

اثر اسپرس به عنوان منبع تانن و نسبت علوفه به کنسانتره بر قابلیت هضم، تخمیر شکمبه، تولید و ترکیب شیرمیش های شیرده

بهروز یاراحمدی^{۱*}، مرتضی چاجی^۲، محمد بوجارپور^۳، خلیل میرزاده^۴ و مرتضی رضایی^۵

۱، ۲، ۳ و ۴. دانشجوی دکتری تغذیه دام، دانشیار و استادیاران، گروه علوم دامی و صنایع غذایی،

دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان، ملاتانی، اهواز، خوزستان

۵. استادیار، بخش تغذیه دام، مؤسسه علوم دامی کشور، کرج

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۴/۷ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۴/۸/۲۷)

چکیده

آزمایش با هدف بررسی اثر علوفه اسپرس به عنوان یک منبع تانن و نیز نسبت علوفه به کنسانتره بر مصرف و قابلیت هضم، خصوصیات تخمیر شکمبه ای، فراسنجه های خونی، مقدار تولید و ترکیبات شیر میش های شیرده انجام گرفت. بدین منظور از ۸ رأس میش شیرده نژاد لری بر اساس آزمایش فاکتوریل در قالب طرح مربع لاتین ۴×۴ تکرار شونده استفاده شد. تیمارها با دو سطح کنسانتره و دو سطح نوع علوفه مصرفی شامل چهار جیره به صورت کامل مخلوط با نسبت های علوفه به کنسانتره ۶۵:۳۵ (پرکنسانتره بدون اسپرس)، ۳۵:۶۵ (کم کنسانتره بدون اسپرس)، ۶۵:۳۵ (پرکنسانتره با اسپرس) و ۳۵:۶۵ (کم کنسانتره با اسپرس) فرموله و تهیه شد. مقدار کل ترکیبات فنولی، تانن کل و تانن متراکم تیمارهای آزمایشی معنادار بود ($P < 0/05$). نتایج نشان داد قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی در تیمار پرکنسانتره با اسپرس در مقایسه با بقیه تیمارها بیشتر بود ($P < 0/05$). مقادیر pH و نیتروژن آمونیاکی شکمبه در تیمارهای پرکنسانتره با اسپرس و بدون اسپرس در مقایسه با تیمار کم کنسانتره بدون اسپرس کمتر بود. اثر سطح کنسانتره بر مقدار کل اسیدهای چرب فرار شکمبه ای معنادار شد ($P < 0/05$). بر این اساس نسبت استات به پروپیونات در تیمارهای پرکنسانتره با اسپرس و بدون اسپرس کمترین مقدار را داشت. نتایج نشان داد تولید شیر در تیمارهای پرکنسانتره با و بدون اسپرس بیشتر از سایر تیمارها بود. اثر سطح کنسانتره بر چربی، لاکتوز، مواد جامد بدون چربی و پروتئین شیر معنادار بود ($P < 0/05$). در مجموع، اضافه کردن اسپرس به عنوان یک منبع تانن به جیره پرکنسانتره (۶۵ درصد) موجب افزایش قابلیت هضم ماده آلی و لیاف، افزایش پروپیونات جیره و در نتیجه افزایش تولید شیر و پروتئین آن می شود.

واژه های کلیدی: اسپرس، تانن، تخمیر شکمبه، تولید و ترکیب شیر، نسبت علوفه به کنسانتره.

مقدمه

هر ساله نیز تقاضا برای مواد پروتئینی افزایش می یابد. اسپرس^۱ از جمله بقولات علوفه ای است که به لحاظ تولید علوفه باکیفیت و قابل رقابت با یونجه در میان علوفه های مرتعی و زراعی مورد توجه است. این گیاه

ایران با وجود داشتن تنوع اقلیمی وسیع و وجود منابع محیطی و ذخایر گیاهی غنی هنوز در زمره کشورهای واردکننده علوفه دامی و نیز مواد پروتئینی قرار دارد و

خصوصیات اسپرس و تفاوت آن با یونجه است. گزارش‌های مختلفی در زمینه تانن متراکم اسپرس وجود دارد (Khalilvandi-Behroozyar *et al.*, 2009; Scharenberg *et al.*, 2007; Theodoridou *et al.*, 2011). مقدار تانن‌های متراکم علوفه اسپرس در منابع علمی منتشرشده متفاوت است و دامنه‌ای از ۲/۵۲ تا ۱۰ درصد ماده خشک گزارش شده است (Khalilvandi-Behroozyar *et al.*, 2009; Scharenberg *et al.*, 2007; Hervas *et al.*, 2003). در مطالعه‌ای کل ترکیبات فنولیک، تانن کل و تانن متراکم قابل استخراج علوفه اسپرس به ترتیب برابر با ۳/۹۴، ۳/۸۵ و ۲/۱۳ درصد در ماده خشک بود (Khalilvandi-Behroozyar *et al.*, 2009). ترکیبات فنلی موجود در اسپرس تأثیرات مفیدی روی مصرف اسیدهای آمینه در نشخوارکنندگان دارند (Scharenberg *et al.*, 2007; Mueller-Harvey, 2006). مطالعات بسیاری، اثر تانن‌ها بر خصوصیات تخمیر شکمبه‌ای را متفاوت و معنادار گزارش کرده‌اند (Patra & Saxena, 2011; Mueller-Harvey, 2006; Hervas *et al.*, 2003). همچنین مطالعات کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی شکمبه در اثر استفاده از علوفه اسپرس به علت تانن متراکم را گزارش کرده‌اند (Theodoridou *et al.*, 2011; Niderkorn *et al.*, 2012).

از طرفی نسبت علوفه به کنسانتره در جیره روی قابلیت هضم، خصوصیات تخمیر شکمبه‌ای، کیفیت و کمیت شیر تأثیرگذار است (Fuentes *et al.*, 2009; Carro *et al.*, 2000; Gudla *et al.*, 2012). پرکنسانتره در مقایسه با جیره‌های پرعلوفه، قدرت انتخاب بیشتری به حیوان می‌دهند و افزایش مصرف کربوهیدرات‌های آسان تخمیر، کاهش استفاده از فیبر در مقادیر کمتر از سطح پیش‌بینی‌شده و افت pH شکمبه را به دنبال دارد (De Vries *et al.*, 2007). مجموع مطالعات نشان می‌دهد که افزایش نسبت علوفه به کنسانتره، کاهش تولید شیر در دام‌های شیرده را در پی دارد؛ البته این افت تولید فقط به کاهش محتوای انرژی دریافتی نشخوارکنندگان مربوط نیست و دیگر عوامل از جمله کاهش ماده خشک دریافتی از جیره و نیز کاهش هضم ماده آلی در کل دستگاه گوارش نیز در این زمینه اثرگذار است.

سازگاری وسیعی به‌ویژه در مناطق سردسیری دارد و در این مناطق برای تولید علوفه استفاده می‌شود. ضمن اینکه در مناطق گرم نیز به‌خوبی استقرار یافته و در برخی از مناطق عملکرد آن حتی از یونجه بیشتر است (Yousefi & Jafari). اسپرس از گیاهان علوفه‌ای است که دارای ارزش تغذیه‌ای فراوان، خوش‌خوراکی و سازگاری فوق‌العاده با شرایط کشت دیم و آبی است (Scharenberg *et al.*, 2007). این گیاه به دلیل داشتن ریشه‌های عمیق که شامل ریشه اصلی و ریشه جانبی قوی است، به خشکی مقاوم است و در مناطقی با بارندگی سالانه ۳۰۰ میلی‌متر می‌توان آن را به‌صورت دیم کشت کرد. در چنین شرایطی عملکرد علوفه خشک تا ۳۵۰۰ کیلوگرم در هکتار گزارش شده است. خصوصیات منحصربه‌فرد این گیاه، به‌ویژه در مقایسه با یونجه از لحاظ مقاومت به سرخرطومی، مقاومت به خشکی، مقاومت به سرمای زمستانه، ایجاد نکردن نفخ در چرای مستقیم، درصد زیاد پروتئین و همچنین امکان سیلوی این محصول محققان را به مطالعه هرچه بیشتر درباره این محصول معطوف داشته است (Cash *et al.*, 2009). توسعه کشت گیاه علوفه‌ای اسپرس برای تأمین علوفه مورد نیاز دام‌های کشور، با توجه به مزایا و قابلیت‌های ویژه این علوفه در مقایسه با سایر گونه‌های علوفه‌ای، جزو برنامه‌های دفتر تولید محصولات علوفه‌ای معاونت تولیدات گیاهی وزارت جهاد کشاورزی است. سطح زیر کشت اسپرس در کشور حدود ۵۰ هزار هکتار است که در استان‌های مازندران، لرستان، اردبیل، کردستان، شهرکرد، آذربایجان شرقی و غربی، اصفهان، قزوین، زنجان کشت می‌شود. محصول علوفه خشک اسپرس در ایران به‌طور متوسط ۴-۸ تن در هکتار است و تولید این علوفه در سال ۱۳۹۰ بیش از ۳۰۰ هزار تن بود (Agricultural statistics, 2011). پژوهش‌ها نشان داده است مهم‌ترین خاصیت مصرف تازه علوفه اسپرس در جلوگیری از نفخ تانن‌هاست؛ در حالی که علوفه‌هایی همچون خانواده شیدر و یونجه به‌صورت تازه به‌سرعت در شکمبه تخمیر می‌شوند و نفخ ایجاد می‌کنند (McMahon *et al.*, 2000; Scharenberg *et al.*, 2007). غلظت بالای تانن‌های متراکم، از مهم‌ترین

اسیدهای چرب غیراشباع در شکمبه، برای تغییر ترکیب اسیدهای چرب شیر به سمت افزایش مقدار اسیدهای چرب مزدوج بسیار مورد توجه است (Dschaak *et al.*, 2009)؛ بنابراین می‌توان چنین فرضیه‌ای را آزمایش کرد که سطوح علوفه به کنسانتره و تانن موجود در اسپرس بر تولید، ترکیب شیر و فراسنجه‌های شکمبه‌ای میش‌های شیرده تأثیر معناداری دارد. هدف از این آزمایش بررسی استفاده از اسپرس به‌عنوان منبع تانن و نسبت علوفه به کنسانتره بر مقدار مصرف خوراک و قابلیت هضم، خصوصیات تخمیر شکمبه‌ای، فراسنجه‌های خونی، مقدار تولید و ترکیبات شیر میش‌های شیرده صورت گرفت.

