

مقایسه روشهای مختلف پیش بینی قابلیت هضم در گوسفند

● محمد اکبری قرائی، عضو هیات علمی دانشگاه ایلام
● یوسف روزبهان، عضو هیات علمی دانشگاه تربیت مدرس
● حسین غلامی، عضو هیات علمی موسسه تحقیقات دامپروری کشور
● سید احمد میرهادی، عضو هیات علمی موسسه تحقیقات دامپروری کشور
تاریخ دریافت: تیر ماه ۱۳۸۰ تاریخ پذیرش: شهریور ماه ۱۳۸۱

مقدمه

روشهای متعددی جهت تخمین قابلیت هضم توسط محققین ابداع و در آزمایشات به کار گرفته شده است. نتایج حاصله گاهی مطلوب و در برخی موارد متفاوت گزارش شده است.

روش معرف اکسید کروم در بعضی از آزمایشها نتایج قابل انتظار را نشان نداده و تخمین پایینی از قابلیت هضم را داشته است (۱۶، ۲۴). در آزمایشاتی با تغییر در روش اندازه گیری اکسید کروم، نتایج خوبی به دست آمده است (۷، ۲۰).

مقدار قابلیت هضم مواد خوراکی با استفاده از معرف لیگنین در اکثر آزمایشات کم تخمین زده شده ولی با این وجود به عنوان یک معرف مناسب پذیرفته شده است و هنوز هم با توجه به مقادیر مختلف لیگنین در جیرهها و همچنین اصلاح روشهای آزمایشگاهی جهت اندازه گیری لیگنین اقداماتی در حال انجام می باشد (۵، ۱۴، ۳۰).

نتایج حاصله با استفاده از معرف خاکستر نامحلول در اسید^۱ در بسیاری از آزمایشات رضایتمند می باشد (۲۵، ۲۶، ۲۹) ولی در صورت آلوده شده مدفوع و یا خوراک با گرد و غبار نوسانات زیادی در بازیافت معرف وجود دارد که عامل مهمی در کاهش صحت نتایج حاصله است (۳، ۲۷).

روشهای آزمایشگاهی نیز به دلیل تأثیر برخی عوامل نظیر مقدار خوراک مصرفی (۲۲، ۳۱)، یکسان نبودن سرعت عبور مواد خوراکی از دستگاه گوارش (۴) و اختلاف ترکیبات جیره (۱۰) بحث برانگیز می باشد. با این وجود برخی از محققین کاربرد این روش را مناسب دانسته و استفاده از آن را توصیه نموده اند (۲۳).

در مراکز مختلف تحقیقاتی و دانشگاهی کشورمان بطور گسترده ای در آزمایشهای تغذیه ای از روشهای آزمایشگاهی و معرف سنجی استفاده می گردد. در اکثر این آزمایشها مقایسه بین خوراکیها نسبتاً به نحو مطلوبی صورت می پذیرد و بدین لحاظ برتری یک خوراک نسبت به خوراک دیگری مشخص می گردد ولی صحت اندازه گیری قابلیت هضم هر کدام از خوراکیها با توجه به روش مورد استفاده (In-vivo) بستگی به درجه مطابقت آنها با نتایج بدست آمده از روش In-vivo اندازه گیری قابلیت هضم دارد. به عبارت دیگر ضرایب همبستگی

چکیده

در این تحقیق چهار جیره غذایی جهت مقایسه پنج روش تعیین قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی توسط گوسفندان نژاد زل مورد آزمایش قرار گرفت. جیرهها عبارت بودند از: ۱- یونجه خشک (به صورت مصرف اختیاری)، ۲- یونجه و دانه جو (به نسبت ۶۰ به ۴۰)، ۳- کاه گندم و دانه جو (به نسبت ۶۰ به ۴۰)، ۴- کاه گندم و دانه جو (به نسبت ۸۰ به ۲۰) که جیرههای دوم، سوم و چهارم بر اساس ۴۰ گرم ماه خشک خوراک به ازای هر کیلوگرم وزن متابولیکی دام تنظیم شد. روشهای تعیین قابلیت هضم شامل روش جمع آوری کل مدفوع، روش معرف لیگنین، روش معرف خاکستر نامحلول در اسید، روش معرف اکسید کروم و روش آزمایشگاهی تیلی و تری بود. قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی روشهای معرف لیگنین، معرف خاکستر نامحلول در اسید و آزمایشگاهی با قابلیت هضم روش جمع آوری کل مدفوع اختلاف داشت. بدین ترتیب که قابلیت هضم ماده خشک به ترتیب ذکر شده ۵۷/۵۷، ۵۱/۵۷، ۶۰/۶۰، ۵۸/۹۲، ۵۷/۵۵ درصد بوده و قابلیت هضم ماده آلی آنها ۵۴/۷۷، ۶۳/۳۰، ۵۸/۰۰ و ۵۹/۹۵ درصد بود ($p < 0.01$) ولی قابلیت هضم بدست آمده ماده خشک (۵۷/۹۹ درصد) و ماده آلی (۶۱/۱۷ درصد) به روش اکسید کروم اختلاف معنی داری با روش جمع آوری کل مدفوع نداشت ($p < 0.05$). باز یافت معرفها برای کل جیرهها در روشهای معرف لیگنین، خاکستر نامحلول در اسید و اکسید کروم به ترتیب ۸۸، ۱۱۲، ۱۰۱ درصد بود. ضرایب همبستگی (r) قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی روشهای معرف لیگنین اکسید کروم و آزمایشگاهی با روش جمع آوری کل مدفوع به ترتیب ۰/۹۹، ۰/۸۲، ۰/۹۶ و ۰/۹۶ برای ماده خشک و ۰/۹۹، ۰/۸۰، ۰/۹۷ و ۰/۹۲ برای ماده آلی بدست آمد و مشخص گردید که روشهای معرف لیگنین، اکسید کروم و روش آزمایشگاهی در مورد کل جیرهها برآورد خوبی از قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی را ارائه می دهد ولی روش خاکستر نامحلول در اسید اینچنین نمی باشد. کلمات کلیدی: قابلیت هضم، معرف، بازیافت، گوسفند

✓ Pajouhesh & Sazandegi, No 55 PP: 68-73

Comparison of different techniques for predicting digestibility in sheep

By: M. Akbari, Gherai, Dept. of Animal Science, Agriculture College Ilam University. Y. Rouzbehan, Dept. of Animal Science, Agriculture College, Tarbiat Modarres University. Gholami H. and Mirhadi S.A. Research Institute of Animal Science, Karaj.

