مجله علوم دامی ایران
دوره ۴۲، شماره ۱، ۱۳۹۰ (۹۳-۸۵)

ارزشیابی تغذیه‌ای علوفه ماشک، خلر و گاودانه به روش‌های شیمیایی و آزمون گاز

وحیده رزم آذر[۱]*، نورمحمد تربتی نژاد[۲]، جمال سیف دواتی[۳] و سعید حسنی[۴]
۱، ۲، ۴، دانشجوی کارشناسی ارشد، استاد و استادیار دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
۳، مربی دانشکده کشاورزی دانشگاه محقق اردبیلی
(تاریخ دریافت: ۸۹/۳/۱۷ - تاریخ تصویب: ۸۹/۱۱/۲۰)

چکیده

در این تحقیق ترکیبات شیمیایی، قابلیت هضم و قابلیت تولید گاز علوفه ماشک (*Vicia sativa*)، خلر (*Lathyrus sativus*) و گاودانه (*Vicia ervilia*) استان اردبیل مورد مطالعه قرار گرفتند. نمونه‌های آزمایشی دارای پروتئین خام ۱۹/۰۵-۱۴/۹۹ درصد، خاکستر خام ۱۳/۵۴-۱۱/۷۰ درصد، ADF ۳۲/۶۶-۲۹/۴۶ درصد، کلسیم ۰/۸۲۷-۱/۱۱۱ درصد، فسفر ۰/۰۳-۰/۰۶ درصد و قابلیت هضم ماده خشک ۶۱/۴۶- ۵۶/۶۰ درصد بودند. میزان گاز تولیدی پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون علوفه گاودانه، خلر و ماشک به ترتیب ۴۷/۵۷، ۴۳/۱۴، ۴۱/۰۳ میلی‌لیتر در ۲۰۰ میلی‌گرم نمونه بود و علف گاودانه بیشترین گاز تولیدی را نسبت به سایر مواد خوراکی داشت (P<۰/۰۰۱). در علف گاودانه میزان پتانسیل گاز تولیدی (۵۲/۲۳ میلی‌لیتر)، نرخ تولید گاز (۰/۱۳۳ میلی‌لیتر بر ساعت)، اسیدهای چرب کوتاه زنجیر (۱/۰۵۵ میلی‌مول) و انرژی قابل متابولیسم (۹/۶۶ مگاژول بر کیلوگرم) بطور معنی‌داری بیشتر از علف خلر (به ترتیب ۴۸/۲۹ میلی‌لیتر، ۰/۱۰۴ میلی‌لیتر بر ساعت، ۰/۹۵۷ میلی‌مول و ۸/۹۷ مگاژول بر کیلوگرم) و علف ماشک (به ترتیب ۴۴/۸۸ میلی‌لیتر، ۰/۱۰۶ میلی‌لیتر بر ساعت، ۰/۹۱ میلی‌مول و ۸/۶۴ مگاژول بر کیلوگرم) بود (P<۰/۰۵). با توجه به ترکیب شیمیایی مختلف علوفه مورد آزمایش، مقادیر قابلیت هضم، تجزیه‌پذیری، تولید گاز و انرژی قابل متابولیسم آنها متفاوت بودند، بطوری که بر فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری اثر معنی‌دار داشتند.

واژه‌های کلیدی: ارزش غذایی، علوفه بقولات، استان اردبیل.

مقدمه

علوفه جزء مهمی از جیره نشخوارکنندگان را تشکیل می‌دهد. خانواده بقولات از مهمترین منابع علوفه‌ای تأمین‌کننده مواد مغذی می‌باشند (Navid shad & Jafarisayyadi, 2000). در سال‌های اخیر توجه به گیاهان تیره بقولات به دلیل ارزش غذایی بالا و دوره رشد کوتاه و نیاز به رسیدگی کم، از طرف کشاورزان، دامپروران، و کارخانه‌های تولید خوراک دام و حتی اصلاحگران نباتات در اکثر کشورهای جهان افزایش یافته است.گونه‌های مختلف خلر، ماشک و گاودانه در اکثر نقاط جهان با آب و هوای معتدل مرطوب و سرد به عنوان یک منبع پروتئینی گیاهی جهت استفاده در تغذیه دام کشت می‌شوند (Rotger et al, 2006; White et al., 2002). به دلیل عدم شناخت کافی از ارزش غذایی این گیاهان در تغذیه دام کشور به طور محدود مورد استفاده قرار می‌گیرند. در حالی که میزان پروتئین

* نویسنده مسئول: وحیده رزم آذر تلفن: ۰۹۱۴-۳۵۵۸۷۷۴ E-mail:razmazar_v@yahoo.com

خام علف ماشک ۲۲/۹-۱۸/۶ درصد، علف خلر ۱۸/۲-۱۴/۷ درصد و کاه گاودانه ۸/۹ درصد و میزانADF کاه گاودانه و علف خلر به ترتیب ۲۸/۲ و ۳۶/۳ درصد گزارش شده است (Neumark, 1970; Hadda & Husein, 2001; Poland et al., 2003). عوامل متعددی مانند مرحله رسیدگی، گونه و واریته، حاصلخیزی و خصوصیات خاک، اقلیم، شرایط آب و هوایی، نسبت برگ به ساقه و بر ترکیب مواد مغذی مواد خوراکی تأثیر می‌گذارند (Ammar et al, 2004). با توجه به عوامل موثر بر کیفیت و ارزش مواد خوراکی، تراکم مواد مغذی می‌تواند تغییرات زیادی داشته باشد. لذا تهیه جداول ترکیب شیمیایی مواد خوراکی دام برای هر کشور و حتی هر منطقه ضرورتی انکار ناپذیر است زیرا تنها در این صورت است که می‌توان جیره‌های غذایی متوازن را بر اساس جداول ترکیب شیمیایی و ارزش بیولوژیکی خوراک دام هر منطقه تنظیم نمود. از طرفی برای استفاده بهتر و مطمئن‌تر از این منابع خوراکی آنها باید مورد ارزیابی تغذیه‌ای قرار گیرند. اگرچه عملکرد حیوان بهترین شاخص کیفیت بوده و روش استفاده از حیوان زنده دقیق‌تر و واقعی‌تر بوده و به عنوان روش مرجع معرفی شده است، اما برای تحقیقات پایه آزمایش های دامی نسبتاً گران و پرزحمت بوده، به حیوان آسیب می‌رساند و مستلزم صرف وقت و هزینه زیادی است. در این راستا روش‌های آزمایشگاهی که ضمن سادگی و کم‌هزینه بودن، از تکرارپذیری و دقت بالایی برخوردار است، مورد توجه قرار گرفته‌اند (Danesh mesgaran, 2009; Torbatinejad et al., 2009). با توجه به موارد فوق هدف از این تحقیق تعیین و مقایسه ترکیبات شیمیایی، قابلیت هضم آزمایشگاهی، میزان گاز تولیدی و همچنین تخمین میزان انرژی قابل متابولیسم و اسیدهای چرب فرار علوفه ماشک، خلر و گاودانه استان اردبیل در مرحله گلدهی کامل بوده است.

