مجله علوم دامی ایران
دوره ۴۴، شماره ۳، ۱۳۹۲ (۲۸۲-۲۷۳)

تأثیرعصاره گل گاو زبان (*Echium amoenum*) بر متابولیت‌های پلاسمای خون و برآورد گاز متان بره‌های نر مهربان

ابراهیم نوریان سرور[1] و یوسف روزبهان[2]*
۱و ۲، دانش آموخته دکتری و عضو هیات علمی گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
(تاریخ دریافت: ۹۱/۱۰/۱۲- تاریخ تصویب: ۹۲/۷/۲۷)

چکیده

تعداد ۴۸ رأس بره شش ماهه نر مهربان با میانگین وزن اولیه ۳/۹ ± ۳۲/۱ کیلوگرم برای بررسی تأثیر عصاره گل گاوزبان بر متابولیت‌های پلاسمای خون و گاز متان مورد استفاده قرار گرفتند. بعد از دو هفته سازگاری با جیره کاملاً مخلوط (با نسبت ۶۰ به ۴۰ کنسانتره و علوفه)، بره‌ها بر اساس وزن اولیه به صورت تصادفی به چهار گروه ۱۲ رأسی در قالب یک طرح کاملاً تصادفی تقسیم بندی شدند. گروه اول (شاهد) فقط جیره کامل، گروه دوم، سوم وچهارم به‌ترتیب جیره‌پایه به علاوه ۰/۳، ۱/۵ و ۳ میلی‌لیتر عصاره به ازای کیلوگرم ماده خشک مصرفی در یک دوره ۹۰ روزه دریافت کردند. عصاره گل گاو زبان در وعده اول تغذیه‌صبح بر روی جیره غذایی بره‌ها افزوده شد. نمونه‌های خون بره‌ها در طی دو زمانروزهای ۳۷ (دوره اول رشد) و ۷۲ (دوره دوم رشد) دوره پروار از ورید گردن تهیه گردید. غلظت متابولیت‌های پلاسما شامل پروتئین‌کل، آلبومین،کراتینین، اوره خون، گلوکز، تری‌گلیسرید و کلسترول بود. همبستگی بین این متابولیت‌ها نیز محاسبه گردید. مقادیر گاز متان و دی اکسیدکربن نیز بر اساس اسیدهای چرب فرار مایع شکمبه برآورد گردید. نتایج نشان داد که در روز ۳۷ نمونه‌گیری، کراتینین، اوره خون(p<۰/۰۰۰۱) و تری‌گلیسرید(p<۰/۰۳) در مقایسه با گروه شاهد تفاوت معنی‌دار داشت. همچنین،غلظت گلوکز خون بره‌های دریافت کننده عصاره افزایش خطی نسبت به گروه شاهد نشان داد(p< ۰/۰۰۱). در روز ۷۲ نمونه‌گیری، مقایسه گروه شاهد با سایر گروه‌ها نشان داد که تنها غلظت اوره خون کاهش(p< ۰/۰۲۴) و تری-گلیسرید تغییرات غیرخطی(p< ۰/۰۰۰۱) داشته است. در روز۷۲، در بره‌های دریافت کننده‌ی عصاره نسبت به گروه شاهد، پروتئین کل (p< ۰/۰۰۰۹) و گلوکز (p< ۰/۰۰۰۱) افزایش خطی نشان داده‌اند. نتایج همبستگی بین متابولیت‌ها نیز نشان می‌دهد که همبستگی معنی‌داری بین اوره خون با آلبومین،تری‌گلیسرید با پروتئین کل و اوره خون و همبستگی بین کلسترول با پروتئین کل وجود دارد. رابطه کلسترول با سایر متابولیت‌ها عکس است. در دوره دوم نمونه-گیری تحت تاثیر عصاره گاز متان کاهش داشته است (p< ۰/۰۰۴). نتایج این تحقیق نشان داد که عصاره گل گاو زباندر هر دو زمانسبب کاهش غلظت اوره خونو تری گلیسرید شد. همچنین در زمان اول نمونه‌گیری نیز غلظت کراتینین افزایش داشته است که نشان دهنده کاتابولیسم پروتئین اندوژنوسدر این زمان است.عصاره گل گاو زبان توانایی کاهش گاز متان را دارد.

واژه‌های کلیدی: گیاه دارویی، عصاره گل گاو زبان، متابولیت‌های پلاسما، متان، گوسفند

مقدمه

در سال‌های اخیر، بعد از ممنوع شدن استفاده از آنتی‌بیوتیک، استفاده از عصاره‌های گیاهی در پرورش و تغذیه نشخوارکنندگان گسترش زیادی داشته است (Hristov et al., 2008). درسال ۱۹۹۷ سازمان بهداشت جهانی وسازمان خواروبارجهانی ضررناشی ازمصرف