In this study, five methods of DM and OM digestibility of four rations were compared using sixteen Zel rams. Diets were: 1- alfalfa hay (*ad libitum*), 2- alfalfa hay and barley grain (60:40), 3- wheat straw and barley grain (60:40) and 4- wheat straw and barley grain (80:20). Diets 2, 3 and 4 were each offered at the level of 40 g DM/Kg W^{0.75}. The digestibility methods which been conducted were total collection of faeces, lignin (as an internal marker), acid insoluble ash (AIA), chromic oxide and *in vitro* techniques for all rations, there were a significant different ($p < 0.01$) between the DMD and OMD of total collection method and lignin, AIA and *in vitro* techniques. However, no significant difference ($p < 0.05$) were noted between the chromic oxid method and total collection method. for all rations, the recoveries were 88, 112 and 101% For lignin. AIA and chromic oxide respectively. for all diets, a high correlation coefficient (r) was obtained between total collection method and lignin, chromic oxid and *in vitro* techniques. That is mean, lignin, chromic oxid and *in vitro* methods may be used to estimate the DMD and OMP of all ration; however AIA method can not be used to estimate the DMD and OMD of all ration.

Key Words: Digestibility, Marker, Recovery, Sheep.

بین داده‌های روش‌های مذکور با داده‌های روش In-vivo (روش جمع‌آوری کل مدفوع) بالاتر باشد صحت این داده‌ها بیشتر است.

این تحقیق سعی در مقایسه روشهای معرف سنجی اکسید کروم، لیگنین و خاکستر نامحلول در اسید و همچنین روشهای معرف سنجی انتخاب شده بیشترین کاربرد را در آزمایشات تغذیه‌ای دارند و انتخاب روش آزمایشگاهی Tilly و Terry نیز به دلیل امکان پذیر بودن اندازه‌گیری قابلیت هضم تعداد زیادی نمونه در مدت زمان کوتاه، می‌باشد. آزمایشات بایست بر روی جیره‌های مختلف که دارای ترکیبات مختلف می‌باشند انجام شود که در این تحقیق چهار جیره که کاربرد بیشتر داشته انتخاب گردید.

مواد و روشها

این آزمایش در قفس‌های انفرادی با استفاده از ۱۶ گوسفند اخته شده انجام گرفت.

جیره‌های غذایی عبارت بود از:

- ۱- یونجه خشک
- ۲- یونجه خشک و دانه جو (به نسبت ۶۰ به ۴۰)
- ۳- کلش گندم و دانه جو (به نسبت ۶۰ به ۴۰)
- ۴- کلش گندم و دانه جو (به نسبت ۸۰ به ۲۰)

برای سهولت مصرف خوراک و جلوگیری از اتلاف آن و همچنین مصرف شدن تمامی قسمت‌های خوراک یونجه و کلش گندم با استفاده از دستگاه علوفه خردکن به قطعات تقریبی ۳-۵ سانتی‌متری تبدیل و سپس استفاده می‌شود.

مقدار خوراک در مورد جیره اول بر اساس ۱۰ درصد بالای حد اشتها^۲ و در مورد جیره‌های دیگر (جیره‌های مخلوط) ۴۰ گرم ماده خشک به ازای هر کیلوگرم وزن متابولیکی (W_{0.75}) در نظر گرفته شد که با توجه به درصد اجزای جیره محاسبه و در اختیار دام قرار می‌گرفت (۱۱).

آب و یک قطعه سنگ نمک، به صورت آزاد در اختیار دامها بود. جیره‌های غذایی روزانه و در دو قسمت مساوی رأس ساعت‌های ۹/۰۰ و ۲۱/۰۰ در اختیار دامها قرار داده می‌شد.

نمونه برداری خوراک مستقیماً در طی دوره اصلی جمع‌آوری مدفوع انجام می‌گرفت، بدین نحو که در هنگام توزین روزانه خوراک دامها، مقدار درصد گرم از مدفوع در ظروف درب‌دار ریخته می‌شد. در پایان دوره پس از مخلوط نمودن و یکنواخت کردن آنها، مقدار لازم جهت تجزیه شیمیایی برداشته شد. باقیمانده خوراک موجود در آخورها نیز (در مورد جیره یونجه خشک) در مورد هر دام جداگانه جمع‌آوری و تا زمان انجام تجزیه شیمیایی در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری می‌شد (۲).

جیره‌های مخلوط به طور کامل توسط دام مصرف می‌شد و در صورت اضافه آمدن خوراک که به ندرت ملاحظه می‌شد به خوراک روز بعد اضافه می‌گشت (۱۱). جمع‌آوری مدفوع در طی دوره اصلی جمع‌آوری، برای تمام روش‌ها، هر روز ساعت ۸/۵ صبح و قبل از تغذیه انجام و سپس عمل توزین صورت می‌گرفت. بعد از توزین، مدفوع هر گوسفند به طور جداگانه به صورت کاملاً یکنواخت مخلوط می‌شد و سپس مقدار صد گرم از آن برداشته و در کیسه‌های نایلونی ریخته و تا زمان شروع

جدول شماره ۱ - درصد ماده خشک، ماده آلی و معرفهای داخلی خوراک^(۱)