مواد و روش‌ها

محل آزمایش و تهیه نمونه: ترکیبات شیمیایی مواد خوراکی مورد آزمایش در آزمایشگاههای تغذیه دام دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، آزمایش تعیین قابلیت هضم به روش تلی و تری در دانشگاه محقق اردبیلی شهرستان اردبیل و آزمایش تولید گاز در موسسه تحقیقات علوم دامی کشور شهرستان کرج انجام شد.

دانه ماشک، خلر و گاودانه از گیاهان کشت شده در استان اردبیل به مقدار کافی تهیه شد. مقداری از آنها جهت تهیه علوفه در تاریخ پنجم اردیبهشت ماه سال ۱۳۸۷ در مزرعه شماره یک دانشگاه محقق اردبیلی کشت شد. گیاهان مربوطه در ۲۲ مرداد ماه همان سال در مرحله گلدهی کامل برداشت و در آزمایشگاه خشک شد.

روش‌های اندازه‌گیری

تجزیه شیمیایی: تعیین ترکیبات شیمیایی خوراک آزمایشی شامل ماده خشک، خاکستر خام، پروتئین خام، چربی خام، کلسیم و فسفر با روش‌های AOAC (2005) و میزان ADF و NDF با روش Van Soest (1994) انجام شد.

تعیین قابلیت هضم به روش تلی و تری: تعیین قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی، ماده آلی در ماده خشک در ۳ تکرار برای هر نمونه با استفاده از مایع شکمبه، اسید کلریدریک و پپسین طبق روش Tilley & Terry (1963) انجام شد. برای این منظور مایع شکمبه از دو رأس گاو بومی منطقه اردبیل قبل از تغذیه صبح گرفته شد و پس از صاف کردن با پارچه چند لایه (پارچه پنیر سازی)، به نسبت ۱ به ۴ با بزاق مصنوعی مخلوط شد. ۰/۵ گرم نمونه خشک در محلول فوق به مدت ۴۸ ساعت در شرایط بی‌هوازی و دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد انکوباسیون گردید و سپس به مدت ۴۸ ساعت دیگر در دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد در معرض اسید کلریدیریک و پپسین تحت هضم قرار گرفت. سپس نمونه‌ها با کاغذ صافی واتمن ۴۲ بدون خاکستر صاف، خشک و وزن شدند. ماده آلی مواد باقی‌مانده با قرار دادن در کوره با دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴ ساعت و تعیین خاکستر، اندازه‌گیری شد. قابلیت هضم ماده خشک، ماده آلی و ماده آلی در ماده خشک با فرمول قابلیت هضم تعیین شد.

اندازه‌گیری میزان گاز تولیدی در شرایط آزمایشگاهی: به منظور اندازه‌گیری تولید گاز از روش Menke et al. (1979) استفاده شد. ابتدا مقدار (۲±)

۲۱۳ میلی‌گرم از هر نمونه بعد از آسیاب با شبکه یک میلی‌متری در داخل سرنگ مخصوص قرار داده شد. برای هر نمونه ماده خوراکی ۳ تکرار (سرنگ) در نظر گرفته شد. شیرابه شکمبه حدود یک ساعت قبل از تغذیه صبح، از سه رأس گاو تالشی فیستوله‌دار که در شرایط مزرعه تحقیقاتی با جیره یونجه خشک، کاه گندم و کنسانتره در سطح احتیاجات نگهداری تغذیه می‌شدند، از طریق فیستول جمع‌آوری و صاف گردیده و در فلاسک محتوی گاز کربنیک ریخته شد و با قرار دادن ظرف حاوی مایع شکمبه در آب گرم ۳۹ درجه سانتی‌گراد به آزمایشگاه منتقل شد. مایع شکمبه صاف شده و تازه و بزاق مصنوعی تهیه شده مطابق روش Menke et al. (1979) و روش تصحیح شده Menke & Steingass (1987) به نسبت‌های ۱ (مایع شکمبه) به ۲ (محیط کشت) با هم مخلوط شد در حالی که جریان گاز کربنیک به داخل مخلوط ادامه داشت، با استفاده از پیپت مخصوص مقدار ۳۰ میلی‌لیتر از مخلوط مایع شکمبه و محیط کشت در داخل هر سرنگ حاوی نمونه ریخته و سپس سرنگ‌ها در دستگاه انکوباتور (۳۹ درجه سانتی‌گراد) که با سرعت یک دور در دقیقه برای مخلوط کردن مداوم محتویات سرنگ‌ها می‌چرخید، قرار داده شد. برای حذف خطای ناشی از گاز تولیدی در اثر عمل میکروارگانیسم‌ها روی مواد خوراکی موجود در مایع شکمبه از نمونه‌های شاهد (بدون اضافه کردن ماده خوراکی فقط ۳۰ میلی‌لیتر از مخلوط مایع شکمبه و بزاق مصنوعی) استفاده شد. برای هر ۳ تکرار یک عدد سرنگ شاهد قرار داده شد و روی آنها بعداً گاز تولیدی سرنگ‌های اصلی حاوی نمونه خوراکی تصحیح گردید. در زمان‌های ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۲، ۲۴، ۴۸، ۷۲، ۹۶ ساعت پس از قرار دادن سرنگ‌ها در انکوباتور، موقعیت پیستون و میزان گاز تولیدی قرائت و ثبت گردید. حجم گاز تولیدی بر اساس وزن نمونه خوراک در هر زمان با استفاده از رابطه $V=(200\times(Vt-Vb))/W$ تصحیح گردید که در این رابطه Menke & Steingass (1987)، V حجم گاز تصحیح شده (میلی‌لیتر) به ازای ۲۰۰ میلی‌گرم ماده خشک نمونه خوراک، Vt حجم گاز تولیدی در سرنگ‌های حاوی نمونه خوراک (میلی‌لیتر)، Vb حجم گاز تولیدی در سرنگ‌های فاقد نمونه خوراک (میلی‌لیتر)، W وزن ماده خشک نمونه خوراک (میلی‌گرم) می‌باشد.