مواد و روش‌ها

دام‌ها و جیره‌های آزمایشی

این آزمایش در ماه‌های فروردین تا اردیبهشت ۱۳۹۲ در دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان با استفاده از ۸ رأس میش شیرده از نژاد لری با میانگین وزن 47 ± 0.45 کیلوگرم در مرحله اول شیردهی و بر اساس یک طرح مربع لاتین 4×4 تکرارشونده با دو مربع طراحی شد. میش‌ها داخل قفس متابولیکی انفرادی بودند و بره‌ها جدا از مادر نگهداری شدند. تمام میش‌ها دو شکم‌زا با زایش معمولی بودند. جیره‌های آزمایشی عبارت بودند از: ۱. پرکنسانتره بدون اسپرس (نسبت علوفه به کنسانتره، ۳۵ به ۶۵)، ۲. کم‌کنسانتره بدون اسپرس (نسبت علوفه به کنسانتره، ۶۵ به ۳۵)، ۳. پرکنسانتره با اسپرس (نسبت علوفه به کنسانتره، ۳۵ به ۶۵)، ۴. کم‌کنسانتره با اسپرس (نسبت علوفه به کنسانتره، ۶۵ به ۳۵). اسپرس کشت‌شده در شرایط دیم از رقم محلی شهرکردی و برای کشت آبی از رقم زراعی (*Onobrychis viciifolia*) بود. اسپرس از مناطق الیگودرز، ازنا، سمیرم و فریدن جمع‌آوری شد. علوفه خردشده در ۷ روز تحت شرایط هوای روی زمین نگهداری و خشک شدند. علوفه در مرحله ۵۰ درصد گلدهی در چین دوم برداشت شد. علوفه‌ها با استفاده از علوفه‌خردکن برقی به قطعات ۳ تا ۵ سانتی‌متری خرد شد. اقلام جیره‌های آزمایشی در جدول ۱ آمده

برخلاف مقدار تولید شیر، محتوای چربی شیر در زمان افزایش نسبت علوفه به کنسانتره در جیره، تمایل به افزایش نشان می‌دهد (Beauchemin & Rode, 1996). Gudla *et al.* (2012) گزارش کردند جمعیت باکتری‌های سلولولایتیک فعال در بیوهیدروژناسیون شکمبه‌ای در جیره‌های با نسبت کنسانتره زیاد و علوفه کم کاهش می‌یابد. امروزه به دلیل رونق صنعت گاو شیری در کشور، کمتر به تولید شیر گوسفند پرداخته می‌شود، اما آمارها حاکی از آن است که گوسفندان ایران حدود ۱۰ درصد کل شیر گوسفندی جهان و نزدیک به ۲۲ درصد کل شیر تولیدی کشور را تولید می‌کنند. از این حیث بعد از کشورهای فرانسه و ترکیه در رده سوم جهانی هستند (Agricultural statistics, 2011). همچنین از لحاظ بهره‌وری تولید شیر گوسفند، بعد از کشورهای یونان و ایتالیا در رده سوم جهانی قرار دارند. این در حالی است که ۱۰ کشور حاشیه دریای مدیترانه که دارای بهترین نژادهای گوسفند دنیا و نیز صادرکنندگان اصلی محصولات شیری گوسفند هستند، حدود ۶۶ درصد کل شیر گوسفندی دنیا را تولید می‌کنند (Haenlein, 2001). بدین ترتیب پرداختن به تولید شیر گوسفند از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. شیر گوسفندی با توجه به کیفیت بالای آن، خاصیت آلرژی‌زایی کمتر و همچنین غلظت زیاد چربی و پروتئین، به‌شدت مورد توجه مصرف‌کنندگان به‌سبب جنبه‌های سلامتی و تغذیه‌ای است. این موضوع باعث شده توجه به ترکیب مناسب چربی شیر موردتوجه پرورش‌دهندگان و متخصصان تغذیه باشد (Molle *et al.*, 2009). بیشتر تحقیقات در رابطه با اثر تانن‌ها بر گاوهای شیرده بزهای شیرده بوده است، اما درباره میش‌های شیرده تحقیقات کمی صورت گرفته است (Toral *et al.*, 2011). استفاده از تانن‌ها به‌عنوان یکی از روش‌های کارآمد در جلوگیری از مرحله پایانی بیوهیدروژناسیون مورد توجه است. بر این اساس وقتی دام‌ها با جیره‌های پرکنسانتره تغذیه می‌شوند، بیوهیدروژناسیون اسیدهای چرب غیراشباع در شکمبه کاهش می‌یابد. بر این اساس، اثر متقابل علوفه‌های حاوی تانن و سطح علوفه به کنسانتره از طریق تأثیر بر بیوهیدروژناسیون

مقدار الیاف نامحلول در شوینده خنثی، امکان ژلاتینه شدن نمونه‌ها داده می‌شد و در نهایت ممکن بود عمل صاف کردن را با مشکل مواجه کند. در نتیجه برای آنالیز نمونه‌ها از آنزیم آلفا آمیلاز مقاوم به حرارت استفاده شد. علوفه اسپرس و نمونه‌های خوراک پس از آسیاب شدن با الک با قطر ۰/۵ میلی‌متر، در شرایط بدون نور و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند تا از غیرفعال شدن ترکیبات فنولی جلوگیری شود. در هر بار برای اندازه‌گیری هر کدام از بخش‌های ترکیبات فنولی از عصاره تازه استخراج شده استفاده شد. برای استخراج مواد فنولی از محلول استون ۷۰ درصد و متانول ۵۰ درجه استفاده شد که پس از پیش‌آزمایش، محلول استون ۷۰ درجه به لحاظ کارایی بهتر در استخراج ترکیبات فنولی برای ادامه مراحل اندازه‌گیری ترکیبات فنولی در علوفه اسپرس و نمونه‌های خوراک انتخاب شد.

اندازه‌گیری کل ترکیبات فنولی و کل تانن جیره‌های آزمایشی به روش رنگ‌سنجی انجام گرفت (معرف فولین سیکالتو). کل تانن به روش تفاوت محاسبه شد (Makkar *et al.*, 1955; Makkar, 2000). استاندارد استفاده شده در اندازه‌گیری تانن کل و متراکم، اسید تانیک بود. اندازه‌گیری تانن‌های متراکم با محلول ان- بوتانل اسید کلریدریک طبق روش توصیه شده Makkar (2000) انجام گرفت.

به منظور بررسی روند تغییرات pH شکمبه به دنبال مصرف جیره‌های آزمایشی، نمونه مایع شکمبه از طریق لوله مری برداشت و pH آن بلافاصله با استفاده از دستگاه pH متر (مدل WTM، آلمان) تعیین شد. برای تعیین اثر فراسنجه‌های شکمبه‌ای می‌ش‌ها شامل نیتروژن آمونیاکی و الگوی اسیدهای چرب فرار، مایع شکمبه در روز شانزدهم هر دوره، قبل از خوراک‌دهی صبح و در ساعات ۰، ۲، ۴ و ۶ پس از خوراک‌دهی، با استفاده از لوله معدی گرفته شد. سپس مایع شکمبه با استفاده از پارچه ۴ لایه کفنی صاف شده و ۲ نمونه ۵۰ میلی‌لیتری از آن با یک میلی‌لیتر اسید سولفوریک ۵۰ درصد با نسبت ۱ به ۵۰ اسید سولفوریک به مایع شکمبه، برای آنالیز مقدار نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه و الگوی اسیدهای

است. همچنین ترکیبات شیمیایی و فنولی گیاه اسپرس در جدول ۲ آمده است. جیره‌های آزمایشی براساس جدول احتیاج‌های غذایی نشخوارکنندگان کوچک تنظیم شد (NRC, 2007). جیره‌ها با استفاده از نرم‌افزار جیره‌نویسی CNCPS فرموله شد. همه جیره‌ها از نظر پروتئین و انرژی متابولیسمی دارای غلظت مشابه بودند. کل دوره آزمایش ۱۱۲ روز و شامل چهار دوره ۲۸ روزه بود. هر دوره شامل ۷ روز عادت‌پذیری دام‌ها به جیره‌ها، ۱۰ روز دوره بازیابی^۱ و ۱۱ روز آزمایش اصلی بود. دوره ۱۰ روزه بازیابی به منظور حذف تأثیرات تانن بر میکروارگانیسم‌های شکمبه قبل از چرخش تیمارهای آزمایشی بین دام‌ها در نظر گرفته شد (Vasta *et al.*, 2009). خوراک به صورت کامل مخلوط و جیره‌ها در حد اشتها روزانه دو بار در ساعت‌های ۸ و ۱۶ تغذیه شد. در دوره‌های نمونه‌گیری مقدار خوراک عرضه شده و باقیمانده آن روزانه وزن‌کشی شد و ۴ نمونه برای تجزیه شیمیایی برداشته شد. می‌ش‌ها در هر دوره آزمایش وزن‌کشی شدند. جمع‌آوری مدفوع در روزهای ۱۱ تا ۱۶ برای تعیین قابلیت هضم انجام گرفت. قابلیت هضم با استفاده از روش جمع‌آوری کل مدفوع تعیین شد. برای جمع‌آوری کل مدفوع دام‌ها در طول ۲۴ ساعت، از کیسه‌های نایلونی ضخیم استفاده شد. مدفوع تولیدی حیوانات در فواصل زمانی ۴ تا ۵ ساعته به‌دقت جمع‌آوری و در کیسه‌های نایلونی ریخته شد. با استفاده از توری روی محل جمع‌آوری مدفوع، از مخلوط شدن مدفوع با آب یا ادرار تا حد امکان جلوگیری شد و در صورت مخلوط شدن بخشی از نمونه با ادرار، وزن آن تعیین و از انتقال آن به کیسه جلوگیری شد تا در نمونه‌گیری‌ها اختلال ایجاد نکند. مقدار ماده خشک، ماده آلی، پروتئین خام و عصاره اتری نمونه‌های خوراک با استفاده از روش‌های استاندارد AOAC (1995) و مقدار الیاف نامحلول در شوینده خنثی و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی به روش Van Soest *et al.* (1991) اندازه‌گیری شد. به علت مقادیر زیاد نشاسته در تیمارها طی اندازه‌گیری

1. Break time

تولید شیر براساس شیر تصحیح‌شده ۶/۵ درصد چربی، طبق معادله $FCM_{6.5\%} = M (0.37 + 0.097F)$ شد. در این معادله M، تولید شیر به گرم و F، درصد چربی شیر می‌باشد (Mele et al., 2006).

