

Research Paper

The Digestibility, Fermentation, and Nutritional Value of Sesbania Plant (*Sesbania* sp. L) for Ruminants

Morteza Chaji¹  and Somayh Hoseyni²

1- Professor, Department of Animal Science, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Molasani, Ahvaz, Iran, (Corresponding author: chaji@asnrukh.ac.ir)

2- Ph.D. Student, Department of Animal Science, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Molasani, Ahvaz, Iran

Received: 11 July, 2023

Accepted: 11 November, 2023

Extended Abstract

Background: Ruminants and their products play an important role in providing food for many people. They are able to convert plants that cannot be digested by humans into usable protein for humans. New animal feed has been commonly developed for long years. To improve food production from ruminants, it is important to explore new feed sources. New or less exploited types of feed can replace or supplement traditional feeds in ruminant diets. *Sesbania* is a multipurpose plant that is cultivated for consumption as fodder and green manure. As a fast-growing plant, *Sesbania* has been mentioned as a food source to reduce feed costs. The food value of some of its species is equal to alfalfa and several other valuable plants. Due to proper digestibility, low fiber, and relatively high protein, it is possible to replace it with hay for livestock, especially small ruminants. In addition, as a tropical legume, *Sesbania* can easily withstand temperatures above 35°C, which are limiting for most legume plants, and grow well under salinity stress conditions if there is sufficient moisture in the soil. Therefore, this research aimed to investigate the nutritional value of *Sesbania* sp. L. for ruminants.

Methods: The present research was carried out in the laboratories and teaching-research station of animal husbandry at the Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan. The experimental treatments included a control diet (without the *Sesbania* plant), 25, 50, 75, and 100% replacements of the *Sesbania* plant with alfalfa. The chemical compositions of the *Sesbania* plant, alfalfa hay, treatments, and other experimental samples, including crude protein, dry matter, ash, acid detergent fiber, and total tannin, were measured by standard methods. The neutral detergent fiber was quantified with the usual method without using the alpha-amylase enzyme and sodium sulfite by removing ash. The amount of gas produced by the samples was recorded at 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24, 48, 72, and 96 hours after incubation, and gas production parameters, digestibility of organic matter, their metabolizable energy, ammonia nitrogen concentration, pH, and protozoa population of culture medium were estimated in the treatments. In the gas production experiment, rumen fluid was taken from the rumen of three male sheep fed with a forage-based diet at the maintenance level and before morning feeding using a stomach tube. Ruminal fluid was filtered with a four-layer cheesecloth, mixed, and transferred to the laboratory in a flask containing hot water at 39 °C. To count protozoa at the end of 24 hours, a sample was prepared from the gas culture medium and mixed with 10 ml of 10% formaldehyde, and protozoa were counted using a hemocytometer slide. The resulting data were analyzed with a completely randomized design. In the present experiment, the chemical composition, digestion, and fermentation of the *Sesbania* plant were also compared with alfalfa hay.

Results: Compared to the control, *Sesbania*-containing diets replaced with alfalfa had significantly the lowest potential and gas production rate at all levels ($P < 0.05$). The comparison of the *Sesbania* plant and alfalfa hay showed that the potential and gas production rate of alfalfa were higher than that of the *Sesbania* plant. In the experimental diets, the partitioning factor, microbial biomass production, and microbial biomass production efficiency were higher at all levels of *Sesbania* replaced with alfalfa than the control diet, and the levels of 75% and 100% of *Sesbania* replaced with alfalfa had a significantly higher partitioning factor than the control and other treatments ($P < 0.05$). However, the truly degradable organic matter was not affected by the experimental treatments. The results of the comparison of the *Sesbania* plant and alfalfa hay showed that the partitioning factor, microbial biomass production, and microbial biomass production efficiency of the *Sesbania* plant were significantly higher than alfalfa ($P < 0.05$). The results of fermentation parameters after 24 hours of incubation showed that the pH of the rumen culture medium was not affected by the experimental treatments, but the ammonia nitrogen concentration was affected by the experimental treatments ($P < 0.05$), and the control treatment contained the highest ammonia nitrogen concentration. In the comparison of the *Sesbania* plant with alfalfa hay, the pH of the rumen culture medium was not affected by the experimental



treatments, and the ammonia nitrogen concentration of the Sesbania plant was significantly lower than that of alfalfa hay ($P < 0.05$). The helotrich, entodinomorph, and cellulolytic protozoa population, and the total rumen protozoa population were the highest in the control treatment (29.33) and the lowest in the 100% replacement of the Sesbania plant with alfalfa hay (9.66). The results of the comparison of the Sesbania plant with alfalfa hay showed an increase in the population of Helotrich, Entodinomorph, and Cellulolytic protozoa and the total population of rumen protozoa in alfalfa hay, with a decrease in the population of the Sesbania plant. The results of in vitro digestibility indicated the highest digestibility of dry matter, NDF, and, ADF in the control treatment. The comparison of the Sesbania plant with alfalfa hay revealed that the digestibility of dry matter, NDF, and ADF of alfalfa was higher than that of the Sesbania plant.

Conclusion: In general, the results of the present experiment demonstrate that the chemical composition and digestibility of the Sesbania plant are similar to alfalfa hay. Therefore, the Sesbania plant can be considered a suitable substitute for alfalfa hay.

Keywords: Alfalfa hay, Ammonia nitrogen, Digestibility, Gas production, Protozoa, Sesbania

How to Cite This Article: Chaji, M., & Hoseyni, S. (2024). The Digestibility, Fermentation, and Nutritional Value of Sesbania Plant (*Sesbania* sp. L) for Ruminants. *Res Anim Prod*, 15(2), 107-118. DOI: [10.61186/rap.15.2.107](https://doi.org/10.61186/rap.15.2.107)



مقاله پژوهشی

بررسی گوارش پذیری، تخمیر و ارزش تغذیه‌ای بقایای گیاه سزبانا (*Sesbania sp. L*) برای حیوان نشخوارکننده

مرتضی چاجی^۱ و سمیه حسینی^۲

۱- استاد، گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاتانی، اهواز، ایران
(نویسنده مسوول: chaji@asnrukh.ac.ir)

۲- دانشجوی دکتری گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاتانی، اهواز، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۸/۲۰

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۴/۲۰

صفحه: ۱۰۷ تا ۱۱۸

چکیده مبسوط

مقدمه و هدف: دام‌های نشخوارکننده و فرآورده‌های آن‌ها نقش مهمی در تأمین غذای بسیاری از مردم دارند. آن‌ها می‌توانند گیاهانی که توسط انسان گوارش پذیر نیستند را به پروتئین و سایر مواد مغذی قابل مصرف برای انسان تبدیل کنند. توسعه خوراک‌های جدید برای دام از گذشته رایج بوده است. برای بهبود تولید مواد غذایی از نشخوارکنندگان، تولید و بهره‌برداری از منابع جدید خوراکی ضروری است. انواع مختلفی از خوراک‌های جدید، یا کم‌تر بهره‌برداری شده، ظرفیت جایگزینی یا مکمل برای خوراک‌های سنتی در جیره‌های نشخوارکنندگان را دارند. سزبانا گیاهی چند منظوره است که با هدف مصرف به‌عنوان علوفه و همچنین کود سبز کشت می‌شود. این گیاه دارای رشد سریعی است. از سزبانا به‌عنوان منبع غذایی برای کاهش هزینه‌های خوراک، یاد شده است. ارزش خوراک‌های آن با یونجه و چندین گیاه با ارزش دیگر، برابر است. به‌دلیل گوارش‌پذیری مناسب، الیاف کم، پروتئین نسبتاً بالا، امکان جایگزینی آن با یونجه برای دام‌ها، به‌ویژه نشخوارکنندگان کوچک، وجود دارد. به‌علاوه، سزبانا می‌تواند به‌عنوان یک لگوم گرمسیری، دمای بالای ۳۵ درجه سلسیوس که برای بیشتر گیاهان لگومینه محدودکننده است را به‌راحتی تحمل کند، و در شرایط تنش شوری در صورت وجود رطوبت کافی در خاک به‌خوبی رشد کند. بنابراین هدف از انجام این پژوهش بررسی ارزش تغذیه‌ای گیاه سزبانا (*Sesbania sp. L*) برای نشخوارکنندگان بود.