جیره ها	ماده خشک	ماده آلی	لیگنین	خاکستر نامحلول در اسید
جیره یک	۹۳/۱	۹۱/۳	۹/۶	۴۷۷/٪
جیره دو	۹۲/۶۶	۹۳/۴۵	۶/۶	۶۳۷/٪
جیره سه	۹۳/۵۶	۹۲/۳۵	۹/۰۶	۴۳۱/۲
جیره چهار	۹۴/۰۳	۹۰/۸۵	۱۱/۳۸	۲/۹۵

۱- مقادیر معرفها بر حسب درصد ماده خشک می باشد

جدول شماره ۲ - قابلیت هضم ماده خشک جیره‌ها^(۱) (بر حسب درصد)

روش ها	استاندارد	لیگنین	خاکستر نامحلول در اسید	اکسید کروم آزمایشگاهی
جیره یک	۵۵/۹۶	۵۰/۵۶**	۵۰/۵۶**	۵۵/۲۰
	±۰/۶۵	±۱/۰۴	±۰/۸۳	±۰/۸۸
جیره دو	۶۶/۵۵	۶۳/۱۲**	۷۳/۷۶**	۶۸/۳۷**
	±۰/۹۸	±۰/۶۵	±۱/۲۶	±۱/۲۷
جیره سه	۵۵/۵۳	۴۸/۹۸**	۶۳/۲۰**	۵۳/۸۲**
	±۱/۱۸	±۰/۸۱	±۱/۰۱	±۰/۸۷
جیره چهار	۵۰/۱۶	۴۳/۶۴**	۵۴/۸۴**	۵۳/۳۰**
	±۰/۶۶	±۱/۳۱	±۰/۵۱	±۰/۸۷
کل جیره ها	۵۷/۰۵	۵۱/۵۷**	۶۰/۶۰**	۵۸/۹۲**
	±۶/۸۶	±۸/۲۵	±۱۰/۲۱	±۶/۷۰

۱- میانگین ± انحراف معیار. هر عدد میانگین چهار تکرار است.

(*) معنی دار در سطح پنج درصد

(**) معنی دار در سطح یک درصد

جدول شماره ۳ - قابلیت هضم ماده آلی جیره‌ها^(۱) (بر حسب درصد)

روش ها	استاندارد	لیگنین	خاکستر نامحلول در اسید	اکسید کروم آزمایشگاهی
جیره یک	۶۰/۴۸	۵۵/۶۳**	۵۵/۶۷**	۵۴/۸۳**
	±۰/۶۰	±۱/۰۱	±۰/۸۲	±۰/۴۹
جیره دو	۶۸/۸۶	۶۵/۶۸**	۷۵/۵۹**	۶۷/۱۴*
	±۱/۰۳	±۰/۷۰	±۱/۱۲	±۰/۸۳
جیره سه	۵۷/۸۳	۵۱/۶۲**	۶۵/۱۱**	۵۷/۹۹
	±۰/۸۱	±۱/۰۰	±۰/۷۹	±۱/۰۸
جیره چهار	۵۲/۶۴	۴۶/۱۵**	۵۶/۸۵**	۵۲/۰۳
	±۱/۱۶	±۱/۲۰	±۱/۰۴	±۰/۶۱
کل جیره ها	۵۹/۹۵	۵۴/۷۷**	۶۳/۳۰**	۵۸/۰۰**
	±۶/۷۷	±۸/۲۸	±۹/۲۰	±۶/۵۶

۱- میانگین ± انحراف معیار. هر عدد میانگین چهار تکرار است.

(*) معنی دار در سطح پنج درصد

(**) معنی دار در سطح یک درصد

اندازه‌گیری آزمایشگاهی در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (۹).

قبل از انجام تجزیه شیمیایی، نمونه‌های روزانه مدفوع هر گوسفند با هم مخلوط شد و مقدار ۱۰۰ گرم جهت تجزیه شیمیایی مورد استفاده قرار گرفت.

در روش‌های معرف سنجی معمولاً چند بار در روز نمونه‌برداری از مدفوع به‌صورت چنگی انجام می‌شد و برای افزایش دقت و همچنین محاسبه درصد بازیافتی معرفها، جمع‌آوری کل مدفوع نیز انجام شد.

روشهای اندازه‌گیری قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی عبارت بودند از:

۱- روش جمع‌آوری کل مدفوع (۲۱)

۲- روش استفاده از معرفی داخلی لیگنین (۹)

۳- روش استفاده از معرف داخلی خاکستر نامحلول در اسید (۳۰)

۴- روش استفاده از معرف افزودنی اکسید کروم (۷)

۵- روش آزمایشگاهی دو مرحله‌ای Terry و Tilly (۲۸) چهار روش اول آزمایش با استفاده از گوسفندان نژاد زل در قفس‌های انفرادی انجام گرفت. به‌دلیل جثه کوچک گوسفندان و امکان چرخیدن آنها در قفس، یک دیواره نرده‌ای ساخته و به‌صورت طولی در قفس نصب و آشخوار هم در کنار قفس‌ها بین دیواره قفس و دیواره نرده‌ای چسب داده شد.

دوره پیش‌آزمایش برای جیره‌های فوق‌شانزده روز در نظر گرفته شد تا ضمن تغییر تدریجی خوراک، عادت دهی و تطابق میکروفلورای شکمبه حیوان با خوراک جدید نیز انجام شود.

مدت زمان دوره اصلی جمع‌آوری هم برای آزمایشات فوق هشت روز در نظر گرفته شد.

پس از انجام مراحل آزمایش و گرفتن نمونه‌های نهایی خوراک، مدفوع و پس‌مانده خوراک و با مشخص کردن درصد ماده خشک و ماده آلی این نمونه‌ها، قابلیت هضم ظاهری ماده خشک و ماده آلی با استفاده از فرمول زیر محاسبه شدند (۲۱).

