، آپی ژنین،

دی‌هیدروسیلیبین، دی‌اکسی سیلی کریستین، دی‌اکسی سیلی دیانین (فلاونولینگان) است (47 و 49). عصاره خشک آن حاوی 1 تا 4 درصد سیلی مارین بوده که شامل فلاونوئیدها از جمله سیلیبین A و B، سیلی دیانین، سیلی کریستین و دی‌هیدروسیلیبین می‌باشد (47). این فلاونوئیدها دارای خواص آنتی‌اکسیدانی بسیار قوی بوده و باعث افزایش گلوکوتائون پراکسیداز سلولی می‌شود که احتمالاً بر متابولیسم چربی‌ها تاثیرگذار می‌باشد (11 و 56). همچنین دانه این گیاه دارای 20 تا 25 درصد روغن است که اسیدهای چرب عمده آن شامل اولئیک اسید (31/58 درصد)، لینولئیک اسید (45/36 درصد) و پالمیتیک اسید (8/25 درصد) می‌باشد (27). این گیاه دارای ترکیبات فلاونوئیدی و ضدتغذیه‌ای فنولی مانند تانن و نیترات‌ها است (34 و 41). تانن (8 و 10)، روغن‌های غیر اشباع (7) و سایر ترکیبات ضد تغذیه‌ای ممکن است بر هضم الیاف و پروتئین تاثیر منفی داشته باشند (22). وجود نیترات در خارمریم ممکن است برای دام مضر باشد، زیرا در طی فرآیند تخمیر در شکمبه نیترات تبدیل به نیتريت می‌گردد و با جذب شدن در خون تولید مت‌هموگلوبین می‌کند (45). نیتريت در شکمبه در صورتی که مقدار کافی انرژی و منبع مناسبی از دانه (مانند دانه ذرت) در دسترس باشد به آمونیاک تبدیل و در نهایت صرف تولید پروتئین میکروبی می‌شود. لذا شاید استفاده از آن با یک چیره پایه

1- دانش آموخته کارشناسی ارشد تغذیه دام دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان، خوزستان،

2- دانشیار گروه علوم دامی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان،

3- استادیار گروه علوم دامی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان،

4- دانشیار گروه علوم دامی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان.

* نویسنده مسئول: (mortezechaji@yahoo.com)

5- Milk thistle

آنالیز شیمیایی

ماده خشک (گرمخانه، 48 ساعت دمای 60 درجه سلسیوس)، پروتئین (روش کج‌دال)، الیاف نامحلول در شوینده اسیدی، ماده خشک (5) و الیاف نامحلول در شوینده خنثی (52) اندازه گیری شدند.

فراسنجه‌های شکمبه‌ای و خونی

نمونه مایع شکمبه 4 ساعت پس از خوراک دادن، با روش لوله مری گرفته شد. بلافاصله pH با استفاده از دستگاه pH متر (مترموم مدل 827، آلمان) اندازه گیری شد. نمونه مایع شکمبه با استفاده از پارچه 4 لایه ی نخی صاف شده و 2 نمونه 10 میلی لیتری از آن با 10 میلی لیتر اسید کلریدریک 0/2 مولار با نسبت 1 به 1 برای تعیین مقدار نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه مخلوط شد و بلافاصله در سردخانه با دمای 20- درجه سلسیوس نگهداری شد. نیتروژن آمونیاکی با روش فنل اسید سولفوریک اندازه گیری شد (12).

خونگیری از ورید وداچی 3 ساعت پس از خوراکدهی انجام شد. برای خونگیری از لوله‌های تحت خلأ دارای سدیم هپارین استفاده شد. نمونه‌های خون به مدت 15 دقیقه با سرعت 3000 دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند (هرمل، آلمان). نمونه‌های پلاسما جدا شده و تا زمان اندازه‌گیری در دمای 20- درجه سلسیوس نگهداری شدند. مقادیر گلوکز، نیتروژن اوره ای پلاسما با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر (بیو راد، انگلستان) با استفاده از کیت آزمایشگاهی پارس آزمون سنجش شد.

مصرف و قابلیت هضم

برای محاسبه قابلیت هضم مواد مغذی جیره‌های آزمایشی، در 7 روز نمونه‌گیری، مقدار باقیمانده خوراک قبل از دادن خوراک روز بعد جمع آوری و وزن شد تا میزان مصرف خوراک روزانه محاسبه گردد. قابلیت هضم کاه گندم و کنجاله سویا نیز با روش هضم دو مرحله‌ای اندازه‌گیری شد (50). برای این منظور قبل از خوراک صبحگاهی از سه گوسفند تغذیه شده با هر یک از جیره‌های حاوی سطوح مختلف خار مریم (0، 5، 10 و 20 درصد) مایع شکمبه اخذ شده مخلوط گردید. مایع شکمبه به نسبت 1 به 4 با بزاق مصنوعی مخلوط شد. نیم گرم نمونه مورد آزمایش در محلول فوق به مدت 48 ساعت در شرایط بی‌هوازی و دمای 39 درجه سلسیوس انکوباسیون گردید و پس از افزودن اسید کلریدریک و آنزیم پیپسین، به مدت 48 ساعت دیگر در دمای 39 درجه سلسیوس تحت هضم قرار گرفت. سپس نمونه‌ها با کاغذ صافی واتمن شماره 42 بدون خاکستر، صاف شده و در آون خشک (ممرت، آلمان) شدند. قابلیت هضم از اختلاف ماده اولیه و باقیمانده محاسبه گردید. در مجموع 9 تکرار برای هر جیره در نظر گرفته شد.

حاوی دانه مناسب مانند ذرت خطر احتمالی وجود نیترات را به حداقل برساند. تانن‌ها به علت نقشی که در تغذیه حیوانات از طریق ایجاد کمپلکس با تعداد زیادی از مواد مغذی از قبیل کربوهیدرات‌ها، پروتئین‌ها، پلی ساکاریدهای غشاء سلول باکتری و آنزیم‌های هاضم پروتئین و کربوهیدرات‌ها ایجاد می‌کنند، حائز اهمیت هستند (8، 10 و 28). گیاه خارمریم از گیاهان بومی نواحی شمالی اهواز است که به صورت خود رو رشد و به فراوانی یافت می‌شود، حیوانات اهلی منطقه (گوسفند، بز، شتر، گاو میش و گاوهای بومی و غیره) در کنار تغذیه دستی این گیاه را مورد چرا قرار می‌دهند، اما اطلاعاتی از اثر آن بر سلامت، عملکرد و هضم مواد مغذی (به ویژه مواد الیافی و پروتئینی به سبب وجود تانن و روغن غیر اشباع در آن) در این حیوانات وجود ندارد و پژوهشی درباره خارمریم صورت نگرفته است. بنابراین، آزمایش حاضر برای دستیابی به اطلاعاتی در مورد ارزش تغذیه‌ای خارمریم (ترکیب شیمیایی، قابلیت هضم جیره‌های حاوی آن) انجام شد. با توجه به وجود تانن و روغن در این گیاه، مطالعه اثر تغذیه جیره‌های حاوی خارمریم بر هضم‌پذیری مواد الیافی و پروتئینی نیز انجام شد.