مواد و روش‌ها: پژوهش حاضر در آزمایشگاه‌ها و ایستگاه آموزشی-پژوهشی دامپروری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل جیره شاهد (فاقد گیاه سزبانا)، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد جایگزینی گیاه سزبانا با یونجه بودند. ترکیبات شیمیایی گیاه سزبانا، علوفه یونجه، تیمارها و سایر نمونه‌های آزمایشی شامل پروتئین خام، ماده خشک، خاکستر، الیاف نامحلول در شوینده اسیدی و تانن کل با روش‌های استاندارد مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. سنجش الیاف نامحلول در شوینده خنثی با روش معمول بدون استفاده از آنزیم آلفا آمیلاز و سولفیت‌سدیم و با حذف خاکستر انجام شد. مقدار گاز تولیدی نمونه‌ها در زمان‌های صفر، ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۰، ۱۲، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت پس از انکوباسیون ثبت و فراسنجه‌های تولید گاز، گوارش‌پذیری ماده‌آلی، انرژی قابل متابولیسمی آن‌ها، غلظت نیتروژن آمونیاکی، pH و جمعیت پروتوزوای محیط کشت برآورد شدند. در آزمایش تولید گاز، مایع شکمبه با استفاده از لوله معدی از شکمبه سه رأس گوسفند نر تغذیه شده با جیره‌ی بر پایه علوفه در سطح نگهداری و قبل از خوراک‌دهی صبح گرفته شد. مایع شکمبه‌ها پس از صاف کردن با پارچه نخی متقال چهار لایه و اختلاط با یکدیگر، در فلاسک حاوی آب گرم با دمای ۳۹ درجه سلسیوس، به آزمایشگاه منتقل شدند. جهت شمارش پروتوزوا، در پایان ساعت ۲۴ از محیط کشت گاز، نمونه تهیه شد و با ۱۰ میلی‌لیتر فرم آلدهید ۱۰ درصد مخلوط و شمارش پروتوزواها با استفاده از لام هموسایتومتر انجام شد. داده‌های حاصل با طرح کاملاً تصادفی تجزیه و تحلیل شدند. در آزمایش حاضر ترکیب شیمیایی و هضم و تخمیر گیاه سزبانا با علوفه یونجه نیز مقایسه شد.

یافته‌ها: در مقایسه با شاهد جیره‌های حاوی سزبانای جایگزین شده با یونجه، در تمام سطوح به‌طور معنی‌داری کمترین میزان ظرفیت و نرخ تولید گاز را داشتند ($P < 0.05$). مقایسه گیاه سزبانا و علوفه‌ی یونجه نشان داد ظرفیت و نرخ تولید گاز یونجه نسبت به گیاه سزبانا بیشتر بود. عامل تفکیک، توده زنده میکروبی و بازده تولید توده زنده میکروبی در تمام سطوح سزبانا جایگزین شده با یونجه نسبت به جیره‌ی شاهد بالاتر بود و سطوح ۷۵ درصد و ۱۰۰ درصد سزبانا جایگزین شده با یونجه به‌طور معنی‌داری نسبت به شاهد و سایر تیمارها بالاترین عامل تفکیک را داشتند ($P < 0.05$). اما ماده آلی واقعاً تجزیه شده تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت. نتایج در رابطه با مقایسه گیاه سزبانا و یونجه نشان داد که عامل تفکیک، تولید توده زنده میکروبی و بازده تولید توده زنده میکروبی گیاه سزبانا به‌طور معنی‌داری نسبت به یونجه بالاتر بود ($P < 0.05$). نتایج فراسنجه‌های تخمیر پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون نشان داد که pH محیط کشت تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت، اما غلظت نیتروژن آمونیاکی تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت ($P < 0.05$) و تیمار شاهد بالاترین غلظت نیتروژن آمونیاکی را داشت. در مقایسه گیاه سزبانا با یونجه pH محیط کشت تحت تأثیر تیمار آزمایشی قرار نگرفت و غلظت نیتروژن آمونیاکی گیاه سزبانا به‌طور معنی‌داری پایین‌تر از علوفه یونجه بود ($P < 0.05$). جمعیت پروتوزوای هلوتریش، انتودینومورف و سلولولیتیک و کل جمعیت پروتوزوای شکمبه در تیمار شاهد بیشترین و در تیمار جایگزینی ۱۰۰ درصد گیاه سزبانا با علوفه یونجه، کمترین مقدار بود. نتایج در رابطه با مقایسه گیاه سزبانا با علوفه یونجه نیز نشان دهنده افزایش جمعیت پروتوزوای هلوتریش، انتودینومورف و سلولولیتیک و کل جمعیت پروتوزوای شکمبه در علوفه یونجه و کاهش جمعیت در گیاه سزبانا بود. نتایج گوارش‌پذیری در شرایط آزمایشگاهی نشان داد که گوارش‌پذیری ماده خشک، NDF و ADF در تیمار شاهد بیشترین مقدار بود. مقایسه گیاه سزبانا با علوفه یونجه نشان داد گوارش‌پذیری ماده خشک، NDF و ADF یونجه بیشتر از گیاه سزبانا بود.

نتیجه‌گیری کلی: در کل نتایج آزمایش حاضر نشان داد که ترکیب شیمیایی و هضم‌پذیری گیاه سزبانا به علوفه‌ی یونجه شباهت‌هایی دارد؛ لذا، گیاه سزبانا می‌تواند به‌عنوان جایگزین مناسبی برای علوفه‌ی یونجه مورد توجه قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: تولید گاز، پروتوزوا، سزبانا، گوارش‌پذیری، نیتروژن آمونیاکی، یونجه

مقدمه

نگرانی‌های عمومی قابل توجهی را ایجاد کرده است. دام‌های نشخوارکننده و فرآورده‌های آن‌ها نقش مهمی در تأمین غذای غنی از مواد مغذی برای بسیاری از مردم، به‌ویژه در کشورهای کمتر توسعه‌یافته، دارند. آن‌ها می‌توانند گیاهانی که مستقیم به مصرف انسان نمی‌رسند یا توسط انسان گوارش‌پذیر نیستند را

رشد جهانی جمعیت انسان، سبب افزایش تقاضا برای فرآورده‌های پروتئین حیوانی، به‌ویژه گوشت و شیر شده است که این در سیاست‌گذاری‌های کشورها تأثیر گذاشته و

رشد کرده و علوفه قابل‌توجهی (حدود ۹۸۰۰ کیلوگرم علوفه معادل ۱۶۰۰ کیلوگرم ماده خشک در هکتار) تولید می‌کند. به‌علاوه با شرایط نامساعد خاک مانند، بافت نامناسب، زهکشی ضعیف و فقر مواد مغذی خاک نیز سازگاری زیادی دارد (Dareini et al., 2018). بنابراین، در شرایط اقلیمی گرم مناطق دارای خاک‌های فقیر و به نسبت شور می‌تواند به‌عنوان یک گیاه علوفه‌ای جدید و سازگار با آن مناطق مورد توجه قرار گیرد (Dareini et al., 2018). با توجه به این‌که در مورد ارزش تغذیه‌ای سزبانیای موجود در کشور به‌ویژه در مناطق جنوبی، پژوهشی انجام نشده است، آزمایش حاضر با هدف انجام پژوهشی مقدماتی در مورد ارزش تغذیه‌ای این گیاه انجام شد.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر در آزمایشگاه‌ها و ایستگاه آموزشی-پژوهشی دامپروری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان انجام شد. سزبانیای مورد آزمایش از مرکز تحقیقات کشاورزی صفی‌آباد دزفول تهیه شد. در آزمایش حاضر از بقایای باقیمانده‌ی سزبانیای کشت شده برای تهیه بذر استفاده شد؛ به‌طوری‌که پس از جدا کردن بذر، ارزش تغذیه‌ای بقایای آن بررسی شد.

تیمارها و جیره‌های آزمایشی: تعداد پنج جیره به‌عنوان تیمار آزمایشی مورد استفاده قرار گرفتند که در آنها سزبانیا با مقادیر مختلف علوفه‌ی یونجه جایگزین شده بود. تیمارهای آزمایشی شامل: ۱- جیره شاهد (۵۰ درصد کنسانتره و ۵۰ درصد علوفه، فاقد سزبانیا)، ۲- جیره حاوی ۲۵ درصد گیاه سزبانیای جایگزین شده با یونجه (۷/۵ درصد کل جیره)، ۳- جیره حاوی ۵۰ درصد گیاه سزبانیای جایگزین شده با یونجه (۱۵ درصد کل جیره)، ۴- جیره حاوی ۷۵ درصد گیاه سزبانیای جایگزین شده با یونجه (۲۲/۵ درصد کل جیره)، ۵- جیره حاوی ۱۰۰ درصد گیاه سزبانیای جایگزین شده با یونجه (۳۰ درصد کل جیره) بودند (جدول ۱). در ضمن، گیاه سزبانیا و علوفه یونجه خالص نیز با یکدیگر مقایسه شدند.

اندازه‌گیری ترکیبات شیمیایی: ترکیبات شیمیایی گیاه سزبانیا، علوفه‌ی یونجه، تیمارها و سایر نمونه‌های آزمایشی شامل پروتئین خام (روش کج‌دلال، Foss 2033، سوند)، ماده خشک (۹۰ درجه سلسیوس، ۲۴ ساعت)، خاکستر (۵۵۰ درجه سلسیوس، ۳ ساعت)، الیاف نامحلول در شوینده اسیدی (ADF) و تانن کل با روش‌های استاندارد مورد اندازه‌گیری قرار گرفت (AOAC, 2012). سنجش الیاف نامحلول در شوینده خنثی (NDF) با روش معمول (Van Soest et al., 1991) بدون استفاده از آنزیم آلفا آمیلاز و سولفیت سدیم و با حذف خاکستر انجام شد.