و همچنین با داشتن درصد ماده خشک، مواد آلی و درصد معرف در نمونه‌های گرفته شده از خوراک، پس‌مانده خوراک و مدفوع و با استفاده از فرمولهای ۲ و ۳ محاسبه قابلیت هضم ظاهری ماده خشک و ماده آلی صورت گرفت (۳، ۹، ۷)

در روش آزمایشگاهی Terry و Tilly از هر جیره ۲ نمونه ۵/۵ گرمی (در چهار تکرار) که با الک یک میلی‌متر آسیاب شده و در اون خشک شده باشد برداشته و در داخل ارنل مایر ۱۰۰ میلی‌لیتری قرار داده شد. چهار ارنل و بدون نمونه هم به عنوان شاهد در نظر گرفته شد که کلیه مراحل بر روی آنها نیز صورت گرفت. از هر جیره نیز ۲ نمونه خاکستری‌گیری شد و میزان ماده آلی آن مشخص گردید. پس از هضم میکروبی و آنزیمی در داخل انکوباتور توسط شیرابه شکمبه و بزاق مصنوعی (به نسبت ۱ به ۴) و همچنین اسید کلریدریک و محلول پپسین، نمونه‌ها از کاغذ صافی بدون خاکستر عبور داده شد. پس از خشک نمودن بقایای هضم و همچنین عمل خاکستری‌گیری و محاسبه ماده آلی، با استفاده از فرمولهای ۴ و ۵ قابلیت هضم ماده خشک و ماده خشک و ماده آلی بدست آمد:

طرح آماری: در این تحقیق برای تجزیه و تحلیل آماری اطلاعات از طرح کرت‌های خرد شده^۴ بر پایه طرح

کاملاً تصادفی استفاده شد که برای هر کدام از صفات قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی چهار سطح فاکتور اصلی (جیره‌ها)، پنج سطح فاکتور فرعی (روشهای اندازه‌گیری قابلیت هضم) و چهار تکرار وجود داشت. عملیات آماری با استفاده از نرم‌افزار MSTATC صورت گرفت و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون کمترین اختلاف معنی‌دار استفاده شد.

نتایج

نتایج به دست آمده در این تحقیق در جداول یک الی هشت بیان شده است.

همانطور که در جدول شماره ۱ آمده است جیره‌ها دارای مقادیر متفاوتی از معرفهای داخلی لیگنین و خاکستر نامحلول در اسید می‌باشند و جیره‌های ۱ و ۲ به ترتیب کمترین مقدار خاکستر نامحلول در اسید و لیگنین را دارا می‌باشند و جیره ۴ نیز بیشترین مقدار این دو معرف را به خود اختصاص داده است.

همانطور که در جدول فوق مشاهده می‌شود قابلیت هضم ماده خشک کل جیره‌ها در روش معرف سنجی اکسید کروم در مورد کل جیره‌ها اختلاف معنی‌داری با روش استاندارد نداشته ولی بقیه روش‌ها در سطح یک درصد دارای اختلاف معنی‌داری می‌باشند.

داده‌های جدول فوق همانند جدول شماره ۲ بوده و در مورد روش اکسید کروم اختلاف معنی‌داری در مورد کل جیره‌ها دیده نمی‌شود

میانگین بازیافت معرفها در مدفوع در جدول شماره ۴ آورده شده است. بازیافت^۵ معرف لیگنین در مورد هر چهار جیره بطور معنی‌داری از بازیافت ۱۰۰ درصد کمتر بوده ($p < 0/01$). بازیافت معرف خاکستر نامحلول در اسید در مورد جیره اول بطور معنی‌داری کمتر از بازیافت ۱۰۰ درصد و در مورد جیره‌های دوم و سوم و چهارم بیشتر از ۱۰۰ درصد بود ($p < 0/01$).

بازیافت معرف اکسید کروم در مدفوع فقط در مورد جیره سوم (در سطح پنج درصد) با بازیافت ۱۰۰ درصد اختلاف معنی‌دار داشت.

اجزاء معادله رگرسیونی ($Y = a + bx$) و ضرایب تغییرات در جداول ۵، ۶، ۷ و ۸ برای روش‌های مختلف آمده است. ضرایب همبستگی (r) قابلیت هضم ماده خشک و روش‌های معرف لیگنین، اکسید کروم و آزمایشگاهی با روش جمع‌آوری کل مدفوع به ترتیب ۰/۹۹، ۰/۸۲، ۰/۹۶ و ۰/۹۶ و قابلیت هضم ماده آلی ۰/۹۹، ۰/۸۰، ۰/۹۷ و ۰/۹۲ در مورد کل جیره‌ها می‌باشد.

بحث و نتیجه‌گیری

مقایسه میانگین‌های قابلیت هضم روش‌های استفاده شده که در جداول ۲ و ۳ آمده است نشان می‌دهد که روش لیگنین تخمین پایینی از قابلیت هضم ماده خشک و نیز قابلیت هضم ماده آلی را داشته و روش خاکستر نامحلول در اسید از تخمین بالایی در هر دو مورد قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی برخوردار است. در روش اکسید کروم و روش آزمایشگاهی Terry و Tilly مقادیر قابلیت هضم ماده خشک و همچنین قابلیت هضم ماده آلی نزدیک به روش استاندارد

می‌باشد.

نتایج این آزمایش نشان می‌دهد که اندازه‌گیری قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی با استفاده از معرف اکسید کروم به دلیل وجود بهترین ضرایب همبستگی مقادیر قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی با روش استاندارد و همچنین داشتن بهترین بازیافت معرف (جدول ۴) برآورد دقیقی از قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی واقعی را نشان می‌دهد.

در حالیکه در برخی مطالعات (۱۸، ۲۴) مقادیر قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی با استفاده از روش اکسید کروم کمتر از روش مرسوم اسپکتروفوتومتری استفاده نموده و بازیافت آن کمتر از حد واقعی بوده است در صورتیکه در این تحقیق جهت استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتری از روش اصلاح شده (روش Fenton) استفاده شده و نتایج مطلوبی نیز عاید شده است در این روش نمونه‌ها در ابتدا در داخل کوره الکتریکی با درجه حرارت ۴۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۲ ساعت قرار داده می‌شود و سپس پس از سرد شدن «محلول هضم» بر روی آنها ریخته می‌شود و همچنین با تغییرات دیگری که در روش Fenton به‌وجود آمده، توانایی شناسایی و بازیافت اکسید کروم را بسیار بهبود بخشیده است (۷).

