مقاله علمی پژوهشی/نشریه پژوهش‌های علوم دامی/ جلد ۳۳ شماره ۱/ سال۱۴۰۲/ صفحات ۱۴۱ تا ۱۵۵
DOI: 10.22034/AS.2021.43684.1598

تاثیر گیاه کنوکارپوس عمل‌آوری شده با باکتری‌های تولید کننده تاناز جدا شده از گوزن بر عملکرد، قابلیت هضم و تخمیر، فراسنجه‌های خونی و آنزیم‌های کبدی گوسفند عربی

طاهره محمدآبادی*[۱] راضیه عیدی‌پور[۲] و محمدرضا مشایخی[۳]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۰/۲ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۹/۶

[۱] استاد، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، اهواز، ایران

[۲] دانش آموخته کارشناسی ارشد، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، اهواز، ایران

[۳] استادیار پژوهشی مرکز تحقیقات صفی آباد دزفول

* مسئول مکاتبه: Email: mohammadabadi@asnrukh.ac.ir

چکیده

زمینه مطالعاتی: استفاده از برگ و سرشاخه کنوکارپوس موجود در مناطق گرمسیری به صورت جایگزین با بخشی از جیره گوسفند می‌تواند سودمند باشد. **هدف**: این آزمایش با هدف بررسی تاثیر جایگزینی بخشی از سیلاژ ذرت با گیاه کنوکارپوس عمل‌آوری شده با باکتری‌های تولید کننده تاناز در جیره گوسفند عربی انجام شد. **روش کار**: در این آزمایش تعداد ۱۶ رأس بره نر عربی با میانگین وزن ۳±۲۵ کیلوگرم در قالب طرح کاملا تصادفی استفاده شدند. تیمارهای آزمایشی عبارت بودند از: ۱) جیره شاهد (فاقد کنوکارپوس)، ۲) جیره حاوی ۱۲/۵ درصد کنوکارپوس عمل‌آوری شده توسط باکتری A6، تولیدکننده تاناز (BA6) ۳) جیره حاوی ۱۲/۵ درصد کنوکارپوس عمل‌آوری شده توسط باکتری A8، تولید کننده تاناز (BA8) و ٤) جیره حاوی ۱۲/۵ درصد کنوکارپوس بدون عمل‌آوری (WB). در پایان آزمایش خوراک مصرفی، رفتار مصرف خوراک، قابلیت هضم مواد مغذی، فراسنجه‌های تخمیری شکمبه، جمعیت پروتوزوآ و فراسنجه‌های خونی بررسی شدند. **نتایج**: میزان خوراک مصرفی تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی کاهش یافت (P<۰/۰۵). مدت زمان مصرف خوراک و جویدن به طور معنی‌داری تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی کاهش یافت (P<۰/۰۵). بیش‌ترین میزان قابلیت هضم ماده آلی در تیمار عمل‌آوری شده با باکتری A6 مشاهده شد (P<۰/۰۵). کم‌ترین میزان قابلیت هضم الیاف نامحلول در شوینده خنثی و اسیدی در تیمار WB مشاهده شد (P<۰/۰۵). بیش‌ترین و کم‌ترین میزان pH به ترتیب در تیمارهای کنترل و WB مشاهده شد (P<۰/۰۵). غلظت نیتروژن آمونیاکی و جمعیت پروتوزوآ به طور معنی‌داری تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی کاهش یافت (P<۰/۰۵). غلظت استات به طور معنی‌داری تحت تاثیر تیمارهای BA6 و BA8 افزایش یافت (P<۰/۰۵). همچنین بیش‌ترین میزان بوتیرات در تیمار WB مشاهده شد (P<۰/۰۵). تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی غلظت گلوکز و نیتروژن اوره‌ای خون به طور معنی‌داری کاهش یافت (P<۰/۰۵). کم‌ترین میزان آلکالین فسفاتاز در تیمار کنترل مشاهده شد (P<۰/۰۵). **نتیجه‌گیری نهایی**: با توجه به اثرات مثبت فرآوری کنوکارپوس با باکتری‌های تجزیه کننده تانن نسبت به کنوکارپوس بدون باکتری بر برخی از فاکتورهای اندازه‌گیری شده و از طرفی با توجه به عدم تاثیر منفی بر سلامت دام‌ها شاید بتوان گفت عمل‌آوری این گیاه برای کاهش تانن راهکاری مناسب برای استفاده کنوکارپوس در جیره بره‌های پرواری باشد.

واژگان کلیدی: باکتری‌های تجزیه کننده تانن، فراسنجه‌های خونی و شکمبه‌ای، کنوکارپوس، گوسفند عربی

مقدمه

نکته اساسی در تغذیه دام، تهیه جیره‌هایی است که علاوه بر تامین مناسب مواد مغذی برای دام، از لحاظ اقتصادی هم مقرون به صرفه باشند. لذا استفاده از منابع گیاهی و غذایی بومی و بهره‌وری هر چه بیش‌تر از پتاسیل‌های محیط پرورش، ما را به این هدف نزدیک‌تر خواهد کرد. یکی از منابع که در مناطق گرمسیری ایران (به خصوص استان‌های خوزستان و بوشهر) مورد توجه قرار گرفته است *کنوکارپوس ارکتوس* (*Conocarpus erectus*) می‌باشد (چاجی و همکاران ۲۰۲۰؛ دیرکوندی و همکاران ۲۰۲۰). کنوکارپوس گیاه زینتی رایج در مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری است که معمولا به صورت درختچه‌ای با ارتفاع ۱/۵ تا ٤ متر دیده می‌شود. این درختچه متعلق به تیره کمبرتاسه می‌باشد. به علت مقاوت و سازگاری با هوای گرم و خشک، خاک خشک، شرایط تهویه، زهکشی بد، آلودگی هوا و نیز خاک‌های متراکم کشت آن در دهه گذشته در کشور و مخصوصا استان خوزستان افزایش پیدا کرده است (محمدآبادی ۲۰۲۰). آل-کوئیک و همکاران (۲۰۱٤) میزان پروتئین خام و فیبر برگ کنوکارپوس را به ترتیب ۹٦/٦ و ۱۳٤/۷ گرم در کیلوگرم ماده خشک گزارش کردند. همچنین دیرکوندی و همکاران (۲۰۲۰) در تحقیقی میزان پروتئین خام، الیاف نامحلول در شوینده خنثی و اسیدی سیلاژ کنوکارپوس را به ترتیب ۱۱٤، ٤۷۳ و ۳۷۱ گرم در کیلوگرم ماده خشک گزارش کردند که می‌تواند به عنوان خوراک با مواد مغذی مناسب در تغذیه دام مورد استفاده قرار بگیرد.

با این حال یکی از مواردی که در مورد کنوکارپوس به عنوان خوراک دام باید مورد توجه قرار بگیرد وجود ترکیبات ثانویه از قبیل ترکیبات فنلی (تانن‌ها) می‌باشد (محمدآبادی ۲۰۲۰). احسن و همکاران (۲۰۱٦) میزان ترکیبات فنلی برگ کنوکارپوس را ۳/٤۹ درصد گزارش کردند. وجود مواد ضد تغذیه‌ای به ویژه تانن‌ها در علوفه برخی درختان و درختچه‌ها می‌توانند عملکرد حیوان را محدود کنند، به خصوص زمانی که درختان و درختچه‌ها در مقادیر زیاد تغذیه شوند (هیورا و همکاران ۲۰۱۰). روش‌های مختلفی از قبیل سیلو کردن و خشک کردن (ماکار ۲۰۰۳)، استفاده از پلی اتیل گلیکول (گامبل و همکاران ۱۹۹٦) و افزودنی‌های میکروبی (کوندا و همکاران ۲۰۰۷) برای کاهش اثرات منفی تانن‌ها مورد استفاده قرار گرفته‌اند. امروزه استفاده از افزودنی‌های میکروبی به منظور کاهش میزان تانن بیش‌تر مورد توجه قرار گرفته است. محمدآبادی و همکاران (۲۰۲۰) در آزمایشی برون‌تنی بهبود قابلیت هضم مواد مغذی برگ و سرشاخه کنوکارپوس و همچنین کاهش تانن را در نتیجه استفاده از باکتری‌های تجزیه کننده تانن گزارش کردند.