آنالیز آماری

داده‌های خوراک مصرفی و قابلیت هضم با مدل آماری ۱ و داده‌های فراسنجه‌های خونی، pH، اسیدهای چرب فرار، نیتروژن آمونیاکی، تولید و ترکیب شیر با مدل آماری ۲، به‌صورت اندازه‌گیری‌های تکرارشونده در زمان بر اساس آزمایش فاکتوریل 2×2 در قالب طرح مربع لاتین تکرارشونده 4×4 با دو مربع توسط رویه مختلط (Mix Model) و نرم‌افزار SAS (2003) نسخه ۹/۱ آنالیز شد. تأثیرات ثابت مدل شامل اثر مربع، اثر سطح کنسانتره، اثر نوع علوفه مصرفی، اثر متقابل سطح کنسانتره در نوع علوفه مصرفی، زمان و دوره و اثر تصادفی شامل اثر حیوان در مربع بود. تفاوت بین تیمارها با استفاده از آزمون توکی بررسی شد و مقایسه معناداری تیمارها در سطح $P < 0.05$ انجام گرفت. اثر مربع در همه آنالیزها معنادار نبود ($P > 0.05$).

$$Y_{ijk(m)l} = \mu + S_l + P_m + A(S)_{k(l)} + C_i + F_j + (CF)_{ij} + e_{ijk(m)l} \quad (1)$$

مدل آماری ۱ شامل $Y_{ijk(m)l}$ متغیر وابسته؛ μ میانگین کل (مقدار ثابت)؛ S_l اثر ثابت مربع ($l=1, 2$)؛ P_m اثر ثابت دوره ($m=1, 2, 3, 4$)؛ $A(S)_{k(l)}$ اثر تصادفی حیوان در مربع؛ T_{ij} اثر ثابت تیمار (شامل C_i ، اثر سطح کنسانتره F_j ؛ $i=1, 2$)؛ $(CF)_{ij}$ اثر متقابل سطح کنسانتره در نوع علوفه مصرفی) و $e_{ijk(m)l}$ اثر تصادفی خطا است.

$$Y_{ijk(m)nl} = \mu + S_l + P_m + A(S)_{k(l)} + C_i + F_j + (CF)_{ij} + e_{ijk(m)l} + D_n + (TD)_{ijn} + \epsilon_{ijk(mn)l} \quad (2)$$

مدل آماری ۲ شامل $Y_{ijk(m)l}$ متغیر وابسته؛ μ میانگین کل (مقدار ثابت)؛ S_l اثر ثابت مربع ($l=1, 2$)؛ P_m اثر ثابت دوره ($m=1, 2, 3, 4$)؛ $A(S)_{k(l)}$ اثر تصادفی حیوان در مربع؛ T_{ij} اثر ثابت تیمار (شامل C_i ، اثر سطح کنسانتره F_j ؛ $i=1, 2$)؛ $(CF)_{ij}$ اثر متقابل سطح کنسانتره در نوع علوفه مصرفی

چرب فرار شکمبه مخلوط شد و بلافاصله در فریزر با دمای -20°C درجه سانتی‌گراد تا آزمایش‌های بعدی نگهداری شد. نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه با روش تیتراسیون Simpson & Crooke (1971) اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری اسیدهای چرب فرار مایع شکمبه از دستگاه کروماتوگرافی گازی (Agilent Technologies GC Model 7890 A CO USA) با ستون BPxV به طول ۳۰ متر، سطح مقطع ۰/۲ میکرومتر، قطر ۰/۱۴ میکرومتر استفاده شد و نمونه‌ها با نسبت اسپلیت ۱ به ۵۰ به دستگاه تزریق شد. از گاز هلیوم به‌عنوان حامل استفاده شد. برنامه دمایی دستگاه با 70°C درجه سانتی‌گراد شروع شد و ۲ دقیقه در این دما ثابت ماند. سپس هر دقیقه 15°C درجه سانتی‌گراد به آن اضافه شد تا به 125°C درجه سانتی‌گراد برسد. از این دما تا 165°C درجه سانتی‌گراد، هر دقیقه یک درجه سانتی‌گراد به دما اضافه شد و به مدت ۱۲ دقیقه در آن دما ثابت ماند. از 165°C درجه سانتی‌گراد تا 175°C درجه سانتی‌گراد، دما هر دقیقه ۲ درجه سانتی‌گراد بالا می‌رفت و به مدت ۵ دقیقه در آن دما ثابت نگه داشته شد.

در روز هجدهم هر دوره آزمایش، نمونه خون (۳ میلی‌لیتر) از سیاهرگ و داج گوسفندان بلافاصله قبل از خوراک‌دهی صبح در صفر، ۲، ۴ و ۶ ساعت پس از خوراک‌دهی گرفته شد. خون‌گیری به‌وسیله سرنگ‌های خلأ حاوی سدیم هپارین صورت گرفت. نمونه‌های خون ۱۵ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس سرم هر حیوان در دو میکروتیوپ ۰/۱ میلی‌لیتری قرار گرفت و در دمای -14°C درجه سانتی‌گراد تا زمان آنالیز نگهداری شد. فراسنجه‌های سرم خون شامل گلوکز، تری‌گلیسرید، کلسترول و نیتروژن اورهای خون با استفاده از کیت‌های پارس‌آزمون و به روش نورسنجی و به وسیله اسپکتوفتومتر اندازه‌گیری شد. شیر هر میش طی ۷ روز در هر دوره آزمایش و روزانه دو بار در ساعت‌های ۸ و ۱۸ به‌صورت دستی، جمع‌آوری و توسط استوانه مدرج اندازه‌گیری شد. پس از ثبت رکورد روزانه شیر، نمونه شیر مخلوط‌شده هر میش در هر روز برای تعیین فراسنجه‌های چربی، لاکتوز، ماده خشک بدون چربی و پروتئین شیر توسط دستگاه میکرواسکن مدل 255 A/S (N Electric, Hillerod, Denmark) اندازه‌گیری شد.

توسط برخی محققان گزارش شده است (Makkar et al., 1995; Theodoridou et al., 2010; Scharenberg et al., 2007).

احتمال ریزش برگ‌ها و توانایی حلال‌های آلی در استخراج تانن‌ها از جمله دلایل تغییرات مقدار ترکیبات فنولی، تانن کل و متراکم اسپرس بیان شده

جدول ۳. تغییرات وزن بدن میش‌ها (کیلوگرم) در کل دوره آزمایش

احتمال معناداری	جیره‌های آزمایشی				فراسنجه‌ها (کیلوگرم)
	بالسپرس		بدون اسپرس		
	کنسانتره پایین ^۴	کنسانتره بالا ^۲	کنسانتره پایین ^۲	کنسانتره بالا ^۱	
۰/۴۷	۴۰/۷۴	۴۰/۲۳	۴۰/۶۴	۴۰/۱۲	وزن میش در دوره اول
۰/۴۹	۴۱/۵۰	۴۱/۱۲	۴۱/۵۸	۴۰/۹۵	وزن میش در دوره دوم
۰/۴۷	۴۲/۲۷	۴۲/۰۰	۴۲/۵۲	۴۱/۷۷	وزن میش در دوره سوم
۰/۴۶	۴۳/۰۴	۴۲/۸۸	۴۳/۴۶	۴۲/۶۰	وزن میش در دوره چهارم

۱. نسبت علوفه به کنسانتره بدون علوفه اسپرس ۳۵:۶۵؛ ۲. نسبت علوفه به کنسانتره بدون علوفه اسپرس ۶۵:۳۵؛ ۳. نسبت علوفه به کنسانتره با علوفه اسپرس ۳۵:۶۵؛ ۴. نسبت علوفه به کنسانتره با علوفه اسپرس ۶۵:۳۵. a-d در هر ردیف، وجود حروف غیرمشابه به معنی اختلاف میانگین‌هاست ($P < 0.05$).

قابلیت هضم و مقدار مصرف خوراک

مطابق نتایج جدول ۴ قابلیت هضم ماده خشک تیمارهای پرکنسانتره با اسپرس و بدون اسپرس در مقایسه با تیمارهای کم‌کنسانتره با اسپرس و بدون اسپرس به ترتیب ۷/۱ و ۶/۵ درصد افزایش نشان داد ($P < 0.05$). بر طبق این نتایج درصد زیاد کنسانتره در تیمارهای پرکنسانتره با اسپرس و بدون اسپرس، موجب شده است قابلیت هضم ماده خشک افزایش یابد. نتایج مربوط به درصد قابلیت هضم مواد آلی نشان داد تیمار پرکنسانتره با اسپرس در مقایسه با تیمارهای کم‌کنسانتره با اسپرس و بدون اسپرس، به ترتیب ۹ و ۹/۵ درصد افزایش داشت. نتایج نشان داد تیمار پرکنسانتره با اسپرس بیشترین قابلیت هضم الیاف نامحلول در شوینده خنثی و اسیدی را داشت. افزایش سطح کنسانتره در جیره موجب افزایش قابلیت هضم ماده آلی و ماده خشک در کل دستگاه گوارش شد. محققان مختلفی در تطابق با نتایج فوق، نسبت زیاد کنسانتره را عامل بیشتر بودن قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی جیره‌ها بیان کرده‌اند (Theodoridou et al., 2010; Fuentes et al., 2009; Ramos et al., 2009; Aufrère et al., 2008). در رابطه با قابلیت هضم پروتئین خام، Aufrère et al. (2008) و Scharenberg et al. (2007) نتایج مشابه گزارش کرده‌اند. در بررسی نتایج مربوط به قابلیت

هضم سایر مواد مغذی با اندک اختلافاتی چنین روندی مشاهده می‌شود (جدول ۴). افزایش قابلیت هضم الیاف نامحلول در شوینده خنثی و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی در تیمار پرکنسانتره با اسپرس می‌تواند احتمالاً به علت نوسان کمتر pH شکمبه به دلیل استفاده از اسپرس به‌عنوان منبع تانن این تیمار در مقایسه با تیمار پرکنسانتره بدون اسپرس باشد که در کل دوره به کمتر از ۶ نرسید (جدول ۴). بر اساس جدول ۴ اثر جیره‌های آزمایشی بر مقدار مصرف ماده خشک معنادار نبود ($P = 0.605$) Ramos et al. (2009) نشان دادند ماده خشک مصرفی تحت تأثیر نسبت علوفه به کنسانتره قرار نگرفت. همسو با مشاهدات این پژوهش، نتایج در موارد بسیاری از جمله مطالعات Toral et al. (2011) در میش‌های شیرده، Benchaar et al. (2008) در گاوهای شیرده و Molle et al. (2009) در میش‌های شیرده، اثر معنادار تانن بر مقدار ماده خشک مصرفی را گزارش نکردند. تأثیر جیره‌های آزمایشی بر مقدار مصرف خوراک از دو جنبه، اثر علوفه اسپرس به‌عنوان منبع تانن و نسبت علوفه به کنسانتره درخور بررسی است. از سوی دیگر یکی از عوامل اصلی در کنترل مصرف خوراک در زمان استفاده از جیره‌های پرکنسانتره، مقدار تجمع اسیدهای چرب فرار حاصل از تخمیر شکمبه و به دنبال آن مدت زمان افت pH شکمبه به کمتر از حد آستانه است (Molle et al., 2009).