مواد و روش‌ها

آزمایش در محل ایستگاه آموزشی-تحقیقاتی دامپرووری دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان انجام شد. گیاه خارمریم از اطراف نواحی شمالی اهواز (منطقه باوی) از روز 60 تا 90 رشد تهیه و برای نگهداری خشک و آسیاب شد (حدود 3-2 سانتی متر). در این آزمایش از 12 راس گوسفند نر نژاد عربی (با سن حدود 11 ماه با میانگین وزن زنده $37 \pm 1/22$ کیلوگرم) که به طور تصادفی به چهار جیره خوراکی اختصاص داده شدند، استفاده شد (جدول 1). جیره‌های آزمایشی شامل: شاهد (فاقد خارمریم)، 5 درصد خارمریم، 10 درصد خارمریم و 20 درصد خارمریم به ازای ماده خشک جیره بودند که به صورت سرک به جیره پایه افزوده شدند. پیش از شروع آزمایش عملیات پشم چینی، واکسیناسیون و خوراندن داروهای ضد انگل انجام شد. بره‌ها در قفس‌های متابولیکی نگهداری شده و با جیره‌های آزمایشی تغذیه شدند. تنظیم جیره‌ها با روش جایگزینی بر اساس جدول احتیاجات مواد مغذی نشخوارکنندگان کوچک (39) انجام گرفت (جدول 1). جیره‌ها به صورت کاملاً مخلوط شده و 2 بار در ساعات‌های 7 و 17 در اختیار گوسفندان قرار گرفت. گوسفندان به طور انفرادی تغذیه شدند. مقدار باقیمانده خوراک، قبل از خوراک روز بعد جمع آوری و وزن می‌شد تا میزان مصرف خوراک روزانه محاسبه گردد. آزمایش به مدت 84 روز انجام شد. در 14 روز پایان دوره از گوسفندان خون و مایع شکمبه گرفته شد. مقادیر مصرف، باقیمانده خوراک و مدفوع برای تعیین قابلیت هضم مواد مغذی به مدت 7 روز جمع آوری و ثبت شد.

جدول 1- ترکیب مواد خوراکی و شیمیایی جیره‌های آزمایشی (بر اساس درصد ماده خشک)
Table 1- The feed ingredients and chemical compositions of experimental diets (% Dry matter)

مواد مغذی Nutrients	درصد خار مریم <i>Silybum marianum</i> (%) ¹			
	0 (Control)	5	10	20
علوفه یونجه Alfalfa	30	30	30	30
کاه گندم Wheat straw	20	20	20	20
دانه ذرت Corn grain	36.9	36.9	36.9	36.9
سیوس گندم Wheat bran	12	12	12	12
نمک Salt	0.3	0.3	0.3	0.3
ویتامینی-مکمل معدنی Vitamin-mineral premix	0.1	0.1	0.1	0.1
کربنات کلسیم Lime stone	0.7	0.7	0.7	0.7
جمع Total	100	100	100	100
ترکیب شیمیایی جیره‌های غذایی Chemical compositions of experimental diets				
ماده خشک Dry matter (%)	91.1	91.1	91.1	91.1
کل مواد مغذی قابل هضم TDN (%) ²	65	65	65	65
پروتئین خام Crude protein	12.95	12.95	12.95	12.95
انرژی متابولیسمی ME (Mcal/kg) ³	2.39	2.39	2.39	2.39
الیاف نامحلول در شوینده خنثی NDF (%) ⁴	42.7	42.7	42.7	42.7
الیاف نامحلول در شوینده اسیدی ADF (%) ⁵	26.3	26.3	26.3	26.3
عصاره اتری Ether Extract	2.1	2.1	2.1	2.1
کلسیم Ca (%)	0.7	0.7	0.7	0.7
فسفر P (%)	0.4	0.4	0.4	0.4
پتاسیم K (%)	1.39	1.39	1.39	1.39
سدیم Na (%)	0.16	0.16	0.16	0.16
منیزیم Mg (%)	0.22	0.22	0.22	0.22

¹سطوح مختلف (5، 10 و 20 درصد) خارمریم به صورت سرک به جیره پایه افزوده شد.

²TDN: Total digestible nutrients, ³ME: metabolizable energy, ⁴NDF: Neutral detergent fiber and ⁵ADF: Acid detergent fiber.

اندازه‌گیری میزان گاز تولیدی

برای هر نمونه ماده خوراکی (کاه گندم و کنجاله سویا) 3 تکرار (سرنگ) برای هر دام (در مجموع 9 تکرار) در نظر گرفته شد. شیرابه شکمبه از گوسفندان تغذیه شده با سطوح مختلف (0، 5، 10 و 20 درصد) خارمریم با روش مشروح در قسمت هضم، قبل از تغذیه صبح جمع آوری و با پارچه چهار لایه صاف گردیده و در فلاسک مخصوص به آزمایشگاه منتقل شد. مایع شکمبه و بزاق به نسبت 1 به 2 با هم مخلوط شدند. سرنگ‌ها در حمام آب (39 درجه سلسیوس) قرار داده شد. گاز تولیدی سرنگ‌های حاوی 0/3 گرم کاه گندم و کنجاله سویا در زمان‌های 2، 4، 6، 8، 10، 12، 24، 36، 48، 72، 96 و 120 ساعت قرائت شدند (36). فراسنجه‌های تولید گاز با معادله نمایی (42) بدست آمد:

$P = b(1 - e^{-ct})$ ؛ که در این معادله: P = تولید گاز در زمان t ، b = پتانسیل تولید گاز از بخش قابل تخمیر (میلی لیتر به ازای 300 میلی گرم ماده خشک)، c = نرخ تولید گاز (درصد در ساعت) t = مدت زمان انکوباسیون می‌باشند.

محاسبات و مدل آماری

تجزیه داده‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی با رویه GLM به وسیله نرم‌افزار SAS صورت گرفت (48). مقایسه میانگین‌ها به وسیله آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح 0/05 انجام شد.

نتایج و بحث

ترکیب شیمیایی خار مریم

ترکیب مواد مغذی خارمریم استفاده شده در آزمایش در جدول 2 ارائه شده است.