مقدار اسیدهای چرب زنجیره کوتاه (Getachew et al., 2000; Blummel et al., 1993) و قابلیت هضم ماده خشک، ماده آلی در ماده خشک، و انرژی قابل متابولیسم (Makkar, 1995; Menke et al., 1979) با استفاده از رابطه‌های مربوطه برآورد شد. فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری مواد خوراکی داده‌های حاصل از قرائت تولید گاز با استفاده از معادله Orskov & McDonald (1979) و نرم‌افزار Neway و fitcurve مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

روش آماری و تجزیه تحلیل داده‌ها: داده‌های حاصل از آزمون تولید گاز به روش اندازه‌گیری‌های مکرر با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS رویه Mixed تجزیه و تحلیل شدند. مقایسه میانگین آنها به روش حداقل تفاوت معنی‌دار (LSMEAN) انجام شد. سایر داده‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی مورد بررسی قرار گرفتند و مقایسه میانگین آنها با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

نتایج و بحث

ترکیبات شیمیایی مواد خوراکی مورد آزمایش در جدول ۱ آورده شده است. بیشترین مقدار خاکسترخام و NDF به ترتیب با میزان ۱۳/۵۴٪، ۴۴/۲۸٪ برای علف خلر حاصل شد. علف گاودانه با ۱۹/۰۵٪ پروتئین خام بیشترین مقدار را در مقایسه با علف ماشک (۱۷/۵٪) و علف خلر (۱۴/۹۹٪) داشت. علف ماشک با میزان ۱/۱۱۱٪ کلسیم و علف ماشک با ۰/۰۶ ٪ فسفر بیشترین مقدار کلسیم و فسفر را نسبت به دیگر مواد خوراکی داشتند. میزان پروتئین خام علف گاودانه در این تحقیق مشابه با نتایج Khachatur (2006)، ۱۸/۶٪، می‌باشد. Neumark (1970) ترکیبات شیمیایی گیاه خلر را در چهار مرحله اواخر جوانه‌زنی، اوایل گلدهی، اواسط گلدهی و علوفه خشک شده مورد بررسی قرار داده است که میزان پروتئین خام، خاکسترخام آن در اوایل گلدهی با نتایج این آزمایش هماهنگ می‌باشد. بین میزان پروتئین خام و کلسیم علف ماشک این آزمایش با گزارش Neumark (1970) به ترتیب با ۱۹/۲٪ و ۱/۱۱٪

با توجه به شرایط اقلیمی متفاوت تفاوت قابل توجهی وجود ندارد. Poland et al. (2003) میزان ماده خشک، پروتئین خام، ADF و NDF علوفه خلر را به ترتیب ۸۷/۴، ۱۸/۲، ۳۶/۳ و ۴۸/۶ درصد گزارش کردند که میزان پروتئین خام بیشتر از نتایج آزمایش حاضر می‌باشد. این اختلاف احتمالاً می‌تواند ناشی از تفاوت‌های اقلیمی، نوع خاک کشاورزی و عملیات کشاورزی (کوددهی) باشد زیرا کیفیت علوفه و ارزش غذایی آنها با توجه به عواملی از جمله ترکیب گونه‌ای، سن گیاه، اقلیم و شرایط خاک تحت تأثیر قرار می‌گیرد (Paya et al., 2007).

نتایج قابلیت هضم و میزان انرژی حاصل از آزمایش تلی و تری در جدول ۲ گزارش شده است. میزان قابلیت هضم ماده خشک، ماده آلی، ماده آلی در ماده خشک (درصد)، انرژی خام، انرژی قابل هضم و انرژی قابل متابولیسم (مگاژول بر کیلوگرم) در علف گاودانه به ترتیب؛ با مقادیر ۶۱/۴۶، ۵۸/۱۹، ۵۱/۲۳، ۱۴/۱۴، ۹/۷۳ و ۸/۰۴ نسبت به دیگر مواد خوراکی بالاتر بود با این وجود فقط میزان انرژی خام آنها با هم اختلاف معنی‌داری (P<۰/۰۵) را نشان داد. میزان قابلیت هضم ماده آلی علوفه ماشک در این آزمایش نزدیک به نتایج Khachatur (2006) می‌باشد که میزان قابلیت هضم ماده خشک ماشک مراتع منطقه قفقاز (در مرحله گلدهی، با پروتئین خام حدود ۱۸/۶٪) را حدود ۶۱/۸ درصد برآورد کرده بود. تفاوت در قابلیت هضم و میزان انرژی ماده خوراکی می‌تواند ناشی از تفاوت در ترکیبات شیمیایی آنها باشد (Tefera et al., 2007; Paya et al., 2007).