جدول ۴. اثر جیره‌های آزمایشی بر درصد گوارش‌پذیری ظاهری و خوراک مصرفی در میش‌های تغذیه‌شده با نسبت‌های علوفه به کنسانتره ۶۵:۳۵ (با اسپرس و بدون اسپرس) و ۳۵:۶۵ (با اسپرس و بدون اسپرس)

سطح احتمال معناداری	اثر نوع اثر متقابل	اثر سطح	اثر کنسانتره	مصرفی	نوع علوفه	هلالی استاندارد میانگین	جیره‌های آزمایشی				مواد مغذی
							با اسپرس		بدون اسپرس		
							ک	ک	ک	ک	
	۰/۵۴۷	۰/۰۳۸	۰/۰۰۱	۰/۳۸	۶۴/۱۷ ^b	۶۸/۳۶ ^a	۶۳/۸۳ ^b	۶۸/۱۹ ^a	ماده خشک (درصد)		
	۰/۰۴۱	۰/۰۲۶	۰/۰۲۲	۰/۹۱	۶۸/۵۹ ^{bc}	۷۳/۰۹ ^a	۶۶/۵۳ ^c	۷۰/۹۵ ^{ab}	پروتئین خام (درصد)		
	۰/۰۸۷	۰/۰۷۵	۰/۰۱۱	۰/۳۵	۶۶/۸۰ ^b	۷۳/۱۷ ^a	۶۷/۱۲ ^b	۷۲/۹۳ ^a	ماده آلی (درصد)		
	۰/۰۹۲	۰/۰۱۹	۰/۰۰۱	۰/۷۶	۴۶/۴۳ ^b	۵۴/۰۳ ^a	۴۶/۲۷ ^b	۵۲/۶۳ ^a	الیاف نامحلول در شوینده خنثی (درصد)		
	۰/۰۸۸	۰/۰۱۳	۰/۰۱۲	۱/۰۸	۳۸/۱۵ ^b	۴۷/۱۶ ^a	۳۶/۸۹ ^b	۴۴/۵۳ ^a	الیاف نامحلول در شوینده اسیدی (درصد)		
	۰/۵۲۶	۰/۲۴۱	۰/۰۸۴	۱/۶۵	۷۷۸/۳۴	۷۸۰/۰۱	۷۷۹/۱۳	۷۸۰/۳۴	مصرف ماده خشک (گرم/روز)		
	۰/۰۳۷	۰/۰۱۱	< ۰/۰۰۱	۱/۲۶	۲۶۴/۱۳ ^c	۲۱۵/۵۶ ^d	۲۷۲/۱۹ ^a	۲۳۵/۵۳ ^c	مصرف الیاف نامحلول در شوینده خنثی (گرم/روز)		
	۰/۰۴۱	۰/۰۰۳	< ۰/۰۰۱	۱/۱۹	۲۲۶/۳۴ ^a	۱۶۵/۹۷ ^c	۲۲۳/۵۹ ^a	۱۷۴/۵۶ ^b	مصرف الیاف نامحلول در شوینده اسیدی (گرم/روز)		

۱. نسبت علوفه به کنسانتره، بدون علوفه اسپرس ۳۵:۶۵؛ ۲. نسبت علوفه به کنسانتره، بدون علوفه اسپرس ۳۵:۶۵؛ ۳. نسبت علوفه به کنسانتره، با علوفه اسپرس ۳۵:۶۵؛ ۴. نسبت علوفه به کنسانتره، با علوفه اسپرس ۳۵:۶۵.
a-d: در هر ردیف، وجود حروف غیرمشابه به معنی اختلاف میانگین‌هاست ($P < 0.05$).

فراسنجه‌های تخمیر شکمبه‌ای

نتایج نشان داد اثر سطح کنسانتره، نوع علوفه مصرفی و اثر متقابل آن‌ها بر pH معنادار بود ($P < 0.05$)، جدول ۵). تیمارهای پرکنسانتره با اسپرس و بدون اسپرس در مقایسه با تیمارهای کم‌کنسانتره با اسپرس و بدون اسپرس به‌طور معنادار pH کمتری داشتند. با این حال pH در تیمار پرکنسانتره بدون اسپرس به مراتب کمتر بود (۶/۱۳ در مقابل ۶/۲۸). pH بیشتر شکمبه در تیمار پرکنسانتره با اسپرس ممکن است ناشی از کاهش غلظت اسیدهای چرب فرار در شکمبه باشد. همچنین میزان NDF و مدت زمان نشخوار مناسب در این جیره، موجب جلوگیری از افت شدید pH باوجود درصد بالای کنسانتره شده است. جیره‌های حاوی مقادیر زیاد کنسانتره به دلیل سرعت زیاد تخمیر کربوهیدرات‌های قابل تخمیر، موجب افزایش سرعت تولید اسیدهای چرب فرار در شکمبه می‌شود (Van Soest et al., 1994). بر این اساس سطوح کمتر pH در جیره‌های با نسبت زیاد کنسانتره روی باکتری‌های شکمبه تأثیر گذاشته و موجب کاهش فعالیت باکتری‌های سلولولایزیک می‌شود (Gudla et al., 2012; Hervas et al., 2003). در تیمارهای کم‌کنسانتره با اسپرس و بدون اسپرس

به‌دلیل کم‌بودن سرعت تخمیر الیاف، سرعت تولید اسیدهای چرب فرار کاهش یافت. همچنین به‌دلیل طولانی‌تر بودن زمان جویدن الیاف در هنگام نشخوار، ترشح بزاق در آن‌ها بیشتر بوده و از افت pH شکمبه جلوگیری می‌شود که با نتایج تحقیق حاضر هم‌خوانی دارد (Gudla et al., 2012; Toral et al., 2011; Hervas et al., 2003). علوفه اسپرس به‌علت خوش‌خوراکی بیشتر در مقایسه با یونجه تفاوت (Khalilvandi-Behroozyar et al., 2009) و تفاوت قابلیت هضم و ترکیب شیمیایی اسپرس و یونجه و تفاوت ساختاری تانن‌های متراکم اسپرس با سایر ترکیبات تانن‌دار (Scharenberg et al., 2007)، باعث تأثیر منفی نداشتن بر pH شکمبه شده است.

نتایج جدول ۵ نشان داد اثر علوفه مصرفی و سطح کنسانتره و اثر متقابل آن‌ها بر نیتروژن آمونیاکی معنادار بود ($P < 0.05$). بر اساس جدول فوق بین تیمارهای کم‌کنسانتره با اسپرس و بدون اسپرس و تیمار پرکنسانتره با اسپرس تفاوت معنادار نبود ($P > 0.05$). بر طبق گزارش McMahon et al. (2000) مشکل اصلی استفاده از علوفه یونجه، تجزیه پروتئین آن تا حدود ۷۰ درصد و تولید آمونیاک اضافی در شکمبه گزارش شده است؛ در حالی که استفاده از

می‌کند (Fuentes *et al.*, 2009; Rodriguez-Prado *et al.*, 2003; Gudla *et al.*, 2012). نتایج معناداری اثر سطح کنسانتره بر پروپیونات شکمبه‌ای را نشان داد ($P < 0.05$). بر اساس جدول ۵ مقدار پروپیونات در جیره‌های پرکنسانتره با اسپرس و بدون اسپرس بیشتر بود و با تیمارهای دیگر اختلاف معنادار داشتند ($P < 0.05$). بر این اساس به خاطر تولید پروپیونات بیشتر در شکمبه به‌دلیل کنسانتره زیاد جیره و حذف هیدروژن، تولید پروپیونات بیشتر در تیمار پرکنسانتره توجیه می‌شود (Gudla *et al.*, 2012; Fuentes *et al.*, 2011; Toral *et al.*, 2009; Makkar *et al.*, 1995). تانن را عامل افزایش پروپیونات شکمبه گزارش کردند. تشکیل پروپیونات در شکمبه، به دسترسی باکتری‌های شکمبه به سوبسترای کافی جیره بستگی دارد. تاننها به‌طور مستقیم فعالیت باکتری‌های تولیدکننده متان را مهار کرده و موجب کاهش یا حذف متان تولیدی می‌شوند. مکانیسم اثر تاننها بر باکتری‌های متانوژن، موجب تأثیر غیرمستقیم در کاهش هیدروژن تولیدی در شکمبه می‌شود (Tavendale *et al.*, 2005). این مکانیسم به همراه محتوی بالای کنسانتره جیره در تیمار پرکنسانتره حاوی اسپرس، در افزایش پروپیونات شکمبه‌ای توجیه‌پذیر است. اثر سطح کنسانتره بر نسبت استات به پروپیونات معنادار بود ($P < 0.05$), اما اثر منبع علوفه‌ای و اثر متقابل آنها معنادار نبود. جیره‌های با نسبت علوفه کم و کنسانتره زیاد، موجب تغییر در الگوی اسیدهای چرب فرار شکمبه و نسبت آنها می‌شود. این جیره‌ها موجب کاهش نسبت مولار استات و افزایش پروپیونات می‌شود. کاهش نسبت مولار استات به پروپیونات باعث بهبود راندمان خوراک در میش‌های شیرده به سمت تولید پروپیونات بیشتر برای فرایند گلوکونوژنز می‌شود (Gudla *et al.*, 2012; Fuentes *et al.*, 2009; Bauman & Griinari, 2001). هرچند بر طبق جدول ۶ گلوکز خون تحت تأثیر نسبت علوفه به کنسانتره قرار نگرفت، اما تمایل به معناداری در تیمارهای پرکنسانتره موجب افزایش پروپیونات شکمبه‌ای شد و بر فرایند گلوکونوژنز مؤثر بود. بر طبق جدول ۵ اثر جیره‌های آزمایشی بر مقدار بوتیرات، ایزووالرات و والرات شکمبه‌ای معنادار بود.