روش تحقیق Mandell (۲۰) هم مورد استفاده قرار گرفته و دارای نتایج قابل قبولی بوده است.

در روش آزمایشگاهی از نمونه‌های دو تایی استفاده گردید و جهت حذف خطای ناشی از وجود ذرات جامد مواد غذایی و توده میکروبی میکروارگانیسم‌های موجود در مایع شکمبه چندین نمونه که تنها شامل مایع شکمبه، آنزیم پپسین و اسید کلریدریک بود بعنوان شاهد در نظر گرفته شد و در محاسبات منظور گردید.

همانطور که در جداول ۲ و ۳ بیان شده است اختلاف قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی بدست آمده از روش آزمایشگاهی با قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی روش In-vivo برای اکثر جیره‌ها معنی‌دار شده است با این وجود به دلیل ضرایب همبستگی بالایی که به‌ویژه قابلیت هضم ماده خشک روش آزمایشگاهی با روش In-vivo دارد برآوردهای دقیق‌تری با استفاده از روابط خطی مربوطه ارائه می‌دهد. در مورد عدم صحت تخمین روش آزمایشگاهی در تحقیقات گذشته گزارشاتی ارائه شده است (۱۳، ۱۷). خصوصاً در مورد جیره‌هایی که در ترکیب آن کنجاله سویا و یا مکمل‌های مورد زمان نگهداری نمونه‌ها در گرخانه با توجه به نوع علوفه، کیفیت جیره و یا ترکیب گیاه‌شناسی انجام گرفته است (۸). با این وجود بهبودی در نتایج به دست آمده دیده نشده بود. به هر حال چون در این پژوهش در جیره‌ها منابع غنی از پروتئین وجود نداشته، لذا نتایج خصوصاً در مورد قابلیت هضم ماده خشک رضایت بخش بوده است. دقت کمتر در مورد قابلیت هضم ماده آلی احتمالاً بدلیل اشکال در اندازه‌گیری خاکستر بقایای هضم می‌باشد. چون این مقدار بسیار ناچیز بوده و با توجه به حساسیت کم کروسیل‌های آزمایشگاهی برای خاکستری‌گیری مقادیر کم، تعیین ماده آلی آن از دقت لازم برخوردار نمی‌باشد.

نتایج روش معرف خاکستر نامحلول در اسید از روند خاصی تبعیت نکرده و همچنان که در جداول ۲ و ۳ آمده است میانگین قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی جیره اول نسبت به روش استاندارد کمتر و این اختلاف

جدول شماره ۴ - ضریب تغییرات بازیافت معرفها^(۱)

معرفها	لیگنین	A/A	اکسید کروم
جیره یک	۸۹/۰۹ ± ۱/۲۲	۸۹/۱۷ ± ۰/۹۶	۱۰۰ ± ۳/۸
	(۳۱)	(۱/۰۷)	(۰/۳۸)
جیره دو	۹۰/۶۸ ± ۱/۲۷	۱۲۷/۶۶ ± ۵/۳۰	۹۶/۵۹ ± ۱/۱۵
	(۱/۴۰)	(۴/۱۵)	(۱/۱۹)
جیره سه	۸۷/۱۶ ± ۳/۱۴	۱۲۰/۸۳ ± ۲/۶۳	۱۰۵/۴۳ ± ۷/۳۷
	(۳/۶۰)	(۲/۱۷)	(۶/۹۹)
جیره چهار	۸۸/۴۹ ± ۲/۸۵	۱۱۰/۳۹ ± ۱/۸۶	۱۰۴/۱۰ ± ۳/۲۳
	(۳/۱۱)	(۱/۶۸)	(۳/۱۰)
کل جیره ها	۸۸/۸۶ ± ۱/۴۶	۱۱۲/۰۱ ± ۱۶/۸	۱۰۱/۵۳ ± ۴/۰۲
	(۱/۶۴)	(۱۵/۰۰)	(۳/۹۶)

۱- میانگین ± انحراف معیار. هر عدد میانگین چهار تکرار است.

مقادیر داخل پرانتز ضرایب تغییرات می باشد (CV)

میانگین بر حسب درصد می باشد

(*) معنی دار در سطح پنج درصد

(**) معنی دار در سطح یک درصد

جدول شماره ۵ - روابط خطی بین روش لیگنین و روش استاندارد

قابلیت هضم	a	b	r	Cv(y) (درصد)
جیره یک (n=4) ماده خشک	۲۷/۳۹	۰/۵۶	۰/۹۰	۱/۱۶
ماده آلی	۲۸/۶۴	۰/۵۷	۰/۹۷*	۰/۹۹
جیره دو (n=4) ماده خشک	-۲۶/۹۱	۱/۴۸	۰/۹۷*	۱/۴۸
ماده آلی	-۲۶/۸۳	۱/۴۶	۰/۹۸*	۱/۵۰
جیره سه (n=4) ماده خشک	-۱۱/۷۶	۱/۳۷	۰/۹۵*	۲/۱۲
ماده آلی	۲۳/۵۷	۰/۶۶	۰/۸۲	۱/۴۰
جیره چهار (n=4) ماده خشک	۲۸/۳۳	۰/۵۰	۰/۹۹**	۱/۳۱
ماده آلی	۱۱/۰۳	۰/۹۰	۰/۹۳	۲/۲۰
کل جیره ها (n=16) ماده خشک	۱۴/۲۷	۰/۸۳	۰/۹۹**	۱۰/۸۴
ماده آلی	۱۵/۰۱	۰/۸۲	۰/۹۹**	۱۰/۲۰

π: تعداد جفت های مشاهده شده برای محاسبه Γ

- (*) در سطح پنج درصد معنی دار می باشد

- (*) در سطح یک درصد معنی دار می باشد

معنی دار می باشد ($p < 0/01$) ولی در مورد جیره های دوم، سوم و چهارم این مقادیر بیشتر و نسبت به روش استاندارد نیز معنی دار است ($p < 0/01$).

