نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد 8، شماره 1، بهار 1395، ص. 33-26

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 8, No. 1, Spring 2016, p. 26-33

مقایسه دو روش تعیین قابلیت هضم شکمبه‌ای (درون کیسه‌ای و آزمایشگاهی) تفاله دانه انار

محمد حسن فتحی نسری[1*] - فاطمه خسروی[2]

تاریخ دریافت: 1392/10/15
تاریخ پذیرش: 1394/12/22

چکیده

هدف از انجام این مطالعه مقایسه دو روش تعیین قابلیت هضم شکمبه‌ای به روش درون کیسه‌ای و روش آزمایشگاهی انکوباتور دیزی با استفاده از تفاله دانه انار خشک و تفاله دانه انار سیلویی بود. برای تهیه تفاله سیلویی، تفاله دانه انار تازه حاوی 47 درصد ماده خشک به مدت 60 روز سیلو شد و برای تهیه تفاله خشک، تفاله تازه به مدت 48 ساعت در آون در دمای 60 درجه سانتی‌گراد خشک گردید. قابلیت هضم هر یک از دو خوراک به روش درون کیسه‌ای با استفاده از دو راس تلیسه هلشتاین فیستولاگذاری شده و به روش آزمایشگاهی با استفاده از انکوباتور دیزی تعیین گردید و داده‌ها با نرم افزار آماری SAS توسط رویه GLM آنالیز و همبستگی بین دو روش و نیز معادلات تابعیت آنها تعیین شد. نتایج نشان داد که مقادیر قابلیت هضم ماده خشک هم برای تفاله دانه انار خشک و هم تفاله سیلویی به روش آزمایشگاهی انکوباتور دیزی به لحاظ عددی بیشتر از روش درون کیسه‌ای بود اما این اختلاف به لحاظ آماری معنی دار نبود. مقدار همبستگی بین این دو روش برای تفاله دانه انار خشک و سیلویی بعد از 24 ساعت انکوباسیون به ترتیب 0/87 و 0/98 و بعد از 48 ساعت انکوباسیون 0/99 و 0/78 بود. در این مطالعه معادلات برآورد قابلیت هضم درون کیسه‌ای با استفاده از قابلیت هضم آزمایشگاهی تعیین شد که از دقت بالایی برخوردار بود. نتایج این تحقیق نشان داد که دو روش تعیین قابلیت هضم شکمبه‌ای از همبستگی بالایی برخوردار بودند و قابلیت هضم به روش آزمایشگاهی انکوباتور دیزی با دقت بالایی قادر به تخمین قابلیت هضم درون کیسه‌ای ماده خشک مواد خوراکی مورد بررسی بود.

واژه‌های کلیدی: آزمایشگاهی، انکوباتور دیزی، تفاله دانه انار، درون کیسه‌ای، قابلیت هضم.

