مقاله علمی پژوهشی/نشریه پژوهش‌های علوم دامی/ جلد ۲۹ شماره ۱/ سال۱۳۹۸/ صفحات ۱۵ تا ۳۳

اثر مغز میوه بلوط بر فعالیت باکتری‌ها، قارچ‌ها و جمعیت پروتوزوآی شکمبه بز نجدی و گوسفند عربی

زهرا هاشمی [۱]، طاهره محمد آبادی [۲*]، مرتضی چاجی [۲] و صالح طباطبایی [۲]

تاریخ دریافت: ۹۵/٦/۷ تاریخ پذیرش: ۹۷/۷/٤

[۱] دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان

[۲] دانشیار گروه علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان

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

چکیده

زمینه مطالعاتی: مغز میوه بلوط به عنوان منبع انرژی در تغذیه دام نشخوار کننده استفاده می‌شود و تانن آن فعالیت میکروارگانیسم‌های شکمبه را تحت تاثیر قرار می‌دهد. **هدف**: این آزمایش به منظور بررسی اثر مغز میوه بلوط بر جمعیت و فعالیت هضمی باکتری‌ها، قارچ‌ها و جمعیت پروتوزوآی شکمبه بز نجدی و گوسفند عربی انجام گرفت. **روش کار**: بدین منظور ٦ راس بز نجدی و ٦ راس گوسفند عربی (با میانگین وزن ۲ ± ۳۵) برای ۲۸ روز با جیره‌های آزمایشی حاوی مغز میوه بلوط و بدون مغز میوه بلوط (شاهد) تغذیه شدند. **نتایج**: ناپدید شدن ماده خشک، الیاف نامحلول در شوینده خنثی و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی توسط باکتری‌های شکمبه بز تیمار شاهد در زمان‌های ۲٤، ٤۸ و۷۲ ساعت بیشتر از تیمار بلوط بود (P<۰/۰۵). ناپدید شدن ماده خشک، الیاف نامحلول در شوینده خنثی و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی توسط قارچ‌های شکمبه بز و گوسفند بین تیمار شاهد و بلوط در زمان‌های ۳ و ٦ روز تفاوت معنی‌داری داشت (P<۰/۰۵). پتانسیل تولید گاز کاه گندم، پارتشینینگ فاکتور، تولید توده میکروبی، راندمان توده میکروبی و ماده آلی واقعا هضم شده توسط باکتری‌ها و قارچ‌های شکمبه گوسفند و بز در تیمار شاهد و تیمار بلوط اختلافی نداشتند (P>۰/۰۵). ماده آلی واقعاً هضم شده در تیمار شاهد بالاتر از تیمار بلوط بود (P<۰/۰۵). میزان پارتشینینگ فاکتور توسط قارچ‌های شکمبه گوسفند در جیره حاوی بلوط بالاتر از بز شد و ماده آلی واقعاً هضم شده توسط قارچ‌های شکمبه بز در جیره شاهد بالاتر از گوسفند بود (P<۰/۰۵). جمعیت کل پروتوزوآ و گونه هولوتریش تیمار بلوط در گوسفند و بز کاهش یافت (P<۰/۰۵). جمعیت باکتری‌ها و قارچ‌های شکمبه تیمار شاهد بز نسبت به تیمار شاهد گوسفند بیشتر بود. **نتیجه‌گیری نهایی**: استفاده از ٦۳ درصد مغز میوه بلوط منجر به کاهش جمعیت، ناپدید شدن مواد مغذی، فراسنجه‌های تخمیری باکتری ها و قارچها و کاهش جمعیت پروتوزوآی شکمبه در گوسفند عربی و بز نجدی شد همچنین نتایج، تحمل بیشتر بزها نسبت به تانن‌های جیره در مقایسه با گوسفند را نشان داد.

واژگان کلیدی: محیط کشت، مغز میوه بلوط، میکروارگانیسم‌ها، ناپدیدشدن

مقدمه

با توجه به اینکه نزدیک به ۷۰-٦۰ درصد هزینه‌های مربوط به پرورش و نگهداری دام مرتبط با تغذیه می‌باشد، یکی از اقدامات مهم درکاهش هزینه‌های خوراک، استفاده از منابع موجود و شناخت مواد جدید و به کارگیری آن در جیره دام است. بخش غربی از کوه‌های

زاگرس بوسیله جنگل‌های بلوط پوشانده شده است و از مرز ترکیه تا استان فارس ادامه دارد که حدود ۱۶۰۰ کیلومتر است و طبق برآورد موجود، تنها در استان ایلام، سالیانه رقمی بالغ بر ۳۰۰ هزار تن بلوط تولید می‌شود. آنالیز تقریبی میوه بلوط نشان می‌دهد که ترکیب شیمیایی میوه بلوط مشابه غلات است (ازکان ۲۰۰۶). طباطبایی و قصریانی (۱۳۷۱) و صالحی سورمقی (۱۳۶۱) گزارش نمودند که میوه بلوط دارای ۶۰ درصد ماده خشک، ۳ درصد پروتئین خام، ۷/۲ درصد چربی خام، ۸۷ تا ۸۹ درصد هیدروکربن، ۲۵ تا ۳۰ میلی گرم در کیلوگرم ویتامین‌های A، B، C و ۳تا ٤ کیلوکالری در هر گرم انرژی خام می‌باشد. بکارگیری این مادهٔ غذایی به دلیل وجود برخی از مواد ضدتغذیه-ای از جمله تانن‌ها دارای محدودیت است (فیروز ۲۰۰۰). میکروب‌های شکمبه قادرند تانن‌های قابل هیدرولیز را تجزیه کنند و این خصوصیت احتمالاً در بین تمام نشخوارکنندگان وجود دارد. آنزیم تاناز باکتری‌های شکمبه قادر به تجزیه اسید تانیک و تانن-های طبیعی موجود در بلوط می‌باشد. فعالیت تاناز برای اولین بار در باکتری جدا شده از شکمبه بزی که از منابع غنی از تانن استفاده کرده بود به دست آمد (بروکر ۱۹۹۵) که این مربوط به گونه *سلنوموناز رومینانتیوم*[1] می‌باشد (پل و همکاران ۲۰۰۰). کیانی (۱۳۹٤) با بررسی اثر تانن مغز بلوط بر قابلیت هضم بز نجدی و گوسفند عربی نشان داد، قابلیت هضم ماده خشک بز به طور معنی داری بالاتر از گوسفند بود و علت آن را سازگاری بهتر میکروارگانیسم‌های شکمبه بز به تانن بلوط بیان کردند.

هدف از انجام این آزمایش بررسی و مقایسه تاثیر مغز میوه بلوط بر فعالیت هضمی و جمعیت باکتری، قارچ و پروتوزوآی شکمبه بز نجدی و گوسفند عربی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

در این آزمایش، تعداد ٦ رأس گوسفند عربی و ٦ رأس بز نجدی (میانگین وزن ۳±۳۵ کیلوگرم) انتخاب شدند. پس از انتخاب، دام‌ها به طور تصادفی به چهار گروه با سه تکرار تقسیم شده و درون جایگاه‌های انفرادی مسقف قرار گرفتند. آب آشامیدنی و غذای روزانه جداگانه در اختیار دام‌ها قرار گرفت. جیره‌ها برطبق جداول انجمن ملی تحقیقات آمریکا[2](۱۹۸۵) تنظیم شدند (جدول ۱). تیمارها شامل جیره حاوی مغز میوه بلوط (٦۳ درصد) و جیره بدون مغز میوه بلوط بودند که به صورت تصادفی به هر گروه از دام‌ها یک تیمار اختصاص داده شد. خوراک روزانه در دو وعده غذایی صبح (ساعت ۸) و بعد از ظهر (ساعت ١٦) توزین و به صورت یکنواخت در اختیار دام‌ها برای ۲۸ روز قرار داده شد.