فعالیت تاناز برای اولین بار در گونه *سلونوماناس رومینانتیوم* جداسازی شده از شکمبه بزی که منابع غنی از تانن مصرف کرده بود، شناسایی شد (پل و همکاران ۲۰۰۰). تانن آسیل هیدرولاز معمولا تاناز خوانده می‌شود که آنزیم‌هایی القایی‌اند که هیدرولیز استرها و پیوندهای گالوتانن‌ها را برای تولید گالیک اسید و گلوگز و سایر محصولات تانن مثل کاتچین و الاجی کاتچین، کاتالیز می‌کند (جعفری تپه و همکاران ۲۰۱۲). این آنزیم کاربردهای مختلفی در خوراک دام و انسان، صنایع دارویی و شیمیایی برای تولید گالیک اسید و تولید خوراک دام‌ها دارد (مهپاترا و همکاران ۲۰۰۵). از این رو با توجه به تولید بالای کنوکارپوس هرس شده در استان خوزستان، این آزمایش به منظور عمل‌آوری برگ و سرشاخه کنوکارپوس با باکتری تاناز در تغذیه گوسفند عربی انجام شد.

مواد و روش‌ها

تهیه باکتری‌های تولید کننده تاناز و مایه تلقیح

در این تحقیق از باکتری‌های تجزیه کننده تانن (دو جدایه A6 و A8) جداسازی شده از شکمبه گوزن استفاده شد که قادر به تولید آنزیم تاناز بودند (غیبی‌پور ۲۰۱۷). طبق

نتایج تعیین توالی، جدایه A6 تشابه ۹۷ درصدی به جنس *اسینتوباکتر* و جدایه A8 تشابه ۹۹ درصدی با *کلبسیلا پنومونیه* داشته که با توجه به فعالیت آنزیمی بالا در این آزمایش جهت عمل‌آوری کنوکارپوس مورد استفاده قرار گرفتند. یک لوپ از هر جدایه باکتریایی در ۲۰ میلی‌لیتر محیط کشت نوترینت براث تلقیح شد و به مدت ۲٤ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. در مرحله آخر محیط کشت مذکور به یک لیتر محیط نوترینت براث تلقیح گردید و به مدت ۲٤ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و جهت عمل‌آوری شاخ و برگ کنوکارپوس استفاده شد.

تهیه شاخ و برگ کنوکارپوس و عمل‌آوری

سرشاخه‌های کنوکارپوس از درختچه‌های کنوکارپوس سطح شهر صفی‌آباد (دزفول-ایران) تهیه گردید. سرشاخه‌های تهیه شده با استفاده از دستگاه خرد کن به مخلوطی با قطعات با اندازه ٤-۳ سانتی‌متر تبدیل گردیدند. پس از عمل‌آوری شاخ و برگ کنوکارپوس با باکتری‌های مورد نظر برای مدت دو هفته در دمای محیط نگه‌داری شدند. پس از دو هفته خشک شدند و با نسبت‌های مورد نظر در جیره‌های آزمایشی مورد استفاده قرار گرفتند.

بر اساس روش بیان شده در تحقیق محمدآبادی و همکاران (۲۰۲۱) و مصلح و همکاران (۲۰۱٤)، عمل‌آوری انجام شد. جهت تهیه باکتری ها، یک لوپ از هر جدایه باکتریایی در ۲۰ میلی‌لیتر محیط نوترینت براث تلقیح شد و به مدت ۲٤ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. در مرحله آخر محیط کشت مذکور به یک لیتر محیط نوترینت براث تلقیح گردید و به مدت ۲٤ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. شاخ و برگ هرس شده کنوکارپوس به مدت ۲ هفته با باکتری‌ها عمل‌آوری شدند (۰/۵ کیلوگرم با ۲۵۰ میلی‌لیتر جدایه-های باکتریایی با غلظت 10^{7} CFU تلقیح شده) و بعد از طی این زمان خشک شده و در تغذیه بره‌ها استفاده شدند.

حیوانات، جیره و تیمارهای آزمایشی

تعداد ۱٦ رأس بره نر عربی زایش بهاره با میانگین وزن ۳±۲۵ کیلوگرم و میانگین سن چهار ماه انتخاب و به طور تصادفی به چهار گروه تقسیم شدند و در جایگاه‌های انفرادی با ابعاد ۱/۳×۱/۵ متر مستقر شدند. تعداد چهار تیمار آزمایشی به صورت تصادفی به چهار گروه از بره‌ها اختصاص داده شد. آزمایش در قالب طرح کاملا تصادفی با چهار تیمار و چهار تکرار اجرا شد. طول دوره آزمایش ٦۰ روز، شامل ۱۰ روز عادت‌پذیری (جایگاه، روش نگه‌داری، نوع جیره، نحوه خوراک‌دهی و آبخوری‌ها) و ۵۰ روز دوره اصلی آزمایش بود. در طول دوره عادت‌پذیری تمامی بره‌ها علیه انگل‌های خارجی و داخلی واکسینه شدند. همچنین در طول دوره عادت‌پذیری جیره آزمایشی به تدریج به سطح ۵۰ درصد کنسانتره و ۵۰ درصد علوفه رسانده شد.

در این آزمایش از یک جیره پایه حاوی ۵۰ درصد کنسانتره و ۵۰ درصد علوفه که بر اساس جداول انجمن ملی تحقیقات (NRC ۲۰۰۷) تنظیم شده بود. اجزا و ترکیب شیمیایی جیره آزمایشی در جدول ۱ ارائه شده است که کنوکارپوس جایگزین ۵۰ درصد سیلاژ ذرت شد. تیمارهای آزمایشی به شرح ذیل بودند:

۱) تیمار شاهد (C) ؛ جیره بدون کنوکارپوس. ۲) تیمار ۱(BA6) ؛ جیره حاوی کنوکارپوس عمل‌آوری شده با باکتری A6. ۳) تیمار ۲ (BA8)؛ جیره حاوی کنوکارپوس عمل‌آوری شده با باکتری A8. ٤) تیمار ۳ (WB)؛ جیره حاوی کنوکارپوس بدون عمل‌آوری .جیره مورد استفاده به صورت کاملا مخلوط و به شکل آزاد (در حد اشتها، باقی ماندن حدود ۵ درصد خوراک ارائه شده در طول ۲٤ ساعت) دو بار در روز (در ساعات ۰۸:۰۰ و ۱٦:۰۰) در اختیار بره‌ها قرار گرفت. همچنین بره‌ها در طول دوره پرورش به آب سالم دسترسی داشتند.

Table 1- Ingredients (%), chemical composition (%) and metabolizable energy (Mcal/kg DM) of diets used in the experiment

Ingredients	Control	Experimental treatments
Alfalfa hay	15	15
Wheat straw	10	10
Corn silage	25	12.5
Conocarpus	0	12.5
Barley grain	5	5
Corn grain	20.5	20.5
Wheat bran	17	17
Soybean meal	6.5	6.5
Vitamin and mineral supplements	0.6	0.6
NaCl	0.4	0.4
Chemical composition		
Neutral detergent fiber (NDF)	38.9	69
Acid detergent fiber (ADF)	30.8	26
Organic matter (OM)	92.2	90
Crude protein (CP)	14.5	13
Metabolizable energy (ME)	2.58	2.58

[a] Premix contained (kg^{-1}): Vitamin A, 500,000 IU/mg; vitamin D3, 100000 IU/mg; vitamin E, 100 mg/kg; Ca, 180 g/kg; P, 60000 mg/kg; Na, 60000 mg/kg; Mg, 19000 mg/kg; Zn, 3000 mg/kg; Fe, 3000 mg/kg; Mn, 19000 mg/kg; Cu, 300 mg/kg; Co, 100 mg/kg; Se, 1 mg/kg; I, 100 mg/kg; antioxidant, 400 mg/kg; carrier, up to 1000 g.