* نویسنده مسئول: یوسف روزبهان تلفن: ۰۹۱۲۳۹۰۵۴۸۱ E-mail: rozbeh_y@modares.ac.ir

آنتی‌بیوتیک‌های محرک رشد درتغذیه دام رامتذکرشده وخواستارممنوعیت مصرف آن‌هاشده‌اند (FAO/OIE/ WHO, 2004). در نشخوارکنندگان، غلظت مؤلفه‌های خونی گلوکز و نیتروژن پلاسما نشان دهنده وضعیت تغذیه‌ای دام است (Turner et al., 2005). همچنین غلظت کراتینین نیز با وضعیت بافت عضله دام مرتبط بوده (Myer et al., 1996; Soliman et al., 2010) و معرف متابولیسم نیتروژن است (Hatfield et al., 1998). بسیاری از گیاهان توانایی سنتز متابولیت‌های ثانویه (ساپونین، تانن و اسانس) را دارند که این متابولیت‌ها دارای خاصیت ضد میکروبی، توانایی تعدیل تخمیر شکمبه‌ای، تغییر متابولیت‌های خون و در نهایت بهبود مصرف مواد مغذی هستند (Hristov et al., 2008). برای مثال، استفاده از گیاه حاوی ساپونین در تغذیه گاوهای پرواریسبب افزایش گلوکز و کاهش نیتروژن اوره‌ای پلاسما شده است (Lila et al., 2005). همچنین مشخص شده است که عصاره گیاه یوکا (غنی از ساپونین) دارای توانایی اتصال با آمونیاک بوده و سبب تأثیر بر غلظت آمونیاک و اوره پلاسما می‌گردد (Wallace et al., 1994). گرچه در مطالعه‌ای دیگر عصاره این گیاه تاثیری بر غلظت آمونیاک و اوره خون گاوهای نر (Hussain and Cheeke, 1995) و تلیسه (Hristov et al., 1999) نداشته است. همچنین افزودن ساپونین میوه در جیره گوسفندان، اوره پلاسما را کاهش داده است که نشان دهنده‌ی جذب کمتر آمونیاک از شکمبه است (Abreu et al., 2004). بعد از دی اکسیدکربن، گاز متان از مهمترین گازهای گلخانه‌ای در فرایند گرم شدن زمین است و با توجه به تاثیر گلخانه‌ای گاز متان (۲۳-۲۵ برابر بیشتر از گاز دی اکسیدکربن)، اهمیت کاهش تولید متان دو چندان می‌گردد (Wright & Klieve, 2011). از سوی دیگر شکل‌گیری فرایند متانوژنزیز(Methanogenesis) بسته به مقدار جیره مصرفی، سبب هدر روی ۲-۱۵ درصدی انرژی خام مواد غذایی مصرفی می‌گردد (Agarwal et al., 2009). به همین خاطر مطالعهٔ فرایند تخمیر شکمبه گوسفندان با هدف کاهش متان دارای دو جنبه تغذیه‌ای و زیست محیطی است.عصاره‌هایگیاهی یکی از گزینه‌های مناسب و بی‌نظیر جهت جایگزینی آنتی‌بیوتیک‌ها با هدف بهبود تخمیر شکمبه گوسفندان است. اثرهای اصلی آن‌ها در شکمبه، کاهش تجزیه پروتئین و نشاسته، مهار و کاهش تجزیه اسیدهای آمینه در شکمبه است (Benchaar et al., 2008). همچنین، استفاده از معادلات جهت برآورد متان روش مناسبی جهت ارزیابی مواد خوراکی دام (اندازه‌گیری متان) درنشخوارکنندگان در کشورهای در حال توسعه است (Vercoe et al., 2010). گل گاو زبان با نام علمی *Echium amoenum* از خانواده یا تیره گاوزبان‌ها (Boraginaceae) و یک گیاهان دارویی است (Omidbeygi, 2010). مطالعات فیتوشیمیایی بر روی این گیاه نشان داده است که دارای ترکیبات شیمیایی مانند فلاوانوئیدها، ساپونین و ترپنوئیدهای غیر اشباع (Shafaghi et al., 2002)، آلکان‌های آلیفاتیک جزء سسکوئی‌ترپن‌ها (Ghassemi et al., 2003) و ترکیب فنولیک روزمارینیک اسید (Mehrabani et al., 2005) می‌باشد. تاکنون هیچ‌گونه گزارش علمی در خصوص کاربرد عصاره گل گاو زبان وتأثیرآن بر متابولیت‌های خون گوسفندان و گاز متان به روش درون‌تنی منتشر نشده است. با توجه به اهمیت متابولیت‌های خون و روابط بین آن‌ها، تاثیر تغذیه‌ای و زیست محیطی تولید گاز متان، هدف از این تحقیق بررسی تغییرات متابولیت‌های پلاسما، روابط بین آن‌ها و کاهش گاز متان با استفاده از عصاره گیاه دارویی گل گاو زبان بود.

مواد و روش آزمایش

عصاره گل گاو زبان

عصاره اتانولی این گیاه به روش هوهن‌هایم[1]استخراج گردید(Goel et al., 2008). گیاه دارویی گل گاو زبان که در سایه خشک شده بود، با استفاده میکسر معمولی آسیاب شد. سپس مقدار ۲۰ گرم از گل گاو زبان آسیاب شده را در محلول اتانول ۵۰ درصد به مدت ۲۴ ساعت در دستگاه تکان دهنده مکانیکی[2] قرار داده و سپس سانتریفیوژ (مدت ۱۰ دقیقه و g ۳۰۰۰) گردید. آن گاه محلول رویی را ذخیره کرده و اتانول آن به وسیله دستگاه تبخیرکننده چرخان[3] در دمای ۴۵ درجه

1. Hohenheim
2. Shaker
3. Rotary evaporator

سلسیوس استخراج شد. باقی‌مانده که عصاره گل گاو زبان بود در دمای ۴ درجه سلسیوس نگهداری شد و به هنگام انجام آزمایش در تغذیه گوسفندان استفاده گردید.

دام و مدیریت آن

تعداد ۴۸ رأس بره نر، شش ماهه را در چهار گروه ۱۲ رأسی و هر گروه با میانگین وزن اولیه ۳/۹± ۳۲/۱ کیلوگرم در جایگاه انفرادی تقسیم‌بندی شد. قبل از شروع دوره آزمایش، مدت ۲ هفته را به عنوان دوره‌سازگاری و کنترل بیماری و مبارزه علیه انگل‌های داخلی و خارجی اعمال گردید. گوسفندان با استفاده از جیره پرواری ۶۰ درصد کنسانتره (جو، سویا، سبوس، نمک، جوش‌شیرین و مکمل معدنی ویتامینه) و ۴۰ درصد علوفه (یونجه خشک) (جدول۱) و روزانه سه مرتبه (ساعت۹ ، ۱۴و ۱۹) تغذیه شدند.

جدول ۱- اجزاء و ترکیبات مواد مغذی و انرژی متابولیسمی جیره مورد استفاده در جیره گوسفندان.

اجزاء جیره	درصد/ ۱۰۰ کیلوگرمجیره‌تر	گرم/ کیلوگرم ماده خشک
یونجه	۴۰	۳۷۱/۴
جو	۳۵/۵	۳۲۹/۶
کنجاله سویا	۶	۱۵۷/۸
سبوس گندم	۱۷	۵۵/۷
بی‌کربنات سدیم	۰/۵	۴/۶۴
مکمل‌های ویتامین و معدنی تجاری	۰/۵	۴/۶۴
نمک	۰/۵	۴/۶۴
ترکیبات مغذی		
ماده خشک		۹۲۸/۵
ماده آلی		۸۶۱
چربی خام		۲۹/۹
پروتئین خام		۱۴۵
NDF		۳۹۷
ADF		۱۸۷
انرژی متابولیسمی[1] (مگا ژول/ کیلوگرم ماده خشک)		۱۰/۴۶

[1]انرژی متابولیسمی با استفاده از معادله Menke & Steingass (1988) و به شرح زیر محاسبه شد.

$$ME\ (MJ/kg\ DM) = 2.20 + 0.136 \times Gp + 0.057 \times CP + 0.0029 \times XL^2$$

که در این معادله، Gp، گاز کل تولیدی، CP ، پروتئین خام و XL ، چرب خام ۲۰۰ میلی‌گرم جیره پایه در آزمون گاز.

نیاز گوسفندان به انرژی، پروتئین، مواد معدنی و ویتامین بر اساس توصیه NRC (2007) تنظیم گردید. آب تازه به صورت مداوم در اختیار آن‌ها قرار داشت. مقادیر صفر، ۰/۳ ، ۱/۵ و ۳ میلی‌لیتر به ازاء هر کیلوگرم ماده خشک جیره از عصاره اتانولی گل گاو زبان را در هر وعده غذایی صبح به وسیله پیپت مدرج بر روی جیره بره‌ها اضافه شد. یک روز قبل مقادیر مورد نیاز هر گوسفند را در پلاستیک‌های شماره‌دار وزن و جهت تغذیه فردا دسته بندی می‌شد. در هر وعده صبح قبل از غذادهی مقادیر بازمانده جیره هر گوسفند جمع‌آوری و با استفاده از ترازو دیجیتال وزن و ثبت می‌گردید.

خونگیری و آماده سازی آن

در دو زمان ۳۷ و ۷۲ روزگی و به وسیله ونوجکت‌های هپارین‌دار با نیدل‌های نمره ۱۶ از ورید وداج گردن خون‌گیری به عمل آمد. خون‌گیری در زمان ۳ ساعت بعد از وعده اول تغذیه صبح و به مقدار ۱۰ میلی‌لیتر از هر بره انجام گرفت. با استفاده از سانتریفیوژ (۳۰ دقیقه، ۵ درجه و g×۱۸۰۰) پلاسما خون جداسازی شد. پلاسما جداسازی شده تا زمان انجام آزمایش‌های مربوطه در دمای ۲۰- سلسیوس نگهداری شدند.