[1] *Selenomanas ruminantium*

[2] National Research Council (NRC)

جدول ۱- اجزا و ترکیب شیمیایی جیره‌های آزمایشی

Table 1- Ingredient and chemical composition of experimental diets

Ingredient	Treatment 1	Treatment 2
Soybean meal	0	7
Oak nut	0	63
Barely	16	0
Wheat bran	34	0
Corn	19.5	0
Wheat straw	30	0
Alfalfa hay	0	25.5
Mineral and vitamin premix	0.5	0.5
Neutral detergent fiber (%)	37.24	17.88
Metabolizable energy (Mcal)	2500	2500
Crude protein (%)	11	11

بعد از گرفتن مایع شکمبه از گوسفند و بز، ابتدا شیشه‌های کشت حاوی یک گرم کاه گندم، در داخل اتوکلاو به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد استریل شدند. پس از خروج شیشه‌های کشت از اتوکلاو، مایع شکمبه سانتریفیوژ شده گوسفند و بز با سلوبیوز، سولفید سدیم، سیستئین HCL، کربنات سدیم، قارچ‌کش (بنومیل و متالاکسیل)، پپتون، تریپتیکاز به میزان ۰/۵ گرم و عصاره مخمر مخلوط و حرارت داده شد. به میزان ۳۵ سی‌سی از این محلول به هر شیشه کشت تلقیح گردید. سپس مقدار ۳ سی‌سی محلول قندی به هر شیشه کشت افزوده شد. به منظور ایجاد شرایط بی‌هوازی، گازدهی به مدت ۳۰ ثانیه برای هر شیشه کشت انجام پذیرفت. همزمان با گازدهی، از مایع شکمبه دام های تغذیه شده با تیمارهای آزمایشی مقدار ۵ سی‌سی به هر شیشه کشت افزوده شد. برای هر تیمار ۳ تکرار در نظر گرفته شد و در زمان‌های ۲٤،٤٨و۷۲ ساعت در دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد در انکوباتور قرار گرفتند. همچنین مایع شکمبه دام ها در محیط کشت اختصاصی قارچ‌های شکمبه گوسفند و بز که حاوی آنتی بیوتیک است، در شیشه‌های کشت مخصوص، در دمای ۳۹ درجه سانتی گراد برای ۲٤ ساعت کشت داده شدند. به این ترتیب خالص سازی قارچ‌ها صورت گرفت. محیط کشت قارچ های شکمبه شامل محلول نمکی ۱ (فسفات هیدروژن دی پتاسیم در۱ لیتر آب مقطرحل می‌شود) و محلول نمکی۲ (فسفات هیدروژن پتاسیم، سولفات آمونیوم،کلرید سدیم وکلرید کلسیم در ۱ لیتر آب مقطر حل می‌شود)، مایع شکمبه (سانتریفیوژ شده)، عصاره مخمر، پپتون تریپتیکاز، گلوکز، سلوبیوز، بیکربنات سدیم، سیستئینHCL و رزازورین۰/۱ درصد برای هر لیتر محیط کشت می‌باشد (اورپین،۱۹۷۷). محیط کشت تحت شرایط بی‌هوازی به داخل شیشه‌های کشت منتقل گردید و برای ۲۰ دقیقه در ۱۲۰درجه اتوکلاو شد. ایزوله‌های قارچ تهیه شده به عنوان اینوکولانت در شیشه‌های کشت که حاوی محیط کشت اختصاصی قارچ به همراه کاه و آنتی بیوتیک بودند، برای زمان‌های ۳،۱و٦ روز کشت داده شدند. پس

از این زمان ها با پارچه داکرون و ارلن خلاء صاف‌شده و درون بوته چینی که از قبل با آب مقطر شسته شده و پس از خشک شدن توزین شده بودند، ریخته شده و به آون منتقل گردید. میزان ADF، NDF و ماده خشک کاه موجود در محیط کشت‌ها قبل و بعد از هر زمان کشت اندازه گیری شد و از تفاضل آنها ناپدیدشدن آن ماده مغذی محاسبه گردید.

از دام‌هایی که با جیره‌های آزمایشی تغذیه شده بودند به صورت مجزا مایع شکمبه اخذ شد و تاثیر تیمارهای آزمایشی بر تولید گاز و تخمیر کاه گندم توسط باکتری‌ها و قارچ‌های شکمبه بز و گوسفند مطالعه گردید. روش مورد استفاده مانند روش کشت باکتری‌ها و قارچ‌ها در محیط کشت اختصاصی بود و تولید گاز در دمای ۳۹ درجه در زمان‌های ۲، ٤، ۸، ۱۲، ۲٤، ٤۸، ۷۲ ، ۹٦و ۱۲۰ ساعت انکوباسیون اندازه گیری شد. فراسنجه‌های گاز با استفاده از مدل نمایی $P= b(1 – e^{-ct})$ تعیین شدند (ارسکوف و مکدونالد ۱۹۷۹). در مدل، b گاز تولید شده از بخش قابل تخمیر و c نرخ تخمیر (سرعت تولید گاز) بود.

پارتیشنینگ فاکتور، تولید توده میکروبی و بازده تولید توده میکروبی پس از پایان انکوباسیون اندازه‌گیری و محاسبه شدند (الیورا ۱۹۹۸).

جهت شمارش باکتری‌ها و قارچ‌های شکمبه از محلول رقیق کننده که شامل محلول نمکی ۱ و محلول نمکی ۲ و مایع شکمبه سانتریفیوژ شده بود، استفاده شد. محیط کشت‌هایی با رقت 10^{1} تا 10^{8}تهیه شده و به انکوباتور (دمای ۳۹ درجه سانتیگراد) منتقل گردید. پس از ۱۲ روز با مشاهده رنگ کدر و خاکستری در ته لوله، رشد باکتری و قارچ مثبت تلقی می‌شد. در نهایت با استفاده از جداول MPN (محتمل ترین تعداد) و نرم افزارهای موجود شمارش قارچ‌ها و باکتری‌ها صورت گرفت.

در پایان آزمایش برای شمارش پروتوزوآی شکمبه، پس از تهیه ۱۰ میلی لیتر مایع شکمبه، ۳ ساعت بعد از خوراک صبحگاهی، برای ثابت کردن پروتوزوآ، از محلول ثابت کننده فرم‌آلدهید ۱۰ درصد استفاده شد. رنگ‌آمیزی با متیلن بلو و شمارش با میکروسکوپ نوری و لام انجام پذیرفت (یانز رویز ۲۰۰٤ و هریستو ۲۰۰۱).

داده‌ها در قالب طرح پلات های خرد شده با نرم افزار آماری SAS نسخه۹/۱ مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. مقایسه میانگین‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۰/۰۵ انجام گرفت.

$$Y_{ijk} = \mu+P_i+\delta_{ik}+T_j+(PT)_{ij}+\varepsilon_{ijk}$$

Y_{ijk}: متغیر وابسته (مقدار مشاهده مورد نظر) μ : میانگین کل جامعه P_i : اثر دام (گوسفند و بز) T_j: اثر تیمار (نوع تیمار) $(PT)_{ij}$: اثر متقابل تیمار در دام δ_{ik} : خطای پلات اصلی ε_{ijk}: خطای آزمایش.

نتایج و بحث

ناپدید شدن مواد مغذی توسط باکتری‌ها: نتایج ناپدید شدن مواد مغذی توسط باکتری‌های شکمبه بز و گوسفند (جدول ۲) نشان داد که در همه زمان‌های انکوباسیون تیمار بلوط باعث کاهش ناپدید شدن مواد مغذی در بز و گوسفند شده است. ناپدید شدن ماده خشک، الیاف نامحلول در شوینده خنثی و اسیدی در تیمار شاهد در زمان ۲٤ ساعت به ترتیب ۱۷/۲۳، ۱۳/٥٦ و ۱۳/٤۷ درصد توسط باکتری‌های شکمبه بز و ۱٥/٤۳، ۱۲/٦۹ و ۱۱/٥٥ درصد توسط باکتری‌های شکمبه گوسفند بود ($P<۰/۰٥$). درساعت ٤۸ و ۷۲ انکوباسیون، ناپدید شدن ماده خشک، الیاف نامحلول در شوینده خنثی و اسیدی در تیمار بلوط توسط باکتری‌های شکمبه بز کمتر از گوسفند بود ($P<۰/۰٥$). صرف نظر از نوع دام (جدول ۳) میزان ناپدید شدن مواد مغذی در تمام زمانها در تیمار بلوط کمتر از تیمار شاهد بود ($P<۰/۰٥$).

محققان گزارش کردند کاهش قابلیت هضم کربوهیدرات‌ها به دلیل تداخل تانن‌ها با آنزیم‌های سلولاز و باکتری‌های شکمبه می‌باشد. در برخی حالات

کاهش قابلیت هضم فیبر به علت کمبود نیتروژن مورد نیاز باکتری‌های شکمبه می‌باشد که دلیل آن باند شدن تانن با پروتئین‌های خوراک است. پرز ـ مالدونادو و نورتن (۱۹۹٦) پیشنهاد کردند تانن‌ها از طریق تشکیل کمپلکس با ترکیبات لیگنوسلولزی و همچنین جلوگیری از هضم میکروبی از طریق مهار مستقیم باکتری‌های سلولولیتیک سبب کاهش هضم فیبر می‌شوند. اسچام و همکاران (۱۹۸۳) گزارش کردند که با کشت باکتری در محیط کشتی که به طور همزمان از اسید گالیک و گلوکز استفاده شده باشد، سبب تولید آنزیم تاناز توسط باکتری شد.