همچنین ضرایب همبستگی در مورد قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی این روش در سه جیره آخر با قابلیت هضم ماده خشک ماده آلی روش In-vivo رضایت بخش نیست (جدول ۶).

در این تحقیق از روش اسیدکلریدریک ۲ نرمال که در آزمایش Van keulen (۲۹) مورد بررسی و تأیید قرار گرفته استفاده شد. در آن آزمایش با توجه به جیره های مربوطه مقادیر بازیافت معرف در مدفوع مناسب گزارش شده است ولی در این آزمایش بازیافت خاکستر نامحلول در اسید سه جیره آخر اختلاف معنی داری با بازیافت صددرصد داشت (جدول پنج) و بدین جهت مقادیر قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی بیشتر از مقادیر روش استاندارد بوده علت این را می توان به آلوده بودن دانه های جو با خاک و گرد و غبار که دارای مقادیر عمدتاً سیلیس می باشند نسبت داد (در ترکیب سه جیره آخر جو وجود داشت). امکان این آلودگی در بسیاری از منابع آمده است (۳، ۲۷، ۲۹). با این وجود این روش به دلیل بالا بودن همبستگی قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی آن با قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی روش استاندارد در مورد جیره اول مناسب بوده و با استفاده از روابط خطی برآورد نسبتاً دقیقی از قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی واقعی را ارائه می دهند.

یکی از روش های مطرح معرف سنجی جهت اندازه گیری قابلیت هضم روش معرف لیگنین می باشد که محققین زیادی از جنبه های مختلف این ماده را بررسی نموده و هنوز هم به دنبال مسائل ناشناخته آن می باشند. در این تحقیق لیگنین شناسایی شده بعنوان معرف، لیگنین سولفوروی بوده که نسبت به لیگنین پرمنگنات و یا لیگنین کلاسون ارجح می باشد (۳۱). نتایج حاصله از این آزمایش (جدول دو و سه) بیانگر تخمین پایین قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی توسط روش لیگنین می باشد که البته با نتایج سایر محققین مطابقت دارد (۴، ۵، ۱۲، ۱۵). با این وجود این روش جهت برآورد قابلیت هضم قابل اعتماد بوده و این امر با استفاده از روابط خطی به دست آمده (جدول شش) که از ضریب همبستگی بالایی برخوردار می باشند عملی می باشد.

پایین بودن مقادیر قابلیت هضم در مقایسه با روش استاندارد را به بازیافت ناقص آن در مدفوع می توان نسبت داد (جدول پنج). محققین در مورد کامل نبودن بازیافت نظریات مختلف ارائه نموده اند از جمله: Allison و Osburn بر این عقیده اند که ممکن است در شکمبه در اجزای لیگنین تغییراتی پدید آید و باعث شود که لیگنین هضم گردد و یا اینکه تغییر ماهیت داده و لذا در مدفوع قابل بازیافت نخواهد بود (۱).

ولی Jung اظهار داشته که دلیل کامل نبودن بازیافت لیگنین را نمی توان به حساب هضم آن گذاشت، زیرا هیچ سیستم آنزیمی در پستانداران یا موجودات بی هوازی برای تجزیه فنولهای پلیمریزه نشده (لیگنین) شناخته نشده است (۱۲)، البته بعضی قارچها بی هوازی دارای فعالیت آنزیمی لیگنیناز هستند. و یا باکتری هایی وجود دارند که می توانند فنل های ساده را تجزیه کرده و متان تولید نمایند ولی اینها در دستگاه گوارش زندگی

- فرمول ۱- $100 \times \frac{\text{مقدار ماده دفع شده} - \text{مقدار ماده خورده شده}}{\text{مقدار ماده خورده شده}}$ = قابلیت هضم ظاهری
- فرمول ۲- $100 \times \frac{\text{درصد معرف در خوراک} - \text{درصد معرف در مدفوع}}{\text{درصد معرف در خوراک}}$ = قابلیت هضم ظاهری ماده خشک
- فرمول ۳- $100 \times \frac{\text{درصد ماده آلی در مدفوع} \times \text{درصد معرف در خوراک} - \text{درصد ماده آلی در خوراک} \times \text{درصد معرف در مدفوع}}{\text{درصد ماده آلی در خوراک}}$ = قابلیت هضم ظاهری ماده آلی
- فرمول ۴- $100 \times \frac{\text{وزن خشک بقایای هضم شاهد} - \text{وزن خشک بقایای هضم نمونه}}{\text{وزن نمونه اولیه}}$ = قابلیت هضم ماده خشک (وزن نمونه اولیه)
- فرمول ۵- $100 \times \frac{\text{وزن آلی بقایای هضم شاهد} - \text{وزن آلی بقایای هضم نمونه}}{\text{وزن ماده آلی نمونه اولیه}}$ = قابلیت هضم ماده آلی (وزن ماده آلی نمونه اولیه)