آزمایش تولید گاز: نمونه‌های آزمایشی با آسیاب حاوی الک یک میلی‌لیتری آسیاب شدند. مقدار ۲۰۰ میلی‌گرم از ماده خشک نمونه موردنظر توزین و به داخل شیشه‌های ۱۰۰ میلی‌لیتری ریخته شد. برای هر تیمار، هشت تکرار در نظر گرفته شد. سپس ۳۰ میلی‌لیتر مخلوط ۱ به ۲ مایع شکمبه و بافر (۱۰ میلی‌لیتر مایع شکمبه و ۲۰ میلی‌لیتر بافر) به آن‌ها اضافه شد. با استفاده از دی‌اکسیدکربن، محیط درون شیشه‌ها

به پروتئین و سایر مواد مغذی قابل مصرف برای انسان تبدیل کنند. بنابراین وسیله‌ای برای تولید غذا از مواد غذایی غیرمعمول یا جدیدی هستند که مستقیم مورد استفاده انسان نیستند؛ توسعه خوراک‌های جدید و سیستم‌های تغذیه جدید دام برای قرن‌ها یک فرآیند مداوم بوده است (Moorby and Fraser, 2021). برای بهبود تولید مواد غذایی از نشخوارکنندگان، تولید خوراک پایدارتر با بهره‌برداری از منابع جدید خوراکی را ضروری می‌کند (Halmemies-Beauchet-Filleau et al., 2018). خوراک‌های مختلف جدید، یا کم‌تر بهره‌برداری شده ظرفیت جایگزینی یا مکمل برای خوراک‌های سنتی در جیره‌های نشخوارکنندگان را دارند. از جمله، حبوبات، دانه‌های روغنی و فرآورده‌های جانبی صنایع غذایی و یا سوختی، بیشترین ظرفیت را برای جایگزینی یا تکمیل خوراک‌های سنتی به‌ویژه در مناطق معتدل دارند. به‌علاوه، ریز جلبک‌ها و عدسک آبی و نظیر آن‌ها به‌واسطه‌ی بازده و کیفیت بالا و نیز فرآورده‌های جانبی صنعت چوب ممکن است از نظر اقتصادی به گزینه‌هایی قابل رقابت به‌عنوان خوراک دام در سراسر جهان تبدیل شوند (Halmemies-Beauchet-Filleau et al., 2018).

گیاه سزبانیا (*Sesbania sp. L.*) از (گونه‌های متعدد جنس سزبانیا) از خانواده‌ی بقولات یا لگومینوزه (*Fabaceae*) و زیر خانواده *Faboideae* و طایفه *Sesbanieae* است. گیاه سزبانیا گیاهی چند منظوره بومی مناطقی نظیر هندوستان و مالزی است که با هدف مصرف به‌عنوان علوفه و همچنین کود سبز در جنوب شرق آسیا و پیش از برنج کشت می‌شود. این گیاه دارای رشد سریعی است و گزارش شده است که کشت آن پیش از برنج به‌عنوان کود سبز سبب افزایش ۲۰ تا ۴۰ درصد محصول کشت بعدی شده است. یکی از فواید کشت گیاه سزبانیا به‌عنوان کود سبز، اضافه کردن مواد آلی به خاک‌های فقیر است (Mutisya et al., 2014) و توانایی تجزیه‌ی سریع را دارد (Patra et al., 2006). به‌علاوه، سزبانیا (*Sesbania*) یکی از درختچه‌های علوفه‌ای است که برای کاهش کمبودهای خوراک و حفظ حاصلخیزی خاک استفاده می‌شود (Mekoya., 2008). در پژوهش‌ها به ظرفیت بالقوه‌ی سزبانیا به‌عنوان جیره دام‌ها اشاره شده است و قابلیت آن برای کاهش هزینه‌های خوراک، بهبود گوارش‌پذیری و ضریب تبدیل خوراک بیان شده است (Goswami et al., 2016; Zaki et al., 2015). سزبانیا دارای ارزش خوراکی بالایی نسبت به سایر گیاهان است و ارزش خوراکی برخی از گونه‌های آن می‌تواند معادل یونجه، ماشک و چندین دانه روغنی دیگر نیز باشد (et al., 2022). به‌دلیل گوارش‌پذیری مناسب، الیاف کم، پروتئین به نسبت بالا در برخی از گونه‌های آن، امکان جایگزینی آن با یونجه برای دام‌ها، به‌ویژه نشخوارکنندگان کوچک، وجود دارد (Gebreyowhans and Zegeye., 2019). سزبانیا افزون بر برتری‌های مربوط به ارزش غذایی، دارای ویژگی‌های بوم‌شناختی خاص است که می‌تواند به‌عنوان یک لگوم گرمسیری مورد توجه قرار گیرد. این گیاه دمای بالای ۳۵ درجه سلسیوس که برای بیشتر گیاهان لگومینه محدود کننده است را به‌راحتی تحمل می‌کند (Dareini et al., 2018)، در شرایط تنش شوری در صورت وجود رطوبت کافی در خاک به‌خوبی

حمام آب گرم و $e =$ عدد نپری است. از داده‌های تولید تجمعی گاز بعد از ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری برای تعیین عامل تفکیک، تولید توده زنده میکروبی و بازده تولید توده زنده میکروبی استفاده شد (Blümmel *et al.*, 1997). ماده‌ی آلی واقعا تجزیه شده از تفریق مقدار ماده خشک باقیمانده بعد از پایان انکوباسیون از خاکستر آن محاسبه شد.

عامل تفکیک (میلی گرم در میلی لیتر) = ماده آلی واقعا تجزیه شده (میلی گرم) ÷ گاز تولیدی (میلی لیتر) تولید توده زنده میکروبی (میلی گرم) = گاز تولیدی (میلی لیتر) × (عامل تفکیک - ۲/۲)

بازده تولید توده زنده میکروبی = تولید توده زنده میکروبی (میلی گرم) ÷ ماده آلی واقعا تجزیه شده (میلی گرم)

بی‌هوازی شد و بلافاصله درب آن‌ها کاملاً بسته شد و در حمام آب با دمای ۳۹ درجه سلسیوس نگهداری شدند. دو شیشه فاقد نمونه خوراکی که تنها حاوی ۳۰ میلی لیتر مخلوط مایع شکمبه و بافر بود به منظور تصحیح گاز تولیدی ناشی از فعالیت میکروبی مایع شکمبه در نظر گرفته شد. فشار گاز تولیدی نمونه‌ها در زمان‌های صفر، ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۲، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت انکوباسیون به کمک فشارسنج دیجیتالی ثبت شد. فراسنجه‌های تولید گاز با استفاده از مدل نمایی (Ørskov and McDonald, 1979) به دست آمدند (Menke and Steingass, 1988).

$$P = b(1 - e^{-ct})$$

در این مدل، P = حجم گاز تولیدی در زمان t ، b = ظرفیت تولید گاز (میلی لیتر در ۲۰۰ میلی گرم ماده خشک)، c = نرخ تولید گاز (درصد در ساعت)، t = مدت زمان قرار دادن نمونه در

جدول ۱- اجزاء مواد خوراکی و ترکیب شیمیایی جیره‌های آزمایشی مورد استفاده (درصد ماده خشک)

Table 1. Food Ingredients and chemical composition of experimental diets used (% of DM)

مقدار سزبانی جایگزین شده با یونجه در جیره (درصد) The amount of Sesbania replaced with alfalfa hay in the diet (%)					ماده خوراکی Feed ingredient
100	75	50	25	صفر (شاهد) 0.0 (Control)	
0.0	7.5	15.0	22.5	30.0	علوفه یونجه Alfalfa hay
30.0	22.5	15.0	7.5	0.0	گیاه سزبانی Sesbania plant
20.0	20.0	20.0	20.0	20.0	کاه گندم weath staw
3.5	3.5	3.5	3.5	3.5	دانه ذرت Corn grain
20.0	20.0	20.0	20.0	20.0	دانه جو Barley garain
5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	کنجاله سویا Soybeans meal
20.0	20.0	20.0	20.0	20.0	سوس گندم Wheat bran
1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	مکمل معدنی ویتامینی*
0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	Vitamin and mineral supplement
					نمک طعام Salt
					ترکیب شیمیایی جیره (درصد) Chemical composition of diet (%)
87.83	86.53	86.87	86.34	86.04	ماده خشک Dry matter
15.28	15.13	14.98	14.83	14.68	پروتئین خام Crude protein
37.84	38.64	39.44	40.24	41.04	الیاف نامحلول در شوینده خنثی Neutral detergent fiber
21.74	22.82	23.82	24.86	25.9	الیاف نامحلول در شوینده اسیدی Acid detergent fiber
6.92	7.01	7.11	7.20	7.30	خاکستر Ash
35.96	35.22	34.47	33.73	32.98	کربوهیدرات غیر الیافی** NFC (Non-Fibre Carbohydrates)
5.29	5.35	5.62	5.92	5.94	انرژی قابل متابولیسم (مگا کالری بر کیلوگرم)*** Metabolizable energy (ME, Mcal/kg)

* هر کیلوگرم مکمل ویتامین - مواد معدنی حاوی ۵۰۰ هزار واحد بین‌المللی ویتامین A، ۱۰۰ هزار واحد بین‌المللی ویتامین D₃، ۱۰۰ میلی گرم ویتامین E، ۱۸۰ گرم کلسیم، ۶۰ هزار میلی گرم فسفر، ۶۰ هزار میلی گرم سدیم، ۱۹ هزار میلی گرم منیزیم، ۳ هزار میلی گرم روی، ۳ هزار میلی گرم آهن، ۱۹ هزار میلی گرم منگنز، ۳۰۰ میلی گرم مس، ۱۰۰ میلی گرم کروم، ۱ میلی گرم سلنیوم، ۱۰۰ میلی گرم ید، ۴۰۰ میلی گرم آنتی اکسیدان.