اندازه‌گیری متابولیت‌های خون

متابولیت‌های خون با استفاده از کیت‌های آزمایشگاهی پارس آزمون اندازه‌گیری شد (جدول ۲). پروتئین پلاسما (دسی‌لیتر/گرم) با استفاده از روش بیورت (Biuret) اندازه‌گیری شد. در این روش پروتئین در محیط قلیایی با یون یون مس تشکیل یک کمپلکس لاجوردی می‌کند. شدت رنگ معرف مقدار پروتئین در طول موج ۵۴۶ نانومتر و با استفاده از رابطه۱ (جدول۲) است (McIntosh & Styke Van, 1927).

در آزمایش آلبومین، آلبومین سرم (دسی‌لیتر/گرم) با ترکیب بروموکروزول‌گرین تشکیل کمپلکس رنگی آبی-سبز می‌دهد. شدت رنگ تشکیل شده در طول موج

۵۴۶ نانومتر قرائت شد و سپس با استفاده از رابطه ۲ مقدار آلبومین محاسبه شد (Doumas et al., 1971). در آزمایش اندازه‌گیری کراتینین، کراتینین با آلکالن پیکرات تشکیل یک کمپلکس رنگی می‌دهد. شدت رنگ ایجاد شده در طول موج ۵۰۰ نانومتر به وسیله اسپکتروفتومتر ثبت شد و با استفاده از رابطه ۳ (جدول۲) مقدار کراتینین (دسی‌لیتر/ میلی‌گرم) محاسبه شد(Oser, 1965).

جدول۲-طول موج و نحوه محاسبه متابولیت‌های خون.

رابطه	متابولیت	طول موج(نانومتر)	فرمول محاسبه
۱	پروتئین کل	۵۴۳	Total protein= (ΔA Sample/ ΔA Std)× Conc.Sta
۲	آلبومین	۵۴۶	Albumin = (ΔA Sample/ ΔA Std)× Conc.Sta
۳	کراتینین	۵۰۰	Creatinine = (ΔA Sample/ ΔA Std)× Conc.Sta
۴	اوره خون	۳۴۰	BUN= [(ΔA Sample/ ΔA Std)× Conc.Sta]×0.467
۵	گلوکز	۵۴۶	Glucose = (ΔA Sample/ ΔA Std)× Conc.Sta
۶	تری گلیسیرید	۵۴۶	Triglyciride = (ΔA Sample/ ΔA Std)× Conc.Sta
۷	کلسترول	۵۴۶	Cholestrol = (ΔA Sample/ ΔA Std)× Conc.Sta

ΔA = تغییرات طول موج جذب نمونه؛ Std = استاندارد، Conc.Sta= غلظت استاندارد.

با استفاده از روش کالری‌متریک مقدار اوره خون(BUN) (دسی‌لیتر/میلی‌گرم) اندازه‌گیری شد.در این روش آمونیاک حاصل از هیدرولیز اوره با استفاده از آنزیم اوره‌آز با هیپوکلریت و سالیسیلات سدیم، تشکیل یک ترکیب سبز رنگ می‌دهد.

شدت رنگ ایجاد شده در طول موج ۳۴۰ نانومتر اندازه‌گیری شد و سپس با استفاده از رابطه ۴ (جدول۲) مقدار اوره خون محاسبه شد (Kannan et al., 2002). گلوکز پلاسما (دسی‌لیتر/ میلی‌گرم) به روش آنزیمی محاسبه گردید. در این روش آب اکسیژنه آزاد شده از گلوکز در مجاورت آنزیم گلوکز اکسیداز، با فنل و ۴- آمینوآنتی پیرین، در مجاورت آنزیم پراکسیداز تشکیل کینونیمین می‌دهد. مقدار کینونیمین تشکیل شده به صورت فتومتریک و با استفاده از رابطه ۵ (جدول۲) قابل اندازه‌گیری است (Kannan et al., 2002). تری‌گلیسیرید پلاسما (دسی‌لیتر/میلی‌گرم) نیز با استفاده از یک روش آنزیمی کالری متری محاسبه می‌گردد. در این آزمایش ابتدا گلیسرول توسط آنزیم لیپوپروتئین لیپاز از اسیدهای چرب جدا شده و سپس طی مراحل زیر، پراکسید هیدروژن آزاد شده از گلیسرول با ۴- آمینو آنتی پیرین و فنول در مجاورت آنزیم پراکسیداز تشکیل کینونیمین می‌دهد. مقدار کینونیمین تشکیل شده به صورت فتومتریک قابل اندازه‌گیری است که این مقدار با مقدار تری‌گلیسیرید رابطه مستقیم دارد (رابطه ۶ جدول۱) (Zlatikis et al., 1953). کلسترول پلاسما (دسی‌لیتر/میلی‌گرم)بر اساس یک روش آنزیمی اندازه‌گیری می‌شود. در این آزمایش پراکسید هیدروژن تولید شده در نتیجه هیدرولیز و اکسیداسیون کلسترول، به همراه فنول و ۴- آمینو آنتی پیرین در مجاورت آنزیم پراکسیداز تشکیل کینونیمین می‌دهد. میزان کینونیمین تشکیل شده به صورت فتومتریک قابل اندازه‌گیری است که این مقدار با مقدار کلسترول رابطه مستقیم دارد (رابطه ۷ جدول ۲) (Zlatkis et al ., 1953).

برآورد گاز متان

مقادیر گاز متان و دی اکسید کربن تولیدی در گوسفندان بر اساس رابطه ۸ (Wolin, 1960) و رابطه ۹ (Moss, 2000) برآورد گردید. هر دو این رابطه‌ها بر اساس مقادیر اسیدهای چرب فرار مقادیر گاز را برآورد می‌کنند.

رابطه ۸ :

$$CH_4 \text{ mmol}=(C_2+2C_4) - CO2$$

$$CO2 \text{ mmol}= (C_2/2) + (C_3/4) + (1.5\times C_4)$$

رابطه ۹ :

$$C_2\ CH4 \text{ mmol} = (0.45\times) - (0.275\times C_3) + (0.4\times C_4)$$

که

C_2= اسید استیک، C_3= اسید پروپیونیک و C_4= اسید بوتیریک:

تجزیه وتحلیل داده‌ها

داده‌های حاصل از اندازه‌گیری غلظت هر یک از متابولیت‌های پلاسما گوسفندان و گازهای برآوردی با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS۱۸ (2009) برای ۴ تیمار (صفر، ۰/۳، ۱/۵ و ۳ میلی‌لیتر به ازاء هر کیلوگرم

ماده خشک) و در قالب طرح کاملاً تصادفی تجزیه و تحلیل گردیدند. داده‌ها بر اساس مدل آماری $Y_{ijk}=\mu+T_{i+}e_{ijk}$ تجزیه شدند که در آن، Y_{ij} مقدار هر مشاهده، μ میانگین کل، T_i اثر تیمار و e_{ijk} مقدار باقیمانده بود. برای مقایسه میانگین تیمار با تیمار شاهد از روش آزمون مقایسه اورتوگنال و مقایسه تغییرات خطی و غیر خطی تیمارها از آزمون Polynomial در دو سطح ۰/۰۵ و ۰/۰۱ استفاده شد. همبستگی بین تمامی متابولیت‌های پلاسما نیز با استفاده از نرم افزار SPSS۱۸ (2009) و با استفاده از دستور همبستگی پیرسون به صورت جداگانه برای بره‌های شاهد و بره‌های دریافت کننده عصاره محاسبه و معنی‌داری آن نیز مورد آزمون قرار گرفت.