مصرف ماده خشک

اثر خارمریم بر مصرف ماده خشک معنی‌دار شد ($P < 0/05$). افزودن خارمریم در جیره تا 5 درصد باعث افزایش و از 5 تا 20 درصد

باعث کاهش مصرف ماده خشک گردید (جدول 3). به طوری که سطح 5 درصد خارمریم بیشترین و سطح 20 درصد خارمریم کمترین مقدار را نشان داد. تانن و اسیدهای چرب موجود در خارمریم احتمالاً می‌توانند عامل محدود کننده مصرف خوراک باشد. افزودن اسانس خارمریم به جیره می‌تواند از طریق حس بویایی (تحریک حس بویایی) و به علت داشتن 25-20 درصد روغن فرار باعث افزایش مصرف خوراک شود (13). در مطالعه‌ای تجویز گیاه دارویی کاسنی (از خانواده گیاه خارمریم) باعث افزایش اشتها و گاوهای شیرده و مصرف ماده خشک گردید، این ممکن است یکی از دلایل افزایش مصرف ماده خشک در جیره حاوی 5 درصد خارمریم باشد که با آزمایش حاضر مطابقت دارد (24). گیاه خارمریم دارای ترکیبات فلاونوئیدی و ضدتغذیه‌ای فنولی مانند تانن است (41). مصرف ماده خشک (برحسب درصد وزن بدن) در گاوهایی که از 6 درصد ماده خشک فرآورده‌های تانن‌دار (4/1 درصد تانن در جیره) مصرف می‌کردند، نسبت به جیره شاهد و جیره حاوی 2 درصد ماده خشک فرآورده‌های تانن‌دار به طور معنی‌داری کاهش یافت (51). لذا کاهش مشاهده شده در مصرف خوراک از جیره‌های حاوی سطح 10 و 20 درصد خارمریم نسبت به جیره شاهد، احتمالاً به علت وجود تانن بیشتر در مقایسه با جیره شاهد و جیره دارای 5 درصد خارمریم در این جیره‌ها باشد که باعث کاهش خوشخوراکی و در نتیجه کاهش مصرف خوراک شده است.

قابلیت هضم ظاهری مواد مغذی جیره‌های آزمایشی گوسفندان

استفاده از مقادیر مختلف خارمریم (جدول 3) در جیره گوسفندان تاثیر معنی‌داری بر قابلیت هضم مواد مغذی و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی نداشت ($P > 0/05$). اما اثر آن بر هضم الیاف نامحلول در شوینده خنثی معنی‌دار بود ($P < 0/05$). استفاده از خارمریم باعث افزایش هضم ماده خشک شد و با افزایش خارمریم تا 20 درصد این افزایش مشاهده شد ($P > 0/05$).

جدول 2- ترکیب شیمیایی گیاه خار مریم مورد استفاده در آزمایش حاضر

Table 2- Chemical composition of *Silybum marianum* in present experiment

گیاه کامل خار مریم Whole <i>Silybum marianum</i> plant	ترکیب شیمیایی Chemical composition (%)				
	ماده خشک Dry matter	پروتئین خام ¹ Crude protein ¹	الیاف نامحلول در شوینده خنثی NDF ²	الیاف نامحلول در شوینده اسیدی ADF ³	خاکستر Ash
	94.48	14.84	45.32	26.45	17.35

پروتئین مربوط به سن 90 روزگی گیاه بود.

¹The crude protein was belonged to 90 days olds of plant.

²NDF: Neutral detergent fiber, ³ADF: Acid detergent fiber.

کمپلکس تشکیل می‌شد بر قابلیت هضم الیاف نامحلول در شوینده اسیدی تأثیر منفی داشت. پروتوزوآها 25 تا 30 درصد هضم الیاف در شکمبه را بر عهده دارند (30) لذا شاید یکی از دلایل کاهش غیر معنی دار ADF در آزمایش حاضر را بتوان به تأثیر خارمریم به واسطه داشتن اسید چرب و تانن (مهار پروتوزوآها) بر کاهش پروتوزوآها نسبت داد. بعلاوه، به علت حساسیت باکتری‌های فیبرولیتیک به اجزای فعال تمام روغن‌ها به ویژه روغن‌های غیراشباع، این ترکیبات از طریق پوشاندن سطح الیاف به ویژه بخش لیگنوسلولوزی و یا اثر گذاری منفی بر باکتری‌های هاضم فیبر باعث می‌توانند باعث کاهش قابلیت هضم شوند (9 و 43) لذا شاید دلیل کاهش قابلیت هضم ADF را بتوان به اثر روغن‌های فرار یا روغن‌های غیراشباع موجود در خارمریم نسبت داد. وجود تانن در خارمریم (58) نیز می‌تواند از جمله عوامل کاهش دهنده هضم الیاف هر چند به صورت جزئی باشد.

فراسنجه‌های تخمیری شکمبه

استفاده از خارمریم در جیره‌های آزمایشی، باعث کاهش عددی pH مایع شکمبه گوسفندان شد (جدول 4) و با افزایش مقدار خارمریم در جیره این کاهش خطی بود ($P>0/05$). علی‌رغم اینکه pH با افزودن خارمریم کاهش یافت، اما این کاهش در دامنه مناسبی برای فعالیت میکروارگانیسم‌ها بویژه گروه تجزیه کننده الیاف بود. یکی از علل احتمالی کاهش pH شکمبه در این آزمایش می‌تواند کاهش جمعیت پروتوزوآهای شکمبه در اثر وجود تانن و روغن در خارمریم باشد. مطابق با نتایج آزمایش حاضر وجود تانن در خوراک موجب کاهش pH شکمبه شده‌است (37 و 53).

موافق با نتایج آزمایش حاضر (در مورد هضم ماده خشک و ADF) در پژوهشی، تأثیر معنی‌داری از افزودن عصاره کاسنی (مانند خارمریم حاوی روغن غیر اشباع بالا) به جیره بر هضم مواد مغذی مشاهده نشد (54). با توجه به وجود حدود 20 تا 25 درصد روغن‌های غیراشباع در دانه خارمریم (27)، با افزودن خارمریم تا این سطح به جیره، روغن آن بر تخمیر شکمبه و قابلیت هضم الیاف تأثیر معنی‌داری نداشت. محققین اثر منفی افزودن روغن‌های فرار را بر تخمیر و هضم گاو شیرده گزارش کرده‌اند (54). در مطالعات دیگری نیز عدم تأثیر روغن‌های فرار و غیر اشباع بر قابلیت هضم ماده خشک گاو شیرده را مشاهده کردند (4 و 9). وجود تانن در خارمریم نیز می‌تواند از جمله عوامل احتمالی کاهش دهنده هضم الیاف هر چند به صورت جزئی باشد. در آزمایش حاضر هضم NDF متأثر از خارمریم افزایش معنی‌داری داشت و ADF در جیره تحت تأثیر قرار نگرفت ($P>0/05$). مطابق با نتایج آزمایش حاضر، محققین با افزودن فرآورده فرعی خشک یا سیلو شده پوسته پسته (19) و مغز میوه بلوط (25) حاوی تانن، به ترتیب به جیره گوسفندان نر کرمانی و عربی، تغییر در قابلیت هضم ظاهری الیاف خام و NDF مشاهده نکردند. تانن‌ها می‌توانند هضم الیاف را از طریق تشکیل کمپلکس با لیگنوسلولوز و کاهش اتصال آنها با میکروارگانیسم‌ها و یا مهار مستقیم میکروارگانیسم‌ها کاهش دهند (35).