علوفه اسپرس موجب کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی شکمبه می‌شود که علت آن را وجود تانن متراکم می‌دانند. وجود تانن در اسپرس به‌عنوان فاکتوری مثبت در جیره‌های پرکنسانتره، موجب کاهش فعالیت آنزیم‌های پروتئولیتیک و کاهش تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای پروتئین می‌شود. نتایج Scharenberg *et al.* (2007) درباره افزایش غلظت نیتروژن آمونیاکی در شکمبه در اثر مصرف اسپرس فراوری شده با پلی‌اتیلن گلیکول، در راستای نتایج پژوهش حاضر است. غلظت بیشتر نیتروژن آمونیاکی در جیره پرکنسانتره بدون اسپرس با یافته‌های برخی محققان مطابقت داشت (Fuentes *et al.*, 2009; Ramos *et al.*, 2009). بیشتر نیتروژن آمونیاکی در جیره پرکنسانتره شاید به‌علت تجزیه‌پذیری کمتر پروتئین در pH کم یا قابلیت هضم کمتر پروتئین در علوفه‌ها در مقایسه با کنسانتره‌ها باشد (Ramos *et al.*, 2009). جدول ۵ نشان داد اثر سطح کنسانتره بر غلظت کل اسیدهای چرب فرار معنادار بود ($P < 0.05$), اما علوفه مصرفی و اثر متقابل علوفه مصرفی در سطح کنسانتره معنادار نبود ($P > 0.05$). غلظت کل اسیدهای چرب فرار شکمبه بسته به الگوی خوراک‌دادن و ترکیب شیمیایی جیره متفاوت است (Van Soest *et al.*, 1994). بر این اساس غلظت کل اسیدهای چرب فرار در جیره‌های کم‌کنسانتره در مقایسه با جیره‌های پرکنسانتره بیشتر بود. با توجه به معنادار نشدن اثر نوع علوفه در جیره‌های کم‌کنسانتره، نسبت زیاد علوفه در این جیره‌ها به‌علت تولید نسبت زیاد استات و درصد کمتر پروپیونات (۶۵/۹۰ و ۱۷/۰۲ در مقابل ۵۶/۳۰ و ۲۱/۴۶ میلی‌مول) موجب افزایش غلظت کل اسیدهای چرب فرار شد. Ramos *et al.* (2009) سطح بالای علوفه جیره را علت افزایش غلظت کل اسیدهای چرب فرار می‌دانند.

بر اساس جدول ۴ بین تیمارهای مختلف از نظر مقدار استات تولیدی در شکمبه تفاوت معنادار وجود داشت و غلظت استات در جیره‌های کم‌کنسانتره بیشتر بود ($P < 0.05$). مصرف کمتر الیاف نامحلول در شوینده خنثی در جیره‌های پرکنسانتره، غلظت کمتر استات را در جیره‌های پرکنسانتره با اسپرس را توجیه

اساس نتایج به دست آمده، غلظت بیشتر ایزووالرات و والرات در تیمارهای با نسبت زیاد علوفه به علت تولید اسیدهای چرب فرار زنجیر منشعب به وسیله تخمیر اسیدهای آمینه شاخه دار همچون لوسین و ایزولوسین است (Gudla et al., 2012; Ramos et al., 2009).

نتایج حاکی از افزایش بوتیرات در جیره‌های با نسبت زیاد کنسانتره بود. تفاوت در جمعیت باکتری‌های تجزیه کننده سلولز و نیز pH محیط تخمیر از جمله عوامل مؤثر بر غلظت بوتیرات است (Gudla et al., 2012; Fuentes et al., 2009; Carro et al., 2000).

جدول ۵. اثر جیره‌های آزمایشی بر فراسنجه‌های تخمیر شکمبه‌ای در میش‌های تغذیه شده با نسبت‌های علوفه به کنسانتره ۶۵:۳۵ (با اسپرس و بدون اسپرس) و ۳۵:۶۵ (با اسپرس و بدون اسپرس)

تیمار × زمان	سطح احتمال معناداری				ظرفی استاندارد میله‌بند	جیره‌های آزمایشی				فراسنجه‌های شکمبه‌ای
	اثر نوع	اثر متقابل	اثر سطح	اثر کنسانتره		بدون اسپرس		با اسپرس		
						ک	ط	ک	ط	
۰/۰۷۶	۰/۰۰۱	۰/۰۸۷	۰/۰۶۸	۰/۰۰۲	۱/۰۵	۹۹/۳۳ ^a	۹۵/۲۳ ^b	۹۹/۱۹ ^a	۹۵/۶۶ ^b	کل اسیدهای چرب فرار (میلی مولار)
۰/۰۱۵	۰/۰۰۱	۰/۲۴۵	۰/۰۹۷	۰/۰۱۶	۱/۷۸	۶۶/۰۱	۵۶/۶۰	۶۵/۸۰	۵۷/۰۹	استات (میلی مولار)
۰/۰۰۲	۰/۰۰۱	۰/۰۸۷	۰/۰۶۵	۰/۰۲۴	۱/۰۱	۱۷/۰۱ ^b	۲۱/۳۶	۱۷/۰۴ ^b	۲۱/۵۷ ^a	پروپیونات (میلی مولار)
۰/۰۱۹	۰/۰۱۱	۰/۰۹۲	۰/۰۵۷	۰/۰۲۲	۰/۱۴	۱۱/۹۷ ^b	۱۲/۹۷ ^a	۱۱/۹۸ ^b	۱۲/۷۰ ^a	بوتیرات (میلی مولار)
۰/۶۷۱	۰/۰۴۱	۰/۲۸۸	۰/۳۱۳	۰/۵۴۸	۱/۰۹	۱/۳۱	۱/۳۲	۱/۳۳	۱/۳۳	ایزوبوتیرات (میلی مولار)
۰/۰۱۴	۰/۰۳۹	۰/۴۲۱	۰/۰۷۷	۰/۰۲۳	۰/۰۰۸	۱/۸۲ ^a	۱/۷۸ ^b	۱/۸۳ ^a	۱/۷۸ ^b	والرات (میلی مولار)
۰/۰۲۴	۰/۰۱۳	۰/۰۳۷	۰/۰۹۳	۰/۰۲۸	۰/۰۰۵	۱/۲۲ ^a	۱/۲۰ ^b	۱/۲۲ ^a	۱/۱۹ ^b	ایزووالرات (میلی مولار)
۰/۰۳۹	۰/۰۴۳	۰/۰۹۱	۰/۰۸۳	۰/۰۱	۰/۰۲۸	۳/۸۴ ^a	۳/۶۲ ^b	۳/۸۸ ^a	۳/۶۵ ^b	نسبت استات: پروپیونات
۰/۰۰۱	۰/۰۱۶	۰/۰۴۷	۰/۰۳۱	۰/۰۰۱	۴/۳۱	۷۵/۶۵ ^{bc}	۸۶/۳۰ ^b	۸۹/۵۰ ^b	۱۰۶/۵۳ ^a	نیترژن آمونیاکی (میلی گرم بر لیتر)
۰/۰۱۷	۰/۰۱۸	۰/۰۴۱	۰/۰۲۳	۰/۰۰۱	۰/۰۴	۶/۴۷ ^a	۶/۲۸ ^b	۶/۵۲ ^a	۶/۱۳ ^c	pH

۱. نسبت علوفه به کنسانتره بدون علوفه اسپرس ۶۵:۳۵؛ ۲. نسبت علوفه به کنسانتره بدون علوفه اسپرس ۶۵:۳۵؛ ۳. نسبت علوفه به کنسانتره با علوفه اسپرس ۶۵:۳۵؛ ۴. نسبت علوفه به کنسانتره با علوفه اسپرس ۳۵:۶۵.
a-c در هر ردیف، وجود حروف غیرمشابه به معنی اختلاف میانگین‌هاست ($P < 0.05$).

(Beam et al., 1995). حفظ هموستاز گلوکز خون عمدتاً

به وسیله انسولین صورت می‌گیرد. در صورتی که تولید انسولین دچار اختلال گردد، هموستاز گلوکز خون دچار اشکال می‌شود. به علت کاهش انسولین در جیره‌های پرکنسانتره، کنترل هموستاز گلوکز دچار نقصان شده و اکسیداسیون استیل کوآ به وسیله سیکل اسید سیتریک کاهش می‌یابد و آمینواسیدهای گلوگونوژنیک طی عمل گلوگونوژنز به گلوکز تبدیل می‌شوند. Sano et al. (2000) مهم‌ترین عامل محدودکننده فراهمی پیش‌سازهای گلوکوژنیک را مصرف خوراک دانسته‌اند. به نظر می‌رسد سازوکار گفته شده در توافق با نتایج تحقیق حاضر باشد. زیرا مصرف خوراک تحت تأثیر تیمارها قرار نگرفت. احتمالاً به همین دلیل اثر تیمارها بر غلظت گلوکز معنادار نبود. بر اساس نتایج به دست آمده از جدول ۶ اختلاف بین تیمارهای مختلف از نظر سطح نیترژن

فراسنجه‌های خون

در جدول ۶ اثر جیره‌های آزمایشی بر متابولیت‌های خونی گوسفند آورده شده است. بر اساس جدول فوق اثر تیمارهای آزمایشی بر مقدار گلوکز معنادار نبود ($P > 0.05$). یافته‌های Ramos et al. (2009) نسبت علوفه به کنسانتره را بر مقدار گلوکز خون بدون تأثیر گزارش کردند که در راستای نتایج مطالعه حاضر است. آنچه مسلم است، این است که نسبت علوفه به کنسانتره باعث تغییر عددی در گلوکز خون تیمارهای پرکنسانتره می‌شود که با افزایش یا کاهش پروپیونات شکمبه‌ای نسبت مستقیم دارد. گلوکز، پیش‌نیاز بسیاری از فرایندهای متابولیسمی در بدن حیوانات است و غلظت آن به شدت در خون کنترل می‌شود؛ بنابراین اگر جیره‌ها پیش‌سازهای گلوکوژنیک کمتر یا بیشتری فراهم کنند، تغییر متابولیسم برای حفظ هموستاز گلوکز اتفاق می‌افتد