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

** NFC = 100% - (CP% + NDF% + EE% + Ash%)

*** ME = 0.04 + 0.1639GP + 0.0079CP + 0.0239EE

خوراک‌دهی صبح گرفته شد. مایع شکمبه‌ها پس از صاف کردن با پارچه نخی متقال چهار لایه و اختلاط با یکدیگر، در فلاسک حاوی آب گرم با دمای ۳۹ درجه سلسیوس، به آزمایشگاه منتقل شدند.

تهیه مایع شکمبه: مایع شکمبه مورد استفاده در آزمایش تولید گاز با استفاده از لوله معدی از شکمبه سه رأس گوسفند نر تغذیه شده با جیره‌ی بر پایه علوفه (حاوی کاه گندم، علوفه‌ی یونجه و مخلوط کنسانتره) در سطح نگهداری قبل از

در این مدل Y_{ij} مقدار اندازه‌گیری شده هر مشاهده، μ میانگین جامعه، T_i اثر تیمار و ϵ_{ij} خطای اندازه‌گیری بود.

نتایج و بحث

غلظت خاکستر گیاه سزبانی ۱/۲۸ درصد، الیاف نامحلول در شوینده خنثی ۱۰/۶۷ درصد، الیاف نامحلول در شوینده اسیدی ۱۰/۸۸ درصد، لیگنین ۲/۵۷ درصد کمتر از علوفه‌ی یونجه بود. در مقابل غلظت پروتئین خام گیاه سزبانی ۲/۰۰ درصد، ماده آلی ۱/۲۸ درصد، انرژی قابل متابولیسم ۰/۱۲ مگا کالری بیشتر از علوفه‌ی یونجه بود. پژوهشگران گزارش کردند که مقدار پروتئین خام گونه‌هایی از سزبانی شامل *Sesbania aculeata* و *Sesbania rostrata* به ترتیب ۲۵/۴۰ و ۳۲/۷۰ درصد و درصد الیاف آن ۱۶/۰۰ و ۱۵/۵۰ درصد است (Shahjalal and Topps., 2000). مقدار پروتئین و الیاف گونه‌ای دیگر از آن به نام آگاستی (*Sesbania grandiflora*) به ترتیب ۳۵/۰۰ و ۱۱/۹۳ درصد گزارش شده است. دیگران نیز مقدار پروتئین، NDF و خاکستر گیاه سزبانی را به ترتیب، ۱۱/۲۲، ۱۳/۸۳ و ۸/۵۹ گزارش کردند (Dareini et al., 2018). ترکیبات شیمیایی گیاه سزبانی در بررسی حاضر تا حد قابل قبولی با پژوهش‌های قبلی منطبق بود. علت تفاوت در ترکیب شیمیایی این گیاه در آزمایش‌های مختلف به عوامل متعددی نظیر نوع گونه‌ی گیاه، موقعیت جغرافیایی، عوامل محیطی و اکولوژیکی مرتبط، مانند دما، بارندگی، نوع خاک و نظیر آن مرتبط است (Karimi et al., 2020).

شمارش پروتوزوا: جهت شمارش پروتوزوا، در پایان ساعت ۲۴ از محیط کشت گاز، نمونه تهیه شد. برای ثابت کردن پروتوزوا، ۱۰ میلی‌لیتر مایع محیط کشت میکروارگانیسم‌های شکمبه با ۱۰ میلی‌لیتر فرم آلدید ۱۰ درصد مخلوط و شمارش پروتوزواها با استفاده از لام هموسایتومتر انجام شد (Dehority., 2003).

تعیین غلظت نیتروژن آمونیاکی و pH محیط کشت گاز: به منظور تعیین غلظت نیتروژن آمونیاکی در پایان ساعت ۲۴ از محیط کشت میکروارگانیسم‌های شکمبه در آزمایش تولید گاز، نمونه برداری انجام شد و pH آن‌ها با دستگاه pH (مدل WTW 3110، ساخت آلمان) اندازه‌گیری شد. پس از صاف کردن با پارچه نخی چهارلایه به مقدار مساوی با اسید کلریدریک ۰/۲ نرمال (۱۶/۷ میلی لیتر اسید کلریدریک مرک ۳۷ درصد در یک لیتر آب مقطر) مخلوط شد و غلظت نیتروژن آمونیاکی با دستگاه اسپکتوفتومتر (Bio-Rad, Libra S22, England) اندازه‌گیری شد (Broderick and Kang., 1980).

تجزیه آماری: تجزیه و تحلیل نتایج با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS نسخه ۹/۴ در قالب طرح کاملاً تصادفی و با استفاده از رویه‌ی GLM انجام شد و مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون چند دامنه‌ی دانکن در سطح ۵ درصد انجام گرفت. مدل آماری طرح به صورت زیر بود.

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

جدول ۲- ترکیب شیمیایی گیاه سزبانی و علوفه یونجه (میانگین سه تکرار $\pm$ انحراف معیار) مورد استفاده در آزمایش حاضر

Table 2. Chemical composition of the of *Sesbania* plant and alfalfa hay used in the present experiment

علوفه یونجه Alfalfa hay	گیاه کامل سزبانی Complete <i>Sesbania</i> plant	ترکیب شیمیایی (درصد) Chemical composition (%)
94.36 $\pm$ 0.51	84.32 $\pm$ 0.51	ماده خشک Dry matter
16.00 $\pm$ 1.18	18.00 $\pm$ 1.20	پروتئین خام Crude protein
90.03 $\pm$ 0.51	91.31 $\pm$ 0.52	ماده آلی Organic matter
45.87 $\pm$ 1.41	35.20 $\pm$ 1.50	الیاف نامحلول در شوینده خنثی (درصد) Neutral detergent fiber (%)
35.88 $\pm$ 1.21	25.00 $\pm$ 1.33	الیاف نامحلول در شوینده اسیدی (درصد) Acid detergent fiber (%)
-	3.00 $\pm$ 0.11	تانن کل Total tannin
9.50 $\pm$ 1.14	6.39 $\pm$ 1.10	لیگنین خام Lignin
9.97 $\pm$ 0.10	8.69 $\pm$ 0.11	خاکستر خام Ash
26.16 $\pm$ 0.94	37.11 $\pm$ 0.94	کربوهیدرات غیر الیافی** NFC (Non-Fibre Carbohydrates)
3.16 $\pm$ 0.37	3.28 $\pm$ 0.40	انرژی قابل متابولیسم (مگا کالری بر کیلوگرم) ME (Mcal/Kg)

$$ME = 0.04 + 0.1639GP + 0.0079CP + 0.0239EE$$

$$NFC = 100\% - (CP\% + NDF\% + EE\% + Ash\%)$$

(۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد) نرخ تولید گاز به طور معنی‌داری کاهش داشت (جدول ۳).

در این پژوهش کاهش ظرفیت تولید گاز جیره‌های حاوی سزبانی شاید به دلیل وجود تانن در این گیاه باشد (جدول ۲). زیرا تمایل تانن‌ها به ایجاد واکنش با مواد مغذی، آن‌ها را از دسترس میکروارگانیسم‌ها دور نگه می‌دارد و از تخمیر این مواد مغذی جلوگیری می‌کند (McSweeney et al., 2001)، همچنین تانن‌ها با کربوهیدرات‌ها و پروتئین‌ها و لیگنوسلولز متصل شده و مانع عمل میکروارگانیسم‌ها و آنزیم‌ها می‌شوند

به علاوه، در آزمایش حاضر از بقایای سزبانی بعد از بذركشی استفاده شده است؛ اما در آزمایش‌های دیگر بیشتر از سزبانای علوفه‌ای استفاده شده است؛ از این رو، کم‌تر بودن مقدار پروتئین خام یا الیاف بیشتر در آزمایش حاضر می‌تواند به این دلیل باشد. **فراسنجه‌های تولید گاز (ضرایب):** جایگزینی سزبانی با یونجه در تمام سطوح، سبب کاهش معنی‌دار ظرفیت تولید گاز شد ($P < 0.05$)؛ اما تفاوت بین جیره‌های حاوی سزبانی با یکدیگر معنی‌دار نبود. نرخ تولید گاز تیمار ۲۵ درصد جایگزینی، با شاهد تفاوتی نداشت؛ اما با جایگزینی بیشتر سزبانی با یونجه

انکوباسیون افزایش می‌یابد، افزایش حجم گاز تولید شده، در اثر تخمیر کربوهیدرات‌های ساختمانی است (et al., 2013; Coblenz). پژوهشگران گزارش کردند محتوی الیاف به‌ویژه لیگنین اثر منفی بر تولید گاز در شرایط آزمایشگاهی دارد (Coblenz et al., 2013; Melaku et al., 2003).