نتایج و بحث

ترکیبات نیتروژن‌دار مانند نیتروژن آمونیاکی خون، آلبومین و پروتئین کل به طور گسترده بعنوان شاخص وضعیت تغذیه و فیزیولوژیکی دام‌های استفاده می‌گردند (Laborde et al., 1995). تأثیر عصاره اتانولی گل گاو زبان بر غلظت هر یک از متابولیت‌های پلاسما در جدول ۳ نشان داده شده است. غلظت متابولیت‌های مورد مطالعه در دامنه مطلوب بود (Kaneko et al., 1997). در زمان اول نمونه‌گیری عصاره گل گاو زبان تنها سبب بروز تفاوت معنی‌دار بین غلظت کراتینین (P<۰/۰۰۰۱)، نیتروژن اوره‌ای‌خون (P<۰/۰۰۰۱) و تری‌گلیسیرید (P= ۰/۰۳)، گروه شاهد با سایر تیمارها شده است.

مقایسه غلظت پروتئین کل گروه شاهد با سایر تیمارهای عصاره گل گاو زبان در زمان اول نمونه‌گیری نشان از تمایل به افزایش غلظت این متابولیت دارد (P= ۰/۰۵۴). در زمان دوم رشد بره‌ها گرچه، غلظت پروتئین کل پلاسما با شاهد تفاوت معنی‌داری ندارد، اما، با افزایش غلظت عصاره گل گاو زبان، در سه گروه دریافت کننده عصاره، غلظت این متابولیت افزایش خطی داشته است. استفاده از گیاه *Jatropha curcas* در جیره گوسفندان در مطالعه Katole et al. (2011) تأثیری بر غلظت پروتئین کل پلاسما نداشته است. همچنین استفاده از گیاه *Lespedeza cuneata* درمقادیر ۱۰،۲۰ و ۳۰ درصد جیره بزها تاثیری بر غلظت پروتئین کل پلاسما نداشته است(Soliman et al., 2010). در روز ۳۷ نمونه‌گیری، افزایش غلظت عصاره گل گاو زبان تأثیر مثبت بر غلظت کراتینین داشته و باعث افزایش خطی غلظت آن شده است (P=۰/۰۰۵). کراتینین پلاسما محصول متابولیسم نیتروژن بوده و آن را به عنوان یک شاخص معرف کاتابولیسم پروتئین اندوژنوس و وضعیت عضله دام در نظر می‌گیرند(Latimer et al., 2003; Hatfield et al., 1998) لذا،کاهش غلظت کراتینین پلاسما نشان دهنده کاهش حجم و توده عضله است (Istasse et al., 1990). بنابراین، انتظار می‌رود که گروه-های دریافت کننده عصاره گل گاو زبان راندمان افزایش وزن بهتری در مرحله اول رشد داشته باشند.استفاده از عصاره گیاهی حاوی کارواکرول، سیناماآلدئید و کاپساایسین در گوساله‌ها نیز باعث افزایش غلظت کراتینین سرم خون شده استکه نشان دهنده میزان افزایش بافت عضله در دام تلقی گردیده است (Castillo et al., 2012).

در حالیکه در مطالعه Solaiman et al. (2010) استفاده از گیاه حاوی تانن (*Lespedeza cuneata*) در مقادیر ۱۰، ۲۰ و ۳۰ درصد در جیره بزها تأثیری بر غلظت کراتینین سرم خون نداشت و در مطالعه Turner . et al (2005) استفاده از جیره پایه یونجه (حاوی ساپونین) غلظت کراتینین خون بزها را کاهش داده است. در مطالعه حاضر، در هر دو زمان نمونه‌گیری کاهش غلظت اوره خون ناشی از کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی در شکمبه است (Ahmed & Abdalla, 2005; Wanapat et al., 2011). کاهش غلظت اوره خون در پاسخ به افزایش غلظت عصاره گل گاو زبان احتمالاً به خاطر افزایش سنتز پروتئین، کاهش میزان تجزیه پذیری اسیدهای آمینه و یا هرد مورد باشد (Kouakou et al., 2005). مشابه با نتایج ما، گزارشاتی مبنی بر وجود ارتباط بین نیتروژن آمونیاکی (NH_3-N) شکمبه و اوره خون وجود دارد (Hatfield et al., 1998). در بررسی Hatfield et al. (1998) با افزایش مقدار پروتئین جیره، جذب نیتروژن آمونیاکی در شکمبه نیز بیشتر شده و لذا، غلظت اوره خون نیز افزایش نشان داده است.

بر اساس گزارشات Thomas et al. (1988) غلظت اوره خون نشان دهنده پروتئین مصرفی نیز است. بر

خلاف نتایج ما، استفاده از گیاه غنی از ساپونین *Yucca schidigera* در تلیسه‌ها (Hristove et al., 1999) و استفاده از گیاه حاوی تانن (*Lespedeza cuneata*) در مقادیر ۱۰ ، ۲۰ و ۳۰ درصد در جیره بزها تأثیری بر غلظت اوره‌خون خون نداشت (Solaiman et al.)2010.

افزایش غلظت گلوکز در پلاسما بره‌های دریافت کننده عصاره گل گاو زبان می‌تواند به خاطر افزایش غلظت پروپیونات باشد. پروپیونات پیش ساز اصلی برای گلوکونئوژنسیس است (Busquet et al., 2006). افزایش غلظت گلوکز سبب بهبود وضعیت انرژی در دام می‌گردد. به علاوه تأمین بیشتر گلوکز سبب شده که اسیدهای آمینه گلوکوژنیک کمتر کاتابولیسم شده و در نهایت غلظت نیتروژن اوره‌ای خون کمتر گردد (Mohammed et al., 2004). مشابه با نتایج این تحقیق، غلظت گلوکز بیشتر و اوره خون کمتر در پلاسما گاوهای نر تغذیه شده با عصاره گیاه دارویی مشاهده شده است (Mohammed et al., 2004). هرچند استفادهاز اسانس سیناماآلدئید (۲۰۰ میلی‌گرم/ کیلوگرم ماده خشک مصرفی) در تغذیه بره‌های در حال رشد (Chaves et al., 2008) و استفاده از گیاه حاوی تانن (*Lespedeza cuneata*) در مقادیر ۱۰، ۲۰ و ۳۰ درصد در جیره بزها تأثیری بر غلظت گلوکز خون نداشت (Solaiman et al., 2010).

جدول۳ - متابولیت‌های پلاسمای خون(میلی‌گرم/ دسی‌لیتر یا ذکر شده در جدول) گوسفندان تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی حاوی سطوح متفاوت عصاره اتانولی گل گاوزبان.