صرف نظر از نوع تیمار (جدول ٤) ناپدید شدن ماده خشک و الیاف نامحلول در شوینده خنثی توسط باکتری‌های شکمبه بز و گوسفند تفاوتی نداشت (P>۰/۰۵). اما ناپدید شدن الیاف نامحلول در شوینده اسیدی توسط باکتری‌های شکمبه بز بیشتر از گوسفند بود (P<۰/۰۵). شاید از دلایل تفاوت هضم مواد مغذی در گوسفند و بز (جدول٤)، تحمل بیشتر بزها به تانن-های جیره نسبت به گوسفند باشد. این تفاوت ممکن است به دلیل تفاوت‌های شکمبه یا تفاوت خصوصیات پس از جذب در گونه‌های مختلف باشد. دام‌ها به تانن‌های خوراکی واکنش‌ها و عملکرد متفاوتی را نشان می‌دهند این تفاوت ناشی از واکنش‌های بیولوژیکی خود تانن‌ها بوده و اعتقاد بر این است که غلظت بیش از ٥ درصد تانن‌ها در جیره غذایی و گیاهان می‌تواند خطرات جدی برای دام داشته باشد (گوپتا و شارما ۱۹۹۸). میکروارگانیسم‌های ناشناخته‌ای در شکمبه بز وجود دارد که سبب مقاومت در برابر اثرات سمی تانن می-شوند. باکتری‌هایی که قادر به استفاده از تانن قابل هیدرولیز هستند *استرپتوکوکوس کاپرینوس*[1] و *استرپتوکوکوس گالولی تیکوس*[2] می باشند که وقتی گالات دکربوکسیلاز را افزایش می‌دهد تولید پیروگالول می‌کنند (بروکر و همکاران ۲۰۰۱).

[1] *Streptococcus gallolyticus*
[2] *Streptococcus caprinus*

جدول۲- ناپدید شدن مواد مغذی (درصد) توسط باکتری‌های شکمبه گوسفند و بز تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی (اثر دام و تیمار)

Table 2- Nutrient disappearance (%) by rumen bacteria in sheep and goat fed with experimental diets (Animal and treatment effect)

		Incubation time (hour)								
		24			48			72		
Animal	Treatment	Dry mater	Neutral detergent fiber	Acid detergent fiber	Dry mater	Neutral detergent fiber	Acid detergent fiber	Dry mater	Neutral detergent fiber	Acid detergent fiber
Goat	Control	17.23^{a}	13.56^{a}	13.47^{a}	20.92^{a}	18.85^{a}	17.19^{a}	31.52^{a}	30.11^{a}	27.59^{a}
	Oak nut	14.17^{b}	11.79^{bc}	11.48^{ab}	14.22^{b}	13.36^{b}	12.20^{b}	15.97^{c}	14.44^{c}	13.55^{c}
Sheep	Control	15.43^{ab}	12.69^{ab}	11.55^{ab}	18.83^{a}	17.97^{a}	15.19^{a}	24.34^{b}	23.79^{b}	20.44^{b}
	Oak nut	11.47^{c}	10.87^{c}	10.33^{b}	12.94^{b}	12.58^{b}	11.35^{b}	14.23^{c}	13.84^{c}	12.72^{c}
SEM		0.9989	0.8127	0.7294	1.1	0.8471	1.03	0.8421	0.8471	0.7294
P-value		0.0318	0.0376	0.0213	0.0318	0.0376	0.0213	0.0318	0.0376	0.0231

SEM: Standard error of means, means in column with different superscripts differ significantly (P<0.05).

جدول۳- ناپدید شدن مواد مغذی توسط باکتری‌های شکمبه گوسفند و بز تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی (صرف نظر ازدام)

Table 3- Nutrient disappearance (%) by rumen bacteria in sheep and goat fed with experimental diets (Regardless of animal type)

	Incubation time (hours)								
	24			48			72		
Treatment	Dry mater	Neutral detergent fiber	Acid detergent fiber	Dry mater	Neutral detergent fiber	Acid detergent fiber	Dry mater	Neutral detergent fiber	Acid detergent fiber
Control	16.33^{a}	13.13^{a}	12.51^{a}	19.87^{a}	18.41^{a}	16.19^{a}	27.93^{a}	26.95^{a}	24.02^{a}
Oak nut	12.82^{b}	11.33^{b}	10.91^{b}	13.58^{b}	12.97^{b}	11.78^{b}	15.10^{b}	14.14^{b}	13.13^{b}
SEM	0.0057	0.5990	0.5157	0.0057	0.5990	0.5157	0.0057	0.5990	0.05157
P-value	0.0033	0.005	0.002	0.0015	0.002	0.002	0.001	0.0035	0.003

SEM: Standard error of means, means in column with different superscripts differ significantly (P<0.05).

جدول ۴- ناپدید شدن مواد مغذی توسط باکتری‌های شکمبه گوسفند و بز تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی (صرف نظر از تیمار)

Table 4- Nutrient disappearance (%) **by rumen bacteria in sheep and goat fed with experimental diets (Regardless of treatment)**

	Incubation time (hour)								
	24			48			72		
Treatment	Dry mater	Neutral detergent fiber	Acid detergent fiber	Dry mater	Neutral detergent fiber	Acid detergent fiber	Dry mater	Neutral detergent fiber	Acid detergent fiber
Control	15.20	12.67	12.48^{a}	17.57	16.11	14.70^{a}	21.74	22.28	20.57^{a}
Oak nut	13.45	11.78	10.94^{b}	15.88	15.27	13.27^{b}	19.29	18.81	16.58^{b}
SEM	0.9892	0.8890	0.3157	1.0001	0.8990	0.4157	1.6116	2.0561	0.5157
P-value	0.0588	0.0615	0.0328	0.0588	0.0615	0.0328	0.0588	0.0615	0.0328

SEM: Standard error of means, means in column with different superscripts differ significantly (P<0.05).

ناپدید شدن مواد مغذی توسط قارچ‌ها

نتایج نشان داد (جدول ۵)، در زمان‌های ۳ و ٦ روز انکوباسیون میزان ناپدید شدن مواد مغذی توسط قارچ-های شکمبه بز در تیمار شاهد بالاتر از گوسفند بود و ناپدید شدن مواد مغذی با تیمار حاوی بلوط کاهش یافت (P<۰/۰۵). صرف نظر از نوع دام ناپدید شدن ماده خشک، الیاف نامحلول در شوینده خنثی و اسیدی در زمان ۱، ۳ و ٦ روز انکوباسیون (جدول ٦) در تیمار شاهد بیشتر از تیمار بلوط بود (P<۰/۰۵).

بعضی از محققان کاهش ناپدید شدن مواد مغذی را به علت بالا بودن کربوهیدرات‌های غیر ساختمانی در بلوط بیان کردند (شارما و همکاران ۲۰۰۸). تانن‌ها دارای اثرات ضد تغذیه‌ای شامل کاهش قابلیت هضم، کاهش قابلیت دسترسی به پروتئین و اختلالات هضمی در حیوان هستند، که این اثرات بیشتر نتیجه اختلال در فعالیت میکروفلور شکمبه بوسیله کاهش قابلیت دسترسی و قابلیت هضم مواد مغذی، مواد معدنی (مولان و همکاران ۲۰۰۱)، تخریب عملکرد دیواره سلولی (دونوون و بروکر ۲۰۰۱) و مداخله در فعالیت آنزیم‌های خارج سلولی (با و همکاران، ۲۰۰٦) می‌باشد.

جدول ۵- ناپدید شدن مواد مغذی توسط قارچ‌های شکمبه گوسفند و بز تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی (اثر دام و تیمار)

Table 5- Nutrient disappearance (%) by rumen fungi in sheep and goat fed with experimental diets (Animal and treatment effect)

		Incubation time (day)								
		1			3			6		
Animal	Treatment	Dry mater	Neutral detergent fiber	Acid detergent fiber	Dry mater	Neutral detergent fiber	Acid detergent fiber	Dry mater	Neutral detergent fiber	Acid detergent fiber
Goat	Control	14.35	12.38	11.19	20.84^{a}	18.23^{a}	15.71^{a}	25.49^{a}	22.20^{a}	22.08^{a}
	Oak nut	13.18	11.28	9.96	14.07^{b}	12.19^{b}	11.32^{b}	15.80^{b}	13.72^{b}	13.25^{b}
Sheep	Control	14.22	11.80	10.52	18.02^{a}	15.84^{a}	13.58^{a}	23.02^{a}	21.03^{a}	19.39^{a}
	Oak nut	12.31	10.72	10.03	13.04^{b}	12.12^{b}	11.18^{b}	13.95^{b}	13.36^{b}	12.11^{b}
SEM		1.0084	0.9127	1.0004	0.9897	0.8623	0.9974	1.87	0.7127	0.9474
P-value		0.5078	0.3466	0.3688	0.0411	0.0348	0.0368	0.032	0.034	0.026

SEM: Standard error of means, means in column with different superscripts differ significantly (P<0.05).