و از هضم میکروبی جلوگیری می‌کنند و سبب کاهش تولید گاز می‌شوند (Sharifi et al., 2002; Śliwiński et al., 2017; Naumann et al., 2019; Huang et al., 2018). گازهایی که در ۳ ساعت اول انکوباسیون تولید می‌شوند، با اجزای محلول تخمیر مطابقت دارند، وقتی که زمان

جدول ۳- اثر جایگزینی گیاه سزبانیا با علوفه یونجه بر فراسنجه‌های تولید گاز، گوارش‌پذیری جیره‌های آزمایشی و جمعیت پروتوزوای ($\times 10^4$) محیط کشت گاز

Table 3. The effect of replacing Sesbania plant with alfalfa hay on gas production parameters, digestibility of experimental diets and protozoa population ($\times 10^4$) gas medium culture

ارزش P P-value	خطای استاندارد میانگین‌ها SEM	درصد سزبانیا جایگزین شده با یونجه در جیره The percentage of Sesbania replaced with alfalfa in the diet (%)					فراسنجه‌های تولید گاز Gas production parameters
		100	75	50	25	صفر (شاهد) 0.0 (Control)	
0.0013	1.940	33.37 ^b	35.43 ^b	36.56 ^b	37.39 ^b	45.97 ^a	ظرفیت تولید گاز (میلی لیتر) b (ml)
0.0125	0.002	0.024 ^b	0.023 ^b	0.021 ^b	0.029 ^{ab}	0.032 ^a	نرخ تولید گاز (میلی لیتر به ساعت) c (ml/h)
0.0898	1.455	11.71 ^a	10.71 ^a	8.13 ^{ab}	8.43 ^{ab}	5.56 ^b	عامل تفکیک (میلی گرم به ازای میلی لیتر) Partitioning factor (mg/mL)
0.1117	10.716	114.97 ^a	115.92 ^a	92.22 ^{ab}	99.48 ^{ab}	76.07 ^b	تولید توده زنده میکروبی (میلی گرم) Microbial biomass production (mg)
0.0137	0.035	0.79 ^a	0.78 ^a	0.72 ^a	0.74 ^{ab}	0.59 ^b	بازده تولید توده زنده میکروبی (میلی گرم) Microbial biomass production efficiency (mg)
0.5843	11.857	146.14	147.08	126.32	134.68	126.17	ماده آلی واقعا تجزیه شده (گرم) Truly degradable organic matter (g)
0.3756	0.229	6.41	6.43	6.44	6.46	6.48	pH
0.0001	0.191	8.13 ^d	10.18 ^c	11.45 ^b	12.66 ^a	13.74 ^a	غلظت نیتروژن آمونیاکی (میلی گرم/۱۰۰ میلی لیتر) Ammonia nitrogen (mg/100 mL)
0.0200	0.420	40.43 ^d	43.18 ^c	46.21 ^b	46.64 ^b	53.49 ^a	گوارش‌پذیری ظاهری ماده آلی IVOMAD ^۱
							جمعیت پروتوزوآ Protozoa population
0.0001	0.365	5.00 ^b	2.33 ^c	2.66 ^c	3.00 ^{cb}	6.33 ^a	هلوتریش Helotrich
0.0001	0.557	4.33 ^d	8.66 ^c	13.33 ^b	14.33 ^b	18.66 ^a	انتودینومورف Entodiniomorph
0.0006	0.365	1.33 ^b	1.00 ^b	1.66 ^b	2.00 ^b	4.33 ^a	سلولولیتیک Cellulite
0.0001	0.906	9.66 ^c	12.00 ^c	17.66 ^b	19.33 ^b	29.33 ^a	کل جمعیت پروتوزوآ Total protozoa population

¹In vitro organic matter digestibility (IVOMAD, %) = 14.88 + 0.8893GP + 0.0448CP + 0.0651 Ash.

میانگین‌های دارای حروف غیرمشابه در هر ستون دارای تفاوت معنی‌دار هستند ($P < 0.05$).

Means in the same column with different superscript letters differ significantly ($P < 0.05$).

مقایسه گیاه سزبانیا و علوفه یونجه (جدول ۴) نشان‌دهنده کاهش ظرفیت و نرخ تولید گاز گیاه سزبانیا نسبت به یونجه بود ($P < 0.05$).

اگرچه در آزمایش حاضر محتوی لیگنین، NDF و ADF سزبانیا کمتر از یونجه است (جدول ۲) که نمی‌تواند عامل تفاوت در ظرفیت و نرخ تولید گاز باشد. در آزمایشی جایگزینی برگ برهان (لگوم گرمسیری با پروتئین بالا و دارای تانن برابر با سزبانیا) در جیره تا ۵۰ درصد به‌جای یونجه، قابلیت تولید گاز را در مقایسه با سطوح بالاتر جایگزینی (۷۵ درصد)، افزایش داد (Yousefi et al., 2014). این پژوهشگران بیان کردند که کاهش تولید گاز در سطح ۷۵ درصد برهان نسبت به سطوح ۲۵ و ۵۰ درصد، به سبب افزایش مقدار تانن موجود در جیره است (McSweeney et al., 2017; Naumann et al., 2017; Huang et al., 2018; 2001).

تغذیه‌ای لئوکانا (لگوم با پروتئین بالا نظیر سزبانیا) در دو فصل زمستان و تابستان با علوفه یونجه، نیز مشخص شد که ظرفیت تولید گاز اجزاء لئوکانا در هر دو فصل کمتر از یونجه بود (جدول ۳).
این آزمایش مطابقت دارد، این پژوهشگران نیز دلیل تفاوت را تانن موجود در این گیاه ذکر کردند.
فراسنجه‌های تخمیری تولید گاز: در پژوهش حاضر عامل تفکیک، تولید توده زنده میکروبی و بازده تولید توده زنده میکروبی در تمام سطوح جایگزینی سزبانیا با علوفه یونجه بالاتر بود ($P < 0.05$). در مورد عامل تفکیک و تولید توده زنده میکروبی، تفاوت سطوح ۷۵ و ۱۰۰ درصد جایگزینی با شاهد (جدول ۳)؛ و در مورد بازده تولید توده زنده میکروبی تفاوت سطوح ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد جایگزینی با شاهد معنی‌دار بود ($P < 0.05$). ماده آلی واقعا تجزیه شده تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت. مقایسه گیاه سزبانیا و یونجه نشان داد که عامل تفکیک، تولید توده زنده میکروبی و بازده تولید توده زنده میکروبی گیاه سزبانیا به‌طور معنی‌داری بیشتر از یونجه بود ($P < 0.05$) (جدول ۴).

جدول ۴- مقایسه فراسنجه‌های تولید گاز و گوارش پذیری گیاه سزبانی و علوفه یونجه و جمعیت پروتوزوای ($\times 10^4$) محیط کشت گاز
Table 4. Comparison of gas production parameters, and digestibility of Sesbania plants and alfalfa hay and protozoa population ($\times 10^4$) of gas medium culture

ارزش P P-value	خطای استاندارد میانگین‌ها SEM	تیمار Treatment		فراسنجه‌های تولید گاز Gas production parameters
		علوفه یونجه Alfalfa hay	گیاه سزبانی Sesbania plant	
0.0001	2.260	75.39 ^a	63.71 ^a	ظرفیت تولید گاز (میلی لیتر) <i>b</i> (ml)
0.0028	0.002	0.041 ^a	0.027 ^b	نرخ تولید گاز (میلی لیتر به ساعت) <i>c</i> (ml/h)
0.0454	1.455	3.12 ^b	8.89 ^a	عامل تفکیک (میلی گرم به ازای میلی لیتر) Partitioning factor (mg/mL)
0.0357	10.716	32.75 ^b	71.09 ^a	تولید توده‌ی زنده میکروبی (میلی گرم) Microbial biomass production (mg)
0.0166	0.035	0.29 ^b	0.74 ^a	بازده تولید توده‌ی زنده‌ی میکروبی (میلی گرم) Microbial biomass production efficiency (mg)
0.2063	11.857	110.85	95.29	ماده آلی واقعا تجزیه شده (گرم) Truly degradable organic matter (g)
0.7187	0.243	6.53	6.52	pH
0.0001	0.105	12.37 ^a	8.42 ^b	غلظت نیتروژن آمونیاکی (میلی گرم/۱۰۰ میلی لیتر) Ammonia nitrogen (mg/100 mL)
0.0003	0.480	29.97 ^a	25.57 ^b	گوارش پذیری ظاهری ماده آلی IVOMAD ⁺
				جمعیت پروتوزوآ Protozoa population
0.0147	0.745	15.33 ^a	11.00 ^b	هلوتریش Helotrich
0.0029	1.374	33.66 ^a	21.00 ^b	انتودینومورف Entodionomorph
0.0015	0.333	8.33 ^a	4.66 ^b	سلولولیتیک Cellulite
0.0014	1.855	57.33 ^a	36.66 ^b	کل جمعیت پروتوزوآ Total protozoa population

^aIn vitro organic matter digestibility (IVOMAD, %) = 14.88 + 0.8893GP + 0.0448CP + 0.0651 Ash.

میانگین‌های دارای حروف غیرمشابه در هر ستون دارای تفاوت معنی‌دار هستند ($P < 0.05$).
Means in the same column with different superscript letters differ significantly ($P < 0.05$).

تجزیه‌ی باکتریایی، افزایش دهند. در پژوهشی مشاهده شد که افزودن ساپونین به جیره جریان پروتئین میکروبی به سمت روده در گوسفندان تغذیه شده با منابع حاوی ساپونین را افزایش می‌دهد (Hess et al., 2003). ممکن است یکی از دلایل افزایش عامل تفکیک در تمامی جیره‌های حاوی سزبانی نسبت به تیمار شاهد، وجود تانن در این تیمارها باشد، زیرا با حل شدن تانن خوراک در طول تخمیر و کاهش ماده خشک بدون شرکت در تولید گاز یا ساخت پروتئین میکروبی سبب برآورد کم‌تر از حد تولید گاز می‌شود؛ به‌علاوه، باید توجه داشت تانن‌ها با پروتئین‌ها پیوند تشکیل می‌دهند و حضور این ترکیب در بقایای هضم شده سبب برآورد کمتری از ماده آلی واقعا تجزیه شده و ایجاد خطا در اندازه‌گیری میزان عامل تفکیک می‌شود (Hassan Sallam et al., 2010).