داده‌های مربوط به تولید گاز حاصل از تخمیر علوفه ماشک، خلر و گاودانه در زمان‌های ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۲، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت در جدول ۳ درج شده است. مقایسه میزان گاز تولیدی (میلی‌لیتر به ازای ۲۰۰ میلی‌گرم ماده خشک) نشان‌دهنده تولید بیشتر گاز در اثر انکوباسیون علف گاودانه در مقایسه با علف ماشک و علف خلر می‌باشد (شکل۱).

در ساعات ۴، ۶، ۸ و ۱۲ علوفه گاودانه به طور معنی‌داری نسبت به علوفه ماشک و علوفه خلر گاز بیشتری را تولید کرده است (P<۰/۰۰۱). به‌طوری که در ۴ ساعت پس از انکوباسیون به‌طور متوسط ۱۸/۴۸ میلی‌لیتر گاز از تخمیر علف گاودانه حاصل شد در صورتی که در همین مدت گاز حاصل از علف ماشک ۱۴/۸۹ و در علف خلر ۱۶ میلی‌لیتر بود (P<۰/۰۰۱).

جدول ۱- ماده خشک و ترکیبات شیمیایی علوفه ماشک، خلر و گاودانه (درصد در ماده خشک)

ماده خوراکی	ماده خشک	خاکستر خام	پروتئین خام	چربی خام	ADF	NDF	کلسیم	فسفر
علف ماشک	۲۹/۲۲[a]	۱۳/۲۴[a]	۱۷/۵۰[b]	۱/۰۰[a]	۳۲/۶۶[a]	۴۳/۱۷[a]	۱/۱۱۱[a]	۰/۰۶۰[a]
	±۰/۵۲	±۰/۱۵	±۰/۳۹	± ۰/۱۴	±۰/۷۵	±۱/۰۶	±۰/۰۰۱	±۰/۰۰۵
علف خلر	۲۶/۷۷[b]	۱۳ /۵۴[a]	۱۴/۹۹[c]	۱/۰۰[a]	۳۱/۵ [a]	۴۴/۲۸[a]	۰/۹۳۶[b]	۰/۰۴[b]
	±۰/۲۰	±۰/۱۷	±۰/۳۱	±۰/۲۶	±۰/۱۴	±۲/۰۰	±۰/۰۰۶	±۰/۰۰۶
علف گاودانه	۲۰/۰۵[c]	۱۱/۷۰[b]	۱۹/۰۵[a]	۱/۲۵ [a]	۲۹/۴۶[b]	۳۹/۷۲ [a]	۰/۸۲۷[c]	۰/۰۳۰[b]
	± ۰/۳۹	± ۰/۲۴	±۰/۱۶	± ۰/۳۸	± ۰/۴۷	±۱/۳۱	±۰/۰۰۳	± ۰/۰۰۲

حروف غیر مشابه در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار می‌باشد (P<۰/۰۵).

جدول ۲- قابلیت هضم (درصد) به روش تلی و تری و میزان انرژی (مگاژول بر کیلوگرم) علوفه ماشک، خلر و گاودانه

ماده خوراکی	قابلیت هضم ماده خشک	قابلیت هضم ماده آلی	قابلیت هضم ماده آلی در ماده خشک	انرژی خام	انرژی قابل هضم	انرژی قابل متابولیسم
علف ماشک	۵۸/۰۶ [a]	۵۵/۴۲ [a]	۴۹/۹۳ [a]	۱۴/۳۷[a]	۹/۴۸ [a]	۷/۸۴ [a]
	±۱/۶۱	± ۲/۴۸	± ۳/۷۰	± ۰/۱۰	± ۰/۷۰	±۰/۵۸
علف خلر	۵۶/۶۰ [a]	۵۶/۸۳ [a]	۵۰/۰۷ [a]	۱۴/۷۸[a]	۹/۵۱[a]	۷/۸۶ [a]
	±۰/۸۱	±۱/۲۱	±۰/۸۴	±۰/۰۳	± ۰/۱۶	±۰/۱۳
علف گاودانه	۶۱/۴۶ [a]	۵۸/۱۹[a]	۵۱/۲۳ [a]	۱۴/۱۴[b]	۹/۷۳[a]	۸/۰۴ [a]
	±۰/۷۵	±۰/۷۸	±۰/۸۳	±۰/۱۲	± ۰/۱۶	±۰/۱۳

حروف غیرمشابه در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار می‌باشد (P<۰/۰۵).

جدول ۳- میانگین حداقل مربعات و خطای استاندارد گاز تولیدی (میلی لیتر) علوفه ماشک، خلر و گاودانه