بیشترین تمایل تانن‌ها برای اتصال به آنزیم‌های خارج سلولی است. بنابراین آن دسته از موادی مانند همی سلولزها که هضم آنها وابسته به آنزیم‌های خارج سلولی است بیشتر تحت تأثیر تانن قرار می‌گیرند (15). نتایج پژوهش حاضر احتمالاً بیان کننده این موضوع است که تانن موجود در خارمریم نتوانسته است با الیاف به ویژه نوع همی سلولزی موجود در خوراک کمپلکس تشکیل دهد، زیرا اگر این

جدول 3- ماده خشک مصرفی و قابلیت هضم مواد مغذی جیره‌های آزمایشی حاوی خار مریم در گوسفندان¹

Table 3- Dry matter intake and nutrients digestibility of experimental diets contain *Silybum marianum* in sheep¹

مورد	درصد خارمریم				SEM	P-value
	<i>Silybum marianum</i> (%)					
Item	0	5	10	20		
ماده خشک مصرفی Dry matter intake (g/day)	891.76 ^a	894.45 ^a	872.25 ^b	789.62 ^c	6.7	0.001
قابلیت هضم Digestibility (%)						
ماده خشک Dry matter	72.71	73.00	73.57	73.32	0.93	0.93
الیاف نامحلول در شوینده خنثی NDF ²	60 ^b	60.12 ^b	63.32 ^b	68.02 ^a	1.04	0.015
الیاف نامحلول در شوینده اسیدی ADF ³	34.15	33.07	30.53	28.11	3.50	0.206

¹ میانگین‌های هر ردیف با حروف غیر مشابه دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند ($P<0.05$).

¹Means in row with unlike superscripts differ ($P<0.05$).

²NDF: Neutral detergent fiber, ³ADF: Acid detergent fiber.

میکروارگانسیم‌های شکمبه و تانن، استفاده از منابع تانن‌دار باعث کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی در شکمبه شد (35). در پژوهشی کاهش 24 درصدی دامیناسیون اسیدهای آمینه در مایع شکمبه گوسفندانی که از رژیم غذایی حاوی 110 میلی‌گرم روغن‌های غیر اشباع تغذیه شده بودند، مشاهده شد (38). کاهش یا حذف پروتوزوای شکمبه، از چرخه نیتروژن بین باکتری و پروتوزوای جلوگیری می‌کند (53) که منجر به کاهش تجزیه پروتئین به نیتروژن آمونیاکی می‌شود (20). این موضوع می‌تواند یکی از دیگر دلایل کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی در آزمایش حاضر باشد. بنابراین اسیدهای چرب در خارمریم با مکانیسم اثر مهارکنندگی بر پروتوزوای، احتمالاً باعث کاهش نیتروژن آمونیاکی شده‌اند.

مقابلیت‌های خونی

گلوکز و نیتروژن اوره‌ای: استفاده از خارمریم در جیره‌های آزمایشی باعث کاهش غلظت گلوکز و نیتروژن اوره‌ای خون گوسفندان شد و با افزایش مقدار خارمریم در جیره این کاهش خطی بود (جدول 5). سیلی‌مارین موجود در خارمریم با تاثیر بر آنزیم گلوکز 6- فسفاتاز و مهار گلوکونئوزن موجب کاهش گلوکز خون می‌شود (6). همچنین در مطالعه‌ای گزارش شد، که استفاده از سیلی‌مارین باعث کاهش معنی‌دار گلوکز خون ناشتا شد (17 و 49). تجویز سیلی‌مارین خارمریم باعث کاهش معنی‌دار قند خون در انسان نسبت به گروه شاهد شد که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد (46).

جدول 4- نیتروژن آمونیاکی و pH مایع شکمبه گوسفندان تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی حاوی خارمریم¹

فراسنجه شکمبه‌ای	درصد خارمریم	<i>Silybum marianum</i> (%)				SEM	P-value
		0	5	10	20		
pH		7.65	7.55	7.30	7.10	1.58	0.21
نیتروژن آمونیاکی NH ₃ -N (mg/100 ml)		10.45 ^a	10.17 ^a	9.77 ^b	9.39 ^c	0.09	0.0044

¹ میانگین‌های هر ردیف با حروف غیر مشابه دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند (P<0.05).

¹Means within same row with different superscripts differ (P<0.05).

جدول 5- اثر تغذیه با جیره‌های حاوی خارمریم بر گلوکز و نیتروژن اوره‌ای خون گوسفندان¹

فراسنجه‌خونی	درصد خارمریم	<i>Silybum marianum</i> (%)				SEM	P-value
		0	5	10	20		
گلوکز		49.26 ^a	45.04 ^b	42.60 ^c	41.69 ^d	0.31	0.0003
نیتروژن اوره‌ای خون BUN (mg/100 ml) ²		16.22 ^a	16.03 ^a	15.41 ^b	15.10 ^c	0.05	0.003

¹ میانگین‌های هر ردیف با حروف غیر مشابه دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند (P<0.05).

¹Means within same row with different superscripts differ (P<0.05).

²Blood urea nitrogen

همچنین گزارش شد که مصرف مواد دارای تانن باعث کاهش pH شکمبه در بزهای نر الموت شد (32)، این کاهش در بزها احتمالاً به علت کاهش جمعیت پروتوزوای شکمبه ذکر گردید (16). زیرا پروتوزوای دارای خاصیت پایدار کنندگی شکمبه می‌باشند که احتمالاً به علت هضم سریع و ذخیره نشاسته بوسیله پروتوزوای مؤکدار است (30). از طرفی، در بررسی تاثیر وجود منابع تانن‌دار بر جمعیت باکتری‌های پروتئولیتیک شکمبه گوسفند، بیان شده که تانن‌ها باعث کاهش pH شکمبه می‌شوند (37). بنابراین یکی از دلایل احتمالی دیگر کاهش pH را می‌توان به تانن خارمریم نسبت داد.

نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه

استفاده از خارمریم باعث تاثیر معنی‌دار (P<0/05) بر غلظت نیتروژن آمونیاکی شد (جدول 4). به موازات افزایش درصد خارمریم در جیره‌ها، میانگین غلظت نیتروژن آمونیاکی نیز کاهش یافت. به طوری که جیره شاهد بیشترین نیتروژن آمونیاکی و جیره حاوی 20 درصد خارمریم کمترین غلظت نیتروژن آمونیاکی را داشت. تانن و اسیدهای چرب موجود در خارمریم می‌تواند باعث کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی شود. تغذیه گاو و گوسفند با سطوح متوسط تانن (کمتر از 4 درصد) در علوفه لگومینه باعث کاهش تجزیه پروتئین در شکمبه گردید (8). در آزمایش حاضر نیز تغذیه گیاه خارمریم سبب کاهش نیتروژن آمونیاکی شکمبه شده که احتمالاً به ترکیبات خارمریم (اسیدهای چرب و تانن) مربوط می‌باشد. در تعامل بین

گندم بعد از انکوباسیون با مایع شکمبه گوسفندان تغذیه شده با خارمریم به ترتیب در جداول 6 و 7 ارائه شده است. پتانسیل تولید گاز کنجاله سویا (جدول 6) انکوبه شده با مایع شکمبه گوسفندان تغذیه شده با سطوح مختلف خارمریم تفاوت معنی‌داری نداشت. استفاده از خارمریم تا 20 درصد جیره، باعث افزایش تولید گاز در مقایسه با جیره شاهد شد ($P>0/05$). اما نرخ ثابت تولید گاز کنجاله سویا بین جیره‌های آزمایشی دارای تفاوت معنی‌داری بود به طوری که تا 10 درصد خارمریم در جیره باعث افزایش ($P>0/05$) و سطح 20 درصد منجر به کاهش در مقایسه با شاهد گردید ($P<0/05$). تفاوت پتانسیل تولید گاز گندم (جدول 7) در گوسفندان تغذیه شده با سطوح مختلف خارمریم معنی‌دار نبود ($P>0/05$). استفاده تا 10 درصد خارمریم باعث افزایش پتانسیل گاز تولیدی نسبت به شاهد شد، اما 20 درصد خارمریم باعث کاهش عددی گردید ($P>0/05$). نرخ ثابت تولید گاز در گندم بین جیره‌های آزمایشی تفاوت معنی‌داری را نشان داد ($P<0/05$).

نتایج بسیاری از آزمایش‌ها نشان می‌دهد که تانن با کاهش نرخ تجزیه‌پذیری پروتئین سبب کاهش غلظت آمونیاک شکمبه و به دنبال آن کاهش نیتروژن اوره‌ای پلاسما می‌شود (10). یکی از نکات قابل توجه در آزمایش حاضر مربوط به وجود ترکیبات نیتراتی در خارمریم بود. این نگرانی وجود داشت که وجود این ترکیبات یکی از عوامل خطرناک در مصرف این گیاه باشد. زیرا در طی فرآیند تخمیر در شکمبه در صورت عدم وجود منبع مناسب کربوهیدرات قابل تخمیر، نیترات تبدیل به نیتريت می‌گردد و با جذب شدن در خون تولید مت-هموگلوبین می‌کند (45). اما مسیر دیگر سرنوشت نیترات‌ها در شکمبه در صورت وجود منبع مناسب کربوهیدرات قابل تخمیر، تبدیل شدن آنها به نیتروژن آمونیاکی در شکمبه و در نهایت تولید پروتئین میکروبی در آن می‌باشد (3). اما به هر حال عدم افزایش نیتروژن اوره‌ای خون و یا آمونیاک شکمبه شاید به طور غیر مستقیم نشان از بیش از حد نبودن نیترات حاصل از خارمریم در آزمایش حاضر باشد.

تولید گاز در شرایط آزمایشگاه

داده‌های مربوط به تولید گاز حاصل از تخمیر کنجاله سویا و گندم

جدول 6- فراسنجه‌های تولید گاز کنجاله سویا انکوبه شده با مایع شکمبه گوسفندان تغذیه شده با جیره‌های حاوی خارمریم¹

Table 6- Gas production parameters of soybean meal incubated with rumen fluid of sheep fed diets contain *Silybum marianum*¹

درصد خارمریم <i>Silybum marianum</i> (%)	فراسنجه‌ها Parameters	
	b (ml)	c (ml/hr)
0	67.33	0.062 ^a
5	69.31	0.076 ^a
10	76.58	0.065 ^a
20	74.28	0.039 ^b
SEM	3.020	0.005
P-value	0.191	0.011

¹ میانگین‌های هر ستون با حروف غیر مشابه دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند ($P<0.05$). b: تولید گاز از بخش قابل تخمیر، c: نرخ تولید گاز، پتانسیل تولید گاز از بخش قابل تخمیر، c: نرخ تولید گاز.

¹Means within same column with different superscripts differ ($P<0.05$). b: Gas production from the fermentable fraction (ml), c: GP rate constant (ml/h).

جدول 7- فراسنجه‌های تولید گاز گندم انکوبه شده با مایع شکمبه گوسفندان تغذیه شده با خارمریم¹

Table 7- Gas production parameters of wheat straw incubated with rumen fluid of sheep fed diets contain *Silybum marianum*¹

درصد خارمریم <i>Silybum marianum</i> (%)	فراسنجه‌ها Parameters	
	b (ml)	c (ml/hr)
0	75.26	0.019 ^a
5	79.10	0.013 ^b
10	88.88	0.017 ^{ab}
20	72.26	0.014 ^b
SEM	6.43	0.001
P-value	0.35	0.029

¹ میانگین‌های هر ستون با حروف غیر مشابه دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند ($P<0.05$). b: تولید گاز از بخش قابل تخمیر، c: نرخ تولید گاز، پتانسیل تولید گاز از بخش قابل تخمیر، c: نرخ تولید گاز.

¹Means within same column with different superscripts differ ($P<0.05$). b: Gas production from the fermentable fraction (ml), c: the GP rate constant (ml/h)

خشک با افزودن روغن‌ها تغییری نکرد، آن‌ها علت این امر را احتمالاً فعالیت ضدباکتریایی بعضی روغن‌های فرار بیان کردند (26). همه این تغییرات در تخمیر با تغییر در هضم همراه است و معمولاً باعث افزایش قابلیت هضم می‌گردد. احتمالاً تانن موجود در خارمریم نیز در نتایج مشاهده شده نقش داشته‌است. نتایج آزمایش‌های مختلف اثرات متفاوتی از تانن را روی هضم پروتئین و فیبر نشان داده‌اند که از آثار مثبت تا منفی، بسته به غلظت و ماهیت تانن و ترکیبات موجود در خوراک متغیر است (29 و 33). مکانیسم‌های بهبود بازدهی استفاده از پروتئین توسط تانن‌ها عمدتاً با افزایش پروتئین عبوری، افزایش باز جذب اوره به شکمبه و بهبود بازدهی پروتئین میکروبی همراه است (14). بخش عمده‌ای از اتصالات بین تانن و ماکرومولکول‌های دیگر در شکمبه، که آن‌ها را از دسترس هضم میکروبی خارج می‌کند، در حضور pH اسیدی شیردان شکسته شده و مورد هضم قرار می‌گیرند (31 و 33). نتایج آزمایش حاضر نشان داد که تانن نه تنها بر هضم منبع پروتئینی (کنجاله سویا) اثر منفی نداشته است، بلکه با افزایش سطح تانن به دلیل حمایت آن در برابر هضم میکروبی، بر هضم پروتئین سویا اثر مثبت هم داشته است. از آنجایی که پروتئین می‌تواند در مراحل هضم آنزیمی اوره تجزیه شود، عدم تأثیر منفی تانن بر قابلیت هضم پروتئین در این آزمایش می‌تواند به علت حذف باندهای تانن-پروتئین در مرحله هضم آنزیمی باشد (40). افزایش در گاز تولیدی تا سطح 5 درصد هم می‌تواند به همان دلایلی که برای کنجاله سویا بیان شد باشد. بعلاوه عدم کفایت تانن نیز باعث شده است که تأثیر منفی بر تولید گاز در این سطح ملاحظه شود.