اندازه‌گیری خوراک مصرفی

در طول دوره آزمایشی، در ابتدای هر روز پیش از خوراک‌دهی وعده صبح، خوراک هر دام به صورت جداگانه توزین و در آخورها توزیع می‌شد. پسمانده خوراک روز پیشین هر بره نیز به صورت روزانه جمع‌آوری و توزین می‌گردید. محاسبه خوراک مصرفی روزانه هر دام در طول دوره آزمایش با کسر کردن باقیمانده خوراک روزانه از خوراک توزیع شده در آخور صورت گرفت. در طول دوره پروار نمونه‌های خوراک و باقیمانده برای تعیین ترکیب شیمیایی به آزمایشگاه منتقل شد.

اندازه‌گیری گوارش‌پذیری مواد مغذی

ضرایب گوارش‌پذیری ماده خشک، ماده آلی، پروتئین خام، الیاف نامحلول در شوینده خنثی و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی با روش جمع‌آوری کل مدفوع روزانه برآورد شد (گیونز و همکاران ۲۰۰۰). بدین منظور از روز ٤٥ آزمایش به مدت پنج روز به منظور جمع‌آوری نمونه در نظر گرفته شد. از آنجایی که در طول دوره پرورش، بره‌ها در قفس متابولیسمی نگه‌داری شدند برای جمع‌آوری مدفوع در طول این دوره، عادت‌پذیری در نظر گرفته نشد. کلیه قفس‌های متابولیسمی مجهز به ظروف جمع‌آوری مجزای ادرار و مدفوع بودند. در طی این دوره پنج روزه، نمونه جیره توزیع شده، باقیمانده خوراک و مدفوع روزانه هر بره در هر تیمار به صورت مجزا وزن و ۱۰ درصد از هرکدام به عنوان نمونه ذخیره شد. در پایان دوره، نمونه‌های روزانه هر دام به طور کامل مخلوط و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان تجزیه شیمیایی ذخیره شدند.

اندازه‌گیری فراسنجه‌های خونی

به منظور بررسی فراسنجه‌های خونی، خون‌گیری از چهار رأس دام به ازای هر تیمار در روز ۵۰ دوره آزمایش و در زمان چهار ساعت پس از تغذیه صبح‌گاهی صورت گرفت. خون‌گیری از سیاهرگ وداج گردن به میزان ۱۰ میلی‌لیتر توسط لوله‌های ونوجکت حاوی ماده ضد انعقاد EDTA-K انجام شد. نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ شدند (۳۰۰۰ × rpm) و پلاسما به میکروتیوب‌های ۱/۵ میلی‌لیتری منتقل و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند. پس از یخ گشایی پلاسما گلوکز، تری‌گلیسرید، کلسترول، لیپوپروتئین با چگالی کم (LDL) و لیپوپروتئین با چگالی بالا (HDL)،

نیتروژن اوره‌ای خون، (BUN)، آلکالین فسفاتاز (ALP)، آسپارتات آمینوترانسفراز (AST) و آلانین ترانس آمیناز (ALT) براساس روش‌های آنزیمی و نورسنجی توسط دستگاه اتوآنالایزر (مدلBS200) اندازه‌گیری شدند.

اندازه‌گیری فراسنجه‌های تخمیر شکمبه‌ای

پس از نمونه‌گیری از مایع شکمبه در روز ۵۰ آزمایش در سه نوبت ۰، ۳ و ٦ ساعت پس از خوراک‌دهی صبح، pH هر نمونه بلافاصله توسط pHمتر پرتابل (Metrohm model, Swiss) اندازه‌گیری شد. میزان نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه با استفاده از روش فنل–هیپوکلریت تعیین گردید (برودریک و کانگ، ۱۹۸۰). همچنین غلظت کل اسیدهای چرب فرار و غلظت استیک اسید، پروپیونیک اسید، بوتیریک اسید، والریک اسید، ایزوبوتیریک اسید و ایزووالریک اسید با استفاده از دستگاه گاز کروماتوگرافی اندازه‌گیری شد که از اتیل بوتیریک اسید به عنوان استاندارد داخلی استفاده شد.

شمارش پروتوزوآ

پس از تهیه مایع شکمبه، برای ثابت کردن (کشتن) پروتوزوآ، طبق روش موير (۱۹۵۱) از محلول ثابت کننده فرم آلدهید ۱۰ درصد استفاده گردید. ۱۰ میلی‌لیتر مایع شکمبه با ۱۰ میلی‌لیتر فرم آلدهید ۱۰ درصد مخلوط و جهت شمارش به آزمایشگاه منتقل شد. شمارش تعداد پروتوزوآ با اضافه کردن فرم آلدهید به مایع شکمبه و با استفاده از لام هموسایتومتر به روش پیشنهادی پاتاک و همکاران (۱۹۹٦) و دهوریتی (۲۰۰۳) انجام گرفت.

ثبت فعالیت مصرف خوراک گوسفندان

اندازه‌گیری مدت زمان فعالیت نشخوار در دوره نمونه برداری انجام شد. بدین منظور در یک زمان ۲٤ ساعته و در فواصل پنج دقیقه‌ای دام‌ها به صورت چشمی مورد مشاهده قرار گرفتند و هر نوع فعالیت آن‌ها اعم از خوردن، نشخوار یا استراحت کردن برای هر دام ثبت گردید. فرض بر این بود که در طول هر پنج دقیقه فعالیت مشاهده شده ثابت است. کل فعالیت جویدن از مجموع فعالیت‌های خوردن و نشخوار محاسبه شده و جهت انجام محاسبات رفتاری مربوط بر حسب دقیقه به ازاء ماده خشک مصرفی، الیاف نامحلول در شوینده خنثی و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی مورد استفاده قرار گرفت.

تجزیه شیمیایی

قبل از انجام تجزیه شیمیایی، نمونه جیره، پسماند و مدفوع در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد برای رسیدن به وزن ثابت خشک شدند. سپس مطابق با AOAC (۱۹۹۸) ، محتوای پروتئین خام، خاکستر و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی اندازه‌گیری گردید. همچنین میزان الیاف نامحلول در شوینده خنثی مطابق با روش ون‌سوست و همکاران (۱۹۹۱) محاسبه شد (جدول ۲).

تجزیه و تحلیل آماری

داده‌های به دست آمده از این آزمایش در قالب طرح کاملا تصادفی و با استفاده از رویه GLM نرم افزار SAS (SAS ۲۰۰۸) آنالیز شدند. مدل آماری استفاده شده به صورت زیر بود:

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

در مدل مذکور Y_{ij} مشاهده وابسته ij اُم، μ میانگین صفت مورد مطالعه، T_i اثر i اُمین تیمار و e_{ij} اثر اشتباه تصادفی بود. برای تعیین اثر تیمار آزمایشی بر میانگین صفات بررسی شده، از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح معنی‌داری پنج درصد استفاده شد.