فراسنجه‌های تخمیری محیط کشت: در جدول ۳ فراسنجه‌های تخمیر پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون نشان داده شده است. pH محیط کشت میکروارگانیسم‌های شکمبه تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت. اما غلظت نیتروژن آمونیاکی و گوارش‌پذیری ماده خشک تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت ($P < 0.05$). تیمار شاهد بیشترین غلظت نیتروژن آمونیاکی را داشت و با افزایش درصد جایگزینی گیاه سزبانی با یونجه مقدار غلظت نیتروژن آمونیاکی کاهش یافت به‌طوری‌که تیمار جایگزینی ۱۰۰ درصد گیاه سزبانی با یونجه کمترین غلظت نیتروژن آمونیاکی را داشت. همچنین در مقایسه گیاه سزبانی با یونجه pH محیط کشت شکمبه تحت تأثیر تیمار آزمایشی قرار نگرفت. غلظت نیتروژن آمونیاکی گیاه سزبانی

علت افزایش و یا کاهش تولید توده زنده‌ی میکروبی و بازده تولید توده زنده‌ی میکروبی به تفاوت در مقدار گاز تولیدی بر می‌گردد؛ به‌عبارت دیگر همان عواملی که بر تولید گاز تأثیر می‌گذارند به‌نوعی منجر به تغییر در این فراسنجه‌ها نیز می‌شوند. پژوهشگران بیان کردند که تولید گاز با تولید اسیدهای چرب فرار و تولید توده میکروبی رابطه خطی دارد و همچنین مقدار حجم خالص گاز تولیدی به‌ازای هر واحد سوبسترای تجزیه شده نشان دهنده‌ی مقدار متابولیسم میکروبی است (Coblentz et al., 2013; et al., 1991 Theodorou). عامل تفکیک، شاخصی از بازده تخمیر است. بنابراین، مقادیر بزرگتر عامل تفکیک، نشان‌دهنده یکپارچگی بیشتر مواد آلی تخریب شده در توده میکروبی است که سبب افزایش کارایی ساخت میکروبی می‌شود (Makkar., 2004). زمانی که عامل تفکیک بالاتر باشد، گاز کمتری تولید می‌شود و سوبسترای بیشتر برای تولید اسیدهای چرب فرار یا تولید توده‌های میکروبی استفاده می‌شود (Boussaada et al., 2018). این نتایج نشان می‌دهد که گیاه سزبانی دارای ارزش بالقوه است که می‌تواند ساخت میکروبی را افزایش دهد. از طرفی بیان شده است که این گیاه دارای ساپونین است (Goswami et al., 2016). اثرات ساپونین‌ها بر تولید پروتئین میکروبی، تغییر جمعیت باکتری‌های شکمبه و تولید اسیدهای چرب فرار متفاوت است (Wang et al., 2019). با توجه به اثر کاهشی ساپونین‌ها بر جمعیت پروتوزوآ در شکمبه (Wang et al., 2019)، این ترکیبات فعال می‌توانند تولید پروتئین میکروبی را به‌دلیل آهسته‌تر کردن دگرساخت پروتئین در شکمبه و کاهش

نیترژن آمونیاکی در سطوح بالای استفاده از گیاه سزبانیاً احتمالاً مربوط به جذب آن توسط ساپونین گیاه سزبانیاً باشد. مصرف عصاره ساپونین یوکا، سبب کاهش غلظت آمونیاک شکمبه‌ای در تلیسه‌ها شد (Lila et al., 2003). در پژوهش‌های برون‌تنی (Hu et al., 2003; Lila et al., 2003) و درون‌تنی (Zhou et al., 2011)، دیگر نیز اثر کاهنده غلظت آمونیاک شکمبه در اثر مصرف ساپونین به اثبات رسیده است. اگرچه، در پژوهشی ساپونین تأثیری بر غلظت نیترژن آمونیاکی نداشت (Nasri et al., 2011). از طرفی، ترکیبات ثانویه موجود در گیاهان نظیر تانن یا ساپونین، منجر به کاهش جمعیت پروتوزوآ (جدول ۳) و به‌دنبال آن تخریب کمتر باکتری‌ها شده و در نتیجه آمونیاک کمتری تولید می‌شود و این عامل به‌طور غیرمستقیم روی غلظت آمونیاک تأثیر گذاشته و آن‌را کاهش می‌دهد (Francis et al., 2002; Saminathan et al., 2017). لذا شاید یکی از دلایل کاهش غلظت نیترژن آمونیاکی همین عامل باشد.

جمعیت پروتوزوای شکمبه: اثر تیمارهای آزمایشی بر جمعیت پروتوزوای هلوتریش، انتودینومورف و سلولولیتیک و کل جمعیت پروتوزوآ معنی‌داری شد ($P < 0.05$). جمعیت پروتوزوای هلوتریش، انتودینومورف و سلولولیتیک و کل جمعیت پروتوزوای شکمبه در تیمار شاهد بیشترین و در تیمار جایگزینی ۱۰۰ درصد گیاه سزبانیاً با علوفه یونجه کمترین تعداد بود. نتایج در رابطه با مقایسه گیاه سزبانیاً با علوفه یونجه نیز نشان دهنده افزایش جمعیت پروتوزوای هلوتریش، انتودینومورف و سلولولیتیک و کل جمعیت پروتوزوای شکمبه در علوفه یونجه و کاهش جمعیت در گیاه سزبانیاً بود (جدول ۴). شاید علت کاهش جمعیت پروتوزوای در تیمارهای حاوی سزبانیاً وجود تانن و ساپونین باشد (جدول ۲)، زیرا در پژوهشی بیان شده که تانن (Saminathan et al., 2017) و ساپونین (Wang et al., 2019) سبب کاهش جمعیت پروتوزوآ می‌شوند (Min et al., 2005). در پژوهش‌های مختلف درون‌تنی و برون‌تنی (Goel et al., 2008)، ویژگی پروتوزوآزدایی ساپونین به اثبات رسیده است که با نتایج این پژوهش همخوانی دارد. از بین رفتن پروتوزوآ سبب کاهش شکارگری باکتری‌ها توسط آن‌ها شده (Takahashi et al., 2005) و در نتیجه کاهش دگر ساخت پروتئین میکروبی با بازیابی باکتری‌ها را به‌دنبال داشته که سبب افزایش جریان پروتئین میکروبی به روده خواهد شد (Hess et al., 2003). یوکاریوت‌ها به‌علت حضور کلسترول در ساختار غشایی نسبت به پروکاریوت‌ها به ساپونین حساس‌ترند (Klita et al., 1996). به‌هر حال، اثر پروتوزوآزدایی ساپونین موقتی است و باکتری‌های شکمبه به حضور ساپونین در شکمبه سازگار می‌شوند و با تولید آنزیم‌های تجزیه‌کننده، ساپونین را به بخش‌های سازنده‌اش (قند و ساپونین) تجزیه می‌کنند؛ ساپونین حاصل از تجزیه ساپونین توانایی پروتوزوآزدایی ندارد (Mohghi et al., 2017; Wang et al., 2019).

نتیجه‌گیری کلی

در کل نتایج آزمایش حاضر نشان داد که ترکیب شیمیایی و گوارش‌پذیری گیاه سزبانیاً به علوفه‌ی یونجه نزدیک است.

به‌طور معنی‌داری پایین‌تر از علوفه یونجه بود ($P < 0.05$). تیمار شاهد نیز بیشترین گوارش‌پذیری ماده خشک در زمان ۲۴ را داشت و با افزایش درصد جایگزینی گیاه سزبانیاً با یونجه مقدار گوارش‌پذیری ماده خشک کاهش یافت. نتایج در رابطه با مقایسه علوفه یونجه و گیاه سزبانیاً نیز نشان داد گوارش‌پذیری ماده خشک در یونجه بیشتر از گیاه سزبانیاً بود (جدول ۴).

در آزمایش حاضر pH مایع شکمبه تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت، اما در دامنه طبیعی و مناسب برای فعالیت میکروارگانیسم‌ها قرار داشت، رسیدن pH به ۶ بحرانی است، زیرا در pH پایین‌تر از آن هضم پروتئین و سلولز کاهش می‌یابد (Chaji, 2014). احتمالاً کاهش pH در تیمارهای حاوی سزبانیاً به‌دلیل حضور تانن یا ساپونین (Wang et al., 2019)، در سزبانیاً باشد. نتایج پژوهش‌ها نشان داد بلوط به‌دلیل دارا بودن تانن سبب کاهش معنی‌دار pH شکمبه شده است (Maldar et al., 2010); این پژوهشگران علت افت pH را به کاهش جمعیت پروتوزوای شکمبه با مصرف خوراک تانن‌دار نسبت دادند. زیرا پروتوزوآها دارای خاصیت پایدارکنندگی در شکمبه هستند که احتمالاً به‌علت هضم سریع و ذخیره نشاسته به‌وسیله پروتوزوای مژکدار است (Hristov et al., 2001).