قابلیت هضم الیاف نامحلول در شوینده خنثی کنجاله سویا و کاه گندم در جیره‌های آزمایشی با سطوح مختلف خارمریم تحت تأثیر تیمارها قرار نگرفت ($P>0/05$). اما از نظر عددی استفاده خارمریم باعث افزایش قابلیت هضم الیاف نامحلول در شوینده خنثی کنجاله سویا تا سطح 10 درصد و کاهش قابلیت هضم در کاه گندم شد (جدول 6). مخالف با نتایج آزمایش حاضر، استفاده از منابع چربی در جیره روی هضم شکمبه‌ای موثر است و مکمل چربی اشباع شده بطور خطی باعث کاهش هضم شکمبه‌ای ماده خشک، مواد آلی و NDF گردید (7). اما شاید کاهش غیر معنی‌دار و ناچیز در هضم NDF آزمایش حاضر را بتوان به اثر اسیدهای چرب موجود در خارمریم نسبت داد. زیرا اثر منفی چربی‌ها و روغن‌ها به سطح آنها در جیره بر می‌گردد و تا سطح 5 درصد اثر منفی بر هضم الیاف مشاهده نشد (43).

نتایج آزمایش حاضر نشان داد پتانسیل تولید گاز از منبع پروتئینی (کنجاله سویا) انکوبه شده در مایع شکمبه گوسفندان تغذیه شده با خارمریم در جیره پایه ذرت نسبت به شاهد از لحاظ عددی افزایش یافت که می‌تواند احتمالاً به علت اثر روغن‌های فرار باشد. موافق پژوهش حاضر، مکمل کردن جیره با عصاره‌های گیاهی فرار حاوی روغن‌ها، پتانسیل تولید گاز را افزایش می‌دهد، علت این امر را افزایش قندهای محلول در واکنش‌های ترکیبی به واسطه افزودن عصاره‌های گیاهی دانستند (44). در بررسی اثر روغن‌های فرار روی تخمیر مایع شکمبه گاو میش بیان کردند که میزان گاز تولید شده (میلی لیتر بر گرم ماده خشک) با مقادیر 0/3 و 1 میکرو لیتر بر میلی لیتر روغن‌های فرار افزایش یافت (2). مطابق با پژوهش حاضر به ویژه برای جیره حاوی بیش از 5 درصد خارمریم، روغن‌های فرار تولید متان را در شکمبه کاهش می‌دهند و علت آن این است که اجزاء سازنده روغن‌های فرار به طور انتخابی توانایی مهار پروتوزوآها را دارند. از سوی دیگر بین پروتوزوآهای شکمبه با متانوزن‌ها یک همزیستی مفید وجود دارد. لذا مهار پروتوزوآها منجر به مهار متانوزن‌ها و کاهش تولید متان می‌گردد (22 و 44).

پتانسیل تولید گاز کاه گندم انکوبه شده در مایع شکمبه گوسفندان تغذیه شده با خارمریم تا 10 درصد افزایش و بعد از آن کاهش یافت که احتمالاً کاهش به علت وجود ترکیبات فنلی از جمله تانن و روغن‌های غیر اشباع در خارمریم باشد. موافق پژوهش حاضر، بین قابلیت هضم ماده آلی در روش تولید گاز و میزان ترکیبات فنولی رابطه منفی وجود دارد به طوری که با افزایش ترکیبات فنولی میزان قابلیت هضم کاهش یافت (28). تانن باعث کاهش تولید گاز در شکمبه می‌شود (20، 23، 28 و 31) این کاهش به دلایلی نظیر کاهش اتصال میکروارگانیزم‌ها به ذرات غذایی (33)، مهار رشد میکروارگانیزم‌ها و مهار فعالیت آنزیم‌های میکروبی (35) رخ می‌دهد. قابلیت هضم کنجاله سویا و کاه گندم (روش هضم دو مرحله‌ای): قابلیت هضم ماده خشک کنجاله سویا در جیره‌های آزمایشی حاوی دانه ذرت با سطوح مختلف خارمریم (جدول 8) تحت تأثیر جیره‌های آزمایشی قرار نگرفت ($P>0/05$) و روند افزایشی داشت. تفاوت قابلیت هضم ماده خشک کاه گندم انکوبه شده با مایع شکمبه گوسفندان تغذیه شده با مقادیر مختلف خارمریم تفاوت معنی‌داری نداشت ($P>0/05$). از جمله عوامل موثر بر هضم در آزمایش حاضر می‌تواند حضور اسیدهای چرب در روغن موجود در خارمریم باشد. مقدار روغن در گیاه بین 20 تا 25 درصد است (1). مهمترین اجزای آن عبارت از اسید لینولئیک (50 تا 60 درصد)، اسید اولئیک (20 تا 35 درصد) می‌باشد (27). موافق با نتایج آزمایش حاضر، قابلیت هضم ماده

جدول 8- قابلیت‌هضم کاه گندم و کنجاله سویا انکوبه شده با مایع شکمبه تغذیه شده با جیره‌های حاوی خارمریم

Table 8- Digestibility of wheat straw and soybean meal incubated with rumen fluid of sheep fed diets contain *Silybum marianum*

قابلیت‌هضم Digestibility (%)	ماده خوراکی Feed ingredient	درصد مقدار خارمریم <i>Silybum marianum</i> (%)				SEM	P-value
		0	5	10	20		
ماده خشک Dry matter	کنجاله سویا Soybean meal	98.18	97.44	89.73	97.82	3.60	0.36
	کاه گندم Wheat straw	50.90	53.32	58.73	55.54	3.20	0.40
الیاف نامحلول درشوینده خنثی NDF ¹	کنجاله سویا Soybean meal	72.56	73.22	73.33	72.38	0.77	0.78
	کاه گندم Wheat straw	40.28	39.94	39.77	38.78	1.29	0.72

¹NDF: Neutral detergent fiber.

گیاه خارمریم تا 20 درصد در جیره گوسفندان استفاده کرد.