روزهای نمونه‌گیری	سطوح عصاره گل گاو زبان (میلی‌گرم/ کیلوگرم ماده خشک)				SEM	*P value* مقایسه		
	شاهد	۰/۳	۱/۵	۳		شاهد با تیمار	خطی	غیرخطی
۳۷								
پروتئین کل (گرم/ دسی‌لیتر)	۷/۰۲	۷/۶۱	۸/۰۰	۸/۰۶	۰/۱۱۳	۰/۰۵۴	۰/۰۷۰	۰/۲۹۴
آلبومین (گرم/ دسی‌لیتر)	۳/۹۷	۳/۸۹	۴/۱۱	۴/۶۴	۰/۱۴۴	۰/۵۶۳	۰/۱۱۰	۰/۶۳۶
کراتنین	۰/۵	۱/۱۵	۱/۳۲	۱/۵۰	۰/۰۵۵	<۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۵	۰/۰۳۸
اوره خون(BUN)	۱۸/۸۷	۹/۰۰	۱۰/۷۰	۱۰/۲۸	۱/۰۸۲	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱
گلوکز	۶۲/۱۸	۶۱/۱۷	۷۰/۷۰	۷۷/۸۰	۱/۵۵۰	۰/۰۸۴	۰/۰۰۱	۰/۸۸۵
تری گلیسیرید	۱۹/۳۱	۷/۵۷	۱۵/۶۳	۱۳/۹۴	۰/۹۷۲	۰/۰۳۰	۰/۹۷۲	۰/۶۹۴
کلسترول	۲۱/۵۰	۲۸/۹۰	۲۳/۳۶	۱۸/۰۰	۱/۶۱۱	۰/۷۴۲	۰/۲۹۳	۰/۵۰۶
۷۲								
پروتئین کل (گرم/ دسی‌لیتر)	۷/۶۴	۷/۲۱	۷/۹۷	۸/۴۹	۰/۸۳۴	۰/۳۷۴	۰/۰۰۰۹	۰/۷۰۴
آلبومین (گرم/ دسی‌لیتر)	۵/۷۰	۶/۲۶	۵/۳۵	۵/۶۳	۰/۱۶۳	۰/۹۹۷	۰/۲۹۷	۰/۴۰۵
کراتنین	۱/۰۷	۱/۳۰	۱/۱۱	۱/۳۴	۰/۰۵۷	۰/۱۶۱	۰/۲۶۳	۰/۵۶۳
اوره خون(BUN)	۱۹/۵۷	۷/۱۲	۱۴/۷۲	۸/۲۳	۱/۵۳۲	۰/۰۰۰۳	۰/۰۲۴	۰/۸۶۸
گلوکز	۷۱/۹۷	۶۴/۲۶	۷۱/۰۶	۷۸/۸۸	۲/۳۰۸	۰/۹۱۲	۰/۰۰۰۱	۰/۰۱۲
تری‌گلیسیرید	۱۳/۳۷	۸/۱۶	۱۵/۴۴	۲۸/۰۸	۱/۳۲۳	۰/۰۵۰	۰/۰۰۰۱	۰/۰۱۲
کلسترول	۲۰/۱۰	۲۹/۲۵	۲۳/۰۱	۱۷/۷۳	۲/۱۸۳	۰/۵۲۷	۰/۲۷۶	۰/۴۱۱

اعداد بالای قطر، همبستگی متابولیت‌ها در تیمار شاهد و اعداد زیر قطر همبستگی متابولیت‌ها در سه تیمار دریافت کننده عصاره گل گاو زبان می‌باشد.غلظت تری‌گلیسیرید پلاسما، شاخص نشان دهنده‌ی وضعیت و جابه جایی چربی است. و تری گلیسیریدها لیپیدهایی هستند که انرژی را در بافت چربی دام ذخیره می‌کنند (Hatfield et al., 1998).

نتایج این تحقیق نشان می دهد که افزودن عصاره گل گاو زبان نتوانسته است مانع جابه جایی چربی و کاهش آن گردد. مطالعه Chaves et al. (2008) نشان داده‌است که استفاده از اسانس سیناماآلدئید (۲۰۰ میلی‌گرم/ کیلوگرم ماده خشک مصرفی) در تغذیه بره-های در حال رشد، غلظت تری‌گلیسیرید را افزایش و غلظت گلیسرول را کاهش داده است.همچنین در مطالعه Solaiman et al. (2010) استفاده از گیاه حاوی تانن (*Lespedeza cuneata*) در مقادیر ۱۰ ، ۲۰ و ۳۰ درصد در جیره بزها تاثیر معنی‌دار غیر خطی بر غلظت تری گلیسیرید سرم خون داشت. همبستگی دو به دو متابولیت‌های مورد مطالعه با استفاده از شاخص همبستگی پیرسون (جدول ۴) نشان داد که در گروه

شاهد (جدول ۴ اعداد بالای قطر) تنها همبستگی بین گلوکز با پروتئین کل، کلسترول با پروتئین کل، تری گلیسیرید با کراتینین و کلسترول با گلوکز معنی‌دار می‌باشد.

جدول ۴- همبستگی پیرسون و سطح معنی‌داری آن بین متابولیت‌های بیوشیمیایی پلاسمای خون بره‌های مهربان.

	همبستگی پیرسون و سطح معنی‌داری آن						
	پروتئین کل	آلبومین	کراتنین	BUN	گلوکز	تری‌گلیسیرید	کلسترول
پروتئین کل (گرم/ دسی‌لیتر)	_____	۰/۱۸۵	۰/۳۹۷	۰/۳۰۷	۰/۶۵۳**	۰/۰۷۱	-۰/۵۶۰**
Sig	_____	۰/۳۸۷	۰/۰۶	۰/۱۷۷	۰/۰۰۱	۰/۷۴۸	۰/۰۰۴
آلبومین (گرم/ دسی‌لیتر)	۰/۱۸۷	_____	۰/۴۱۱	۰/۱۳۰	۰/۱۴۴	۰/۰۳۸	-۰/۱۷۳
Sig	۰/۱۲۲	_____	۰/۰۵۱	۰/۵۷۵	۰/۵۰۲	۰/۸۶۲	۰/۴۱۱
کراتنین (میلی‌گرم/ دسی‌لیتر)	۰/۱۲۶	۰/۰۴۲	_____	۰/۳۵۰	۰/۳۰۹	-۰/۵۷۳**	-۰/۲۲۷
Sig	۰/۳۲۳	۰/۷۴۴	_____	۰/۱۱۹	۰/۱۵۱	۰/۰۰۵	۰/۲۹۹
BUN(میلی‌گرم/ دسی‌لیتر)	۰/۰۶۰	۰/۳۷۲**	-۰/۰۸۴	_____	۰/۱۰۵	-۰/۱۷۳	-۰/۱۹۹
Sig	۰/۶۶۶	۰/۰۱۶	۰/۵۷۲	_____	۰/۶۴۹	۰/۴۶۶	۰/۳۸۷
گلوکز (میلی‌گرم/ دسی‌لیتر)	۰/۲۰۵	۰/۱۱۱	۰/۲۱۷	-۰/۰۱۹	_____	-۰/۱۸۷	-۰/۴۴۰*
Sig	۰/۰۸۸	۰/۳۶۰	۰/۰۸۷	۰/۸۹۱	_____	۰/۶۲۳	۰/۰۳۱
تری‌گلیسیرید (میلی‌گرم/ دسی‌لیتر)	۰/۳۴۱**	۰/۰۳۴	-۰/۱۰۱	۰/۳۸۲*	-۰/۱۸۸	_____	-۰/۲۳۳
Sig	۰/۰۰۷	۰/۷۹۳	۰/۴۶۴	۰/۰۰۸	۰/۱۴۴	_____	۰/۲۸۴
کلسترول (میلی‌گرم/ دسی‌لیتر)	-۰/۳۰۹**	-۰/۱۲۹	-۰/۱۱۵	-۰/۰۹۰	-۰/۲۰۹	-۰/۰۹۸	_____
Sig	۰/۰۱۰	۰/۲۹۰	۰/۳۷۲	۰/۵۲۴	۰/۰۸۵	۰/۴۵۱	_____