تانن‌ها بر رشد باکتری‌های پروتولیتیک که غذای پروتوزوآها هستند، اثر منفی دارند (Min et al., 2005; Castro-Montoya et al., 2018). بنابراین کاهش رشد این باکتری‌ها سبب کاهش جمعیت پروتوزوای شکمبه (Saminathan et al., 2017) و در نتیجه کاهش pH می‌شود. دیگران نیز گزارش کردند که منابع تانن‌دار سبب کاهش pH شکمبه می‌شود (Lima; Yildiz et al., 2005; et al., 2019). بنابراین احتمالاً یکی از علل کاهش عددی و غیر معنی‌دار pH شکمبه در آزمایش حاضر می‌تواند کاهش جمعیت پروتوزوای شکمبه باشد. غلظت نیترژن آمونیاکی مایع شکمبه تحت تأثیر جیره‌های آزمایشی قرار گرفت (جدول ۳) و با حضور گیاه سزبانیاً مقدار غلظت نیترژن آمونیاکی کاهش یافت. شاید دلیل کاهش غلظت نیترژن آمونیاکی در جیره‌های حاوی سزبانیاً به‌دلیل وجود تانن در آن باشد (جدول ۲). کاهش تجزیه‌پذیری پروتئین در شکمبه به‌دلیل اتصال تانن با پروتئین خوراک و کاهش رشد باکتری‌های پروتولیتیک است (Castro-Montoya et al., 2018); روند کاهشی در نیترژن آمونیاکی می‌تواند نشانه مصرف بهینه نیترژن برای سوخت و ساز نیز باشد (Min et al., 2005). پژوهشگران موافق با این نتایج گزارش کردند که منابع تانن‌دار سبب کاهش غلظت نیترژن آمونیاکی می‌شوند (Castro-Montoya et al., 2001; McSweeney et al., 2018). در آزمایشی با افزایش مقداری بلوط به‌عنوان منبع دارای تانن به جیره گاو، غلظت نیترژن آمونیاکی شکمبه کاهش یافت (Doce et al., 2009). تشکیل کمپلکس تانن-پروتئین سبب کاهش تجزیه‌پذیری پروتئین در شکمبه و در نتیجه کاهش غلظت نیترژن آمونیاکی شده است (West et al., 1993; Castro-Montoya et al., 2018); یکی دیگر از دلایل کاهش غلظت

شکمه به نفع تولید توده‌ی زنده میکروبی است که سبب بهبود فعالیت هضمی و تخمیری میکروارگانیسم‌های شکمه خواهد شد. به هرحال، نیاز به آزمایش‌های تکمیلی برای بررسی تأثیر این جایگزینی بر عملکرد تولیدی دام‌های مختلف نشخوارکننده است.

لذا، گیاه سزبانیا می‌تواند به‌عنوان جایگزین مناسبی برای علوفه‌ی یونجه مورد توجه قرار گیرد. به‌طور کلی، نتایج این آزمایش نشان داد که می‌توان بین حداقل ۲۵ درصد تا ۱۰۰ درصد از گیاه سزبانیا را با علوفه یونجه در جیره‌ی بره‌های پرواری جایگزین کرد. به‌کارگیری گیاه سزبانیا در تغذیه نشخوارکنندگان قادر به دستکاری فعالیت‌های تخمیری

References

- AOAC. (2012). Official methods of analysis of Association of Official Analytical Chemists, 19th ed. Gaithersburg.
- Blümmel, M., Steingass H., & Becker, K. (1997). The relationship between *in vitro* gas production, *in vitro* microbial biomass yield and 15 N incorporation and its implications for the prediction of voluntary feed intake of roughages. *British Journal of Nutrition*, 77(6), 911-921.
- Boussaada, A., Arhab, R., Calabrò, S., Grazioli, R., Ferrara, M., Musco, N., Thlidjane, M., & Cutrignelli, M.I. (2018). Effect of Eucalyptus globulus leaves extracts on *in vitro* rumen fermentation, methanogenesis, degradability and protozoa population. *Annals of Animal Science*, 18(3), 753-767. DOI: 10.2478/aoas-2018-0006
- Broderick, G.A., & Kang, J.H. (1980). Automated simultaneous determination of ammonia and total amino acids in ruminal fluid and *in vitro* media. *Journal of Dairy Science*, 63, 64-75.
- Castro-Montoya, J., Westreicher-Kristen, E., Henke Diaby, A.M., Susenbeth, A., & Dickhoefer, U. (2018). *In vitro* microbial protein synthesis, ruminal degradation and post-ruminal digestibility of crude protein of dairy rations containing Quebracho tannin extract. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, Doi: 102(1): e77-e86. 10.1111/jpn.12704. Epub 2017 Apr 26. PMID: 28447345
- Chaji, M. (2014). Applied Animal Nutrition, Feed and Feeding. Norbakhsh Press, Tehran, Iran (In Persian).
- Coblentz, W.K., Nellis, S.E., Hoffman, P.C., Hall, M.B., Weimer, P.J., Esser, N.M., & Bertram, M.G. (2013). Unique interrelationships between fiber composition, water-soluble carbohydrates, and *in vitro* gas production for fall-grown oat forages. *Journal of Dairy Science*, 96(11): 7195-7209. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-6889>
- Dareini, E., Jowkar, M., & Taei Semiromi, J. (2018). Effect of maize (*Zea mays*) and sesbania (*Sesbania sesban*) intercropping on forage yield and quality. *Journal of Agroecology*, 8 (2), 68-81.
- Dehority, B.A. (2003). PP: 11-151. Rumen microbiology (2nd ed.). Academic Press., London.
- Doce, R.R., Hervás, G., Belenguer, A., Toral, P.G., GirAldez, F.J., & Frutos, P. (2009). Effect of the administration of young oak (*Quercus pyrenaica*) leaves to cattle on ruminal fermentation. *Animal Feed Science and Technology*, 150, 75-85.
- Farghaly, M.M., Youssef, I.M., Radwan, M.A., & Hamdon, H.A. (2022). Effect of feeding Sesbania sesban and reed grass on growth performance, blood parameters, and meat quality of growing lambs. *Tropical Animal Health and Production*, 54(3), 1-13. <https://doi.org/10.1007/s11250-021-03006-5>.
- Francis, G., Makkar, H.P.S., & Becker, K. (2002). Effects of cyclic and regular feeding of Quillaja saponin supplemented diet on growth and metabolism of common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Fish Physiology and Biochemistry*, 24, 343-350.
- Gebreyowhans, S., & Zegeye, T. (2019). Effect of dried Sesbania sesban leaves supplementation on milk yield, feed intake, and digest-ibility of Holstein Friesian X Zebu (Arado) crossbred dairy cows. *Tropical Animal Health and Production*, 51(4), 949-955.
- Goel, G., Makkar, H.P.S., & Becker, K. (2008). Effects of Sesbania sesban and Carduus pycnocephalus leaves and Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) seeds and their extracts on partitioning of nutrients from roughage-and concentrate-based feeds to methane. *Animal Feed Science and Technology*, 147(1-3), 72-89. Doi:10.1016/j. anifeeds.2007.09.010
- Goswami, S., Mishra, K., Singh, R.P., Singh, P., & Singh, P. (2016). Sesbania sesban, a plant with diverse therapeutic benefits: an overview. *SGVU Journal of Pharmaceutical Research and Education*, 1(1), 111-121.
- Halmemies-Beauchet-Filleau, A.M., Rinne, M., Lamminen, C., Mapato, T., Ampapon, M., Wanapat, & Vanhatalo, A. (2018). Alternative and novel feeds for ruminants: nutritive value, product quality and environmental aspects. *Animal*, 12(s2), s295-s309. <https://doi.org/10.1017/S1751731118002252>
- Hassan Sallam, S.M.A., Da Silva Bueno, I.C., De Godoy, P.B., Eduardo, F.N., Schmidt Vittib, D.M.S., & Abdalla, A.L. (2010). Ruminal fermentation and tannins bioactivity of some browses using a semi-automated gas production technique. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 12, 1-10.
- Hess, H.D., Monsalve, L.M., Lascano, C.E., Carulla, J.E., Diaz, T.E., & Kreuzer, M. (2003). Supplementation of a tropical grass diet with forage legumes and *Sapindus saponaria* fruits: effects on *in vitro* rumen nitrogen turnover and methanogenesis. *Australian Journal of Agricultural Research*. 54(7), 703-713.