نتیجه گیری

با تغذیه خارمریم اثر منفی بر تخمیر شکمبه، قابلیت هضم کاه گندم، کنجاله سویا و مواد مغذی جیره گوسفندان تحت آزمایش مشاهده نشد. نیتروژن آمونیاکی و pH در وضعیت مناسبی قرار داشتند. بنابراین، بر اساس نتایج بدست آمده از این تحقیق، می‌توان از

سپاسگزاری

نویسندگان از دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان برای فراهم آوردن شرایط انجام آزمایش سپاسگزاری می‌نمایند.

منابع

1. Abdali-Mashhadi, A. R., and Gh. Fathi. 2002. The effect of different levels of density on yield and oil content of milk thistle in weather of Ahvaz. Pajouhesh and Sazandegi, 54 (2): 45-52. (In Persian).
2. Agrawal, S., and H. L. Bonkovsky. 2009. Management of nonalcoholic steatohepatitis: an analytic review. Journal of Clinical Gastroenterology, 35: 253-61.
3. Allison, M. J., and C. A. Reddy. 1984. Adaptations of gastrointestinal bacteria in response to changes in dietary oxalate and nitrate. Page 248 in Proc. 3rd International Symposium on Microbial Ecology. Michigan State University, East Lansing.
4. Annassori, E., B. Dalir-Naghadeh, R. Pirmohammadi, A. Taghizadeh, S. Asri-Rezaei, M. Maham, S. Farahmand-Azar, and P. Farhoomand. 2011. A potential alternative for monnensin as rumen modifier. Livestock Science, 10:10-16.
5. AOAC International. 2012. Official Methods of Analysis. 19th ed. AOAC International, Gaithersburg, MD.
6. Baluchnejad-mojarad, T., M. Roghani, and Z. Khaste khodaie. 2010. Evaluation of the effect of chronic administration of Silymarin on thermal and chemical hyperalgesia in an experimental model of diabetic neuropathy in male rats. Iranian Journal of Endocrinology and Metabolism, 11 (5): 585-589. (In Persian).
7. Baptiste, Q. S. 2009. Effects of delayed fat supplementation on post-prandial rumen metabolism, lamb quality and fatty acid composition of rumen effluent. PhD Thesis. West Virginia University, USA.
8. Barry, T. N., and W. C. McNabb. 2002. The implications of condensed tannins on the nutritive value of temperate forages fed to ruminants. British Journal of Nutrition, 81: 263-272.
9. Benchaar, C., H. V. Petit, R. Berthiaume, T. D. Whyte, and P. Y. Chouinard. 2006. Effects of addition of essential oils and monensin premix on digestion, ruminal fermentation, milk production and milk composition in dairy cows. Journal of Dairy Science, 89:4352-4364.
10. Ben Salem, H., H. P. S. Makkar, A. Nefzaoui, L. Hassayoun, and S. Abidi. 2005. Benefit from the association of small amounts of tannin-rich shrub foliage (*Acacia cyanophylla* Lindl.) with soybean meal given as supplements to Barbarian sheep fed on oaten hay. Animal Feed Science and Technology, 122:173-186.
11. Bohm, H., H. Boeing, J. Hempel, B. Raab, and A. Kroke. 1998. Flavonols, flavone and anthocyanins as natural antioxidants of food and their possible role in the prevention of chronic diseases. Z Ernährungswiss, 37(2):147-63.
12. Broderick, G. A., and J. H. Kang. 1980. Automated simultaneous determination of ammonia and total amino acids in ruminal fluid and *in vitro* media. Journal of Dairy Science, 63, 64-75.
13. Chaves, A. V., K. Stanford, M. E. R. Dugan, L. L. Gibson, T. A. McAllister, F. Van Herk, and C. Benchaar. 2008. Effects of cinnamaldehyde, garlic and juniper berry essential oils on rumen fermentation, blood metabolites, growth performance and carcass characteristics of growing lambs. Livestock Science, 117: 215-224.

14. Danesh Mesgaran, M. 1388. Advanced *in vitro* methods for animal science researches. Ferdowsi university of Mashhad, Mashhad, Iran. (In Persian).
15. Dehority, B. A. 2004. Rumen microbiology. British Library Cataloguing in Publication Data. First Published 12: 12-18.
16. Eryavuz, A., and B. A. Dehority. 2004. Effect of *Yucca schidigera* extract on the concentration of rumen microorganisms in sheep. *Animal Feed Science and Technology*, 117: 215-222.
17. Falah Hoseini, H., A. Hemati Moghadam, and M. Alavian. 2005. A review of *Silybum marianum*, a medicinal plant. *Journal of Medical Plants*, 11 (1): 14-24. (In Persian).
18. Fazaeli, H. 2012. Efficient use of agricultural by-products in ruminant nutrition. In 5th animal science congress. Esfahan, Iran. (In Persian).
19. Foroogh Ameri, N. 1997. Determination nutritional value and digestibility of dried and ensiled pistachios by-products (soft upper shell). MSc thesis. Esfahan University, Iran. (In Persian).
20. Frutos, P., G. Hervás, F. J. Giráldez, and A. R. Mantecón. 2004. Review Tannins and ruminant nutrition. *Review. Spanish Journal of Agricultural Research*, 2(2):191-202.
21. Ghahreman, A., and A. Florangi. 1983. Colored flora of Iran. Research Institute of Forests and Rangelands press. 9th ed. (In Persian).
22. Garcia-Gonzalez, R., S. Lopez, M. Fernandez, and J. S. Gonzalez. 2008. Dose-responses effects of *Rheum officinal* root and *Frangula alnus* bark on ruminal methane production *in vitro*. *Animal Feed Science and Technology*, 145: 319-334.
23. Getachew, G., H. P. S. Makkar, and K. Becker. 2000. Effect of polyethylene glycol on *in vitro* degradability and microbial protein synthesis from tannin-rich browse and herbaceous legumes. *British Journal of Nutrition*, 84: 73-83.
24. Godarzi, M., A. Nikkhah, A. Mirhadi, A. Sarabi, A. Haghdoost, and J. Eftekharnajad. 2003. Clinoptilolite and chicory impact on performance and health fattened liver of Shal species. *Pajouhesh and Sazandegi*. 60: 70-76. (In Persian).
25. Harsini, M., M. Bojarpour, M. Eslami, M. Chaji, T. Mohammadabadi. 2013. The Effect of oak kernel on digestibility and fermentative characteristics in Arabi Sheep. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 5 (2): 125-137. (In Persian).
26. Hart, K. J., D. R. Yanez-Ruiz, and S. M. Duval. 2007. Plant extracts to manipulate rumen fermentation. *Animal Feed Science and Technology*, 1016:1-28.
27. Hasanloo T., M. Bahmany, R. Sepehrfar, and F. Kalantary. 2007. Fatty acids composition in seeds of *Silybium marianum* (L.) Gaerth. In 3th Symposium of Medicinal Plants, Shahed University, Tehran. (In Persian).
28. Hassan Sallam, S. M. A., I. C. da Silva Bueno, P. B. de Godoy, F. N. Eduardo, D. M. S. Schmidt Vittib, and A. L. Abdalla. 2010. Ruminal fermentation and tannins bioactivity of some browses using a semi-automated gas production technique. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 12: 1-10.
29. Hervás, G., F. Pilar Frutos, R. Javier Giráldez Ángel, C. Mantecón María, and P. Álvarez Del. 2000. Effect of different doses of quebracho tannins extract on rumen fermentation in ewes. *Animal Feed Science and Technology*, 109:65-78.
30. Hristov, A. N., M. Ivan, L. M. Rode, and T. A. McAllister. 2001. Fermentation characteristics and rumen ciliate protozoal populations in cattle fed medium or high barley based diets. *Journal of Animal Science*, 79: 515-524.
31. Makkar, H. P. S. 1995. 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.
32. Maldar, S. M. Y., and R. Alipour. 2010. The Effect of Adaptation to Oak leaves on digestibility (*in vitro*) and ruminal parameters in Alamout Goat. *Iranian Journal of Animal Science*, 43 (41): 243-252. (In Persian).
33. McAllister, T. A., H. D. Bae, L. J. Yanke, K. J. Cheng, and A. Muir. 1994. Effect of condensed tannins from birdsfoot trefoil on the endoglucanase activity and the digestion of cellulose filter paper by ruminal fungi. *Canadian Journal of Microbiology*, 40: 298-305.
34. McDonald, P., R. J. F. D. Grinhardt, C. A. Morgan, L. A. Sinclair, R. G. Wilkinson. 2010. *Animal Nutrition*. 17th ed. Pearson. Harlow, London, England.
35. McSweeney. C. S., B. Palmer, D. M. McNeill, and D. O. Krause. 2001. Microbial interactions with tannins: nutritional consequences for ruminants. *Animal Feed Science and Technology*, 91:83-93.
36. Menke, K. H., and H. Steingass. 1988. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. *Animal research and development*, 28:7-55.
37. Min, B. R., G. T. Attwood, K. Reilly, W. Sun, J. S. Peters, T. N. Barry, and W. C. McNabb. 2002. *Lotus corniculatus* condensed tannins decrease *in vivo* populations of proteolytic bacteria and affect nitrogen metabolism in the rumen of sheep. *Canadian Journal of Microbiology*, 48: 911-921.