مقدمه

استفاده از ضایعات کشاورزی و صنایع غذایی در تغذیه دام علاوه بر کاهش هزینه‌ها، موجب کاهش استفاده از خوراک‌های مورد مصرف انسان در تغذیه دام‌ها می‌گردد. علاوه بر این مصرف اینگونه ضایعات در تغذیه دام خطرات زیست محیطی ناشی از دفع آنها را نیز کاهش می‌دهد (21). بنابراین، استفاده صحیح از ضایعات کشاورزی و صنایع غذایی در تغذیه دام و شناسایی منابع خوراکی جدید و ارزان قیمت را می‌توان یکی از اولویت‌های مهم صنعت دامپروری کشور دانست. در تولید صنعتی فرآورده‌های انار شامل کنسانتره، آب انار، رب و شربت انار مقادیر قابل توجهی تفاله دانه انار، به صورت ضایعات باقی می‌ماند که حاوی هسته دانه انار، پریکارپ و مقدار اندکی پوست می‌باشد. ایران با تولید سالیانه بیش از 900 تن انار (در سال 1390)، یکی از مهمترین مناطق کشت انار در جهان به شمار می‌رود (3) و می‌توان از تفاله دانه انار حاصل از کارخانجات فرآوری دانه انار به طور گسترده در تغذیه دام استفاده کرد. برای استفاده بهینه از این خوراک نیاز به تحقیقات بیشتر در زمینه تعیین ارزش غذایی آن می‌باشد. یکی از موثرترین و کم هزینه‌ترین روش‌های موجود برای تعیین ارزش غذایی مواد خوراکی، اندازه گیری قابلیت هضم آنها است. علاوه بر این، قابلیت هضم مواد خوراکی رابطه نزدیکی با عملکرد تولیدی حیوان دارد (19). روش‌های تعیین قابلیت هضم مواد خوراکی شامل روش‌های درون تنی[3]، درون کیسه‌ای[4] و برون تنی[5] هستند که در مورد اخیر محیط شکمبه شبیه‌سازی شده و مایع شکمبه از حیوانات فیستولاگذاری جمع‌آوری می‌گردد. هر چند که روش‌های درون تنی یک مرجع برای تعیین قابلیت هضم خوراک‌ها بوده و از دقت بسیار بالایی برخوردارند ولی معمولاً به دلیل هزینه‌های بالا و نیاز به صرف وقت فراوان چندان مورد استفاده قرار نمی‌گیرند. علاوه بر این، روش‌های درون تنی، تنها قادر به تخمین میزان قابلیت هضم

1- دانشیار گروه علوم دامی دانشگاه بیرجند،
2- دانشجوی سابق کارشناسی ارشد گروه علوم دامی دانشگاه بیرجند.
(*- نویسنده مسئول: (Email: hfathi@birjand.ac.ir

3- *In vivo*
4- *In situ* or *in sacco*
5- *In vitro*

خوراک‌ها بوده و اطلاعاتی درباره کنتیک تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای مواد مغذی در اختیار قرار نمی‌دهد (10 و 14). در روش درون کیسه‌ای میزان و نرخ تجزیه‌پذیری خوراک را می‌توان تخمین زد (16). مهمترین مزیت‌های روش درون کیسه‌ای، همگنی شرایط نمونه‌ها و کمتر بودن اختلافات ناشی از نحوه اجرای آزمایش می‌باشد (17) لیکن در سال‌های اخیر به لحاظ مسائل اخلاقی و رفاه حیوان، به دلیل استفاده از حیوانات فیستولاگذاری شده، این روش مورد نکوهش و انتقاد افکار عمومی قرار گرفته است (25) و تعیین قابلیت هضم را به سمت روش‌های برون تنی (آزمایشگاهی) سوق داده است. یکی از رایج‌ترین و جدیدترین روش‌های آزمایشگاهی استفاده از انکوباتور دیزی[1] (2) است. راندمان نیروی انسانی در این روش به طور موثری در مقایسه با روش‌های تیلی و تری (29) و جورینگ و ون‌سوست (8) بهبود یافته است و آنالیز همزمان بیش از 100 نمونه در این روش ممکن است. روش‌های آزمایشگاهی قادر به شبیه سازی تجزیه‌پذیری درون کیسه‌ای هستند هر چند معمولا مقادیر آزمایشگاهی از مقادیر درون کیسه‌ای کمتر بوده است (4). با این وجود استفاده از روش‌های آزمایشگاهی به عنوان یک روش روزمره جهت تخمین تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای خوراک‌های نشخوارکنندگان به ویژه خوراک‌های فرعی داخلی نیاز به تحقیقات بیشتری دارد. در سال‌های اخیر روش توسعه یافته شبیه ساز هضم (انکوباتور دیزی) بسیار مورد توجه محققین قرار گرفته است. زمانی که تعداد نمونه‌های مورد آزمایش زیاد است، استفاده از انکوباتور دیزی روشی ساده و سریع برای تعیین قابلیت هضم مواد خوراکی است (6 و 7). هدف از این تحقیق برآورد و مقایسه میزان قابلیت هضم شکمبه‌ای تفاله دانه انار خشک و سیلویی به دو روش درون کیسه‌ای و برون تنی (با استفاده از انکوباتور دیزی) و همچنین محاسبه همبستگی بین این دو روش بود.