نتایج و بحث

خوراک مصرفی

تاثیر عمل‌آوری کنوکارپوس با باکتری‌های تجزیه کننده تانن بر مواد مغذی مصرفی بره‌های تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی در جدول ۳ ارائه شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود میزان مصرف ماده خشک، پروتئین خام و الیاف نامحلول در شوینده خنثی و اسیدی تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی کاهش یافت (P<۰/۰۵). با این حال بین دو تیمار عمل‌آوری شده با باکتری (BA6 و BA8) اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (P>۰/۰۵) و در تمام موارد کم‌ترین میزان ماده مغذی

مصرفی در تیمار WB مشاهده شد (P<۰/۰۵). موافق با نتایج حاضر، حسینی (۲۰۱۸) در آزمایشی روی بره‌های پرواری گزارش کرد که استفاده از سیلاژ کنوکارپوس در مقایسه با تیمار کنترل سبب کاهش خوراک مصرفی شد، اما مصرف ماده آلی و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی تغییر نکرد. همچنین استفاده از باکتری‌های تجزیه کننده تانن در بز سبب افزایش غیر معنی‌دار ماده خشک و پروتئین مصرفی شد (کومار و همکاران ۲۰۱٤). در آزمایش انجام شده توسط میلر و همکاران (۱۹۹۵) انتقال باکتری‌های مقاوم به تانن از بز کوهی به بز و گوسفند سبب افزایش خوراک مصرفی در این دام‌ها شد. کاهش خوراک مصرفی در تیمارهای حاوی کنوکارپوس نسبت به کنترل احتمالا به دلیل خوش‌خوراکی کم‌تر این تیمارها می‌باشد. کاهش خوش‌خوراکی و کاهش میزان عبور شیره هضمی از جمله مکانیسم‌های تاثیر منفی خوراک‌های حاوی تانن بر مصرف خوراک می‌باشند (فروتوس و همکاران ۲۰۰٤).

Table 2-Chemical composition of conocarpus processed with tannin degrading bacteria

Treatment[1]	Dry matter (DM) (%)	Total tannin (%)	ADF (%)	NDF (%)
C	78.1	6.32[a]	16.0	31.8
BA8	78.0	1.86[b]	16.0	31.8
BA6	77.1	1.11[b]	16.4	33.0
SEM	4.55	0.30	1.40	2.06
P-value	0.23	0.001	0.04	0.57

SEM: standard error of means. [a-b] Means in the same column with different superscript letters are different (P< 0.05).
[1]C: Control group (without Conocarpus), BA6, Conocarpus treated with bacterium A6; BA8; Conocarpus treated with bacterium A8.

Table 3- Effect of experimental treatments on feed intake of lambs (g/day)

Intake	Treatments[1]				SEM	P-value
	C	BA6	BA8	WB		
DM	1275[a]	1128[b]	1141[b]	1084[c]	20.9	0.001
CP	167[a]	157[b]	152[b]	117[c]	2.72	0.0001
NDF	457[a]	439[b]	444[b]	422[c]	14.2	0.0001
ADF	361[a]	344[b]	348[b]	320[c]	5.59	0.0001

SEM: standard error of means. [a-c] Means in the same row with different superscript letters are different (P< 0.05).
[1]C: Control group (without Conocarpus), BA6, Conocarpus treated with bacterium A6; BA8; Conocarpus treated with bacterium A8; WB, untreated Conocarpus.

رفتار مصرف خوراک

تاثیر عمل‌آوری کنوکارپوس با باکتری‌های تجزیه کننده تانن بر رفتار مصرف خوراک (جویدن و نشخوار کردن) و استراحت در جدول ٤ ارائه شده است. مدت زمان مصرف خوراک و مدت زمان جویدن به طور معنی‌داری تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی کاهش یافت (P<۰/۰۵). کم‌ترین مدت زمان نشخوار کردن در تیمار BA8 مشاهده شد (P<۰/۰۵). در مقابل کم‌ترین مدت زمان استراحت در تیمار شاهد و BA6 مشاهده شد (P<۰/۰۵). مدت زمان مصرف خوراک و کل فعالیت جویدن به ازای ماده خشک، الیاف نامحلول در شوینده خنثی و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی مصرفی نیز به طور معنی‌داری تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی نسبت به کنترل کاهش یافت (P<۰/۰۵). مدت زمان نشخوار کردن به ازای ماده خشک مصرفی تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی افزایش یافت (P<۰/۰۵) ولی مدت زمان نشخوار کردن به ازای الیاف نامحلول در شوینده خنثی و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی مصرفی تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت (P>۰/۰۵). اگرچه تاثیر عواملی از قبیل نوع و میزان علوفه، مواد مغذی و متابولیت‌های ثانویه گیاهی بر رفتار مصرف خوراک قابل درک هستند ولی تحقیقات محدودی در رابطه با تاثیر تانن موجود در علوفه‌ها و

همچنین عمل‌آوری با باکتری‌های تجزیه کننده تانن بر رفتار مصرف خوراک وجود دارد. با این حال با توجه به مقدار بیش‌تر خوراک مصرفی در تیمار کنترل نسبت به سایر تیمارهای آزمایشی، مدت زمان مصرف خوراک و جویدن در این تیمار بالاتر بود. میزان جویدن تحت تاثیر نوع علوفه و فرم فیزیکی خوراک بستگی دارد. این در حالی است که با توجه به بالا بودن میزان دیواره سلولی در تیمارهای حاوی کنوکارپوس نسبت به کنترل انتظار افزایش میزان مدت زمان جویدن وجود داشت. با این حال این احتمال وجود دارد که کاهش خوش‌خوراکی در تیمارهای حاوی کنوکارپوس عاملی برای کاهش میزان خوراک مصرفی و مدت زمان مصرف خوراک باشد. لانداو و همکاران (۲۰۰۰) گزارش کردند استفاده از پلی اتیلن گلیکول در تیمار مکمل شده با کبراچو (Quebracho) به منظور کاهش اثرات منفی ترکیبات پلی فنولیک در مقایسه با تیمار کبراچو سبب بهبود خوراک مصرفی، مدت زمان مصرف خوراک و نرخ مصرف خوراک شد.

Table 4- Effect of experimental treatments on feeding behavior in lambs

Item	Treatments[1]				SEM	P-value
	C	BA6	BA8	WB		
Eating time (min/day)	382[a]	298[b]	254[b]	226[b]	12.1	0.001
Rest time (min/day)	615[b]	624[b]	712[a]	720[a]	27.7	0.001
Rumination time (min/day)	442[ab]	512[a]	418[b]	454[ab]	17.9	0.013
Chewing time (min/day)	826[a]	816[a]	727[b]	720[b]	29.9	0.001
Eating time (min/kg DM)	338[a]	255[b]	226[b]	211[b]	16.3	0.001
Eating time (min/kg NDF)	820[a]	790[a]	634[b]	680[b]	25.4	0.001
Eating time (min/kg ADF)	1248[a]	863[b]	902[b]	890[b]	59.5	0.001
Rumination time (min/kg DM)	393[a]	415[a]	332[b]	396[a]	22.1	0.014
Rumination time (min/kg NDF)	910	879	850	880	29.6	0.062
Rumination time (min/kg ADF)	1460	1519	1330	1588	88.8	0.425
Chewing time (min/kg DM)	731[a]	706[a]	570[b]	508[b]	27.3	0.001
Chewing time (min/kg NDF)	1001[a]	960[ab]	910[b]	880[b]	53.4	0.006
Chewing time (min/kg ADF)	1521[a]	870[b]	918[b]	910[b]	36.1	0.015

SEM: standard error of means. [a-c] Means in the same row with different superscript letters are different (P< 0.05).
[1]C: Control group (without Conocarpus), BA6, Conocarpus treated with bacterium A6; BA8; Conocarpus treated with bacterium A8; WB, untreated Conocarpus.

قابلیت هضم ظاهری مواد مغذی

تاثیر عمل‌آوری کنوکارپوس با باکتری‌های تجزیه کننده تانن بر قابلیت هضم ظاهری مواد مغذی در جدول ۵ ارائه شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود قابلیت هضم ماده خشک و پروتئین خام تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت (P>۰/۰۵). حسینی (۲۰۱۸) گزارش کرد که استفاده از سیلاژ کنوکارپوس تاثیری بر قابلیت هضم ماده خشک و پروتئین خام در بره‌های پرواری نداشت. بیش‌ترین میزان قابلیت هضم ماده آلی در تیمار عمل‌آوری شده با باکتری A6 مشاهده شد (P<۰/۰۵). کم‌ترین میزان قابلیت هضم الیاف نامحلول در شوینده خنثی و اسیدی در تیمار WB مشاهده شد (P<۰/۰۵). افزایش قابلیت هضم مواد مغذی در تیمار حاوی کنوکارپوس عمل‌آوری شده با باکتری‌های تولید کننده تاناز نسبت به کنوکارپوس بدون عمل‌آوری نشان دهنده اثرات مثبت این عمل‌آوری می باشد. موافق با نتایج حاضر، چاجی و همکاران (۲۰۲۰) گزارش کردند که استفاده از افزودنی‌های سیلاژ به طور معنی‌داری سبب افزایش قابلیت هضم ماده آلی در مقایسه با سیلاژ کنوکارپوس بدون افزودنی شرایط آزمایشگاهی شد.