همه تیمارها مناسب بوده است. بر اساس جدول ۶ اثر جیره‌های آزمایشی بر غلظت تری‌گلیسرید، کلسترول، HDL، LDL و VLDL خون معنادار بود ($P < 0.05$). بر اساس نتایج، تیمارهای دارای اسپرس نسبت تری‌گلیسرید، کلسترول، HDL، LDL و VLDL بیشتری از تیمارهای بدون اسپرس داشتند. روند تغییرات تری‌گلیسرید به‌طور معناداری با مقدار کلسترول هم‌راستا بود. کاهش در سطح کلسترول تیمارهای بدون اسپرس ممکن است به دلیل کاهش فعالیت کبدی ۳- هیدروکسی- ۳- متیل گلوذیل کوآنزیم‌آ که آنزیم تنظیم‌کننده ساخت کلسترول است صورت گرفته باشد (Lee et al., 2009). لیپوپروتئین‌های با دانسیته زیاد و کم در نشخوارکنندگان جزء مهمی از کلسترول خون هستند و حضور آنها در خون همبستگی شدیدی با جیره مصرفی دارد (Drackley et al., 2005). گزارش‌های اندکی درباره لیپوپروتئین‌های LDL و HDL نشخوارکنندگان وجود دارد. این متابولیت در تک‌معدده‌ای‌ها در مقایسه با نشخوارکنندگان تا حدودی متفاوت عمل می‌کند. بسیاری از اعمالی که LDL در تک‌معدده‌ای‌ها برای انتقال کلسترول استرازاها صورت می‌دهد، در نشخوارکنندگان به وسیله HDL انجام می‌گیرد.

اوره‌ای خون معنادار بود ($P < 0.05$). نتایج نشان داد روند تغییر نسبت علوفه به کنسانتره باعث افزایش ۷/۵ درصدی نیتروژن اوره‌ای خون تیمارهای پرکنسانتره شد. در آزمایش حاضر اثر معنادار اضافه کردن اسپرس و نسبت علوفه به کنسانتره بر مقدار نیتروژن اوره‌ای خون مشاهده شد. افزایش غلظت نیتروژن اوره‌ای خون در تیمارهای پرکنسانتره در مقایسه با تیمارهای با علوفه زیاد، منعکس‌کننده تفاوت در مصرف ازت و غلظت نیتروژن آمونیاکی شکمبه بود (Ramos et al., 2009). سطح بالای نیتروژن اوره‌ای خون در تیمار پرکنسانتره بدون اسپرس احتمالاً به علت افزایش تجزیه پروتئین در شکمبه، تولید آمونیاک و به دنبال آن جذب بیشتر آمونیاک از دیواره شکمبه و ورود آن به خون است. آنچه مسلم است، این است که سطح نیتروژن اوره‌ای خون تحت تأثیر نسبت زیاد کنسانتره بوده و با افزایش نسبت علوفه جیره روند کاهشی داشته است. این نتایج با یافته‌های Ramos et al. (2009) در مطابقت بود؛ با توجه به این، در بررسی نتایج آزمایش به این نکته توجه شد که تفاوت در سرعت تجزیه کربوهیدرات‌های جیره‌های مختلف، تفاوت شایان توجهی با یکدیگر نداشتند. بنابراین انرژی تأمین‌شده از منابع کربوهیدرات آزمایش حاضر امکان استفاده از آمونیاک شکمبه را به خوبی فراهم کرده و به عبارت دیگر هماهنگی بین تأمین انرژی و نیتروژن در

جدول ۶. اثر جیره‌های آزمایشی بر فراسنجه‌های خونی (میلی گرم / دسی لیتر) در میش‌های تغذیه‌شده با نسبت‌های علوفه به کنسانتره ۶۵ به ۳۵ (با اسپرس و بدون اسپرس) و ۳۵ به ۶۵ (با اسپرس و بدون اسپرس)

تیمار × زمان	سطح احتمال معناداری				تاریخ و ساعت آستانه برد	جیره‌های آزمایشی				فراسنجه‌های خونی (میلی گرم / دسی لیتر)
	اثر متقابل زمان	اثر نوع کنسانتره × نوع علوفه	اثر نوع علوفه	اثر سطح کنسانتره		با اسپرس		بدون اسپرس		
						۳۵٪	۶۵٪	۳۵٪	۶۵٪	
۰/۰۰۲	۰/۰۱	۰/۲۸۱	۰/۰۷۸	۰/۰۵۳	۰/۲۵	۶۱/۳۳	۶۲/۱۰	۶۰/۴۰	۶۲/۶۰	گلوکز
۰/۰۳۱	۰/۰۰۱	۰/۰۴۱	۰/۰۴۳	۰/۰۲۳	۰/۱۵	۲۶/۲۸ ^b	۲۷/۷۶ ^{ab}	۲۶/۴۱ ^b	۲۸/۱۳ ^a	اوره
۰/۰۴۲	۰/۰۱	۰/۰۶۷	۰/۰۲۷	۰/۰۵۸	۰/۲۲	۳۷/۸۸ ^a	۳۷/۳۴ ^a	۳۵/۲۸ ^b	۳۵/۸۱ ^b	تری‌گلیسرید
۰/۰۰۱	۰/۰۱۱	۰/۰۹۱	۰/۰۱۳	۰/۰۵۱	۰/۱۶	۴۵/۲۵ ^a	۴۴/۱۰ ^a	۴۰/۲۷ ^b	۴۰/۳۵ ^b	کلسترول
۰/۰۴۲	۰/۰۳۸	۰/۰۶۷	۰/۰۳۶	۰/۰۷۵	۰/۰۳	۷/۵۸ ^a	۷/۴۷ ^a	۷/۰۵ ^b	۷/۱۶ ^b	VLDL
۰/۰۳۵	۰/۰۲۴	۰/۰۸۵	۰/۰۳۱	۰/۰۵۴	۰/۱۵	۲۰/۵۷ ^a	۱۹/۸۴ ^a	۱۸/۴۵ ^b	۱۷/۷۱ ^b	LDL
۰/۰۲۱	۰/۰۰۱	۰/۰۷۷	۰/۰۱۵	۰/۰۷۱	۰/۱۳	۲۳/۵۶ ^a	۲۳/۵۷ ^a	۲۲/۵۱ ^b	۲۲/۷۰ ^b	HDL

مقادیر میانگین خون‌گیری در زمان‌های نمونه‌گیری در ۰، ۲، ۴ و ۶ ساعت بعد از غذادهی صبحگاهی.

۱. نسبت علوفه به کنسانتره بدون علوفه اسپرس ۳۵:۶۵؛ ۲. نسبت علوفه به کنسانتره بدون علوفه اسپرس ۶۵:۳۵؛ ۳. نسبت علوفه به کنسانتره با علوفه اسپرس ۳۵:۶۵؛ ۴. نسبت علوفه به کنسانتره با علوفه اسپرس ۶۵:۳۵.

a-b در هر ردیف، وجود حروف غیرمشابه به معنی اختلاف میانگین‌هاست ($P < 0.05$).

تولید و ترکیب شیر

بر اساس جدول ۷ اثر سطح کنسانتره مصرفی جیره بر مقدار شیرتولیدی و شیر تصحیح شده ۶/۵ درصد چربی، معنادار بود ($P < 0.05$). در حالی که اثر نوع علوفه و اثر متقابل سطح کنسانتره در نوع علوفه مصرفی معنادار نبود ($P > 0.05$). بر این اساس تیمارهای پرکنسانتره با اسپرس و بدون اسپرس، تولید شیر بیشتری از تیمارهای کم کنسانتره با اسپرس و بدون اسپرس داشتند. علت تولید شیر بیشتر در تیمارهای پرکنسانتره می‌تواند با قابلیت هضم بالاتر جیره (جدول ۴) به دلیل اثر کنسانتره بیشتر جیره

باشد. کنسانتره بیشتر به افزایش تولید پروپيونات شکمبه‌ای (جدول ۵) می‌انجامد و متعاقب آن پروپيونات سبب آزادسازی پانکراسی انسولین و افزایش نرخ گلوکونئوزن می‌شود. همچنین افزایش اسیدهای چرب جیره‌ای موجب شده که در میش‌های تغذیه شده با جیره پرکنسانتره با اسپرس و بدون اسپرس، افزایش در زیست‌فراهمی گلوکز برای سنتز لاکتوز شیر بالا رود و نهایتاً بر تولید شیر اثر افزایشی داشته باشد (Onetti & Grummer, 2004). Wang et al. (1995) افزایش ۲۱ درصدی تولید شیر را در تغذیه با گیاه لوتوس به‌عنوان یک منبع تانن در میش‌های شیرده گزارش کردند.