مواد و روش‌ها

تفاله دانه انار مورد استفاده در این تحقیق از کارخانه کنسانتره انار شرکت انارین فردوس تهیه شد. در این کارخانه ابتدا انار پوست گیری و سپس آبگیری می‌شود و بقایای حاصله پس از آبگیری که شامل دانه و مقداری پوسته داخلی است به صورت تازه به فروش می‌رسد. انار آبگیری شده مخلوطی از ارقام انار یزد بود که در اوایل پاییز 1389 برداشت شده بود. در این مطالعه با هدف فراگیرتر شدن نتایج از تفاله دانه انار به دو شکل خشک و سیلو شده برای مقایسه روش‌های مختلف تعیین قابلیت هضم شکمبه‌ای ماده خشک استفاده شد. برای تهیه تفاله دانه انار سیلویی مقداری از تفاله دانه انار تازه حاوی 47 درصد ماده خشک در سطل‌های پلاستیکی سه کیلویی (در 4 تکرار) با تراکم 650 کیلوگرم ماده تر بر متر مکعب به مدت 60 روز در دمای اتاق سیلو شد و برای تهیه تفاله دانه انار خشک، مقداری از تفاله تازه در آون در دمای 60 درجه سانتیگراد به مدت 48 ساعت خشک گردید. قابلیت هضم شکمبه‌ای ماده خشک به روش درون کیسه‌ای و آزمایشگاهی (با استفاده از انکوباتور دیزی، ساخت داخل به شماره ثبت 51199) تعیین شد. تعیین قابلیت هضم شکمبه‌ای ماده خشک به روش درون کیسه‌ای مطابق با روش ارسکوف و مکدونالد (19) انجام شد. در این روش 5 گرم نمونه آسیاب شده درون کیسه‌های پلی‌استر با قطر منافذ 50 میکرومتر و ابعاد 15×10 سانتیمتر ریخته شده (8 کیسه به ازای هر نمونه در هر دام) و کیسه‌ها در شکمبه دو راس تلیسه هلشتاین فیستولاگذاری شده (با میانگین وزن30 ±400 کیلوگرم) برای مدت زمان‌های 24 و 48 ساعت انکوباسیون شدند. حیوانات از یک هفته قبل از شروع آزمایش و در طی آزمایشروزانه با جیره‌ای حاوی 1/8 کیلوگرم یونجه خشک، 1/8 کیلوگرم کنسانتره، 0/5 کیلوگرم ذرت سیلویی و 1/8 کیلوگرم کاه گندم (بر حسب ماده خشک) در سطح نگهداری (1) به صورت جیره کاملاً مخلوط در 2 نوبت صبح و عصر تغذیه شدند. اجزای کنسانتره شامل 35 درصد دانه جو، 18 درصد دانه ذرت، 10 درصد کنجاله سویا، 15 درصد کنجاله کلزا، 11/5 درصد سبوس گندم، 7 درصد ملاس، 1 درصد مکمل معدنی- ویتامینی[2]، 2 درصد پودر صدف و 0/5 درصد نمک (برحسب ماده خشک) بود. کیسه‌ها پس از خروج از شکمبه تا زمان زلال شدن آب خروجی از آنها، با آب سرد شسته شدند و سپس به مدت 48 ساعت در آون (در دمای 60 درجه سانتیگراد) خشک شده و قابلیت هضم شکمبه‌ای ماده خشک از اختلاف وزن نمونه‌ها قبل و بعد از انکوباسیون محاسبه شد.