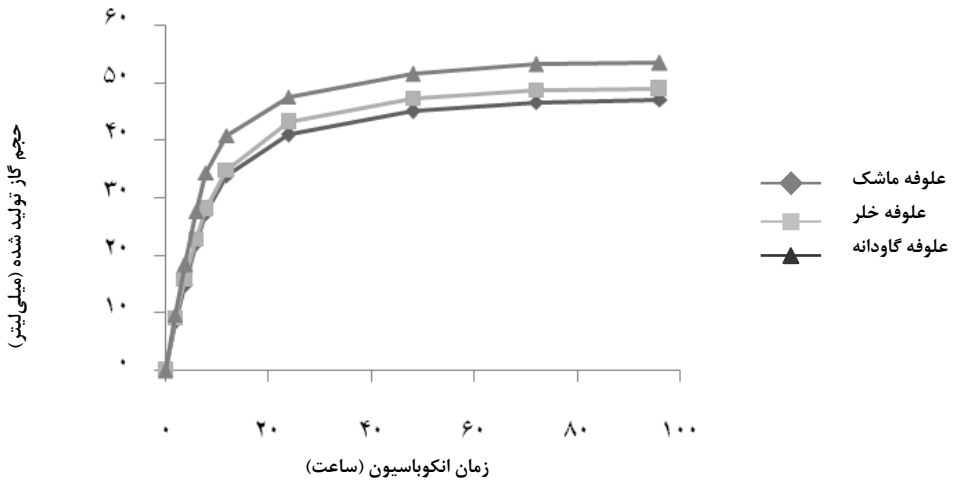
ماده خوراکی	زمان انکوباسیون (ساعت)								
	۲	۴	۶	۸	۱۲	۲۴	۴۸	۷۲	۹۶
علف ماشک	۸/۵۷[a]	۱۴/۸۹[b]	۲۲/۰۹[b]	۲۷/۳۶[b]	۳۴/۰۰[b]	۴۱/۰۳[c]	۴۵/۰۴[c]	۴۶/۷۱[c]	۴۷/۱۷[c]
علف خلر	۹/۲۷[a]	۱۶/۰۰[b]	۲۲/۹۷[b]	۲۸/۰۴[b]	۳۴/۹۲[b]	۴۳/۱۴[b]	۴۷/۴۳[b]	۴۸/۷۷[b]	۴۸/۹۱[b]
علف گاودانه	۹/۶۶[a]	۱۸/۴۸[a]	۲۷/۷۱[a]	۳۸/۳۴[a]	۴۰/۸۲[a]	۴۷/۵۷[a]	۵۱/۵۷[a]	۵۳/۲۴[a]	۵۳/۴۶[a]
خطای استاندارد	۰/۲۸								

حروف غیرمشابه در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار می‌باشد (P<۰/۰۰۱).

در ۸ ساعت پس از انکوباسیون مقدار گاز تولیدی حاصل از تخمیر علف گاودانه به ۳۸/۳۴ و در علف ماشک و علف خلر به ۲۷/۳۶ و ۲۸/۰۴ میلی‌لیتر رسید که بیانگر تفاوت بیشتر در نرخ گاز تولیدی بین مواد خوراکی مورد آزمایش است، در ۱۲ ساعت پس از انکوباسیون نیز مقدار گاز تولیدی حاصل از علف گاودانه، علف ماشک و علف خلر به ترتیب ۴۰/۸۲، ۳۴/۹۲ و ۳۴/۰۰ میلی‌لیتر و در ۲۴ ساعت این مقادیر به ۴۷/۵۷، ۴۳/۱۴ و۴۱/۰۳ میلی‌لیتر رسید. در زمان‌های ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت پس از انکوباسیون اگر چه اختلاف بین هر سه تیمار در میزان گاز تولیدی معنی‌دار (P<۰/۰۰۱) بود ولی روند کاهش میزان گاز تولیدی برای هر ماده خوراکی به وضوح قابل مشاهده است (شکل ۱).

میزان تولید گاز در نمونه‌های حاصل از تخمیر علف گاودانه در مقایسه با علف ماشک و خلر بیشتر بود. بالا بودن میزان گاز تولیدی علف گاودانه به واسطه بالا بودن میزان پروتئین خام آن (۱۹/۵٪) در مقابل علف ماشک (۱۷/۵٪) و علف خلر (۱۴/۹۹٪) و همچنین ADF و NDF پایین‌تر علف گاودانه در مقایسه با دو علف دیگر بوده است. نتایج این آزمایش مطابق با نتایج Mansuri et al. (2003) می‌باشد، که با مقایسه میزان گاز تولیدی علف یونجه، علف نی و کاه گندم در زمان‌های مختلف انکوباسیون گزارش کردند علف یونجه با پروتئین خام حدود ۱۴/۹۶٪ نسبت به علف نی و کاه گندم به ترتیب با پروتئین خام در حدود ۷/۳٪ و ۳/۵۷٪ میزان گاز بیشتری را تولید کرده است.

نتایج تحقیقات Datt & Singh (1995) نیز نشان داد که با افزایش سطح مکمل پروتئین، قابلیت هضم ماده آلی و همچنین تولید گاز، در ۱۲ ساعت اول (مرحله اول) انکوباسیون در کاه گندم افزایش یافت. اما این ضرایب از ۱۲ تا ۴۸ ساعت پس از انکوباسیون (مرحله دوم) تحت تأثیر سطح پروتئین قرار نگرفت. این امر به وضوح نشان می‌دهد که افزایش میزان تخمیر در مرحله اول به دلیل بیشتر در دسترس بودن سوبستراهای



شکل ۱- میزان و الگوی تولید گاز علوفه ماشک، خلر و گاودانه در زمان‌های مختلف انکوباسیون (به ازای ۲۰۰ میلی‌گرم ماده خشک خوراک)

محلول و قابل تخمیر است، در صورتی که افزایش سطح پروتئین، تجزیه مواد نامحلول در مرحله دوم را تحت تأثیر قرار نداد. Cone et al., (1999) نشان دادند که در خوراک‌های حاوی درصد بالا پروتین، به دلیل اینکه گاز کربنیک در مایع باقی مانده و خارج نمی‌شود روش تولید گاز ارزش انرژی‌زایی این مواد خوراکی را کمتر از مقدار واقعی آن برآورد می‌کند. بنابراین وقتی که تفاوت نمونه‌های خوراک از لحاظ درصد پروتئین زیاد باشد باید مقدار گاز تولید در نمونه‌های با پروتئنی بالا تصحیح گردد. به طور کلی هر منحنی تولید گاز از نظر نوع ماده تخمیر شونده شامل دو مرحله است که مرحله اول مربوط بخش محلول در آب و مرحله دوم مربوط به تخمیر مواد نامحلول در آب است. منحنی تولید گاز S شکل است و دارای سه گامه می‌باشد: گامه اول یا گامه بطئی که شامل خیس خوردن و چسبیدن میکروب‌ها می‌باشد و گامه دوم به صورت نمایی و بیانگر هضم آنزیمی است و گامه سوم که در آن تولید گاز کاهش یافته و سرانجام به صفر می‌رسد و منحنی به خط افقی تبدیل می‌شود در این پژوهش هم کلیه منحنی‌های تولید گاز از الگوی فوق تبعیت می‌کرد به جز این که در اواخر زمان نهایی انکوباسیون هم قدری تولید گاز وجود داشت که دلیل آن این است که با گذشت زمان انکوباسیون میکروب‌ها می‌میرند و خود به سوبسترایی اضافی برای بقیه میکرب‌ها تبدیل می‌شوند، این توجیهی برای آن مقدار جزئی گاز تولیدی در زمان‌های نهایی انکوباسیون است (Cone et al., 1996; Cone et al., 1997).