جدول ۶- ناپدید شدن مواد مغذی توسط قارچ‌های شکمبه گوسفند و بز تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی (صرف نظر از دام)

Table 6- Nutrient disappearance (%) by rumen fungi in sheep and goat fed with experimental diets (Regardless of animal type)

	Incubation time (day)								
	1			3			6		
Treatment	Dry mater	Neutral detergent fiber	Acid detergent fiber	Dry mater	Neutral detergent fiber	Acid detergent fiber	Dry mater	Neutral detergent fiber	Acid detergent fiber
Control	14.28^{a}	12.09^{a}	86.10^{a}	19.43^{a}	17.04^{a}	15.15^{a}	24.75^{a}	22.61^{a}	21.49^{a}
Oak nut	12.75^{b}	11.00^{b}	9.99^{b}	13.55^{b}	12.16^{b}	11.25^{b}	14.87^{b}	13.54^{b}	12.68^{b}
SEM	0.0059	0.3040	0.3578	0.0059	0.5040	0.4578	0.0059	0.5040	0.4578
P-value	0.002	0.0032	0.0035	0.0016	0.0028	0.001	0.001	0.0011	0.0018

SEM: Standard error of means, means in column with different superscripts differ significantly (P<0.05).

جدول ۷- ناپدید شدن مواد مغذی توسط قارچ‌های شکمبه گوسفند و بز تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی (صرف نظر از تیمار)

Table 7- Nutrient disappearance (%) by rumen fungi in sheep and goat fed with experimental diets (Regardless of treatment)

	Incubation time (day)								
	1			3			6		
Animal	Dry mater	Neutral detergent fiber	Acid detergent fiber	Dry mater	Neutral detergent fiber	Acid detergent fiber	Dry mater	Neutral detergent fiber	Acid detergent fiber
Goat	13.77	11.83	10.58	17.45	15.21	14.01	21.14	18.96	18.42
Sheep	13.26	11.26	10.28	15.53	13.98	12.38	17.84	17.19	15.75
SEM	0.0059	0.5040	0.4578	1.6844	1.0640	1.9869	1.7978	1.0879	2.1878
P-value	0.2078	0.5032	0.0518	0.2078	0.5032	0.0518	0.2078	0.5032	0.0518

SEM: Standard error of means, means in column with different superscripts differ significantly (P<0.05).

صرف نظر از نوع تیمار (جدول۷) ناپدید شدن ماده خشک، الیاف نامحلول در شوینده خنثی و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی توسط قارچ‌های شکمبه بز و گوسفند در زمان‌های ۱، ۳ و ٦ روز انکوباسیون تفاوت معنی‌داری نداشت (P>۰/۰۵). بزها معمولاً بهتر از گوسفند از خوراک‌های پر تانن استفاده می‌نمایند. مصرف غذا و قابلیت هضم علوفه‌های حاوی تانن غالباً در بزها بیشتر از گوسفند می‌باشد. بزها قادرند نسبت به گوسفندان بزاق بیشتری را تولید نموده که دارای نیتروژن بیشتری نیز است. بنابراین باز جذب بیشتر نیتروژن اوره‌ای از طریق بافت پوششی شکمبه و به طور غیر مستقیم از طریق بزاق برای بزها این امکان را بوجود می‌آورد که از خوراک‌های حاوی تانن بیشتر استفاده نمایند (هنکی ۱۹۸۵).

تولید گاز توسط باکتری‌ها

پتانسیل و نرخ تولید گاز کاه گندم توسط باکتری‌های شکمبه (جدول۸) برای تیمار شاهد در بز ۱۲۸/۲۸ میلی لیتر و ۰/۰۲٤۸ میلی‌لیتر بر ساعت و در گوسفند ۱۲۲/۵۹ میلی‌لیتر و ۰/۰۳۰۱ میلی‌لیتر بر ساعت بود (P>۰/۰۵). میزان PF، راندمان توده میکروبی و مقدار تولید توده میکروبی، ماده آلی واقعا هضم شده کاه گندم توسط باکتری‌های شکمبه بز و گوسفند در تیمار بلوط و شاهد تفاوت معنی‌داری نداشت (P>۰/۰۵).

صرف نظر از نوع دام (جدول۹)، پتانسیل تولید گاز کاه گندم در جیره شاهد بالاتر از جیره بلوط بود (P<۰/۰۵)، در حالی که نرخ تولید گاز و تولید توده میکروبی کاه گندم تفاوت معنی‌داری نداشت (P>۰/۰۵)، ولی ماده آلی واقعا هضم شده تیمار شاهد و PF و راندمان توده میکروبی تیمار بلوط بالاتر بود (P<۰/۰۵).

بعضی از محققان، کاهش ناپدید شدن مواد مغذی در تیمار بلوط را به علت تأثیر بخشی از کربوهیدرات‌های سهل‌الهضم که در دسترس جمعیت باکتریایی قرار می‌گیرد، می‌دانند (افشار میرزایی ۲۰۱۱)، همچنین به نظر می‌رسد به تفاوت در الگوی جیره‌ها و متفاوت بودن سطح انرژی دریافتی توسط باکتری‌ها، برگردد.

ترکیبات فنولی (تانن) موجود در بلوط سبب مهار تخمیر و اثر بر کربوهیدارت‌ها و در نتیجه کاهش تولید گاز می‌شوند (فرتوس و همکاران ۲۰۰٤). تانن‌های متراکم کربوهیدرات‌ها را باند کرده و میکروارگانیسم‌ها و آنزیم‌ها را مهار کرده و با لیگنوسلولز کمپلکس تشکیل داده و از هضم میکروبی ممانعت به عمل می‌آورند (تاوندال و همکاران ۲۰۰٤). نرخ تولیدگاز با تیمار حاوی بلوط افزایش یافت که علت این امر می‌تواند حضور مقادیر بالای کربوهیدرات‌های محلول در بلوط و کمتر بودن میزان الیاف نامحلول در شوینده اسیدی و الیاف

نامحلول در شوینده خنثی در جیره‌های حاوی بلوط باشد (هادی و همکاران ۲۰۰۳).

بر طبق نتایج این آزمایش جیره‌های حاوی بلوط میزانPF، توده میکروبی و راندمان توده میکروبی بیشتری داشتند. افزایش در میزان PF نشان دهنده این است که انرژی کمتری صرف تولید گاز شده است. کم بودن PF، نشان می‌دهد ماده آلی بیشتر به گاز و اسید چرب فرار تبدیل شده و کم‌تر تولید توده میکروبی کرده است و مقدار بیشتر PF به علت بالاتر بودن ترکیب ضد تغذیه تانن است (انگاجی و همکاران ۲۰۱۱).

جدول ۸- فراسنجه‌های تولید گاز توسط باکتری‌های شکمبه گوسفند و بز تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی (اثر دام و تیمار)

Table 8- Gas production parameters by rumen bacteria of sheep and goat fed with experimental diets (Animal and treatment effect)

Animal	Treatment	Potential of gas production (mL/300 mg DM)	Gas production rate (mL/h)	PF Partitioning factor (mg/mL)	Microbial biomass(mg)	Microbial biomass efficiency(mg)	Truly digested organic matter (mg)
Goat	Control	128.28	0.0248	2.78	41.15	0.21	186.06
	Oak nut	125.86	0.0292	2.90	44.07	0.24	182.21
Sheep	Control	122.59	0.0301	2.82	40.97	0.22	185.16
	Oak nut	119.66	0.0336	2.94	41.31	0.24	176.53
SEM		4.9545	0.0289	0.0487	2.0576	0.0251	8.9344
P-value		0.3739	0.8285	0.9996	0.5373	0.7630	0.3298

SEM: Standard error of means, means in column with different superscripts differ significantly (P<0.05).

جدول ۹- فراسنجه‌های تولید گاز توسط باکتری‌های شکمبه گوسفند و بز تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی (صرف نظر از دام)

Table 9- Gas production parameters by rumen bacteria of sheep and goat fed with experimental diets (Regardless of animal type)

Treatment	Potential of gas production (mL/300 mg DM)	Gas production rate (mL/h)	Partitioning factor (mg/mL)	Microbial biomass(mg)	Microbial biomass efficiency(mg)	Truly digested organic matter (mg)
Control	128.43^{a}	0.0275	2.80^{b}	41.06	0.21^{b}	190.61^{a}
Oak nut	111.76^{b}	0.0314	2.92^{a}	42.69	0.24^{a}	174.37^{b}
SEM	2.3719	0.0019	0.0344	1.4549	0.0091	1.6931
P-value	0.0077	0.0957	0.0291	0.4366	0.0330	0.0023

SEM: Standard error of means, means in column with different superscripts differ significantly (P<0.05).