Sig = سطح معنی‌داری ، *و **به ترتیب در سطح ۰/۰۵ و ۰/۰۱ معنی‌دار است. اعداد بالای قطر، همبستگی متابولیت‌ها در تیمار شاهد و اعداد زیر قطر همبستگی متابولیت‌ها در سه تیمار دریافت کننده عصاره گل گاو زبان می‌باشد.

در بررسی منابع علمی گزارشات بسیار کمی در خصوص همبستگی بین متابولیت‌های خون مشاهده شد. بیشترین همبستگی بین گلوکز و پروتئین کل پلاسما است. افزایش غلظت گلوکز پلاسما مانع تجزیه پروتئین شده و لذا غلظت پروتئین کل نیز افزایش داشت. در حالی که همبستگی بالا و منفی بین پروتئین کل با کلسترول نشان از رابطه عکس این دو متابولیت در بره‌های گروه شاهد (بدون عصاره گل گاو زبان) دارد؛ لذا کاهش کلسترول سبب افزایش پروتئین کل شده است. همبستگی دو متابولیت کراتینین با تری‌گلیسیرید و گلوکز با کلسترول نیز منفی و نشان از رابطه عکس این شاخص‌ها با یکدیگر است. بنابراین افزایش گلوکز سبب کاهش کلسترول و کاهش تری‌گلیسیرید سبب افزایش کراتینین شده است. نکته قابل توجه همبستگی منفی کلسترول با همه متابولیت‌های مورد مطالعه است.

در بره‌های دریافت کننده عصاره گل گاو زبان (جدول۴، اعداد زیر قطر) همبستگی BUN با آلبومین، تری گلیسیرید با پروتئین کل و BUN، و کلسترول با پروتئین کل معنی‌دار شده است. نتایج نشان می‌دهد که با افزایش آلبومین غلظت BUN نیز بیشتر می‌گردد. مشابه گروه شاهد، در بره‌های دریافت کننده عصاره نیز همبستگی کلسترول با همه متابولیت‌های مطالعه شده منفی است و رابطه عکسی بین با آن‌ها وجود دارد. در نشخوارکنندگان بالغ کربوهیدرات‌های مصرفی کمتر به گلوکز تبدیل می‌گردند و لذا غلظت گلوکز پلاسما نسبت به دام جوان کمتر می‌باشد. با افزایش سطح اسیدهای چرب آزاد خون، غلظت گلوکز خون کاهش می‌یابد (Kaneko, 1989). در این بررسی نیز در هر دو گروه شاهد و بره‌های دریافت کننده عصاره گل گاو زبان همبستگی بین گلوکز با تری گلیسیرید و کلسترولمنفی است. گرچه همبستگی بین گلوکز پلاسما با اسیدهای چرب آزاد در مطالعه Shiengfield et al. (2002) کم و مثبت (۰/۰۱۱) بوده است.

مقادیر گاز متان برآورد شده (معادله Moss, 2000) در دوره دوم نمونه‌گیری نشان می‌دهد (جدول ۵)که عصاره گل گاوزبان در نهایت توانسته است گاز متان را در تیمار ۱، ۲ و ۳ نسبت به تیمارشاهد به ترتیب ۱۹/۷۴، ۳۵/۲۹ و ۲۰/۶۶ درصد کاهش دهد. به نظر می‌رسد بعد از گذشت ۷۲ روز مصرف عصاره، ترکیبات موثره عصاره توانسته‌اند از طریق کاهش جمعیت پروتوزوآیی سبب کاهش گاز متان گردد. مشابه با نتایج حاصل، بررسی‌های Kongmun et al. (2010) نشان

داده است که بر اساس معادله Moss (2000)، پودر سیر، روغن نارگیل و ترکیبی از این دو، گاز متان کاهش داشته است. همچنین، استفاده از عصاره گل گاو زبان به روش برون‌تنی (آزمون تولید گاز) در سه سطح ۳، ۳۰ و ۳۰۰ میکرولیتر با مایع شکمبه گوسفندان افشاری به ترتیب ۵۴ ، ۴۱ و ۴۳ درصد گاز متان را کاهش داده است (Nooriyan Soroor & Rozbehan, 2012).

جدول۵–گاز متان و دی اکسید کربن(میلی مول) برآورده شده در گوسفندان تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی حاوی سطوح متفاوت عصاره اتانولی گل گاوزبان.

روزهای نمونه‌گیری		سطوح عصاره گل گاو زبان (میلی‌گرم/ کیلوگرم ماده خشک)				SEM	P value مقایسه		
		شاهد	۰/۳	۱/۵	۳		شاهد با تیمار	خطی	غیرخطی
۳۷									
متان	(معادله‌ی Moss)	۲۷/۰۵	۲۲/۰۵	۲۵/۱۶	۲۵/۵۱	۰/۹۸۲	۰/۲۶۶	۰/۸۷۱	۰/۱۹۴
متان	(معادله‌ی Wolin)	۳۳/۷۰	۳۱/۲۶	۳۲/۱۵	۳۲/۵۲	۱/۳۸۲	۰/۶۴۰	۰/۸۴۵	۰/۶۳۵
دی اکسید کربن	(معادله‌ی Wolin)	۸۰/۳۶	۷۵/۱۷	۸۴/۵۱	۸۴/۶۳	۳/۵۳	۰/۹۰۷	۰/۵۱۳	۰/۷۲۰
۷۲									
متان	(معادله‌ی Moss)	۲۸/۳۶	۲۲/۷۶	۱۸/۳۵	۲۲/۵۰	۰/۹۳۹	۰/۰۰۱	۰/۰۰۴	۰/۰۰۴
متان	(معادله‌ی Wolin)	۳۳/۷۸	۳۰/۱۳	۲۶/۸۶	۳۰/۸۱	۱/۳۰۴	۰/۲۶۷	۰/۴۱۳	۰/۲۴۵
دی اکسید کربن	(معادله‌ی Wolin))	۸۱/۴۶	۷۸/۶۳	۶۹/۴۵	۸۳/۳۱	۲/۳۲	۰/۶۷۰	۰/۹۲۳	۰/۳۱۰

CH_4 mmol= $(C_2+2C_4) – Co2$, Co2 mmol= $(C_2/2) + (C_3/4) + (1.5\times C_4)$; (Wolin, 1960)
C_2 CH4 mmol = $(0.45\times) -(0.275\times C_3) + (0.4\times C_4)$; (Moss, 2000)

احتمالاً به نظر می‌رسد آثار کاهشی عصاره گل گاو زبان در تولید متان، به خاطر وجود ساپونین و ترکیبات فلاوانوئیدی (Shafigi et al., 2002) و اثرات مهارکنندگی ساپونین بر پروتوزوآ مژکدار (Hu et al., 2005) و بر باکتری‌های متانوژنیک (Hess et al., 2003) و یا کاهش باکتری‌های سلولایتیک (Wang et al., 2000) بوده باشد.