در جدول ۴ میانگین فراسنجه‌های تخمیر یا تولید گاز نمونه‌های خوراک گزارش شده است. بیشترین مقدار گاز از بخش محلول علف خلر (۰/۱۶ میلی‌لیتر) به دست آمد. گاز تولیدی از بخش نامحلول اما قابل تخمیر علف گاودانه (۵۵/۶۹ میلی‌لیتر) در مقایسه با علف ماشک (۴۶/۸۶ میلی‌لیتر) و علف خلر (۴۸/۱۳ میلی‌لیتر) بیشتر بود. همچنین ثابت نرخ تولید گاز در علف گاودانه (۰/۱۳۳ میلی‌لیتر بر ساعت) نسبت به دیگر خوراک‌ها بالاتر بود. گاز تولیدی از بخش قابل تجزیه برای علف گاودانه (۵۲/۲۳ میلی‌لیتر) به‌طور معنی‌داری از علف ماشک (۴۴/۸۸ میلی‌لیتر) و علف خلر (۴۸/۲۹ میلی‌لیتر) بیشتر بود. اگرچه بین میزان فاز تأخیر نمونه‌های خوراک اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (P>۰/۰۵) اما علف گاودانه (۰/۴۶ ساعت) بالاترین فاز تأخیر را نشان داشت.

فراسنجه‌های تولید گاز خوراک‌ها نشان‌دهنده تفاوت در ترکیبات شیمیایی به خصوص کربوهیدرات‌های قابل تخمیر، پروتئین خام، دیواره سلولی و ... می‌باشد (Gurbaz, 2007; Paya et al., 2007). بالاتر بودن بخش نامحلول اما قابل تخمیر در علف گاودانه به دلیل بیشتر بودن میزان پروتیئن خام آن در مقایسه با سایر مواد خوراکی است. با توجه به الگوی تخمیر (شکل۱) نرخ و میزان تولید گاز علف گاودانه در مقایسه با علف ماشک و علف خلر بیشتر است. همین امر باعث شده است که بخش قابل تجزیه علف گاودانه نیز بیشتر از ماشک و خلر باشد. فاز تأخیر کمتر به دست آمده برای علف خلر با توجه به بالاتر بودن بخش محلول این ماده خوراکی دور از انتظار نبود.

جدول ۴- فراسنجه‌های تخمیر یا تولید گاز علوفه ماشک، خلر و گاودانه

ماده خوراکی	فراسنجه‌های تولید گاز					
	*a	**b	*** c	****(a+b)	*****۱۰۰-(a+b)	******L.T
علف ماشک	-۱/۹۸ [a] ± ۱/۱۱۸	۴۶/۸۶ [b] ± ۰/۳۴۳	۰/۱۰۶ [b] ± ۰/۰۰۱	۴۴/۸۸ [c] ± ۱/۳۴	۵۵/۱۷ [a] ± ۱/۳۴	۰/۱۶۶ [a] ±۰/۰۶۶
علف خلر	۰/۱۶ [a] ± ۱/۰۸۹	۴۸/۱۳ [b] ± ۰/۴۰۵	۰/۱۰۴ [b] ± ۰/۰۰۶	۴۸/۲۹ [b] ± ۰/۷۷۵	۵۱/۷۱ [b] ± ۰/۷۷	۰/۱۳۳ [a] ± ۰/۱۳۳
علف گاودانه	-۳/۴۵ [b] ± ۰/۶۵۲	۵۵/۶۹ [a] ± ۰/۹۲۹	۰/۱۳۳ [a] ± ۰/۰۰۲	۵۲/۲۳ [a] ± ۰/۴۰۴	۴۷/۷۶ [c] ± ۰/۴۰	۰/۴۶۶ [a] ± ۰/۰۸۸

حروف غیر مشابه در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار می‌باشد (P<۰/۰۵)

* بخش محلول (میلی‌لیتر) ** بخش نامحلول اما قابل تخمیر (میلی‌لیتر) *** ثابت نرخ تولید گاز (میلی‌لیتر بر ساعت)

**** پتانسیل تولید گاز (میلی‌لیتر) ***** بخش غیر قابل تجزیه (میلی‌لیتر) ****** فاز تأخیر (بر حسب ساعت)

میزان اسیدهای چرب کوتاه زنجیر، انرژی قابل متابولیسم، قابلیت هضم ماده آلی و ماده آلی در ماده خشک علف گاودانه (به ترتیب، ۱/۰۵۵ میلی‌مول، ۹/۶۶ مگاژول بر کیلوگرم، ۵۹/۵۱٪ و ۵۲/۵۵٪) به طور معنی‌داری (P<۰/۰۵) از علف خلر (۰/۹۵۷ میلی‌مول، ۸/۹۷ مگاژول بر کیلوگرم، ۵۵/۵۱ ٪ و ۴۸/۸۸٪) و علف ماشک (۰/۹۱ میلی‌مول، ۸/۶۴ مگاژول بر کیلوگرم، ۵۳/۶۱ ٪ و ۴۶/۳۱٪) بیشتر بود (جدول ۵).