در یک مطالعه علیپور و همکاران (۲۰۰۷) نشان دادند استفاده از تفاله انگور بدون پلی اتیلن گلیکول، منجر به افزایش PF و کاهش تولید توده میکروبی شد که علت کاهش تولید توده میکروبی، حضور تانن و عدم دسترسی میکروب‌ها به مواد مغذی می‌باشد (ماکار و همکاران ۲۰۰۳) و افزایش PF بعلت تخمیر اسیدهایی که توسط میکروب‌های شکمبه قابل تخمیر نیستند (افراک و همکاران ۱۹۹۳).

صرف نظر از نوع تیمار جدول (۱۰)، پتانسیل تولید گاز کاه گندم و ماده آلی واقعا هضم شده توسط باکتری-های شکمبه بز بالاتر از گوسفند بود (P<۰/۰۵). در حالی که نرخ تولید گاز و همچنین PF، راندمان توده

میکروبی و مقدار تولید توده میکروبی کاه گندم توسط باکتری‌های شکمبه بز با گوسفند تفاوت معنی‌داری نداشت (P>۰/۰۵).

جدول ۱۰- فراسنجه‌های تولید گاز توسط باکتری‌های شکمبه گوسفند و بز تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی (صرف نظر از تیمار)

Table 10- Gas production parameters by rumen bacteria of sheep and goats fed with experimental diets (Regardless of treatment)

Animal	Potential of gas production (mL/300 mg DM)	Gas production rate (mL/h)	Partitioning factor (mg/mL)	Microbial biomass(mg)	Microbial biomass efficiency(mg)	Truly digested organic matter (mg)
Goat	131.07[a]	0.0270	2.84	42.61	0.22	189.14[a]
Sheep	109.13[b]	0.0319	2.88	41.14	0.23	175.85[b]
SEM	3.3719	0.0026	0.0344	1.9544	0.0091	1.6931
P-value	0.0028	0.0547	0.4391	0.4842	0.4814	0.003

SEM: Standard error of means, means in column with different superscripts differ significantly (P<0.05).

مک لئود و همکاران (۱۹۷٤) به این نتیجه رسیدند، بز می‌تواند سطح بالاتری از تانن را نسبت به سایر نشخوارکنندگان تحمل کند، شاید دلیل آن وجود گونه-های خاصی از باکتری‌ها در شکمبه بز و آنزیمی که در برابر تانن ترشح می‌کنند، باشد.

تولید گاز توسط قارچ‌ها

پتانسیل و نرخ تولیدگاز کاه گندم توسط قارچ‌های شکمبه (جدول ۱۱) تیمار شاهد و بلوط در گوسفند و بز تفاوت معنی‌داری نداشت (P>۰/۰۵). مقدارPF، توده میکروبی و راندمان توده میکروبی تیمار بلوط توسط قارچ‌های شکمبه گوسفند بالاتر از بز و مقدار ماده آلی واقعاً هضم شده توسط تیمار شاهد باکتری‌های شکمبه بز بالاتر از گوسفند بود (P<۰/۰۵). صرف نظر از نوع دام (جدول ۱۲)، پتانسیل تولید گاز کاه گندم و مقدار ماده آلی واقعا هضم شده توسط قارچ‌های شکمبه در جیره شاهد بالاتر از جیره بلوط بود (P<۰/۰۵). در حالی که نرخ تولید گاز کاه گندم بین تیمارهای شاهد و بلوط اختلاف معنی‌داری نداشت. مقدار PF، تولید توده میکروبی و مقدار راندمان توده میکروبی در تیمار بلوط بالاتر بود (P<۰/۰۵).

بعضی از محققان کاهش پتانسیل تولید گاز در تیمار بلوط را اینگونه بیان کردند که همبستگی بالایی میان مقدار گاز تولیدی با ترکیب شیمیایی خوراک وجود دارد (نساحلای ۱۹۹٤). محققان دیگر افزایش پتانسیل تولید گاز در تیمار بلوط مشاهده کردند و علت آن را اینگونه بیان کردند که سطح انرژی جیره‌ها که خود تحت تأثیر میزان NFC، کربوهیدرات‌های محلول در شوینده خنثی (NDSC) و فیبر محلول در شوینده خنثی (NDSF) در خوراک‌ها می‌باشد، متفاوت است و بالا بودن سطح کربوهیدرات‌های محلول و پکتین در بلوط نسبت به یونجه، که موجب آزادسازی انرژی در ساعات اولیه انکوباسیون می‌گردد می‌تواند دلیل این امر باشد (بشارتی ۲۰۰۸). از طرفی بعضی دیگر ازمحققان گزارش کردند که تانن سبب کاهش تولید گاز در شکمبه می‌شود (گتاچو و همکاران ۲۰۰۰). مالدارو و همکاران (۱۳۸۹) بیان نمودند استفاده از برگ بلوط در جیره بزهای نر الموت بدون سابقه قبلی مصرف خوراک تانن‌دار، سبب کاهش پتانسیل تولید گاز نسبت به بزهای مرخز با سابقه قبلی مصرف برگ بلوط شده است. هرواس و همکاران (۲۰۰۳) نیز اظهار داشتند که ۸/۳ درصد عصاره تانن در جیره بر پتانسیل تولید گاز کاه

گندم اثری نداشته، اما پتانسیل تولید گاز و نرخ تولید گاز را در یونجه کاهش داده است. بنابراین میزان اثر تانن بر تولید گاز به نوع خوراک انکوبه شده همبستگی دارد. تانن‌های متراکم سبب کاهش پروتوزوآ و باکتری‌های متانوژن می‌گردد و در نتیجه کاهش تولید متان را به دنبال دارد (میکائیل و همکاران ۲۰۰۵). علت بالاتر بودن PF و راندمان توده میکروبی توسط قارچ-های شکمبه گوسفند در تیمار بلوط را شاید بتوان به تولید گاز خیلی پایین بخاطر وجود تانن ربط داد. در جدول ۱۳ مشاهده می‌شود که صرف نظر از نوع تیمار، پتانسیل تولیدگاز کاه گندم و ماده آلی واقعاً هضم شده توسط قارچ‌های شکمبه بز بالاتر از گوسفند است (P<۰/۰۵). در حالی که مقدار PF و راندمان توده میکروبی توسط قارچ‌های شکمبه گوسفند بالاتر بود (P<۰/۰۵). بهره برداری بهتر بز در استفاده از فیبر در مقایسه با گوسفند شاید بخاطر غلظت بیشتر آمونیاک در شکمبه بز باشد، و به علت مصرف بیشتر، بز انرژی بیشتری برای رشد میکروب‌های شکمبه فراهم می‌کند، همچنین غلظت اوره در بزاق بز نیز بالاتر است (نارجیسیس و همکاران ۱۹۹۵).

جدول ۱۱- فراسنجه‌های تولید گاز کاه گندم توسط قارچ‌های شکمبه گوسفند و بز تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی (اثر دام و تیمار)

Table 11- Gas production parameters of wheat straw by rumen fungi in goat and sheep fed with experimental diets (Animal and treatment effect)

Animal	Treatment	Potential of gas production (mL/300 mg DM)	Gas production rate (mL/h)	Partitioning factor (mg/mL)	Microbial biomass(mg)	Microbial biomass efficiency(mg)	Truly digested organic matter (mg)
Goat	Control	82.07	0.0057	3.80^{d}	62.40	0.42	148.30^{a}
	Oak nut	74.74	0.0047	4.77^{c}	67.54	0.53	125.38^{b}
Sheep	Control	79.18	0.0053	5.34^{b}	61.58	0.58	105.11^{c}
	Oak nut	74.31	00.43	7.40^{a}	66.64	0.70	101.98^{c}
SEM		3.9830	0.00019	0.0651	3.9874	0.2842	1.4478
P-value		0.6668	0.7803	0.001	0.0512	0.7646	0.002

SEM: Standard error of means, means in column with different superscripts differ significantly (P<0.05).

جدول ۱۲- فراسنجه‌های تولید گاز کاه گندم توسط قارچ‌های شکمبه گوسفند و بز تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی (صرف نظر از دام).