همچنین محمدآبادی و همکاران (۲۰۲۱) نیز افزایش قابلیت هضم دیواره سلولی در نتیجه عمل‌آوری با باکتری‌های تجزیه کننده تانن را در شرایط آزمایشگاهی گزارش کردند.

مطالعات نشان داده است که تانن‌ها توانایی کاهش قابلیت هضم خوراک را دارند (فروتوس و همکاران ۲۰۰٤). کاهش قابلیت هضم دیواره سلولی در تیمار WB ممکن است به دلیل تاثیر منفی تانن موجود در کنوکارپوس بر باکتری‌های تجزیه کننده سلولز باشد. بنابراین با توجه به اختلاف بین نتایج به دست آمده در تیمارهای حاوی کنوکارپوس، می‌توان علت بهبود قابلیت هضم در تیمارهای حاوی کنوکارپوس عمل‌آوری شده با باکتری را در اثر تجزیه تانن توسط باکتری‌های تولید کننده تاناز در این تیمارها نسبت داد.

Table 5- Effect of experimental treatments on nutrient digestibility (%)

Digestibility	Treatments[1]				SEM	P-value
	C	BA6	BA8	WB		
DM	74.1	71.9[a]	76.5	72.0	2.58	0.783
OM	76.3[ab]	83.0[a]	72.5[b]	70.1[b]	2.66	0.018
NDF	74.6[ab]	85.6[a]	79.6[a]	67.6[b]	2.71	0.025
ADF	72.0[a]	69.1	71.5[a]	52.7[b]	2.36	0.013
CP	74.1	72.1	70.8	68.8	2.52	0.854

SEM: standard error of means. [a-c] Means in the same row with different superscript letters are different (P< 0.05).
[1]C: Control group (without Conocarpus), BA6, Conocarpus treated with bacterium A6; BA8; Conocarpus treated with bacterium A8; WB, untreated Conocarpus.

فراسنجه‌های تخمیری شکمبه

تاثیر عمل‌آوری با باکتری‌های تجزیه کننده تانن بر فراسنجه‌های تخمیر شکمبه‌ای در جدول ٦ ارائه شده است. همان طور که مشاهده می‌شود بیش‌ترین و کم‌ترین میزان pH به ترتیب در تیمارهای کنترل و WB مشاهده شد (P<۰/۰۵). با این حال در دامنه ایده آل برای فعالیت میکروارگانیسم‌ها قرار داشت. کوندا و همکاران (۲۰۰٤) گزارش کردند که عمل‌آوری چای سبز با باکتری‌های تجزیه کننده تانن تاثیری بر میزان pH شکمبه‌ای نداشت. چاودری و همکاران (۲۰۱۱) بیان کردند که استفاده از باکتری‌های تجزیه کننده تانن در جیره حاوی انجیر سفید تاثیری بر pH شکمبه‌ای نداشت.

غلظت نیتروژن آمونیاکی و جمعیت پروتوزوآ به طور معنی‌داری تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی کاهش یافت (P<۰/۰۵) که نتایج آن در جدول ٦ گزارش شده است. کم‌ترین میزان نیتروژن آمونیاکی در تیمار WB مشاهده شد که احتمالا به دلیل سطوح بالای تانن کنوکارپوس و اتصال آن‌ها با پروتئین و عدم تجزیه‌پذیری این کمپلکس باشد (ماکار ۲۰۰۳). از طرفی حسینی (۲۰۱۸) گزارش کرد که سیلاژ کنوکارپوس تاثیری بر غلظت نیتروژن آمونیاکی و جمعیت پروتوزوآی شکمبه نداشت. همچنین با توجه به بالا بودن غلظت نیتروژن آمونیاکی در تیمار BA6 نسبت به BA8، به نظر می‌رسد مقدار تانن تجزیه شده توسط باکتری A6 بالاتر از تانن تجزیه شده توسط باکتری A8 بوده است. از طرفی کوندا و همکاران (۲۰۰٤) افزایش غلظت نیتروژن آمونیاکی را در نتیجه عمل‌آوری چای سبز با باکتری‌های تجزیه کننده تانن گزارش کردند. شاید دلیل اثر کاهشی تیمار حاوی کنوکارپوس بدون عمل‌آوری با باکتری بر نیتروژن آمونیاکی به دلیل ترکیبات فنولی بیش‌تر در این تیمار باشد.

همچنین از آنجایی که پروتوزوآ دارای فعالیت پروتئولتیکی و دآمیناسیونی هستند که منجر به تولید آمونیاک در شکمبه می‌شود، لذا اثر تانن بر کاهش جمعیت پروتوزوآی شکمبه نیز می‌تواند در کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی شکمبه در تیمارهای آزمایشی موثر باشد (یانز و همکاران ۲۰۰٤). این ساختارها منجر به پاره

شدن غشا سلول، غیرفعال شدن آنزیم‌ها و کاهش سوبسترا و یون‌های فلزی مورد نیاز برای متابولیسم سلولی می‌گردد (گل و همکاران ۲۰۰۵). بنابراین زمانی که جمعیت پروتوزوآ در شکمبه مهار شود به دنبال آن کاهش در تجزیه باکتریایی اتفاق می‌افتد که در نتیجه منجر به کاهش میزان نیتروژن آمونیاکی در شکمبه خواهد شد (ویلیامز و کلمن ۱۹۹۲).

غلظت کل اسیدهای چرب فرار، پروپیونات، والرات، ایزوبوتیرات و ایزووالرات تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت (P>۰/۰۵) (جدول ٦). غلظت استات به طور معنی‌داری تحت تاثیر تیمارهای BA6 و BA8 افزایش یافت (P<۰/۰۵). همچنین بیش‌ترین میزان بوتیرات در تیمار WB مشاهده شد (P<۰/۰۵). نسبت استات به پروپیونات تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی افزایش یافت (P<۰/۰۵). افزایش عددی غلظت کل اسیدهای چرب فرار در تیمارهای عمل‌آوری شده با باکتری و شاهد نسبت به WB نشان دهنده افزایش تخمیر شکمبه‌ای در این تیمارها می‌باشد. افزایش غلظت استات در تیمارهای BA6 و BA8 شاید به دلیل افزایش قابلیت هضم الیاف دیواره سلولی در این تیمارها باشد. تجزیه بیولوژیکی تانن قابل هیدرولیز و مونومرهای آن از قبیل گالیک اسید، شامل دکربوکسیلاسیون پیروگالول در یک چرخه آنزیمی سبب تولید چندین ماده حدواسط جهت تولید استات و بوتیرات می‌شود (بهات و همکاران ۱۹۹۸).