Kamalak et al. (2005) در آزمایشی که بر روی ۱۴ واریته مختلف یونجه مقدار قابلیت هضم ماده آلی از ۵۹/۱۵ تا ۶۴/۹۷ درصد و میزان انرژی قابل متابولیسم نیز بین ۸/۶۵ تا ۹/۷۶ مگاژول بر کیلوگرم گزارش نمودند این مقدار انرژی قابل متابولیسم مطابق با میزان به دست آمده برای هر سه نوع علوفه مورد مطالعه می‌باشد. در عین حال و با اینکه قابلیت هضم ماده آلی علوفه گاودانه با میزان آن در آزمایش مذکور مطابقت دارد اما قابلیت هضم ماده آلی علوفه ماشک و خلر کمتر از یونجه بود که به دلیل تفاوت در محتوی مواد خوراکی مورد مطالعه، این تفاوت‌ها منطقی به نظر می‌رسد.

مقایسه قابلیت هضم و انرژی قابل متابولیسم برآورد شده با دو روش تلی و تری و تولید گاز جدول ۶ نشان می‌دهد که نتایج دو روش آزمایشگاهی بسیار هماهنگ بوده و روش تولید گاز به دلیل تولید اطلاعات اضافی مانند میزان اسیدهای چرب فرار و فراسنجه‌های تخمیر روش ساده تر برای برآورد میزان تخمیر و تخمین ارزش غذایی خوراک است.

جدول ۵- اسیدهای چرب کوتاه زنجیر (میلی‌مول)، انرژی قابل متابولیسم (مگاژول بر کیلوگرم)، قابلیت هضم (درصد) علوفه ماشک، خلر و گاودانه

مواد خوراکی	اسیدچرب کوتاه زنجیر	انرژی قابل متابولیسم	قابلیت هضم ماده آلی	قابلیت هضم ماده آلی در ماده خشک
علف ماشک	۰/۹۱ ^{c} ±۰/۰۰۲	۸/۶۴^{c} ± ۰/۰۱۶	۵۳/۶۱^{c} ±۰/۰۹	۴۶/۳۱^{c} ± ۰/۰۸
علف خلر	۰/۹۵۷^{b} ± ۰/۰۰۵	۸/۹۷^{b} ± ۰/۰۳	۵۵/۵۱^{b} ± ۰/۲۰	۴۷/۸۸ ^{b} ± ۰/۱۷
علف گاودانه	۱/۰۵۵ ^{a} ± ۰/۰۹۴	۹/۶۶ ^{a} ± ۰/۰۶	۵۹/۵۱ ^{a} ± ۰/۳۹	۵۲/۵۵ ^{a} ± ۰/۳۴

حروف غیر مشابه در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار می‌باشد (P<۰/۰۵).

جدول ۶- مقایسه دو روش تلی و تری و تولید گاز در برآورد قابلیت هضم ماده آلی، ماده آلی در ماده خشک و انرژی قابل متابولیسم مواد خوراکی مورد آزمایش

روش آزمایش	تلی و تری			تولید گاز		
مواد خوراکی	OMD (درصد)	DOMD (درصد)	ME (مگاژول بر کیلوگرم)	OMD (درصد)	DOMD (درصد)	ME (مگاژول بر کیلوگرم)
علف ماشک	۵۵/۴۲^{a} ± ۱/۶۱	۴۹/۹۳^{a} ± ۲/۴۸	۸/۶۴^{a} ± ۰/۵۸	۵۳/۶۱^{a} ± ۰/۰۹	۴۶/۳۱^{b} ± ۰/۰۸	۷/۸۴^{a} ± ۰/۰۱
علف خلر	۵۶/۸۴^{a} ± ۰/۸۱	۵۰/۰۷^{a} ± ۱/۲۱	۷/۹۷^{a} ±۰/۱۳	۵۵/۵۱^{a} ± ۰/۲	۴۷/۸۸ ^{a} ± ۰/۱۷	۷/۸۶ ^{a} ± ۰/۰۳
علف گاودانه	۵۸/۱۹^{a} ± ۰/۷۸	۵۱/۲۳^{a} ± ۰/۸۳	۹/۶۶^{a} ± ۰/۱۳	۵۸/۱۹^{a} ± ۰/۳۸	۵۲/۵۵ ^{a} ± ۰/۳۴	۸/۰۴^{b} ± ۰/۰۶

حروف غیر مشابه در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار (P<۰/۰۵) برای هر فاکتور می‌باشد.

نتیجه‌گیری کلی

با توجه به نتایج این تحقیق، مشخص می‌شود که علوفه گاودانه، خلر و ماشک به دلیل ترکیبات شیمیایی، ویژگی‌های تخمیر و قابلیت هضم ارزش غذایی مناسبی دارد و در صورت اطلاعات بیشتر می‌توانند به عنوان یک خوراک جایگزین در جیره نشخوارکنندگان مورد استفاده قرار گیرد. با این حال علف گاودانه نسبت به علوفه ماشک و خلر به دلیل قابلیت هضم، ویژگی‌های تخمیر و مواد مغذی بالاتر از ارزش غذایی بالایی برخوردار بود. وجود هماهنگی بالا بین نتایج دو روش تولید گاز و تلی

و تری در تعیین میزان انرژی و قابلیت هضم ماده آلی نشان‌دهنده مقبولیت کافی این روش می‌دهد در ارزیابی ارزش غذایی مواد خوراکی است و با توجه به سهولت داده برداری، در روش تولید گاز، بررسی روند تخمیر و پیش‌بینی پارامترهای تخمیر نتیجه‌گیری می‌شود که می‌توان از این روش برای برآورد میزان تخمیر و تخمین ارزش غذایی مواد خوراکی نشخوارکنندگان استفاده نمود.