جدول ۷. اثر جیره‌های آزمایشی بر تولید و ترکیب شیر در میش‌های تغذیه شده با نسبت‌های علوفه به کنسانتره ۶۵:۳۵ (با اسپرس و بدون اسپرس) و ۳۵:۶۵ (با اسپرس و بدون اسپرس)

تیمار × زمان	سطح احتمال معناداری		اثر نوع اثر متقابل	اثر سطح کنسانتره	اثر نوع علوفه	اثر سطح کنسانتره × نوع علوفه	خطای استاندارد میانگین	جیره‌های آزمایشی				فراسنجه‌های شیر
								بدون اسپرس		با اسپرس		
	۱	۲						۳	۴	۵	۶	
تولید شیر (گرم در روز)	۰/۰۳۷	۰/۰۱۲	۰/۰۴۸	۰/۰۶۱	۰/۰۰۱	۷/۷۳	۴۳۵/۸۹ ^b	۵۰۹/۷۱ ^a	۴۳۴/۹۲ ^b	۵۰۴/۸۸ ^a		
شیر تصحیح شده ۶/۵ درصد (گرم / روز)	۰/۰۳۱	۰/۰۲۶	۰/۰۲۶	۰/۰۲۲	۰/۰۰۱	۷/۱۶	۴۲۸/۹۲ ^b	۴۹۹/۰۸ ^a	۴۳۰/۷۱ ^b	۴۹۳/۸۷ ^a		
چربی (گرم / روز)	۰/۳۱۵	۰/۰۳۱	۰/۰۷۵	۰/۰۷۱	۰/۰۱۱	۱/۰۶	۲۷/۲۵ ^b	۳۱/۵۶ ^a	۲۷/۳۷ ^b	۳۱/۲۵ ^a		
پروتئین (گرم / روز)	۰/۴۲۷	۰/۰۱۱	۰/۰۵۹	۰/۰۴۱	۰/۰۳۵	۱/۲۹	۲۴/۶۶ ^b	۲۹/۲۸ ^a	۲۴/۶۴ ^b	۲۸/۸۷ ^a		
لاکتوز (گرم / روز)	۰/۰۸۱	۰/۰۱	۰/۰۶۳	۰/۰۵۲	۰/۰۳۱	۱/۰۲	۲۰/۸۷ ^b	۲۵/۰۳ ^a	۲۰/۶۶ ^b	۲۴/۶۱ ^a		
مواد جامد بدون چربی (گرم / روز)	۰/۰۳۰	۰/۰۱۴	۰/۰۹۱	۰/۰۷۴	۰/۰۱۱	۲/۱۷	۷۷/۶۱ ^b	۹۰/۹۶ ^a	۷۷/۲۵ ^b	۸۹/۹۴ ^a		
چربی (درصد)	۰/۰۳۲	۰/۰۲۷	۰/۰۴۱	۰/۰۲۱	۰/۰۳۲	۰/۰۲	۶/۳۳ ^{ab}	۶/۲۸ ^{bc}	۶/۳۸ ^a	۶/۲۷ ^c		
پروتئین (درصد)	۰/۳۱۱	۰/۰۱۵	۰/۰۶۳	۰/۰۵۱	۰/۰۲۱	۰/۰۱	۵/۶۸ ^b	۵/۷۷ ^a	۵/۶۹ ^b	۵/۷۴ ^a		
لاکتوز (درصد)	۰/۴۰۲	۰/۰۲۷	۰/۰۷۱	۰/۰۶۶	۰/۰۳۹	۰/۰۳	۴/۷۴ ^b	۴/۸۷ ^a	۴/۷۰ ^b	۴/۸۳ ^a		
مواد جامد بدون چربی (درصد)	۰/۳۲۴	۰/۰۷۸	۰/۰۵۹	۰/۰۴۵	۰/۰۴۱	۰/۰۳	۱۷/۸۸ ^b	۱۷/۹۲ ^a	۱۷/۸۳ ^b	۱۷/۸۸ ^b		

۱. نسبت علوفه به کنسانتره بدون علوفه اسپرس ۶۵:۳۵؛ ۲. نسبت علوفه به کنسانتره بدون علوفه اسپرس ۶۵:۳۵؛ ۳. نسبت علوفه به کنسانتره با علوفه اسپرس ۶۵:۳۵؛ ۴. نسبت علوفه به کنسانتره با علوفه اسپرس ۳۵:۶۵. a-c در هر ردیف، وجود حروف غیرمشابه به معنی اختلاف میانگین‌هاست ($P < 0.05$).

Molle et al. (2009)، Wang et al. (1995) میش شیرده و در مطالعه Benchaar et al. (2009) گاو شیرده، دام مورد آزمایش بوده است. همچنین مقدار مصرف عصاره تانن و روش مصرف (به‌صورت گیاه طبیعی یا عصاره) و نبود رویه یکسان در آنالیز ترکیبات فنولی موجب شده است که در آزمایش‌های مشابه، نتایج متفاوتی گزارش شود (Makkar et al., 2000). بر اساس جدول ۷ اثر جیره‌های آزمایشی بر

برخی گزارش‌ها نشان می‌دهد استفاده از تانن یا گیاهان حاوی تانن در جیره گاوها و میش‌های شیرده بر تولید شیر بدون تأثیر بوده یا موجب کاهش یا افزایش شیر تولیدی شده است (Toral et al., 2011; Molle et al., 2009; Benchaar et al., 2008). دلایل متفاوت بودن نتایج درباره مقدار تولید شیر در اثر مصرف تانن، می‌توان به نوع نشخوارکننده اشاره کرد؛ همچنان که در گزارش Toral et al. (2011)،

اسیدهای آمینه ضروری در روده بیان شده است. این مکانیسم می‌تواند به علت تشکیل ترکیب پروتئین-تانن و افزایش پروتئین عبوری به روده باریک باشد (Wang *et al.*, 1999). افزایش در زیست‌فراهمی گلوکز در جیره‌های پرکنسانتره، به افزایش تولید شکمبه‌ای پروبیونات انجامیده و متعاقب آن سبب آزادسازی پانکراسی انسولین و با افزایش نرخ گلوکونئوزن موجب افزایش سنتز لاکتوز شیر شده است (Onetti & Grummer, 2004).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج نشان داد علوفه اسپرس مصرف ماده خشک را تحت تأثیر قرار نداد. همچنین قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی، الیاف نامحلول در شوینده خنثی و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی را تحت تأثیر منفی قرار نداد. بر این اساس نیتروژن آمونیاکی شکمبه در حضور اسپرس کاهش می‌یابد و سبب افزایش بازدهی استفاده از نیتروژن در دام می‌شود. کاهش نسبت استات به پروبیونات در جیره‌های با نسبت زیاد کنسانتره سبب افزایش رشد و تکثیر جمعیت باکتری‌های شکمبه می‌شود که با مصرف آمونیاک مازاد در شکمبه ساخت بیشتر پروتئین میکروبی را فراهم می‌سازد. با تأمین بیشتر پروتئین میکروبی برای دام، افزایش تولید شیر و ترکیبات آن در تیمار پرکنسانتره با اسپرس توجیه می‌شود.

درصد چربی شیر، درصد پروتئین، درصد لاکتوز و درصد مواد جامد بدون چربی معنادار بود ($P < 0.05$). بر این اساس درصد چربی شیر تحت تأثیر نوع علوفه مصرفی و سطح کنسانتره جیره بود. به طوری که بیشترین درصد چربی شیر مربوط به جیره کم‌کنسانتره بدون اسپرس (۶/۳۸ درصد) و کمترین مقدار مربوط به تیمارهای پرکنسانتره با اسپرس و بدون اسپرس بود. یکی از دلایل کاهش چربی شیر تیمارهای پرکنسانتره، تغییر جمعیت میکروبی شکمبه به علت نسبت کم علوفه و سطح بالای کربوهیدرات‌های غیرالیافی در جیره بیان شده است (Bauman & Griinari, 2001). بیشترین درصد پروتئین شیر مربوط به تیمارهای پرکنسانتره با اسپرس و بدون اسپرس بود. مقدار بیشتر پروتئین شیر در جیره‌های پرکنسانتره می‌تواند به سبب ترکیبی از علت‌ها شامل افزایش سنتز پروتئین میکروبی و تغییر در متابولیسم کربوهیدرات‌ها به علت افزایش گلوکز مصرفی در غدد پستانی در پی افزایش نسبت کنسانتره جیره باشد (Mele *et al.*, 2006).

در مورد لاکتوز شیر و مواد جامد بدون چربی نیز تیمارهای پرکنسانتره با اسپرس و بدون اسپرس بیشترین مقدار را داشتند. افزایش پروتئین و لاکتوز شیر در اثر مصرف علوفه‌های حاوی تانن در برخی مطالعات به علت افزایش زیست‌فراهمی بیشتر

REFERENCES

1. Agricultural statistics of Ministry of Agriculture Jihad. (2011). Agricultural statistics of Ministry of Agriculture Jihad. Center for Information Technology and Communications Ministry of Agriculture Jihad. Volume 2.
2. AOAC. (1995). Official Methods of Analysis. (16th Edition). Arlington VA, USA: Association of Official Analytical Chemists.
3. Aufrère, J., Dudilieu, M. & Poncet, C. (2008). *In vivo* and *in situ* measurements of the digestive characteristics of sainfoin in comparison with lucerne fed to sheep as fresh forages at two growth stages and as hay. *Journal of Animal*, 2, 1331-1339.
4. Bauman D.E. & Griinari J.M. (2001). Regulation and nutritional manipulation of milk fat: low-fat milk syndrome. *Livestock Production Science*, 70, 15-30.
5. Beam, T.M., Jenkins, T.C., Moate, P.J., Kohn, R.A. & Palmquist, D.L. (2000). Effects of amount and source of fat on the rates of lipolysis and biohydrogenation of fatty acids in ruminal contents. *Journal of Dairy Science*, 83, 2564-2573.
6. Beauchemin, K. A. & Rode, L. M. (1996). Use of feed enzymes in ruminant nutrition. Pages 103-130 in L. M. Rode, ed. Animal science research and development, meeting future changes. Minister of Supply and Services Canada, Ottawa, ON.
7. Benchaar, C., McAllister, T.A. & Chouinard, P.Y. (2008). Digestion, ruminal fermentation, ciliate protozoal populations and milk production from dairy cows fed cinnamaldehyde, quebracho condensed tannin, or *Yucca schidigera* saponin extracts. *Journal of Dairy Science*, 91, 765-767.