Table 6- Effect of experimental treatments on ruminal fermentation of lambs

Parameter	Treatments[1]				SEM	P-value
	C	BA6	BA8	WB		
pH	6.88[a]	6.51[b]	6.78[a]	6.39[c]	0.265	0.001
Ammonia-N (mg/dL)	21.7[a]	19.4[b]	17.6[c]	14.8[d]	0.736	0.001
Protozoa population (10^5/mL rumen fluid)	7.00[a]	3.25[b]	3.75[b]	4.00[b]	0.180	0.010
Total volatile fatty acid (VFA) (mmol/L)	85.8	95.4	89.5	76.6	4.91	0.130
VFA (%)						
Acetate	58.3[b]	64.6[a]	65.9[a]	59.4[b]	1.75	0.020
Propionate	23.8	18.2	17.3	19.0	1.80	0.140
Butyrate	16.9[b]	14.9[b]	14.8[b]	20.1[a]	0.76	0.010
Isobutyrate	0.43	0.60	0.54	0.42	0.12	0.430
Valerate	0.43	0.58	0.53	0.50	0.07	0.380
Isovalerate	0.42	0.59	0.48	0.57	0.06	0.070
Acetate/ Propionate	2.52[b]	3.55[ab]	3.83[a]	3.29[ab]	0.37	0.015

SEM: standard error of means. [a-c] Means in the same row with different superscript letters are different (P< 0.05).
[1]C: Control group (without Conocarpus), BA6, Conocarpus treated with bacterium A6; BA8; Conocarpus treated with bacterium A8; WB, untreated Conocarpus.

فراسنجه‌های خونی

تاثیر عمل‌آوری کنوکارپوس با باکتری‌های تجزیه کننده تانن بر فراسنجه‌های خونی در جدول ۷ ارائه شده است. غلظت گلوکز و BUN به طور معنی‌داری با استفاده از کنوکارپوس کاهش یافت (P<۰/۰۵). همچنین تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی کم‌ترین میزان ALP در تیمار کنترل مشاهده شد (P<۰/۰۵). با این حال غلظت تری‌گلیسرید، کلسترول، LDL و HDL، AST و ALT تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت (P>۰/۰۵).

همان طور که مشاهده می‌شود بین تیمارهای حاوی کنوکارپوس BA6، BA8 و WB تنها غلظت گلوکز اختلاف معنی‌داری را نشان داد (به ترتیب ۷۹/۷ و ۸۱/۳ میلی‌گرم در دسی‌لیتر در مقابل با ٦۹/۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر) (P>۰/۰۵). بر طبق نتایج عمل‌آوری کنوکارپوس با

باکتری‌های تجزیه کننده تانن تاثیری بر فراسنجه‌های خونی نداشته و اختلاف مشاهده شده با تیمار شاهد به دلیل وجود کنوکارپوس در تیمارهای آزمایشی می‌باشد. مخالف با نتایج ما حسینی (۲۰۱۸) بیان کرد که استفاده از سیلاژ کنوکارپوس در مقایسه با کنترل تاثیری معنی‌داری بر غلظت گلوکز سرم نداشت. سوبسترای اصلی برای سنتز گلوکز در نشخوارکنندگان، اسیدهای آلی حاصل از تخمیر مخصوصا پروپیونات، اسکلت کربنی اسیدهای آمینه و گلیسرول حاصل از شکستن تری‌گلیسریدها می‌باشد (مارتین و همکاران ۱۹۸۵). از این رو با توجه به بالا بودن غلظت پروپیونات در تیمار کنترل بیش‌ترین غلظت گلوکز در تیمار کنترل مشاهده شد. برخی محققان نیز اثر کاهندگی ساپونین (کنوکارپوس حاوی ساپونین است) بر روی قند خون را گزارش کردند که احتمالا به دلیل مهار سرکوب انتقال قند خون از معده به روده کوچک و جلوگیری انتقال گلوکز در سد روده کوچک باشد (ماتسودا و دفرونزو ۱۹۹۹). حسینی (۲۰۱۸) بیان کرد که غلظت BUN در بره‌های تغذیه شده با سیلاژ کنوکارپوس در مقایسه با کنترل اختلاف معنی‌داری نداشت. با این حال در این تحقیق کاهش غلظت BUN تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی متناسب با کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی در شکمبه بود. چرا که کاهش تجزیه پروتئین در شکمبه باعث کاهش تولید آمونیاک و همچنین کاهش جذب آمونیاک از طریق شکمبه و ورود آن به خون می‌شود (مرک ۲۰۱۲). کاهش عددی غلظت BUN در تیمار حاوی کنوکارپوس بدون عمل‌آوری را می‌توان به تانن بالاتر در این تیمار نسبت به تیمارهای شاهد و تیمارهای عمل‌آوری شده با باکتری نسبت داد.

حسینی (۲۰۱۸) نیز مشابه با نتایج حاضر گزارش کرد که استفاده از سیلاژ کنوکارپوس و کنوکارپوس خشک شده در مقایسه با شاهد تاثیر معنی‌داری بر غلظت تری‌گلیسرید، کلسترول،HDL و LDL نداشت. گزارش شده است که غلظت کلسترول پلاسما تحت تاثیر ساپونین (یکی از ترکیبات ثانویه موجود در کنوکارپوس) کاهش می‌یابد (برونیا و همکاران ۲۰۱۱). در این تحقیق نیز میزان کلسترول به لحاظ عددی در تیمارهای حاوی کنوکارپوس کم‌تر بود.

Table 7- Effect of experimental treatments on blood chemistry parameters of lambs

Parameter[1]	Treatments[2]				SEM	P-value
	C	BA6	BA8	WB		
Glucose	96.7[a]	79.7[b]	81.3[b]	69.0[c]	2.45	0.001
Triglyceride	32.0	35.0	30.7	23.7	0.91	0.357
Cholesterol	59.0	56.0	50.3	58.0	1.67	0.484
LDL	15.7	14.7	13.0	15.7	0.442	0.480
HDL	34.2	32.3	28.6	32.1	0.954	0.608
BUN	16.4[a]	14.0[ab]	10.9[b]	9.73[b]	0.382	0.053
ALP	426[b]	520[a]	519[a]	528[a]	35.4	0.021
AST	97.3	115	127	125	8.69	0.132
ALT	18.3	25.0	20.0	24.6	2.76	0.291

SEM: standard error of means. [a-c] Means in the same row with different superscript letters are different (P< 0.05).
[1]LDL, low density lipoprotein; HDL, high density lipoprotein; BUN, blood urea nitrogen; ALP, alkaline phosphatase; AST, aspartate aminotransferase; ALT, alanine transaminase.
[2]C: Control group (without Conocarpus), BA6, Conocarpus treated with bacterium A6; BA8; Conocarpus treated with bacterium A8; WB, untreated Conocarpus.

غلظت آنزیم‌های کبدی در این تحقیق معنی‌دار نبود ولی به لحاظ عددی نسبت به کنترل بالاتر بود که با نتایج رضایی‌نیا و همکاران (۲۰۱۲) موافق بود. افزایش غلظت آنزیم‌های کبدی در این تحقیق احتمالا به دلیل افزایش فعالیت کبدی به منظور دفع اثرات سمی و ضد تغذیه‌ای تانن می‌باشد. موسی (۲۰۱۱) گزارش کرد که استفاده از

جیره حاوی آکاسیا (حاوی ترکیبات فنولیک) تاثیری بر غلظت آمینوترانسفراز و آلانین ترانس آمیناز نداشت. آسیب‌های کبدی با مصرف برخی گیاهان حاوی تانن در حیوانات مختلف گزارش شده است و آسیب‌های کبدی با افزایش غلظت ALP ، AST و ALT بروز می‌کنند (شاکری و همکاران ۲۰۱۳).

نتیجه‌گیری کلی

با توجه به نتایج به دست آمده از این تحقیق، به نظر می‌رسد که با توجه به عدم وجود اختلاف معنی‌دار در پارامترهای اندازه‌گیری شده (قابلیت هضم ماد مغذی، فراسنجه‌های تخمیر شکمبه‌ای و فراسنجه‌های خونی) و همچنین عدم تاثیر منفی کنوکارپوس غنی شده با باکتری های تجزیه کننده تانن، بر سلامت دام، امکان جایگزینی ۵۰ درصد بخش سیلاژ ذرت با کنوکارپوس عمل‌آوری شده با باکتری‌های تجزیه کننده تانن وجود داشته باشد. با این حال یافتن راهکاری به منظور افزایش خوش‌خوراکی سیلاژ کنوکارپوس جهت بهبود خوراک مصرفی نیز امری ضروری به نظر می‌رسد.