Table 12- Gas production parameters of wheat straw by rumen fungi in goat and sheep fed with experimental diets (Regardless of animal type)

Treatment	Potential of gas production (mL/300 mg DM)	Gas production rate (mL/h)	Partitioning factor (mg/mL)	Microbial biomass(mg)	Microbial biomass efficiency(mg)	Truly digested organic matter (mg)
Control	91.37^{a}	0.008	4.57^{b}	62.12^{b}	0.50^{b}	126.70^{a}
Oak nut	74.52^{b}	0.007	6.08^{a}	69.59^{a}	0.62^{a}	113.68^{b}
SEM	2.8164	0.0006	0.0460	0.7902	0.0039	1.0237
P-value	0.0134	0.3310	0.0025	0.0019	0.002	0.003

SEM: Standard error of means, means in column with different superscripts differ significantly (P<0.05).

جدول ۱۳- فراسنجه‌های تولید گاز کاه گندم توسط قارچ‌های شکمبه گوسفند و بز تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی (صرف نظر از تیمار)

Table 13- Gas production parameters of wheat straw by rumen fungi in goat and sheep fed with experimental diets (Regardless of treatment)

Animal	Potential of gas production (mL/300 mg DM)	Gas production rate (mL/h)	Partitioning factor (mg/mL)	Microbial biomass(mg)	Microbial biomass efficiency(mg)	Truly digested organic matter (mg)
Goat	89.15[a]	0.0102[a]	4.28[b]	64.97	0.47[b]	136.84[a]
Sheep	76.75[b]	0.0048[b]	6.37[a]	66.74	0.64[a]	103.55[b]
SEM	2.8164	0.0006	0.0460	0.7901	0.0039	1.0237
P-value	0.0357	0.0037	0.002	0.1287	0.0022	0.0015

SEM: Standard error of means, means in column with different superscripts differ significantly (P<0.05).

جمعیت و گونه‌های پروتوزوا

جمعیت کل پروتوزوآی شکمبه بز و گوسفند بین تیمارها تفاوت معنی‌داری نداشت (P>۰/۰۵). اگرچه از نظر عددی جمعیت گونه اندودینیوم در تیمار شاهد در بز از گوسفند بالاتر بود (P>۰/۰۵)، اما گونه‌های هولوتریش، افریواسکولکس و دیپلودینیوم در تیمار بلوط مشاهده نشد (جدول ١٤). صرف نظر از نوع دام (جدول ١٥)، جمعیت و گونه‌های پروتوزوآی شکمبه در تیمار شاهد بالاتر از تیمار بلوط بود (P<۰/۰۵). گونه-های هولوتریش، اندودینیوم، افریو اسکولکس و دیپلودینیوم بین تیمار شاهد و تیمار بلوط تفاوتی نداشتند (P>۰/۰۵). گونه اندودینیوم از سایر گونه‌ها بالاتر بود و گونه‌های هولوتریش، افریواسکولکس و دیپلودینیوم در تیمار بلوط مشاهده نشد.

مادوشینکا و همکاران (۲۰۱۲) در بررسی اثر گیاهان غیرلگومی با تانن بالا (٦/۲درصد) و گیاهان لگومی با تانن پایین (۱/۵۸درصد) روی جمعیت پروتوزوآی شکمبه نشان دادند تیمار غیرلگومی سبب کاهش جمعیت پروتوزوآ و تیمار لگومی، پروتوزوآ را افزایش داد، علت آن را ترکیبات تانن‌دار بیان کردند که سبب پاره شدن غشاء سلول، غیرفعال شدن آنزیم‌ها و کاهش سوبسترا و یون‌های فلزی لازم برای متابولیسم سلولی می‌شوند (کالسامیگلیا و همکاران ۲۰۰۷). چیکوتا و همکاران (۲۰۰۲) با تغذیه جیره‌های حاوی برگ بلوط در گوسفند گزارش کردند که گونه‌های دیپلودینیوم و ایزوتریکا کاهش یافت، اما گونه‌های افریواسکولکس و متادینیوم تحت تاثیر جیره‌های حاوی برگ بلوط قرار نگرفتند، و علت آن را شکل جیره، سطح تانن و تفاوت‌های گونه‌ای حیوانات بیان کردند (یانز رویز ۲۰۰٤). گونه انتودینیوم دارای حساسیت به تانن کوبراچو هستند که این گونه مسئول اصلی شکار باکتری‌ها در شکمبه است (کلمن و همکاران ۱۹٦۵ و نیل و همکاران ۲۰۰۰).

صرف نظر از نوع تیمار (جدول١٦)، جمعیت و گونه‌های هولوتریش، اندودینیوم، افریواسکولکس و دیپلودینیوم شکمبه بز و گوسفند تفاوتی نداشتند (P>۰/۰۵).

جدول ۱۴- جمعیت و مورفولوژی پروتوزوآی شکمبه گوسفند و بز تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی (اثر دام و تیمار) (پروتوزوآ در میلی‌لیتر مایع شکمبه × ۱۰^۴)

Table 14- Population and morphology of rumen protozoa of sheep and goat fed with experimental diets (Animal and treatment effect), (protozoa per mL of rumen fluid×10^4)

Animal	Treatment	Total Population	Holotrichia	Entodinium	Ophryoscolex	Diplodinium
Goat	Control	10.50	3.00	4.00	1.00	2.5
	Oak nut	2.50	0.00	2.50	0.00	0.00
Sheep	Control	7.50	2.50	4.00	0.50	0.50
	Oak nut	2.50	0.00	2.50	0.00	0.00
SEM		4.202	1.65	0.812	0.599	1.29
P-value		0.4522	0.3739	0.900	0.6779	0.2746

SEM: Standard error of means, means in column with different superscripts differ significantly (P<0.05).

جدول ۱۵- جمعیت و مورفولوژی پروتوزوآی شکمبه گوسفند و بز تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی (صرف نظر از نوع دام) (پروتوزوآ در میلی‌لیتر مایع شکمبه × ۱۰^۴)

Table 15- Population and morphology of rumen protozoa of sheep and goat fed with experimental diets (Regardless of animal type), (protozoa per mL of rumen fluid×10^4)

Treatment	Total Population	Holotrichia	Entodinium	Ophryoscolex	Diplodinium
Control	9.00[a]	2.70[a]	4.00	0.70	1.50
Oak nut	2.50[b]	0.00[b]	2.50	0.00	0.00
SEM	1.274	0.176	0.796	0.395	0.859
P-value	0.0226	0.0004	0.0705	0.2508	0.1306

SEM: Standard error of means, means in column with different superscripts differ significantly (P<0.05).

جدول۱۶- جمعیت و مورفولوژی پروتوزوآی شکمبه گوسفند و بز تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی (پروتوزوآ در میلی‌لیتر مایع شکمبه × ۱۰^۴) (صرف نظر از تیمار)

Table 16- Population and morphology of rumen protozoa of sheep and goat fed with experimental diets (Regardless of treatment), (protozoa per mL of rumen fluid×10^4)

Animal	Total Population	Holotrichia	Entodinium	Ophryoscolex	Diplodinium
Goat	6.50	1.50	4.50	0.50	1.20
Sheep	5.00	1.20	3.70	0.25	0.20
SEM	0.8320	0.1760	0.3962	0.1953	0.5591
P-value	0.4522	0.3739	0.1583	0.6779	0.2746

SEM: Standard error of means, means in column with different superscripts differ significantly (P<0.05).

شمارش باکتری‌ها و قارچ‌های شکمبه

مطابق جدول ۱۷، جمعیت باکتری‌ها و قارچ‌ها در تیمار شاهد بز بالاتر از گوسفند بود (P<۰/۰۵). صرف نظر از نوع دام (جدول ۱۸)، در تیمار بلوط جمعیت باکتری‌ها و قارچ‌ها به طور معنی‌داری کاهش یافته است (P<۰/۰۵). قاسمی و همکاران (۱۳۹۱) گزارش کردند با افزایش مقدار پوست پسته در جیره، جمعیت کل باکتری‌ها، باکتری‌های فیبرولیتیک، سوکسینوژنز[1] و *رومینوکوکوس آلبوس*[2] کاهش یافت. در یک مطالعه دیگر چیکاتو و همکاران (۲۰۰۲) با تغذیه جیره حاوی برگ بلوط به گوسفند، گزارش کردند که جمعیت باکتری‌های سلولولیتیک و پروتئولیتیک به علت وجود تانن به طور معنی داری کاهش یافت. همچنین مادوشینکا و همکاران (۲۰۱۲) با مطالعه اثر گیاهان غیرلگومی با تانن بالا (۶/۲ درصد) و گیاهان لگومی با تانن پایین (۱/۵۸ درصد) بر جمعیت باکتری‌های شکمبه گوسفند گزارش کردند که جمعیت باکتری‌ها در تیمار غیر لگومی‌کاهش یافت که علت آن را ترکیبات تانن که با پاره شدن غشاء سلول سبب کاهش سوبسترا برای متابولیسم سلولی می‌شوند، بیان کردند (کالسامیگلیا و همکاران ۲۰۰۷).