نتیجه‌گیری کلی

تأثیر عصاره گل گاو زبان در دوره اول رشد بر فراسنجه‌های کراتینین، BUN و تری گلیسیرید پلاسما مثبت بوده است. در دوره‌ی دوم رشد نیز عصاره گل گاو زبان باعث افزایش تری‌گلیسیرید پلاسما شده که نشان از افزایش ذخایر چربی بدن دام دارد.

همچنین استفاده از عصاره توانسته است همبستگی بین پروتئین کل با تری گلیسیرید، آلبومین با BUN و تری-گلیسیرید با BUN را افزایش داده و معنی‌دار شود. افزایش همه فراسنجه‌ها سبب کاهش کلسترول پلاسما شده است. کاهش حداکثر ۳۵ درصدی مقادیر برآوردی گاز متان نیز از نتایج مثبت اثرات تغذیه‌ای و زیست محیطی عصاره در تغذیه گوسفندان است.

REFERENCES

1. Abreu, A., Carulla, J. E., Lascano, C. E., Diaz, T. E., Kreuzer,M. & Hess, H. D. (2004). Effects of *Sapindus saponaria* fruits on rumenfermentation and duodenal nitrogen flow of sheep fed a tropicalgrass diet with and without legume. *Journal of Animal Science*, 82, 1392-1400.
2. Ahmed, M. M. M. & Abdalla, H. A. (2005). Use of different nitrogen sources in the fattening of yearling sheep. *Small Ruminant Research*, 56, 39-45.
3. Agarwal,N., Shekhar, C., Kumar, R., Chaudhary, L.C. & Kamra, D.N. (2009). Effect of peppermint (*Mentha piperita*) oil on *in vitro* methanogenesis and fermentation of feed with buffalo rumen liquor. *Animal Feed Science and Technology*, 148, 321–327.
4. Benchaar, C., Calsamiglia, S., Chaves, A.V., Fraser, G.R., Colombatto, D., McAllister, T.A. & K.A. Beauchemin. (2008). A review of plant-derived essential oils in ruminant nutrition and production. *Animal Feed Science and Technology*, 145, 209–228.
5. Busquet, M., Calsamiglia, S., Ferret, A. & Kamel, C. (2006). Plant extracts affect *in vitro* rumen microbial fermentation. *Journal of Dairy Science*, 89, 761–771.
6. Castillo,C., Benedito, J. L., Vázqueza, P., Pereira, V., Méndez, J., Sotillo , J. & Hernández, J. (2012). Effects of supplementation with plant extract product containing carvacrol, cinnamaldehyde and

capsaicin on serum metabolites and enzymes during the finishing phase of feedlot-fed bull calves. *Animal Feed Science and Technology*, 171, 246-250.

7. Chaves, A.V., Stanford, K., Dugan, M. E. R., Gibson, L.L., McAllister, T. A. Van Herk, F. & Benchaar, C. (2008). Effects of cinnamaldehyde, garlic and juniper berry essential oils on rumen fermentation, blood metabolites, growth performance, and carcass characteristics of growing lambs.*Livestock Science*, 117, 215–224.
8. Doumas, B.T., Watson, W.A. & Biggs, H.G. (1971). Albumin standards and the measurement of serum albumin with Bromocresol green. *Clinical Chimistry Acta*. 31, 87–96.
9. FAO/OIE/WHO. (2004). Second join FAO/OIE/WHO expert workshopon non-human antimicrobial usage and antimicrobial resistance:management options. Oslo, Norway, 15–18 March, 2004.
10. Food and Agriculture Organization. (2010). Statistic. Statistical year book. Statistical year book 2010. Http://www.fao.org/economic/ess/ess-publications/ess-yearbook/en
11. Ghassemi, N., Sajjadi, S. E., Ghannadi, A., Shams-ardakani, M. R. & Mehrabani, M. (2003). Volatile constituents of a medicinal plant of iran, Ec*hium amoenum* fisch and C.A. mey. *Daru*, 11, 32-33.
12. 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, 72–89.
13. Hatfield, P. G., Hopkins, J. A., Shawn Ramsey, W. & Gilmore, A. (1998). Effects of level of protein and type of molasses on digesta kinetics and blood metabolites in sheep. *Small Ruminant Research*, 28, 161–170.
14. Hess, H.D., Kreuzer, M., Diaz, T.E., Lascano, C.E., Carulla, J.E., Soliva, C.R. & Machmuller, A. (2003). Saponin rich tropical fruits affect fermentation and methanogenesis in faunted and defaunated rumen fluid. *Animal Feed Science and Technology*, 109, 79–94.
15. Hristov, A. N., McAllister, T. A., Van Herk, F. H., Cheng, K. J., Newbold, C. J. & Cheeke. P. R. (1999). Effect of Yucca schidigera on ruminal fermentation and nutrient digestion in heifers. *Journal of Animal Science*, 77, 2554-2563.
16. Hristov, A.N., Ropp, J.K. Zaman, S. & Melgar, A. (2008). Effects of essential oils on *in vitro* ruminal fermentation and ammonia release. *Animal Feed Science and Technology*, 144, 55–64.
17. Hu, W.L., Liu, J.X., Yr, J.A., Wu,Y.M. & Guo, Y.Q. (2005). Effect of tea saponin on rumen fermentation in vitro. *Animal Feed Science and Technology*, 120, 333–339.
18. Hussain, I . & Cheeke, P. R. (1995). Effect of dietary *Yucca schidigera* extract on rumen and blood profiles of steers fed concentrate or roughage-based diets. *Animal Feed Science and Technoogyl.51*, 231-242.
19. Istasse, L. Vaneenaeme, C, Evrard, P, Gabriel, A., Baldwin, P, Maghuinrogister, G. & Bienfait, J.M. (1990). Animal performance, plasma hormones and metabolites in Holstein and Belgian Blue growing fattening cattle. *Journal of Animal Science*, 68, 2666–2673.
20. Kaneko, J.J. (1989). Clinical biochemistry of domestic animals,4 th Edition, Academic Press,New York.
21. Kaneko, J., Harvey, J. W. & Brus, M. L. (1997). Clinical biochemistry of domestic animals, Academic Press, 932.
22. Kannan, G., Terrill, T.H., Kouakou, B., Gelaye, S. & Amoah, E.A. (2002). Simulated preslaughter holding and isolation effects on stress responses and live weight shrinkage in meat goats. *Journal of Animal Science*. 80, 1771–1780.
23. Katole, S., Saha, S.K., Sastry, V.R.B., Lade, M.H. & Prakash, B. (2011). Intake, blood metabolites and hormonal profile in sheep fed processed Jatropha (*Jatropha curcas*) meal. *Animal Feed Science and Technology*, 170, 21– 26.
24. Kongmun, P., Wanapat , M., Pakdee, P. & Navanukraw, C.(2010). Effect of coconut oil and garlic powder on in vitro fermentation using gas production technique. *Livestock Science*, 127, 38–44.
25. Kouakou, B., Gelaye,S., Kannan, G., Pringle, T. D. & Amoah, E. A. (2005). Blood metabolites, meat quality and muscle calpain–calpastatin activities in goats treated with low doses of recombinant bovine somatotropin.*Small Ruminant Research*, 57, 203–212.
26. Laborde, C. J., Chapa, I, A. M., Burleigh, D. W., Salgado, D. J. & Fernandez, J. M. (1995). Effects of processing and storage on the measurement of nitrogenous compounds in ovine blood. *Small Ruminant Research*, 17, 159-166.
27. Latimer, K. S., Mahaffey, E. A. & Prasse, K. W. (2003). Duncan and Prasse's Veterinary Laboratory Medicine: Clinical Pathology, 4th ed. Iowa State University Press.
28. Lila, Z. A., Mohammed, N., Kanda, S., Kurihara. M. & Itabashi, H. (2005). Sarsaponin effects on ruminal fermentation and microbes, methaneproduction, digestibility and blood metabolites in steers. *Asian-Australian Journal of Animal Science*, 18, (12), 1746-1751.