- 16- Langlands, J.P. J.L. Corbett, I. McDonald and G.W. Reid., 1963. Estimation of the faces output of grazing animals from the concentrations of chromium oxide in a sample of faces. *Brit. J. Nutr.* 17: 219.
- 17- Langlands, J. P., 1975. Techniques for estimating intake and its utilization by the grazing ruminant. in: I. W. McDonald and A. C.I. Warner (Ed). *Digestion and Metabolism in the ruminant.* University of New England, publishing unit, Armidale, NSW, Australia.
- 18- Lassiter, J. A., V. Allgood and C.H. Mc Gaughey., 1966. Chromic oxide as an index of digestibility of all concentrations for sheep. *J. anim. Sci.* 25:44.
- 19- Lippke, H., W.C. Ellis and B.F. Jacobs., 1986. Recovery of indigestible fiber from feces of sheep and cattle on forage diets. *J. Dairy Sci.* 69: 403.
- 20- Mandell, I. B., G.I. Christison and H.H. Nicholson., 1987. Effect of collection interval on nutrient digestion determined within the gastrointestinal tract of beef cattle. *Can. J. Anim. Sci.* 67: 1149.
- 21- McDonald, P., R.A. Edwards, J. F.D. Greenhalgh and C.A. Morgan., 1996. *Animal Nutrition*; Produced by Longman Singapore Publishers (Pte) Ltd.
- 22- Mehrez, A.Z., M.M. Shinnawy, M. A. Ashry and H.M. Ead., 1983. Assessment of the associative effect of roughages and concentrates. *J. Anim. Sci.* 57 (suppl.1): 452(Abstr).
- 23- Navaratne, H.V.R.G., M.N.M. Ibrahim and J.B. Schiere., 1990. Comparison of four techniques for predicting digestibility of tropical feeds., *Anim. feed Sci. Technol.* 29: 209.
- 24- Prigge, E. C., G.A. Varga, J. L. Vicini and R.L. Reid., 1981. Comparison of utterbium chloride and chromium sesquioxide as faecal indicators. *J. Anim Sci.* 53: 1629.
- 25- Shirvastava, V. S. and S.K. Talaparta., 1962a. Use of some natural indicators to determine the plane of nutrition of a grazing animal. *Indian. J. Dairy Sci.* 15:154.
- Wallace and M.L. Galyean. 1986. Predicting digestibility of different diets with internal markers: Evaluation of four potential markers. *J. Anim. Sci.* 63:1476.
- 5- Cochran, R. C., E. S. Vanzant and T.L. DelCurto., 1988. Evaluation of internal markers isolated by alkaline hydrogen peroxide incubation and acid detergent lignin extraction. *J. Anim. Sci* 66:3245.
- 6 - Ellis, W. C., 1978. Determinants of grazed forage intake and digestibility. *J. Dairy Sci* 61:1828.
- 7- Fenton, T.W. and M. M. Fenton., 1979. An improved procedure for the determination of chromic oxide in feed and feces. *Can. J. Anim Sci* 59:631.
- 8- Galyean, M. L., L.J. Krysl and R.E. Estell., 1987. Marker based approaches for estimation of fecal output digestibility in ruminants *Agric. Exp. Sta. Mp.* 121: 96.
- 9- Harris, L. E. 1970. *Nutrition research techniques for domestic and wild animals.*, VOL. 1, Utah State university. U.S.A.
- 10 - Holechek, J. L., H. Wofford, D. Arthum, M.L. Galyean and J.D. Wallace., 1986. Evaluation of total fecal collection for measuring forage intake. *J. Range Manage.* 39:2.
- 11- Jarrige, R., 1989. *Ruminant nutrition*, INRA, Paris. France.
- 12- Jung, H. G. and G.C. Fehet., 1983. Nutritional implications of phenolic monomers and lignin: A review. *J, anim. Sci.* 206.
- 13- Kartchner, R. J. and C.M. Campbell., 1979. Intake and digestibility of rang forage consumed by livestock Montana *Agric. Exp. Sta. Bull.* 718.
- 14- Kotb, A. R. and T.D. Luckey., 1972. Markers in nutrition. *Nutr. Abstr. Rev.* 42:28.
- 15- Krysl, L. J., M. L. Galyean. R. E, Estell and B.F. Sowell., 1988. Estimating digestibility and fecal output in lambs using internal and external markers. *J. Agric. Sci.* 111:19.
- نمی‌کنند (۳۱).
Lippke معتقد است که بازیافت لیگنین با اندازه ذرات خوراک و مدفوع خرد شده جهت تجزیه شیمیایی در ارتباط می‌باشد (۱۹).
استفاده از اندازه‌های متفاوت آسیاب جهت نمونه‌های مدفوع و خوراک هنوز نیاز به تحقیقات بیشتری دارد، زیرا با توجه به اندازه‌های مختلف نمونه‌ها از جمله یک میلی‌متر (۴، ۵) و ۲ میلی‌متر (۱۵) هم نتایج نامطلوبی به همراه داشته و بازیافت کامل فقط در بعضی از آزمایشات گزارش شده است.
به هر حال در این آزمایش هم بازیافت لیگنین کامل نبوده است با این وجود همانند اکثر آزمایش‌های انجام شده در گذشته این روش قابل اعتماد بوده و با استفاده از روابط خطی مربوطه برآورد خوبی را می‌توان ارائه کرد.
به طور کلی می‌توان نتیجه گرفت که روش اکسید کروم برای برآورد قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی واقعی هر چهار جیره آزمایشی مناسب بوده است. همچنین با توجه به اینکه در جیره‌ها مقادیر متغیری لیگنین (از ۶/۶ تا ۱۱/۳۸ درصد) وجود داشت با این وجود در مورد تمامی جیره‌های آزمایشی قابل اطمینان بوده و مورد تایید می‌باشد.
روش آزمایشگاهی هم در مورد تخمین قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی مناسب بوده و ضرایب همبستگی بالایی نیز با روش *in-vivo* داشته است. در روش خاکستر غیر محلول در اسید برای جیره‌هایی که در ترکیب آنها جو وجود داشت، نتایج مطلوبی بدست نیامد. بنابراین در انتخاب روش مناسب برای هر جیره باید دقت نمود و از بکار گرفتن یک روش برای تمامی جیره‌ها اجتناب نمود.