صرف نظر از نوع تیمار (جدول ۱۹) در شکمبه بز جمعیت باکتری‌ها و قارچ‌های شکمبه بالاتر از گوسفند می‌باشد (P<۰/۰۵). سینگل و همکاران (۲۰۱۱) نشان دادند در بزهای تغذیه شده با برگ‌های پاکار که غنی از تانن هستند هضم مواد مغذی کاهش می‌یابد، اما نیاز حیوان به مصرف ماده خشک افزایش می‌یابد و تغذیه رژیم غذایی غنی از تانن با تغییر در جمعیت میکروبی سبب افزایش جمعیت باکتری‌های مقاوم به تانن می-شود, همچنین آنها گزارش کردند جمعیت قارچ‌های شکمبه بز تغذیه شده با برگ‌های پاکار در مقایسه با گروه شاهد کاهش یافت.

مک سوئینی و همکاران (۲۰۰۱) نشان دادند جمعیت قارچ‌های شکمبه گوسفند تغذیه شده با ۱۰۰ درصد کالیاندرا (۱۰-۶ درصد تانن متراکم) نسبت به حیوانات تغذیه شده با ۳۰ درصد کالیاندرا[3]به طور قابل توجهی کاهش‌یافت.

[1] Succinogenes
[2] *Ruminococcus albus*
[3] Calliandra

جدول۱۷- جمعیت باکتری‌ها و قارچ‌های شکمبه بز و گوسفند تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی (در میلی‌لیتر مایع شکمبه × ۱۰^۴) (اثر دام و تیمار)

Table 17- Population of rumen bacteria and fungi of goat and sheep fed with experimental diets (Animal and treatment effect), (per mL of rumen fluid×10^4)

Animal	Treatment	Bacteria	Fungi
Goat	Control	10.70[a]	5.10[a]
	Oak nut	9.20[b]	2.90[c]
Sheep	Control	8.00[b]	4.20[b]
	Oak nut	4.40[c]	2.70[c]
SEM		0.355	0.201
P-value		0.0418	0.0028

SEM: Standard error of means, means in column with different superscripts differ significantly (P<0.05).

جدول ۱۸- جمعیت باکتری‌ها و قارچ‌های شکمبه بز و گوسفند تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی (در میلی‌لیتر مایع شکمبه × ۱۰^۴) (صرف نظر از دام)

Table 18- Population of rumen bacteria and fungi of goat and sheep fed with experimental diets (Regardless of animal type), (per mL of rumen fluid×10^4)

Treatment	Bacteria	Fungi
Control	9.30[a]	4.60[a]
Oak nut	6.80[b]	2.80[b]
SEM	0.251	0.142
P-value	0.002	0.0007

SEM: Standard error of means, means in column with different superscripts differ significantly (P<0.05).

جدول ۱۹- جمعیت باکتری‌ها و قارچ‌های شکمبه بز و گوسفند تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی (در میلی‌لیتر مایع شکمبه × ۱۰^۴) (صرف نظر از تیمار)

Table 19- Population of rumen bacteria and fungi of goat and sheep fed with experimental diets (Regardless of treatment), (per mL of rumen fluid×10^4)

Animal	Bacteria	Fungi
Goat	10.00[a]	4.20[a]
Sheep	6.20[b]	3.40[b]
SEM	0.251	0.142
P-value	0.0004	0.0463

SEM: Standard error of means, means in column with different superscripts differ significantly (P<0.05).

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج این آزمایش، استفاده از ۶۳ درصد مغز میوه بلوط منجر به کاهش جمعیت، ناپدید شدن مواد مغذی، فراسنجه‌های تخمیری باکتری‌ها و قارچ‌ها و کاهش جمعیت پروتوزوای شکمبه در گوسفند عربی و بز نجدی شد. همچنین در شرایط این آزمایش بزهای نجدی معمولا بهتر از گوسفند عربی از خوراک‌های پرتانن استفاده می کنند.

تشکر و قدردانی

در اینجا لازم می‌داند از دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، به خاطر حمایت مالی پژوهش حاضر تشکر و قدردانی به عمل آید.

منابع مورد استفاده

AFRC, 1993. Energy and Protein Requirements of Ruminants. CAB International, Wallingford, UK, Pp.918.

Alipour D and Rouzbehan Y, 2010. Effects of several levels of extracted tannin from grape pomace on intestinal digestibility of soybean meal. Livestock Science 128(1): 87-91.

Angaji L, Souri M and Moeini MM, 2011. Deactivation of tannins in raisin stalk by polyethylene glycol-600: Effect on degradation and gas production in vitro. African Journal of Biotechnology 10(21): 4478-4483.

Bae HD, McAllister TA, Yanke J, Cheng KJ and Muir AD, 1993. Effects of condensed tannins on endoglucanase activity and filter paper digestion by *Fibrobacter succinogenes S85*. Applied and Environmental Microbiology 59(7): 2132-2138.

Besharari M, Taghizadeh A, Jan Mohammadi H and Moghadam Gh, 2008. Determination of degradability of grape by products by using gas production method and nylon bags. Journal of Agricultural Science 18 (3): 173 - 185. (In Persian).

Calsamiglia S, Busquet M, Cardozo PW, Castillejos L and Ferret A, 2007. Invited review: essential oils asmodifiers of rumenmicrobial fermentation. Journal of Dairy Science 90: 2580-2595.

Dawson JM and Buttery PJ, 1995. The effect of polyphenolics on ruminant gut metabolism. Report Department of Applied Biochemistry and Food Science University of Nottingham, Uk.

Deschamps AM, 1989. Microbial degradation of tannins and related compounds. In: Lewis NG and paice MG (Eds) Plant Cell Wall Polymers Biogenesis and Biodegradation (pp. 559–566). American Chemical Society, Washington, DC.

Deschamps AM, Otuk G and Lebeault JM, 1983. Production of tannase and degradation of chestnut tannin by bacteria. Journal of Fermentation Technology 61(1): 55-59.

Donovan LO and Brooker JD, 2001. Effect of hydrolysable and condensed tannins on growth, morphology and metabolism of Streptococcus gallolyticus (S. caprinus) and Streptococcus bovis. Microbioligy 147: 1052-1033.

Firouz E, 2000. A Guide to the Funa of Iran (in persion). Iran university Press, Tehran. 491 Pp.

Getachew G, Makker HPS and Becker K, 2002. Tropical browses: contents of phenolic compounds, in vitro gas production and stoichiometric relationship between short chain fatty acid and in vitro gas production. Journal Agriculture Science 139: 341-352.

Ghasemi S, Naserian A, Valizadeh R and Behgar M, 2010. Effect of phenolic compounds of pistachio hull on digestibility and some fermentative properties of rumen in Baluchi sheeps. Fourth Iranian Congress of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Tehran (Campus-Karaj). (In Persian).

Gupta BK and Sing A, 1998. Effect of feeding dried subabul as replacement of concentrate mixture in buffalo calves. Indian. Journal of Animal Science 59: 590-596.

Haddi ML, Filacorda S, Meniai K, Rollin F and Susmel P, 2003. In vitro fermentation kinetics of some halophyte shrubs sampled at three stages of maturity. Animal Feed Science and Technology 104: 215-225.

Hervás G, Pilar Frutos F, Javier Giráldez, Ángel R, Mantecón Mar´ıa C and Álvarez Del P, 2003. Effect of different doses of quebracho tannins extract on rumen fermentation in ewes. Animal Feed Science and Technology 109: 65–78.

Kiani Asl A, 1394. Comparison of digestibility and rumen fermentation of Nijdi goat and Arabi sheep fed with diets containing tannin of oak kernel. M.Sc. Ramin Agriculture and Natural Resources University of Khuzestan. 43-44. (In Persian).

Makkar HPS, 2003. Effects and fate tannins in ruminant animals, adaptation to tannins, and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds. Small Ruminant Research 49: 241–256.

Maldar SM, Roozbehan Y and Alipour D, 2010. The effect of adaptation to oak leaves on *in vitro* digestibility and rumen parameters in Almout goat. Iranian Journal of Animal Science 243-252. (In Persian).

McLeod MN, 1974. Plant tannins-their role in forage quality. Nutrition Abstracts and Reviews (UK). 44:803-15.

McNeill DM, Komolong M Gobius N and Barber D, 2000. Influence of dietary condensed tannins on microbial crude protein supply in sheep. In:Brooker, J. D. (ed,), Tannins in Livestock and Human Nutrition. ACIAR proc, 92: 57-61.