سپاسگزاری

از دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، به خاطر حمایت مالی پژوهش سپاسگزاری می‌شود.

منابع مورد استفاده

Al-Koaik F, El-Waziry AM, Khalil AI, Metwally H and Al-Mahasneh MA, 2014. Evaluation of conocarpus (*Conocarpus erectus*) leaves and Bermuda grass (*Cynodon dactylon* L.) using chemical analysis and *In vitro* gas production technique. Bulgarian Journal of Agricultural Science 20(4): 824-829.

Association of Official Analytical Chemist, AOAC, 1998. Official methods of analysis. 16th rev. Assoc. Off. Anal. Chem., Arlington, VA.

Bhat TK, Singh B and Sharma OP, 1998. Microbial degradation of tannins–a current perspective. Biodegradation 9: 343-357.

Broderick GA and Kang JH, 1980. Automated simultaneous determination of ammonia and total amino acids in ruminal fluid and *in vitro* media. Journal of Dairy Science 63: 64-75.

Brogna DMR, Nasri S, Ben Salem H, Mele M, Serra A, Bella M, Priolo A, Makkar HPS and Vasta V, 2011. Effect of dietary saponins from *Quillaja saponaria* L. on fatty acid composition and cholesterol content in muscle Longissimus dorsi of lambs. Animal 1-7.

Chaji M, Direkvandi E and Salem, AZM, 2020. Ensiling of *Conocarpus erectus* tree leaves with molasses, exogenous enzyme and *Lactobacillus plantarum* impacts on ruminal sheep biogases production and fermentation. Agroforestry Systems 94: 1611-1623.

Chaudhary LC, Agarwal N, Verma V, Rikhari K and Kamra DN, 2011. Effect of feeding tannin degrading bacteria (Isolate-6) on rumen fermentation, nutrient utilization and growth performance of goats fed on Ficus infectoria leaves. Small ruminant research 99(2-3): 143-147.

Dehority BA, 2003. Rumen microbiology. British Library Cataloguing in Publication Data. First published.

Direkvandi E, Mohammadabadi T, Chaji M, Elghandour MM, Barbabosa-Pleigo A and Salem AZM, 2020. Effect of sulfuric acid and molasses on the chemical composition, ruminal fermentation, and digestibility of silage of *Conocarpus erectus* L. tree leaves and branches. Agroforestry Systems 94: 1601-1609.

Ehsen S, Qasim M, Abideen ZA, Rizvi RF, Gul B, Ansari R and Khan MA. Secondary metabolites as anti-nutritional factors in locally used halophytic forage/fodder. Pakistan Journal of Botany 48(2): 629-36.

Frutos P, Hervás G, Giráldez García F and Mantecón A, 2004. Review. Tannins and ruminant nutrition. Spanish Journal of Agricultural Research, 2: 191-202.

Gamble GR, Akin DE, Makkar HP and Becker K, 1996. Biological degradation of tannins in sericea lespedeza (Lespedeza cuneata) by the white rot fungi Ceriporiopsis subvermispora and Cyathus stercoreus analyzed by solid-state 13C nuclear magnetic resonance spectroscopy. Applied and Environmental Microbiology. 62(10): 3600-3604.

Givens DI, Owen E, Axford RFE and Omed HM, 2000. Forage Evaluation in Ruminant Nutrition, 1th ed. CABI Publishing, Wallingford, UK, pp. 480 pp.

Goel G, Puniya A, Aguilar C and Singh K, 2005. Interaction of gut microflora with tannins in feeds. Naturwissenschaften 92: 497-503.

Hiura T, Hashidoko Y, Kobayashi Y and Tahara S, 2010. Effective degradation of tannic acid by immobilized rumen microbes of sika deer (*Cervus nippon yesoensis*) in winter. Animal feed Science and Technology 155(1): 1-8.

Hosseini F, 2018. Investigating the nutritional value of Conocarpus (*Conocarpus erectus*) in dry or treated silage form, in fattening lamb. M.Sc. Thesis in the Field of Animal Nutrition, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan.

Jafari-Tapeh H, Hamidi–Esfahani Z and Azizi, MH, 2012. Culture Condition Improvement for phytase production in solid state fermentation by *Aspergillus ficuum* using statistical method. ISRN Chemical Cngineering 10: 5402- 5404.

Kondo M, Hidaka M, Kita K and Yokota HO, 2007. Feeding value of supplemented diet with black tea by-product silage: Effect of polyethylene glycol addition to the diet on digestibility of protein fractions in goats. Grassland science 53(3): 131-137.

Kondo M, Kita K and Yokota HO, 2004. Feeding value to goats of whole-crop oat ensiled with green tea waste. Animal feed science and technology 113(1-4): 71-81.

Kumar K, Chaudhary LC, Agarwal N and Kamra DN, 2014. Effect of feeding tannin degrading bacterial culture (*Streptococcus gallolyticus* strain TDGB 406) on nutrient utilization, urinary purine derivatives and growth performance of goats fed on *Quercus semicarpifolia* leaves. Journal of animal physiology and animal nutrition 98(5): 879-885.

Landau S, Silanikove N, Nitsan Z, Barkai D, Baram H, Provenza FD and Perevolotsky A, 2000. Short-term changes in eating patterns explain the effects of condensed tannins on feed intake in heifers. Applied Animal Behaviour Science 69(3): 199-213.

Mahapatra K, Nanda RK, Subh ndu SB, Banerjee R, Pandey A and Szakacs, G, 2005. Purification, characterization and some studies on secondary structure of tannase from *Aspergillus awamorinakazawa*. Process Biochemistry 40: 3251-3254.

Makkar HP, 2003. Effects and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins, and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds. Small ruminant research 49(3): 241-256.

Martin DWJ, Mayes PA, Rodwell VW, Lemonde A and Nicole L, 1985. Précis de biochimie de Harper. 6e edition Les presses de l'Université Laval/Editions ESKA.

Matsuda M and DeFronzo RA, 1999. Insulin sensitivity indices obtained from oral glucose tolerance testing: comparison with the euglycemic insulin clamp. Diabetes care 22(9): 1462-1470.

Merck, 2012. The Merck veterinary manual: Serum biochemicalreference ranges. Accessed Feb. 26, 2013.www.merckmanuals.com/vet/appendixes/reference_guides/serum_biochemical_reference_ranges.html.

Miller S, Brooker J and Blackall L, 1995. A feral goat rumen fluid inoculum improves nitrogen retention in sheep consuming a mulga (*Acacia aneura*) diet. Crop and Pasture Science, 46: 1545-1553.

Mohammadabadi T, 2020. Effect of using pruning foliage of conocarpus on digestibility, rumen fermentation and blood parameters of Arabi sheep. Animal Production Research 9(3): 59-69. (In Persian).

Mohammadabadi T, Jolazadeh A, Ghezi Z, 2020. Effect of treated *Conocarpus erectus* L. leaves with *Klebsiella pneumoniae* and *Acinetobacter* as tannin-degrading bacteria on digestion activity of rumen microorganisms. Biotechnology in Animal Husbandry 36(1): 1-6.

Mohammadabadi T, Gheibipour M, Motamedi H, Chaji M and Basil A. Abbas, B.A, 2021. Isolation and identification of tannin-degrading bacteria from deer gut and potency for improving nutritional value of tannin rich plant. Iranian Veterinary Journal 17 (1): 65-75.

Moir RJ, 1951. The seasonal variation in the ruminal microorganisms of grazing sheep. Australian Journal of Agricultural Research 2: 322-330.

Mosleh H Naghiha A, Keshtkaran AN and Khajavi M, 2014. Isolation and identification of tannin-degrading bacteria from native sheep and goat feces in Kohgiloye and Boyer-Ahmad Province. International Journal of Advanced Biological and Biomedical Research, 2: 176-180.