قابلیت هضم شکمبه‌ای ماده خشک به روش آزمایشگاهی با استفاده از انکوباتور دیزی (2) تعیین شد. مایع شکبه مورد استفاده در این روش آزمایشگاهی نیز از شکمبه تلیسه‌های فیستولاگذاری شده مورد استفاده در روش قبل جمع‌آوری شد. نمونه‌گیری از مایع شکمبه 3 ساعت پس از مصرف خوراک وعده صبح انجام شد. در این روش مقدار یک گرم نمونه خشک آسیاب شده در هر یک از کیسه‌های پلی‌استر با قطر منافذ 50 میکرومتر و ابعاد 10×5 سانتیمتر قرار داده شد. برای هر نمونه‌ی خوراک 8 تکرار در نظر گرفته شد و سپس کیسه‌های حاوی نمونه در داخل بطری انکوباتور دیزی (2 لیتری) قرار داده شد و مقدار1600 میلی لیتر از محلول بافر و 400 میلی لیتر مایع شکمبه به هر بطری افزوده شد. برای تهیه محلول بافر، محلول‌های

1- Daisy

2- اجزای تشکیل‌دهنده: کلسیم 140، فسفر 70، منیزیم 20، سدیم 70، آهن 2/4، کبالت 0/1، سلنیوم 0/0001، منگنز 2/6، مس 0/24 (بر حسب گرم بر کیلوگرم) و ویتامین A 400000، ویتامین D3 و ویتامین E 100000 (بر حسب واحد بین‌المللی).

A و B به نسبت 1:5 با هم مخلوط شدند. برای تهیه محلول A مقدار 10 گرم فسفات پتاسیم، 0/5 گرم سولفات منیزیم 7 آبه، 0/5گرم کلرید سدیم، 0/1 گرم کلرید کلسیم 2 آبه و 0/5 گرم اوره در یک لیتر آب مقطر حل گردید. محلول B نیز شامل 15 گرم کربنات سدیم و 9 گرم سولفید سدیم بود که در یک لیتر آب مقطر حل شد. نمونه‌ها داخل دستگاه دیزی در دمای 39 درجه سانتی‌گراد برای زمان‌های 24 و 48 انکوباسیون شدند. سپس کیسه‌ها با آب سرد کاملاً شسته و در آون با دمای 60 درجه سانتی‌گراد به مدت 48 ساعت خشک شدند. میزان ناپدید شدن ماده خشک نمونه‌ها در ساعات مختلف انکوباسیون (24 و 48 ساعت) با توجه به اختلاف وزن ماده خشک نمونه‌ها قبل و بعد از انکوباسیون محاسبه شد.

برای هر یک از دو روش درون کیسه‌ای و آزمایشگاهی مقایسه بین تیمارها در ساعات 24 و 48 به طور جداگانه صورت گرفت و از طرح کاملاً تصادفی با مدل زیر بدین منظور استفاده شد. داده‌های جمع آوری شده در نرم افزار آماری SAS 9.1 (24) با رویه GLM تجزیه آماری گردید.

$$Y_{ik} = \mu + T_i + e_{ik}$$

μ :میانگین کل

T_i : اثر تیمار

e_{ik} : اثر خطای آزمایشی

ضریب تابعیت و معادله تابعیت قابلیت هضم درون کیسه‌ای از قابلیت هضم آزمایشگاهی بااستفادهاز رویه Reg نرم افزار SASبرآورد گردید و برای تعیین همبستگی بین روش‌های اندازه‌گیری قابلیت هضم از رویه Corr نرم افزار SAS استفاده شد.