Michael H, Tavendale L, Meagher P, Pacheco D, Walker N, Attwood GT and Sivakumaran S, 2005. methane production from in vitro rumen incubations with Lotus pedunculatus and Medicago sativa, and effects of extractable condensed tannin fractions on methanogenesis. Animal Feed Science and Technology 123-124: 403-419.

Mirzaei-Aghsaghali A, Maheri-Sis N, Mansouri H, Ebrahim Razeghi M, Shayegh J and Aghajanzadeh-Golshani A, 2011. Evaluating nutritional value of apple pomace for ruminants using *in vitro* gas production technique. Annual of Biological Research 2(1): 100-106.

Molan AL, Attwood GT, Min BR and McNabb WC, 2001. The effect of condensed tannins from Lotus pedunculatus and Lotus corniculatus on the growth of proteolytic rumen bacteria *in vitro* and their possible mode of action. Canadian Journal of Microbiology 47(7): 626-633.

Narjisse H, Elhonsali MA and Olsen JD, 1995. Effects of oak (Quercus ilex) tannins on digestion and nitrogen balance in sheep and goats. Small Ruminant Research 18(3): 201-206.

NRC (National Research Council), 1985.Nutritional requirements of goats. National Academy Press. Washington DC.

Nsahlai IV, Siaw DEKA and Osuji PO, 1994.The relationship between gas production and chemical composition of 23 browses of the genus Sesbania. Journal of Science and Food Agriculture 65: 13-20.

Olivera MP, 1998. Use of in vitro gas production technique to assess the contribution of both soluble and insoluble fraction on the nutritive value of forage. A thesis submitted to the University of Aberdeen, Scotland, in partial fulfillment of the degree of Master of Science in Animal Nutrition.

Ozcan T, 2006. Total protein and amino acid compositions in the acorns of Turkish Quercus L. taxa. Genetic Resources and Crop Evolution 53(2): 419-429.

Pell AN, Wooslton TK, Nelson KE and Schofield P, 2000. Tannins: biological activity and bacterial tolerance. In: Brooker, J. D. (Ed), Tannins in livestock and human nutrition. Proc. Int. Workshop. Adelaide, Austalia. ACIAR Proc. (92) P: 111-116.

Salehi Sourmaghi M, 1981. Chemical analysis of Iranian oak and its possible use. Oak Seminar, Yasouj. Pp 43 to 44. (In Persian).

Seresinhe T, Madushika SAC, Seresinhe Y, Lal PK and Ørskov ER, 2012. Effects of tropical high tannin non legume and low tannin legume browse mixtures on fermentation parameters and methanogenesis using gas production technique. Asian-Australian Journal of Animal Sciences 25(10): 1404.

Sharma RK, Singh BA and Sahoo A, 2008. Exploring feeding value of oak (*Quercus incana*) leaves: Nutrient intake and utilization in calves. Livestock Science 118: 157–165.

Tabatabaei M, 2003. Physiological aspects of ruminant's nutrition. University of Bu Ali Sina of Hamedan.pp 758. (In Persian).

Tavendale MH, Meagher LP Pacheco D, Walker N, Attwood GT and Sivakumaran S, 2005. Methane production from in vitro rumen incubations with Lotus pedunculatus and Medicago sativa, and effects of extractable condensed tannin fractions on methanogenesis. Animal Feed Science and Technology 123–124: 403–419.

Yanez Ruiz DR, Moumen A, Mart´ın Garc´ıa AI and Molina Alcaide E, 2004. Ruminal fermentation and degradation patterns, protozoa population, and urinary purine derivatives excretion in goats and withers fed diets based on two-stage olive cake: effect of PEG supply. Journal of Animal Science 82: 2023–2032.

The effect of oak nut on the activity of rumen bacteria and fungi and the protozoa population of Najdi goat and Arabi sheep

Z Hashemi[1], T Mohammadabadi[2*], M Chaji[2] and S Tabatabaei[2]

Received: August 28, 2016 Accepted: September 26, 2018

[1]MSc Graduated Student, Department of Animal Science, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Ahvaz, Iran

[2]Associate Professors, Department of Animal Science, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Ahvaz, Iran

[*]Corresponding author: mohammadabadi@asnrukh.ac.ir

Introduction: Oak nut is containing 55% starch and can be used as an energy source in the ruminant nutrition. In addition to nutritional compounds, oak nut contains high amounts of active biological compounds, such as tannin, gallic acid, galloyl or hexahydroxy decanol derivatives. Tannins form complexes with a large number of nutrients such as carbohydrates, proteins, polysaccharides, bacterial cell membranes, digestive enzymes, and minerals, but decrease microbial digestion in the rumen. This experiment was conducted to determine the effect of oak nut on the population and digestive activity of bacteria, fungi, and protozoa counts in the rumen of Najdi goat and Arabi sheep.

Material and methods: For this purpose, six Najdi goats and six Arabi sheep (average weight 35 ± 2 kg) were fed with a diet containing oak nut (63 %) and a diet without oak nut for 28 days. Iso-energetic and iso-nitrogenous diets were formulated according to NRC, in diet 30:70 forage to concentrate (3 animals per treatment). Samples of rumen fluid were collected before the morning feeding. Then, digestive activity of rumen bacteria and fungi, fermentation parameters, and protozoa counts of animals which fed with experimental diets were determined. Growth and digestive activity of rumen bacteria and fungi were determined by measuring DM, NDF and ADF disappearance in specific culture for each incubation time (9 replicates for each treatment). Gas production and fermentation parameters by fungi and bacteria were determined. The protozoa count, genus, and species were identified on the basis of Yanez Ruiz et al (2004).

Cumulative gas production data were fitted into the exponential equation: $Y = b (1 - e^{-ct})$, where b = gas production from the fermentable fraction (mL), c= the gas production rate constant (mL/h), t = the incubation time (h), and Y = gas produced in time t. Partitioning factor (PF), microbial biomass, and truly digested organic matter were calculated by Olivera (1998). For determination of partitioning factor (PF) at the end of each incubation period, the content of vials was transferred into an Erlenmeyer flask, mixed with 20 mL neutral detergent fiber solution, boiled for 1 hour, filtered, dried (in oven at 60 °C for 48 h), and ashed.

The data were subjected to analysis as a split plot design using the General Linear Model (GLM) procedure of SAS (version 9.1). The Duncan's multiple range test was used to compare the mean differences at $P<0.05$.

Results and discussion: The disappearance of DM, NDF, and ADF by goat rumen bacteria at 24, 48 and 72 h were significantly higher in the control group than oak nut treatment ($P<0.05$). According to the results, there were no significant differences for the disappearance of DM, NDF, and ADF by the sheep and goat rumen fungi between the control group and oak nut treatment at 1, 3, and 6 days of incubation ($P>0.05$). The disappearance of DM, NDF, and ADF by the rumen fungi was not different between treatments at all times of incubation ($P<0.05$). The gas production potential of wheat straw, PF, microbial biomass production, the efficiency of microbial biomass,

and truly digested organic matter by the rumen bacteria and fungi of sheep and goats did not have any significant differences in control treatment compared with oak nut treatment (P>0.05). Truly digested organic matter in the control treatment were higher than oak nut treatment (P<0.05). The PF by rumen fungi of sheep in diets containing oak nut was higher than goats, while the truly digested organic matter by the rumen fungi of goats was higher than the control diet in sheep (P<0.05). The total population of protozoa and Holotriches species was deceased in oak nut treatment (P<0.05). The population of goat rumen bacteria and fungi in control group was higher than that in control sheep group.

The phenolic compounds (tannins) in diets containing oak nut decreased fibrolytic enzyme activity, inhibited carbohydrates fermentation, and consequently decreased fiber digestibility by rumen microorganism (Tavendale et al. 2005). Tannins can reduce microorganism adhesion to nutrients; inhibit microbial activity which has negative effects on fermentation and methane production. But, the increase of gas production rate by oak nut is due to higher soluble carbohydrate and lower NDF and ADF in diets containing oak nut, which increases the digestibility (Hadi et al. 2003). Phenols may disrupt protozoal membranes, inactivate protozoal enzymes, and deprive protozoa of substrates and metal ions, which are essential for protozoa cell metabolism (Calsamiglia et al. 2007).

Conclusion: Based on the results, using 63% oak nut caused a decrease in microbial population, a decrease in the disappearance of nutrients and fermentation parameters of bacteria and fungi and a decline in the rumen protozoa population of Arabi sheep and Najdi goat. Also, the results showed higher tolerance of goats to the diet's tannin.

Keywords: Culture, disappearance, microorganisms, oak nut