Mousa MRM, 2011. Effect of Feeding Acacia as Supplements on the Nutrient Digestion, Growth Performance, Carcass Traits and Some Blood Constituents of Awassi Lambs under the Conditions of North Sinai. Asian Journal of Animal Sciences 5: 102-117.

NRC (National Research Council), 2007. Nutrient requirements of small ruminants. National Academy Press, Washington, DC.

Pathak NN, Kamra DN and Jakhmola RC, 1996. Analytical Techniques Animal Nutrition Research, International Book Distributing Co., India, P. 201.

Pell AN, Wooslton TK, Nelson KE and Schofield PN, 2000. Tannins: biological activity and bacterial tolerance. In: Brooker, J. D. (EB), Tannins in livestock and human nutrition. Prociding International. Workshop. Adelaide, Austalia. Australian Center for International Agricultural Research Proceeding 92: 111-116.

Rezaeenia A, Naserian AA, Valizadeh R and Tahmasbi A, 2012. Effect of using different levels of pistachio by-products silage on composition and blood parameters of Holstein dairy cows. African Journal of Biotechnology 11(22): 6192-6196.

SAS (Statistical Analysis System), 2008. SAS/STAT 9.2 user's guide. Cary (NC): SAS Institute Inc.

Shakeri P, Riasi A, Alikhani M, Fazaeli H and Ghorbani GR, 2013. Effects of feeding pistachio by-products silage on growth performance, serum metabolites and urine characteristics in Holstein male calves. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition 97(6): 1022-1029.

Van Soest PV, Robertson JB and Lewis BA, 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. Journal of Dairy Science 74(10): 3583-3597.

Williams AG and Coleman GS, 1992. The Rumen Protozoa. Springer-Verlag, New York, NY.

Yanez Ruiz DR, Moumen A, Mart´ınGarc´ıa AI and Molina Alcaide E, 2004. Ruminal fermentation and degradation patterns, protozoa population, and urinarpurine 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.

The effect of conocarpus processed with tannase-producing bacteria isolated from deer on performance, digestibility and fermentation, blood parameters and liver enzymes in Arabi lamb

T Mohammadabadi [1*], R Edipour [2] and MR Mashayekhi [3]

Received: December 22, 2020 Accepted: November 27, 2021

[1] Professor, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Ahvaz, Iran
[2] MSc Graduated student, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Ahvaz, Iran
[3] Researcher, Agricultural Research Center Safiabad, Dezful
[*]Corresponding author: mohammadabadi@asnrukh.ac.ir

پژوهش‌های علوم دامی Animal Science Research

Journal of Animal Science/vol.33 No.1/ 2023/pp 141-155
https://animalscience.tabrizu.ac.ir

OPEN ACCESS

© 2009 Copyright by Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran
This is an open access article under the CC BY NC license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/2.0/)
DOI: 10.22034/AS.2021.43684.1598

Introduction: Conocarpus is an ornamental plant common in tropical and subtropical regions that is usually seen as a shrub with a height of 1.5 to 4 meters. Due to resistance and adaptation to hot and dry environment, poor drainage, air pollution and dense soils, its cultivation has increased in the last decade in the country and especially in Khuzestan (Mohammadabadi 2020). Al-Koaik et al (2014) reported the amount of crude protein and fiber of conocarpus leaves were 96.6 and 134.7 g/kg, respectively. Also, Direkvandi et al (2020) reported the amount of crude protein, NDF and ADF of conocarpus silage were 114, 473 and 371 g/kg DM, respectively, which can be used as feed with suitable nutrients in animal feeding. However, one of the things that should be considered about conocarpus as animal feed is the presence of secondary compounds such as phenolic compounds (tannins) (Mohammadabadi 2020). Treatment with microbial additives has been suggested to reduce tannins (Konda et al. 2007). These microbes contain the tannin acyl-hydrolase (tannase) enzyme, which hydrolyze tannin to gallic acid and glucose (Jafari-Tapeh et al 2012)

Material and methods: In this experiment, 16 Arabi lambs (average body weight, 25 ± 3 kg) were used in a completely randomized design with 4 treatments and 4 replicates. The experimental period was 60 days (10 days adaptation and 50 days trial period). Four treatments were included; (1) Control group (without conocarpus); (2) BA6, diet containing conocarpus treated with bacterium A6; (3) BA8; diet containing conocarpus treated with bacterium A8; (4) WB, diet containing untreated conocarpus. During the experimental period, the complete mixed ration (based on 50% forage and 50% concentrate) was provided for each lamb twice daily at 8:00 am and 16:00 pm (allowed 5% of orts) (NRC, 2007). Lambs had free access to fresh water and salt licks. At the end of the experiment, feed intake (daily basis), feeding behavior (in a 24-hour period), nutrient digestibility (sampling on days 45 to 50 according to Givens et al 2000) and rumen fermentation parameters (pH, ammonia-N, volatile fatty acids and protozoa population; sampling on day 50 of the experiment at 0, 3 and 6 hours after morning feeding), were evaluated. Also, blood sample (approximately 10 mL) was collected from jugular veins using tubes containing an anticoagulant (heparin) on day 50 of the experiment at 0, 3 and 6 hours after morning feeding. Glucose, triglycerides, blood urea nitrogen (BUN), cholesterol, low-density lipoprotein (LDL), high-density lipoproteins (HDL), alkaline phosphatase

(ALP), aspartate aminotransferase (AST) and alanine transaminase (ALT) were determined by using enzymatic methods and spectrophotometer.

Results and discussion: Results showed that the amount of feed intake decreased by experimental treatments (P <0.05) and in all cases the lowest amount of feed intake was observed in WB treatment (P <0.05). Similarly, Hosseini (2018) reported that the use of conocarpus silage reduced feed intake compared to control. Reduction of feed intake in treatments containing conocarpus is probably due to less palatability of these treatments. Feeding time and the rate of chewing was significantly decreased by the experimental treatments (P <0.05). The lowest rumination rate was observed in BA8 treatment (P <0.05). In contrast, the lowest rest period was observed in control and BA6 treatments (P <0.05). The highest digestibility of organic matter was observed in BA6 treatment (P <0.05). The lowest digestibility of NDF and ADF was observed in WB treatment (P <0.05). Digestibility of NDF and ADF showed no significant difference between BA6, BA8 and control (P <0.05). According to our results, Mohammadabadi et al (2021) also reported an increase in digestibility of cell wall as a result of treated with tannin-degrading bacteria. The highest and lowest pH values were observed in control and WB treatments, respectively (P <0.05). The concentration of Ammonia-N and protozoa population were significantly decreased by experimental treatments (P <0.05). The reducing effect of conocarpus-containing treatments on ammonia-N and protozoa populations may be due to more phenolic compounds in these treatments (Yanez Ruiz et al 2004). Total concentrations of volatile fatty acids, propionate, valerate, isobutyrate and isovalerate were not affected by experimental treatments (P <0.05). The concentration of acetate significantly increased by BA6 and BA8 treatments (P <0.05). Also, the highest concentration of butyrate was observed in WB treatment (P <0.05). The increase in acetate concentration in BA6 and BA8 treatments may be due to the increased digestibility of cell wall in these treatments. Blood glucose concentration and BUN were significantly decreased by experimental treatments (P <0.05). The high concentration of propionate and glucose was observed in the control treatment. Hosseini (2018) similar to our results reported that the use of conocarpus silage and dried conocarpus had no significant effect on triglyceride, cholesterol, HDL and LDL concentrations compared to the control. The concentration of liver enzymes in this study was not significant but was numerically higher than the control, which agreed with the results of Rezaeinia et al. (2012).

Conclusion: The results of this study showed that due to the positive effects of the conocarpus treated with tannin-degrading bacteria than the untreated conocarpus on some measured parameter, and also due to the lack of a negative impact on animal health, it can be said that the treated of this plant to reduce tannin that is a suitable solution for the use of conocarpus in the ration of lambs.

Keywords: Tannin-degrading bacteria, Feeding behavior, Blood and ruminal parameters, conocarpus, Arabi lambs