نتایج

مقایسه قابلیت هضم شکمبه‌ای درون کیسه‌ای و آزمایشگاهی ماده خشک تفاله دانه انار در مدت زمان انکوباسیون 24 و 48 ساعت

میزان قابلیت هضم شکمبه‌ای ماده خشک تفاله دانه انار خشک و سیلویی تعیین شده به روش‌های درون کیسه‌ای و آزمایشگاهی انکوباتور دیزی پس از 24 و 48 ساعت انکوباسیون در جدول 1 نشان داده شده است. اختلاف بین دو روش تعیین قابلیت هضم شکمبه‌ای در هیچ یک از دو زمان انکوباسیون به لحاظ آماری معنی دار نبود هرچند به لحاظ عددی میزان قابلیت هضم به روش آزمایشگاهی بالاتر از روش درون کیسه‌ای بود.

برآورد همبستگی بین دو روش تعیین قابلیت هضم و معادله پیش بینی قابلیت هضم شکمبه‌ای درون کیسه‌ای با استفاده از روش آزمایشگاهی در مدت زمان انکوباسیون 24 و 48 ساعت

ضریب همبستگی بین دو روش درون کیسه‌ای و آزمایشگاهی تعیین قابلیت هضم ماده خشک تفاله دانه انار خشک و سیلویی پس از 24 و 48 ساعت انکوباسیون در جدول 2 و معادله تابعیت قابلیت هضم شکمبه‌ای درون کیسه‌ای ماده خشک از قابلیت هضم آزمایشگاهی در جدول 3 نشان داده شده است. با توجه به ضریب تبیین بالا (بیش از 99 درصد) می‌توان قابلیت هضم درون کیسه‌ای ماده خشک تفاله دانه انار خشک و سیلویی را با دقت بسیار بالایی بر اساس داده‌های قابلیت هضم آزمایشگاهی در هر یک از زمان‌های انکوباسیون پیش بینی نمود. مقدار عرض از مبدأ برآورد شده در معادلات تابعیت از لحاظ آماری معنی‌دار نبود بنابراین از معادله‌ها حذف گردید.

جدول 1- مقایسه قابلیت هضم شکمبه‌ای درون کیسه‌ای و آزمایشگاهی ماده خشک تفاله دانه انار در مدت زمان انکوباسیون 24 و 48 ساعت

Table 1- Comparison of in situ and in vitro DM digestibility of pomegranate seed pulp (PSP) during 24 and 48 h of incubation

مدت زمان انکوباسیون (ساعت) Incubation time (h)	نوع تفاله دانه انار Type of PSP	روش تعیین قابلیت هضم شکمبه‌ای Method of ruminal digestibility determination		اشتباه معیار میانگین SEM	سطح معنی داری P-value
		آزمایشگاهی In vitro	درون کیسه‌ای In situ		
24	تفاله خشک Dried PSP	55.33	51.87	2.541	0.37
	تفاله سیلویی Ensiled PSP	65.02	60.95	1.890	0.56
48	تفاله خشک Dried PSP	62.49	57.28	3.540	0.77
	تفاله سیلویی Ensiled PSP	71.05	66.69	1.052	0.32

جدول 2- ضریب همبستگی (r) دو روش تعیین قابلیت هضم شکمبه‌ای ماده خشک تفاله دانه انار خشک و سیلویی در مدت زمان انکوباسیون 24 و 48 ساعت

Table 2- The correlation coefficient (r) between two methods of ruminal DM digestibility determination of dried and ensiled PSP during 24 and 48 h of incubation

مدت زمان انکوباسیون (ساعت) Incubation time (h)	نوع تفاله دانه انار Type of PSP	ضریب همبستگی Correlation coefficient (r)	سطح معنی‌داری *P-value*
24	تفاله خشک Dried PSP	0.87	0.48
	تفاله سیلویی Ensiled PSP	0.98	0.24
48	تفاله خشک Dried PSP	0.99	0.12
	تفاله سیلویی Ensiled PSP	0.78	0.55

جدول 3- معادله تابعیت قابلیت هضم شکمبه‌ای درون کیسه‌ای ماده خشک تفاله دانه انار خشک و سیلویی از قابلیت هضم آزمایشگاهی در مدت زمان انکوباسیون 24 و 48 ساعت