REFERENCES

1. Ammar, H., Lopez, S., Gonzalez, J. S. & Ranilla, M. J. (2004). Seasonal variations in the chemical composition and in vitro digestibility of some Spanish leguminous shrub species. *Animal Feed Science and Technology*, 115, 327-340. *Animal feed Science and Technology*, 76, 251-264.
2. AOAC. (2005). *Official methods of analysis*. 18th Ed. Association of official Analytical Chemists. Washilngton. DC. Vol. 1. No. 1.
3. Blummel, M., Steingass, H., Becher, K. & Soller, H. (1993). Production of SCFA, CO_2, CH_4 and microbial cells in vitro, *Proc. Society Nutration and Physiolgy*, 1, 9.
4. Cone, J. W., Van Gelder, A. H., Visscher, G. T. W. & Oushoorn, L. (1996). Influence of rumen fluid and substrate concentration on fermentation kinetics measured with fully automated time related gas production apparatus. *Animal Feed Science and Technology*, 61, 113-128.
5. Cone, J. W., Van Gelder, A. H. & Driehuis, F. (1997). Description of gas production profiles with a three phasic model. *Animal feed Science and Technology*, 66, 31-45.
6. Cone, J. W. & Van Gelder, A. H. (1999). Influence of protein fermentation on gas production profiles.
7. Danesh megaran M. (2009). In vitro methods in animal science researches (1th ed.). Ferdowsi University of Mashhad press. (In Farsi).
8. Datt, J. W. & Singh, G. P. (1995). Effect of protein supplementation on in vitro digestibility and gas production of wheat straw. *Indian Journal Dairy Science*, 48, 357-361.
9. Getachew, G., Makkar, H. P. S. & Becher, K. (2000). Stoichiometric relationship between short chain fatty acid and in vitro gas production in presence and absence of polyethylene glycol for tannin containing browses, *EAAP Satellite Symposium*, Gas production: fermentation kinetics for feed evaluation and to assess microbial activity, 18-19 August, Wageningen, The Netherlands.
10. Gurbuz, Y. (2007). Determination of nutritive value of leaves of several Vitis vinifera varieties as a source of alternative feedstuff for sheep using in vitro and in situ measurements. *Small Ruminant. Researches*, 71, 59–66.
11. Hadda, S. G. & Husein, M. Q. (2001). Nitritive value of lentil and vetch straws as compared with alfalfa hey and wheat straw for replacement ewe lams. *Small Ruminant. Reserches*, 40, 255-260.
12. Kamalak, A., Canbolat, O., Erol, A., Kilinc, C., Kizilsimsek, M., Ozkan, C. O. & Ozkose, E. (2005). Effect of variety on chemical composition, in vitro gas production, metobolizabl energy and organic matter digestibility of alfalfa hays. *Livestock. Research for Rural Development*. 17(7). http://cipav.org.co/lrrd/lrrd17/7/cont1707.htm
13. Khachatur, M. B. (2006). In vitro digestible organic matter and energy contents in wild growing forage of Armenia. *Journal of Central European Agriculture*, 7 (3), 445-449.
14. Mansuri, H., Nikkhah, A., Rezaeian, M., Moradi Shahrbaback, M. & Mirhadi, M. (2003). Determination of Roughages degradability through In vitro gas production and nylon bag techniques. *Iranain Journal of Agricultural Sciences*, 34(2), 495-507. (In Farsi).
15. Menke, K. H. & Steingass, H. (1987). Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and in vitro gas production using rumen fluid. *Animal Research Development*, 28, 7-12.
16. Menke, K. H., Raab, L., Salewski, A., Steingass, H., Fritz, D. & Schneider, W. (1979). The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feedingstuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor in vitro. *Journal of Agricultural Science Cambridge*, 93, 217-222.
17. Navidshad, B. & Jafarisayyadi, A. R. (2000). Animal nutrition (1th ed.). Farhangh jame press. (In Farsi).
18. Neumark, H. (1970). *Vicia Sativa*. Volcani Institue of Agriculture Research Israeal, Personal communication, from http://www.fao.org/ag/Aga/AGAP/FRG/AFRIS/Data/297.HTM
19. Orskov, E. R. & McDonald, I. (1979). The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *Journal of Agricultural Science Cambridge*, 92, 499–503.
20. Paya, H., Taghizadeh, A., Janmohammadi, H. & Moghadam, G. A. (2007). Nutrient Digestibility and Gas Production of Some Tropical Feeds Used in Ruminant Diets Estimated by the in vivo and in vitro Gas Production Techniques . *American Journal of Animal and Veterinary Science*, 2 (4), 108-113.

21. Poland, C., Faller, T. & Tisor, L. (2003). Effect of chickling vetch (*Lathyrus sativus L.*) or alfalfa (*Medicago sativa*) hay in gestating ewe diets. *Day Report, Hettinger RE Center*, 246-250.
22. Rotger, A., Ferret, A., Calasamigalia, S. & Manteca, X. (2006). In situ degradability if seven plant protein supplements in hifers fed high concentration diet with different forage to concentrate ratio. *Animal Feed Science and Technology*, 125, 73-87.
23. Tefera, S., Mlamboa, V., Dlamini, B. J., Dlamini, A. M., Koralagama, K. D. N. & Mould, F. L. (2008). Chemical composition and *in vitro* ruminal fermentation of common tree forages in the semi-arid rangelands of Swaziland. *Animal feed Science and Technology*, 142, 99–110.
24. Tilley, J. M. A. & Terry, R. A. (1963). A two-stage technique for the in vitro digestion of forage crops. *Journal of British. Grassland Soc*, 18, 104–111.
25. Torbatinejad, N., Galeshi, S. & Ghoorchi, T. (2009). Evaluation by chemical and in vitro gas production techniques of Foxtail Millet grow in northern Iran. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 8 (12), 2662-2669.
26. Van Soest, P. J. (1994). *Nutritional Ecology of the Ruminant*. (3rd ed.). Cornell University Press, Ithaca, NY, USA.
27. White, C. L., Habury, C. D., Young, P., Phililips, N., Wiese, S. C., Milton, J. B., Davidson, R. H., Siddiqe, K. H. & Harris, D. (2002). The nutritional value of *Lathyrus cicer* and *Lupin agustifolius* grain for sheep. *Animal Feed Science and Technology*, 99, 45-64.