پاورقی‌ها

- 1- Acid insoluble ash
- 2- Ad libitum
- 3- Garb sample
- 4- Split-plot design
- 5- Recovery

منابع مورد استفاده

- 1 - Allinson, D. W and D.F Osbourn., 1970. The cellulose lignin complex in forages and its relationship to forage nutritive value. *J. Agric. Sci. (Camb).* 74:23.
- 2 - Banerije. G. C., 1986. *A text book of animal husbandry.*, Oxford & IBH publication. U.K.
- 3- Block. E.L.H. Kilmer and L.d. Muller, 1981. Acid in soluble ash as a marker of digestibility for sheep fed corn plants or hay and for lactating dairy cattle fed hay adlibitum. *J. Anim. Sci.* 52:1164.
- 4 - Cochran. R.C., D.C. Adams. J.D,

26- Shirvastava, V. S. and S. K. Talaparta., 1962b. Determination of pasture consumption by grazing animal. Indian. J. Dairy Sci. 15:161.

27- Thonney, M. L., D.J. Duhaime, P. W, Moe and J. T. Reid., 1979. Acid insoluble ash permanganate lignin as indicators to determine digestibility of cattle rations J. Anim. Sci. 49:1112.

28- Tilly, J. M. A. and R.R. Terry., 1963. A two stage technique for in vitro digestion of forage crops. J. Br. Grassl. Soc. 18: 104.

29- VanKeulen, J. and B. A., young., 1977. Evaluation of acid-insoluble ash as a natural marker in ruminant digestibility studies. J. Anim. Sci. 44: 282.

30- VanSoest, P. J. and B.H. Wine. 1968. Determination of lignin and cellulose in acid - detergent fiber with permanganate. J. Assoc. Off. Agr. Chem. 51: 780.

31- VanSoest, P. J., 1994. Nutritional Ecology of the ruminant Comstock, cornell Univ. Press. Ithaca, NY.

جدول شماره ۶- روابط خطی بین روش AIA و روش استاندارد

قابلیت هضم	a	b	r	Cv(y) درصد
جیره یک (n=4) ماده خشک	۲۱/۳۴	۰/۶۸	۰/۸۷	۱/۱۶
ماده آلی	۲۴/۱۹	۰/۶۵	۰/۹۰	۰/۹۹
جیره دو (n=4) ماده خشک	۲۰/۷۸	۰/۶۲	۰/۸۰	۱/۴۸
ماده آلی	۱۱/۲۵	۰/۷۶	۰/۸۳	۱/۵۰
جیره سه (n=4) ماده خشک	-۱۰/۳۳	۱/۰۴	۰/۸۹	۲/۱۲
ماده آلی	-۶/۱۹	۰/۹۸	۰/۹۵*	۱/۴۰
جیره چهار (n=4) ماده خشک	-۶/۰۹	۱/۰۳	۰/۸۰	۱/۳۱
ماده آلی	-۶/۰۱	۱/۰۳	۰/۹۳	۲/۲۰
کل جیره ها (n=16) ماده خشک	۲۳/۷۰	۰/۵۵	۰/۸۲**	۱۰/۸۴
ماده آلی (n)	۲۲/۶۹	۰/۵۹	۰/۸۰**	۱۰/۲۰

- n: تعداد جفت های مشاهده شده برای محاسبه r

- (*) در سطح پنج درصد معنی دار می باشد

- (*) در سطح یک درصد معنی دار می باشد

جدول ۷- روابط خطی بین روش اکسید کروم و روش استاندارد

قابلیت هضم	a	b	r	Cv(y) درصد
جیره یک (n=4) ماده خشک	۱۸/۰۳	۰/۶۸	۰/۸۹	۱/۱۶
ماده آلی	۱۷/۶۹	۰/۷۱	۰/۹۶*	۰/۹۹
جیره دو (n=4) ماده خشک	۱۸/۰۱	۰/۷۴	۰/۸۲	۱/۴۸
ماده آلی	۲۳/۳۸	۰/۶۵	۰/۸۲	۱/۵۰
جیره سه (n=4) ماده خشک	۲۳/۹۴	۰/۵۴	۰/۹۹**	۲/۱۲
ماده آلی	۳۴/۰۹	۰/۳۹	۰/۹۸*	۱/۴۰
جیره چهار (n=4) ماده خشک	۳۹/۳۸	۰/۲۰	۰/۶۲	۱/۳۱
ماده آلی	۱۸/۹۲	۰/۶۱	۰/۹۵*	۲/۲۰
کل جیره ها (n=16) ماده خشک	-۷/۷۵	۱/۱۲	۰/۹۶**	۱۰/۸۴
ماده آلی (n)	-۳/۸۸	۱/۰۴	۰/۹۷**	۱۰/۲۰

- n: تعداد جفت های مشاهده شده برای محاسبه r

- (*) در سطح پنج درصد معنی دار می باشد

- (*) در سطح یک درصد معنی دار می باشد

جدول ۸ روابط خطی بین روش آزمایشگاهی و روش استاندارد

قابلیت هضم	a	b	r	Cv(y) درصد
جیره یک (n=4) ماده خشک	۲۲/۲۸	۰/۶۱	۰/۸۳	۱/۱۶
ماده آلی	-۶/۴۷	۱/۲۲	۰/۹۹**	۰/۹۹
جیره دو (n=4) ماده خشک	۱۴/۲۵	۰/۷۶	۰/۹۹**	۱/۴۸
ماده آلی	-۱۰/۰۸	۱/۱۸	۰/۹۴	۱/۵۰
جیره سه (n=4) ماده خشک	-۹/۶۲	۱/۱۱	۰/۹۳	۲/۱۲
ماده آلی	۲۳/۳۶	۰/۵۹	۰/۷۹	۱/۴۰
جیره چهار (n=4) ماده خشک	۱۱/۷۰	۰/۷۲	۰/۹۵*	۱/۳۱
ماده آلی	-۴۰/۸۶	۱/۸۰	۰/۹۴	۲/۲۰
کل جیره ها (n=16) ماده خشک	-۰/۷۴	۰/۹۸	۰/۹۶**	۱۰/۸۴
ماده آلی (n)	۴/۵۴	۰/۹۵	۰/۹۲**	۱۰/۲۰

- n: تعداد جفت های مشاهده شده برای محاسبه r

- (*) در سطح پنج درصد معنی دار می باشد

- (*) در سطح یک درصد معنی دار می باشد