8. Carro, M.D., Valdés, C., Ranilla, M.J. & González, J.S. (2000). *Effect of forage to concentrate ratio in the diet on ruminal fermentation and digesta flow kinetics in sheep. Journal of Animal Science*, 70, 127-134.
9. Cash, D., Ditterline, R. & Johnson, D. (2006). Sainfoin making a comeback. Montana State University, 4 p.
10. Cieslak, A., Zmora, P., Pers-Kamczyc, E. & Szumacher-Strabel, M. (2012). Effects of tannins source (*Vaccinium vitis idaea*) on rumen microbial fermentation *in vivo*. *Animal Feed Science and Technology*, 176, 102-106.
11. Crooke, W.M. & Simpson, W.E. (1971). Determination of ammonia in kjeldahl digest of crops by an automated procedure. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 22, 903-916.
12. DeVries, T. J., Beauchemin, K. A. & von Keyserlingk, M. A. G. (2007). Dietary forage concentration affects the feed sorting behavior of lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 90, 5572-5579.
13. Drackley, J. K., Dann, H. M., Douglas, G. N., Janovick Guretzky, N. A., Litherland, N. B., Underwood, J. P. & Looor, J. J. (2005). Physiological and pathological adaptations in dairy cows that may increase susceptibility to periparturient diseases and disorders. *Italian Journal of Animal Science*, 4, 323-344.
14. Dschaak, C.M., Williams, C.M., Holt, M.S., Eun, J.-S., Young, A.J. & Min, B.R. (2011). Effects of supplementing condensed tannin extract on intake, digestion, ruminal fermentation, and milk production of lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 94, 2508-2519.
15. Fuentes, M.C., Calsamiglia, S., Cardozo, P.W. & Vlaeminc, B. (2009). Effect of pH and level of concentrate in the diet on the production of biohydrogenation intermediates in a dual-flow continuous culture. *Journal of Dairy Science*, 92, 4456-4466.
16. Gudla, P., AbuGhazaleh, A.A., Ishlak, A. & Jones, K. (2012). The effect of level of forage and oil supplement on biohydrogenation intermediates and bacteria in continuous cultures. *Animal Feed Science and Technology*, 171, 108-116.
17. Haenlein, G.F.W. (2001). Past, present, and future perspectives of small ruminant dairy research. *Journal of Dairy Science*, 84, 2097-2115.
18. Hervas, G., Frutos, P., Girdlez, F.J., Mantecon, A.R., Alvarez. & del Pino, M.C. (2003). Effect of different doses of quebracho tannins extract on rumen fermentation in ewes. *Animal Feed Science and Technology*, 109, 65-78.
19. Khalilvandi-Behroozyar, H., Dehghan-Banadaky, M. & Rezayazdi, K. (2010). Palatability, *in situ* and *in vitro* nutritive value of dried sainfoin (*Onobrychis viciifolia*). *Journal of Agricultural Science*, 148(6), 723-733.
20. Khiaosa-Ard, R., Bryner, S.F., Scheeder, M.R.L., Wettstein, H.R., Leiber, F., Kreuzer, M. & Soliva, C.R. (2009). Evidence for the inhibition of the terminal step of ruminal α -linolenic biohydrogenation by condensed tannins. *Journal of Dairy Science*, 92, 177-188.
21. Lee, M.R.F., Evans, P.R., Nute, G.R., Richardson, R.I., Scollan, N.D. (2009). A comparison between red clover silage and grass silage feeding on fatty acid composition, meat stability and sensory quality of the M. longissimus muscle of dairy cull cows. *Journal of Meat Science*, 81, 738-744.
22. Makkar, H.P.S. (2000). Quantification of Tannins in Tree Foliage. A Laboratory Manual for the FAO/IAEA Coordinated Research Project on Use of Nuclear and Related Techniques to Develop Simple Tannin Assays for Predicting and Improving the Safety and Efficiency of Feeding Ruminants on Tanniniferous Tree Foliage. FAO/IAEA Working Document. IAEA, Vienna, Austria.
23. Makkar, H.P.S., Blümmel, M. & Becker, K. (1995). *In vitro* effects and interactions of tannins and saponins and fate of tannins in the rumen. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 69, 481-493.
24. McMahan, L.R., McAllister, T.A., Berg, B.P., Majak, W., Acharya, S.N., Popp, J.D., Coulman, B.E., Wang, Y. & Chen, K.J. (2000). A review of the effects of forage condensed tannins on ruminal fermentation and bloat in grazing cattle. *Canadian Journal of Animal Science*, 80, 469 - 485.
25. Mele, M., Buccioni, A., Petacchi, F., Serra, A., Banni, S., Antongiovanni, M. & Secchiari, P. (2006). Effect of forage/concentrate ratio and soy bean oil supplementation on milk yield and composition from Sarda ewes. *Animal Research*, 55, 273-285.
26. Molle, G., Decandia, M., Giovanetti, V., Cabiddu, A., Fois, N. & Sitzia, M. (2009). Responses to condensed tannins of flowering sulla (*Hedysarum coronarium* L.) grazed by dairy sheep: Part 1. Effects on feeding behaviour, intake, diet digestibility and performance. *Livestock Science*, 123, 138-146.
27. Mueller-Harvey, I. (2006). Review: Unravelling the conundrum of tannins in animal nutrition and health. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86, 2010-2037.
28. Niderkorn, V., Mueller-Harvey, I., LeMorvana, A. & Aufrère, J. (2012). Synergistic effects of mixing cocksfoot and sainfoin on *in vitro* rumen fermentation. Role of condensed tannins. *Animal Feed Science and Technology*, 178, 48-55.
29. NRC. (2007). *Nutrient Requirements of lamb*. 7th ed., National Academy Press. Washington, DC. U.S.A.
30. Onetti, S.G. & Grummer, R.R. (2004). Response of lactating cows to three supplemental fat sources as affected by forage in the diet and stage of lactation: a meta-analysis of literature. *Animal Feed Science and Technology*, 115, 65-82.

31. Patra, A.K. & Saxena, J. (2011). Exploitation of dietary tannins to improve rumen metabolism and ruminant nutrition. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91, 24-37.
32. Ramos, S., Tejido, M.L., Martinez, M.E., Ranilla, M.J. & Carro, M.D. (2009). Microbial protein synthesis, ruminal digestion, microbial populations and nitrogen balance in sheep fed diets varying in forage to concentrate ratio and type of forage. *Journal of Animal Science*, 87, 2924-2934.
33. Rodriguez-Prado, M., Calsamiglia, S. & Ferret, A. (2004). Effects of fiber content and particle size of forage on the flow of microbial amino acids from continuous culture fermenters. *Journal of Dairy Science*, 87, 1413-1424.
34. SAS Institute. (2003). SAS User's Guide. Version 9.1.
35. Sano, H., Konno, S. & Shiga, A. (2000). Effects of supplemental chromium and heat exposure on glucose metabolism and insulin action in sheep. *Journal of Agricultural Science*, 134, 319-325.
36. SAS Institute Inc., Cary, NC. Scharenberg, A., Arrigo, Y., Gutzwiller, A., Wyss, U., Hess, H., Kreuzer, M. & Dohme, F. (2007). Effect of feeding dehydrated and ensiled tanniniferous sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) on nitrogen and mineral digestion and metabolism of lambs. *Archives of Animal Nutrition*, 61, 390-405.
37. Tavendale, M.H., Meagher, L.P., Pacheco, D., Walker, N., Attwood, G.T. & 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.
38. Theodoridou, K., Aufrère, J., Niderkorn, V., Andueza, D., Le Morvan, A., Picard, F. & Baumont, R. (2011). *In vitro* study of the effects of condensed tannins in sainfoin on the digestive process in the rumen at two vegetation cycles. *Animal Feed Science and Technology*, 170, 147-159.
39. Theodoridou, K., Aufrère, J., Andueza, D., Pourrat, J., LeMorvan, A., Stringano, E., Mueller-Harvey, I. & Baumont, R. (2010). Effects of condensed tannins in fresh sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) on in vivo and in situ digestion in sheep. *Animal Feed Science and Technology*, 160, 23-38.
40. Toral, P.G., Hervas, G., Bichi, E., Belenguer, A. & Frutos, P. (2011). Tannins as feed additives to modulate ruminal biohydrogenation: Effects on animal performance, milk fatty acid composition and ruminal fermentation in dairy ewes fed a diet containing sunflower oil. *Animal Feed Science and Technology*, 164, 199-206.
41. Van Soest, P.J., Robertson, J.B. & Lewis, B.A. (1991). Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and non starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, 74, 3583-3597.
42. Vasta, V., Mele, M., Serra, A., Scerra, M., Luciano, G., Lanza, M. & Priolo, A. (2009). Metabolic fate of fatty acids involved in ruminal biohydrogenation in sheep fed concentrate or herbage with or without tannins. *Journal of Animal Science*, 87, 2674-2684.
43. Wang, Y., Waghorn, G.C., McNabb, W.C., Barry, T.N., Hedley, M.J. & Shelton, I.D. (1999). Effect of condensed tannins in *Lotus corniculatus* upon the digestion of methionine and cysteine in the small intestine of sheep. *Journal of Agriculture Science*, 127, 413-421.
44. Yousefi, B. & Jafari, A.A. (2014). Evaluation of quantitative and qualitative traits of Sainfoin (*Onobrychis viciifolia* Scop) ecotypes under irrigation and rainfed conditions in Kurdistan, Iran. *Iranian Journal of Range and Desert Reseach*, 21(3), 449-561.

Effect of sainfoin as tannin source and forage: concentrate ratio on Digestibility, ruminal fermentation and milk yield and composition in milking ewes

Behrouz Yarahmadi^{1*}, Morteza Chaji², Mohammad Boujarpour³, Khalil Mirzadeh⁴
and Morteza Rezaei⁵

1, 2, 3, 4. Ph.D. Student, Associate Professor and Assistant Professors, Department of Animal Science, Faculty of Animal and Food Science, Ramin (Khuzestan) Agricultural and Natural Resources University, Ahvaz, Iran

5. Assistant Professor, Department of Animal Nutrition, Animal Sciences Research Institute, Karaj, Iran

(Received: Jun. 28, 2015 - Accepted: Nov. 18, 2015)

ABSTRACT

This experiment was carried out to study the effects of sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) as tannin source and different level of forage: concentrate ratio on digestibility, blood parameters, ruminal fermentation, milk yield and milk composition in milking ewes. Therefore, eight Lori milking ewes were allocated to factorial experiment base on the 4×4 replicated Latin square design. Four total mixed ration diets were formulated with two level of concentrate and two level of intake forage which consisted of forage: concentrate ratios of 35:65 high concentrate without sainfoin (HC), 65:35 low concentrate without sainfoin (LC), 35:65 high concentrate with sainfoin (HCS) and 65:35 low concentrate with sainfoin (LCS). Total phenols, total and condensed tannin among treatments were significantly different ($P<0.05$). Digestibility of DM and OM in the HCS treatment were higher compared to the other treatments ($P<0.05$). The ruminal pH and NH₃-N values in HCS and HC diets were lower than those fed HC diet. The concentration of ruminal VFAs in ewes received low concentrate diet were higher ($P<0.05$). The acetate to propionate ratio was lower in HC and HCS treatments. The results showed milk yield in HC and HCS treatments was greater than other treatments ($P<0.05$). Level of concentrate effect were significant on milk fat, lactose, SNF and protein ($P<0.05$). In total, adding to sainfoin as a tannins source to diet with high concentrate ratio (65%) increased organic matter and fiber digestibility, and also increased ruminal propionate and finally, increased milk yield and protein.

Keywords: milk yield and composition, sainfoin (*Onobrychis viciifolia*), tannin, forage to concentrate ratio, ruminal fermentation.