29. McIntosh, H. & Styke,V. (1927). Colorimetric determination of proteins.*Journal Clinical Investigtion*. 4, 235.
30. Mehrabani, M., Shams-Ardakani, M. R., Ghannadi, A., Ghassemi Dehkordi,N. & Sajjadi Jazi. S. E. (2005). Production of Rosmarinic Acid in *Echium amoenum* Fisch and C.A. Mey. Cell Cultures. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 2, 111-115.
31. Menke, K.H. & Steingass, H. (1988). Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and *invitro* gas production using rumen fluid. *Animal Research Development*, 28, 7–55.
32. Mohammed, N., Ajisaka, N., Lila, K. Mikuni, Z. A., Hara, K., Kanda, S. & Itabashi, H. (2004). Effect of Japanese horseradish oil on methane production and ruminal fermentation in vitro and in steers. *Journal of Animal Science*, 82, 1839–1846.
33. Moss, A.R., Jouany, J.P. & Newbold, J.(2000). Methane production by ruminants: its contribution to global warming. *Ann. Zootech*, 49, 231–253.
34. Myer, H. H., Abdulkhaliq, A., Davis, S. L., Thompson, J., Nabioullin, R., Wu, P. & Forsberg, N. E. (1996). Effects of the callipyge phenotype on serum creatinine, total cholesterol, low density lipoproteins, very-low-density lipoproteins, high-density lipoproteins, and triacylglycerol in growing lambs. *Journal of Animal Science*, 74, 1548–1552.
35. Nooriyan Soroor, E. & Rouzbehan, Y. (2012). The influence of *Echium amoneum* extract on *in vitro* ruminal fermentation, protozoa population and reduction of methane production.*Iranian Journal of Animal Science*, 2, 287-296. (In Farsi).
36. NRC (2007). Nutrient Requirements of Small Ruminants: Sheep, Goats, Cervids, and New World Camelids. Natl. Acad. Press, Washington, DC.
37. Omid Beygi, M. R. (2010). Medical Plant (First ed) I. R of Iran: Behnashr Press. (In Farsi).
38. Oser, B. L. 1965. Hawk's Physiological Chemistry. 14 ed. McGraw-Hill, New York, NY.
39. Rahmatullah, M. & Boyde, T.R.C. (1980). An improvement in determination of urea using diacetylmonoxine method with and without deproteinization. *Clinical Chimistry Acta*, 107, 3–9.
40. Romero, M. J., Madrid, J., Hernandez, F. & Ceron, J. J. (2000). Digestibility and voluntary intake of vine leaves (Vitis vinifera L.) by sheep.*Small Ruminant Research*, 38, 191-195.
41. Shafaghi, B., Naderi, N., Tahmasb, L. & Kamalinejad, M. (2002). Anxiolytic effect of *Echium amoenum* L. in mice. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 1, 37-41.
42. Shingfield, K. J., Jaakkola, S. & Huhtanen, P. (2002). Effect of forage conservation method concentrate level and propylene glycol on diet digestibility, rumen fermentation, blood metabolite concentration and nutrient utilization of dairy cows. *Animal feed science and technology*, 97, 1-21.
43. Solaiman, S., Thomas, J., Dupre, D., Min, B. R., Gurung, N., Terrill, T. H. & Haenlein, G. F. W. (2010). Effect of feeding sericea lespedeza (*Lespedeza cuneata*) on growth performance, blood metabolites, and carcass characteristics of Kiko crossbred male kids. *Small Ruminant Research*, 93, 149–156.
44. SPSS. (2009). SPSS Version 18.0 for Windows. SPSS Inc., USA.
45. Thomas, V. M., McInerney, M. J. & Kott, R.W.(1988). Influence ofbody condition and lasolocid during late gestation on bloodmetabolites, lamb birth weights a colostrum composition andproduction in Finn-cross ewes. *Journal of Animal Science*, 66, 783–791.
46. Turner, K. E., Wildeus, S. & Collins, J. R.(2005). Intake, performance, and blood parameters in young goats offered high forage diets of lespedeza or alfalfa hay. *Small Ruminant Research*,59, 15–23.
47. Vercoe, E.P., Makkar, H.P.S. & Schlink , A.C. (2010b).*In Vitro* Screening of Plant Resources for Extra-Nutritional Attributes in Ruminants: Nuclear and Related Methodologies (Ed.), Screening Plants and Plant Products for Methane Inhibitors (pp. 191-232). New York: Springer.
48. Wallace, R. J., Arthaud, L. & Newbold, C. J.(1994). Influence of *Yucca schidigera* extract on rumen ammonia concentrations and rumen microorganisms. *Applied Environment Microbiology*, *60*, 1762-1767.
49. Wanapat, M., Mapato, C., Pilajun, R. & Toburan, W. (2011). Effects of vegetable oil supplementation on feed intake, rumen fermentation, growth performance, and carcass characteristic of growing swamp buffaloes. *Livestock Science*, 135, 32–37.
50. Wang, Y., McAllister, T.A., Yanke, L.J. & Cheeke, P.R. (2000). Effect of steroidal saponins from *Yucca schidigera* extract on ruminal microbes. *Journal Applied Microbial*, 88, 887–896.
51. Wolin, M.J. (1960). A theoretical rumen fermentation balance. *Journal of Dairy Science*. 43, 1452–1459.
52. Wright, A.G. & Klieve, A.V. (2011). Does the complexity of the rumen microbial ecology preclude methane mitigation?. *Animal Feed Science and Technology*, 166-167, 248-253.
53. Zlatkis, A., Zak, B., Boyle, H.J. & Mich, D.(1953). A new method for direct determination of serum cholesterol. *Journal Labratory Clinical Med.* 41, 486–492.