- Hristov, A.N., Ivan, M., Rode, L.M., & McAllister, T.A. (2001). Fermentation characteristics and rumen ciliate protozoal populations in cattle fed medium or high barley based diets. *Journal of Animal Science*, 79 (2), 515–524. <http://jas.fass.org/content/79/2/515>
- Hu, W.L., Liu, J.X., Ye, J.A., Wu, Y.M., & Guo, Y.Q. (2005). Effect of tea saponin on rumen fermentation *in vitro*. *Animal Feed Science and Technology*, 120(3-4), 333-339. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2005.02.029>
- Huang, Q., Liu, X., Zhao, G., Hu, T., & Wang, Y. (2018). Potential and challenges of tannins as an alternative to in-feed antibiotics for farm animal production. *Animal Nutrition*, 4(2), 137-150. Doi: 10.1016/j.aninu.2017.09.004
- Karimi, M., Abdi-benemar, H., Seifdavati, J., Seifzadeh, S., & Ramezani, M. (2020). Effect of *Saccharomyces cerevisiae* yeast and *Butyrate monoglycerides* on performance, blood parameters and nutrients digestibility in Holstein suckling calves. *Research on Animal Production*, 11(28), 59 -66 (In Persian).
- Klita, P.T., Mathison, G.W., Fenton, T.W., & Hardin, R.T. (1996). Effects of alfalfa root saponins on digestive function in sheep. *Journal of Animal Science*, 74(5), 1144-1156. <https://doi.org/10.2527/1996.7451144x>
- Lila, Z.A., Mohammed, N., Kanda, S., Kamada, T., & Itabashi, H. (2003). Effect of sarsaponin on ruminal fermentation with particular reference to methane production *in vitro*. *Journal of Dairy Science*, 86(10), 3330-3336. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(03\)73935-6](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(03)73935-6)
- Lima, P.R., Apdini, T., Freire, A.S., Santana, A.S., Moura, L.M.L., Nascimento, J.C.S., & Menezes, D.R. (2019). Dietary supplementation with tannin and soybean oil on intake, digestibility, feeding behavior, ruminal protozoa and methane emission in sheep. *Animal Feed Science and Technology*, 249, 10-17. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2019.01.017>
- Makkar, H.P. (2004). method for evaluation of nutritional quality of feed resources. *Assessing quality and safety of animal feeds*, (160), 55.
- Maldar, S.M., Roozbehan, Y., & Alipour, D. (2010). The effect of adaptation to oak leaves on digestibility (*in vitro*) and ruminal parameters in Alamout goat. *Iranian Journal of Animal Science*, 41(3), 243-252 (In Persian).
- McSweeney, C.S., Palmer, B., McNeill, D.M., & Krause, D.O. (2001). Microbial interactions with tannins: nutritional consequences for ruminants. *Animal Feed Science and Technology*, 91(1-2), 83–93. [https://doi.org/10.1016/S0377-8401\(01\)00232-2](https://doi.org/10.1016/S0377-8401(01)00232-2)
- Mekoya, A. (2008). Multipurpose fodder trees in Ethiopia Farmers' perception, constraints to adoption and effects of long-term sup-plementation on sheep performance. Animal Production Systems Group. Wageningen University, The Netherlands.
- Menke, K.H., & Steingass, H. (1988). Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. *Animal Research and Development*, 28, 7-55.
- Melaku, S., Peters, K.J., & Tegegne, A. (2003). *In vitro* and *in situ* evaluation of selected multipurpose trees, wheat bran and Lablab purpureus as potential feed supplements of tef (*Eragrostis tef*) straw. *Animal Feed Science and Technology*, 108, 159- 179.
- Min, B.R., Attwood, G.T., McNabbb, W.C., Molanb, A.L., & Barry, T.N. (2005). The effect of condensed tannins from *Lotus corniculatus* on the proteolytic activities and growth of rumen bacteria. *Animal Feed Science and Technology*, 121(1-2), 45–58. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2005.02.007>
- Mohghi, M.M., Tahmasabi, A.M., Valizadeh, R., Naserian, A.A., Kazemi, M., & Eskandari Tarbeghan, A. (2017). The effect of different levels of saponin on nutrient digestibility, fermentation parameters, ruminal protozoa population and blood metabolites in male Baluchi sheep. *Animal Science Journal*, 117, 241-256 (In Persian).
- Moorby, J.M., & Fraser, M.D. (2021). New feeds and new feeding systems in intensive and semi-intensive forage-fed ruminant livestock systems. *Animal*, 15, 100297. <https://doi.org/10.1016/j.animal.2021.100297>
- Mutisya, M.D., Okello, V.S., Anyango, S.P., & Masila, M.J. (2014). Effects of fresh leaf materials of *Sesbania sesban* (L.) Merrill on the growth and photosynthetic pigments of nightshade (*Solanum nigrum* L. var. popolo). *International Journal of Agronomy and Agricultural Research*, 4(5), 10-21.
- Nasimi Esfahani, S., Chaji, M., Mohammadabadi, T., & Bojarpour, M. (2015). Comparison between the nutritional value of *Leucaena* (*Leucana Leucocephala*) in both winter and summer with each other and alfalfa forage by gas production method. *Journal of Research in Ruminants*, 3(3), 59-75 (In Persian). <http://ejrr.gau.ac.ir>
- Nasri, S., Salem, H.B., Vasta, V., Abidi, S., Makkar, H.P.S. & Priolo, A. (2011). Effect of increasing levels of Quillaja saponaria on digestion, growth and meat quality of Barbarine lamb. *Animal Feed Science and Technology*, 164(1-2), 71-78. Doi: 10.1016/j. anifeedsci.2010.12.005
- Naumann, H.D., Tedeschi, L.O., Zeller, W.E., & Huntley, N.F. (2017). The role of condensed tannins in ruminant animal production: advances, limitations and future directions. *Revista Brasileira De Zootecnia*, 46(12), 929-949. doi:10.1590/s1806-92902017001200009

- Ørskov, E.R., & McDonald, I. (1979). The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *The Journal of Agricultural Science*, 92(2), 499-503.
- Patra, A.K., Chhonkar, P.K., & Khan, M.A. (2006). Effect of green manure *Sesbania sesban* and nitrification inhibitor encapsulated calcium carbide (ECC) on soil mineral-N, enzyme activity and nitrifying organisms in a rice-wheat cropping system. *European Journal Soil Biology*, 42(3), 173-180. <http://france.elsevier.com/direct/ejsobi>
- Saminathan, M., Gan, H.M., Abdullah, N., Wong, C.M.V.L., Ramiah, S.K., Tan, H.Y., & Ho, Y.W. (2017). Changes in rumen protozoal community by condensed tannin fractions of different molecular weights from a *Leucaena leucocephala* hybrid *in vitro*. *Journal of Applied Microbiology*, 123(1), 41-53. doi: 10.1111/jam.13477. Epub 2017 Jun 9. PMID: 28434189
- Shahjalal, M., & Topps, J. (2000). Feeding *Sesbania* Leaves as a sole feed on growth and nutrient utilization in goats. *Animal Bioscience*, 13(4), 487-489.
- Sharifi, A., Chaji, M., & Vakili, A. (2019). Effect of treating recycled poultry bedding with tannin extracted from pomegranate peel on rumen fermentation parameters and cellulolytic bacterial population in Arabian fattening lambs. *Veterinary Research Forum*, 10(2), 145-152. doi:10.30466/vrf.2019.75050.2007
- Śliwiński, B.J., Kreuzer, M., Wettstein, H.R., & Machmüller, A. (2002). Rumen fermentation and nitrogen balance of lambs fed diets containing plant extracts rich in tannins and saponins, and associated emissions of nitrogen and methane. *Archives of Animal Nutrition*, 56(6), 379-392. <https://doi.org/10.1080/00039420215633>
- Takahashi, J., Mwenya, B., Santoso, B., Sar, C., Umetsu, K., Kishimoto, T., & Hamamoto, O. (2005). Mitigation of methane emission and energy recycling in animal agricultural systems. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 18(8), 1199-1208.
- Theodorou, M.K., Williams, B.A., Dhanoa, M.S., McAllan, A.B., & France, J.A. (1994). Simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. *Animal Feed Science and Technology*, 48(3-4), 185-197. [https://doi.org/10.1016/0377-8401\(94\)90171-6](https://doi.org/10.1016/0377-8401(94)90171-6)
- Van Soest, P.J., Rabertson, J.B., & Lewis, B.A. (1991). Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *nutritional ecology of the ruminant. Journal of Dairy Science*, 74(10), 3583-3597
- Wang, B., MP, M., Diao, Q.Y., & Tu, Y. (2019). Saponin-induced shifts in the rumen microbiome and metabolome of young cattle. *Frontiers in microbiology*, 10, 356. doi: 10.3389/fmicb.2019.00356
- West, J.W., Hill, G.M., & Utley, P.R. (1993). Peanut skins as a feed ingredient for lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 76(2), 59-599.
- Yildiz, S., Kaya, I., Unal, Y., Aksu-Elmali, D., Kaya, S., Cenesiz, M., Kaya, M., & Oncuer, A. (2005). Digestion and body weight change in Tuj lambs receiving oak (*Quercus hartwissiana*) leaves with and without PEG. *Animal Feed Science and Technology*, 122(1-2), 159-172. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2005.04.005>
- Yousefi, Z., Mohammadabadi, T., Chaji, M., & Bojarpour, M. (2014). Investigation of *in vitro* digestibility and fermentation of diets containing of different parts of *Siris (Albizia lebbbeck)*. *Journal of Animal Production*, 16(1), 31-41 (In Persian).
- Zaki, A., Osman, A., Ibrahim, F., & Soliman, E. (2015). Effect of using *Sesbania sesban* and its mixtures with some summer fresh grasses on lambs productive performance in new reclaimed soil. *Journal of Animal, Poultry and Fish Production*, 3(1), 7-16.
- Zhou, Y.Y., Mao, H.L., Jiang, F., Wang, J.K., Liu, J.X., & McSweeney, C.S. (2011). Inhibition of rumen methanogenesis by tea saponins with reference to fermentation pattern and microbial communities in Hu sheep. *Animal Feed Science and Technology*, 166, 93-100. DOI: 10.1016/j.anifeedsci.2011.04.007