38. Newbold, C. J., F. M. McIntosh, P. Williams, R. Losa, and R. J. Wallace. 2004. Effects of a specific blend of essential oil compounds on rumen fermentation. *Animal Feed Science and Technology*, 114 (1-4): 105-112.
39. NRC, 2007. Nutritional requirements of small ruminants. National Academy Press, Washington, D.C., USA.
40. Nunez-Hernandez, G., J. D. Wallace, J. L. Holechek, M. L. Galyean, and M. Cardenas. 1991. Condensed tannins and nutrient utilization by lambs and goats fed low-quality diets. *Journal of Animal Science*, 69:1167-1177.
41. Omidbeygi, R., 2007. Production and processing of medicinal herbs. Vol 2. Astan Qods Razavi press, Mashhad, Iran. (In Persian).
42. Ørskov, E. R., and I. McDonald. 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *Journal of Agricultural Science (Cambridge)*, 92:499- 503.
43. Palmquist, D. L. 1991. Influence of source and amount of dietary fat on digestibility in lactating cows. *Journal of Dairy Science*, 74:1354.
44. Patra, A. K., and Z. Yu. 2012. Effects of essential oils on methane production, fermentation abundance and diversity of rumen microbial populations. *Applied and Environmental Microbiology*, 78: 4271-4280.
45. Pfister, J. A. 1988. Nitrate intoxication of ruminant livestock. Page 233 in *The Ecology and Economic Impact of Poisonous Plants on Livestock Production*. L. F. James, ed. Westview Press, Boulder, Co.
46. Ramezani, M., M. Azarabadi, and H. Falahhoseini. 2006. Study the therapeutic effect of *Silybum marianum* seed extract on blood sugar reduction in second type diabetes disease. *Journal of Medicinal Plants*, 26 (7): 79-84. (In Persian).
47. Reid, C., J. Edwards, M. Wang, Y. Manybeads, L. Mike, N. Martinez, L. La Grange, and E. Reyes. 1999. Prevention by a Milk thistle phospholipid compound of ethanol-induced social learning deficits in rats. *Planta Medica*, 65: 421-4.
48. SAS Users Guide: Statistics. 1999. Version 8.2. SAS Inst. Inc., Cary, NC
49. Schulz, V., R. Hansel, and V. E. Tyler. 1997. *Rational Phytotherapy: A Physician's guide to herbal medicine*. Springer, Berlin, Germany.
50. Tilley, J. M., and R. A. Terry. 1963. A two stage technique for the in vitro digestion of forage crops. *Journal of the British Grassland Society*, 18: 104-111.
51. Vahmani, P. 2005. Chemical composition, degradability and gastrointestinal disappearance of pistachio by-products and its utilization in diets of mid-lactation dairy cow. MSc thesis. Ferdowsi University, Iran. (In Persian).
52. Van Soest, P. J., J. B. Robertson, and B. A. Lewis. 1991. Methods of dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, 74: 3583-3597.
53. Yanez Ruiz, D. R., A. Moumen, A. I. Mart'ın Garc'ıa, and E. Molina Alcaide. 2004. Ruminant 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.
54. Yang, W. Z., C. A. Benchaar, B. N. metaj, A. V. Chaves, M. L. He, and T. A. Mcallister. 2007. Effect of *Cichorium intybus* essential oils on ruminal fermentation and on the site extent of digestion in lactating cow. *Journal of Dairy Science*, 90: 5671-5681.
55. Yildiz, S., I. Kaya, Y. Unal, D. Aksu Elmali, S. Kaya, M. Cenesiz, M. Kaya, and A. Oncuer. 2005. Digestion and body weight change in Tuj lambs receiving oak (*Quercus hartwissiana*) leaves with and without PEG. *Animal Feed Science and Technology*, 122: 159-172.
56. Yokozawa, T., A. Ishida, E. J. Cho, and T. Nakagawa. 2003. The effects of *Coptidis rhizoma* extract on a hypercholesterolemic animal model. *Phytomedicine*, 10 (1): 17-22.
57. Zare Kia, S., O. Baigi. 2006. Autecology of Milk thistle (*Silybum marianum*) in Behdasht Region of Noor. *Iranian Journal of Medical and Aromatic Plants*, 12 (2):135-139. (In Persian).
58. Zargari, A. 1996. *Medicinal Plants*. Vol 3. 6th ed. Tehran University press, Tehran, Iran. (In Persian).