Table 3- The regression equations of DM in situ digestibility estimation from DM in vitro digestibility data during 24 and 48 h of incubation

مدت زمان انکوباسیون (ساعت) Incubation time (h)	نوع تفاله دانه انار Type of PSP	معادله تابعیت Regression equation	انحراف معیار خطا SEM	سطح معنی‌داری *P- value*	ضریب تبیین Coefficient of determination (R^2)
24	تفاله خشک Dried PSP	Y= 0.94 X	2.88	0.0011	99.9
	تفاله سیلویی Ensiled PSP	Y= 0.95 X	1.22	0.0001	99.9
48	تفاله خشک Dried PSP	Y= 0.92 X	1.03	0.0001	99.9
	تفاله سیلویی Ensiled PSP	Y= 0.93 X	2.03	0.0002	99.9

Y= قابلیت هضم ماده خشک تعیین شده به روش درون کیسه‌ای،

x= قابلیت هضم ماده خشک تعیین شده به روش آزمایشگاهی

Y= Dry matter digestibility *in sacco*
X= Dry matter digestibility *in vitro*

بحث

با وجود اینکه تعیین قابلیت هضم مواد خوراکی به روش آزمایشگاهی با استفاده از انکوباتور دیزی روشی آسانتر و سریعتر از سایر روش‌ها بوده و در زمانی که تعداد نمونه‌های مورد مطالعه زیاد است بسیار مفید واقع می‌گردد (6 و 11)، تحقیقات کمی در مورد مقایسه این روش با سایر روش‌های اندازه‌گیری قابلیت هضم نظیر روش درون کیسه‌ایانجام شده است. علت مقایسه روش آزمایشگاهی انکوباتور دیزی با روش درون کیسه‌ای در مطاله حاضر این بود که روش دوم در حال حاضر جزو رایج‌ترین روش‌های تعیین قابلیت هضم شکمبه‌ای مواد خوراکی در کشور است و چنانچه همبستگی بالایی بین این دو روش وجود داشته باشد با توجه به سهولت روش آزمایشگاهی انکوباتور دیزی می‌توان این روش را جایگزین نمود. البته طی تحقیقات معدودی این دو روش با هم مورد مقایسه قرار گرفته‌اند لیکن در مطالعه حاضر هر یک از این روش‌ها مطابق با آنچه در کشور مرسوم است و البته با استفاده از یک خوراک فرآورده جانبی تولید داخل انجام شده‌اند. در همین زمینهدامیران و همکاران (6) ضریب همبستگی رتبه‌ای اسپیرمن قابلیت هضم ماده خشک و قابلیت هضم فیبر نامحلول در شوینده خنثی که به دو روش انکوباتور دیزی و درون کیسه‌ای تعیین شده بود را برای چندین گونه گراس، گیاهان علفی و درختچه برآورد کردند و نشان دادند که روش انکوباتور دیزی پیش‌بینی دقیقتری از قابلیت هضم ماده خشک (r=0/85، P<0/001) و فیبر نامحلول در شوینده خنثی (P<0/001، r=0/88) نسبت به روش درون کیسه‌ای ارایه می‌دهد.این محققین معادله تابعیت قابلیت هضم درون کیسه‌ای ماده خشک از روش انکوباتور دیزی ماده خشک پس از 48 ساعت انکوباسیون برای علوفه‌ها را به صورت (y=0/27+0/904x، n=20P<0/001، R^2=0/81) و معادله تابعیت قابلیت هضم درون‌تنی ماده خشک از روش انکوباتور دیزی را به

صورت y= 0/335+0/402x ،(R^2=0/85، n=24 P<0/001) گزارش نمودند. لاتیمر و همکاران (15) گزارش کردند که برآورد قابلیت هضم با انکوباتور دیزی برای خوراک‌های مخلوط مناسب و معتبر است. تگلیاپیترا و همکاران (27) روش‌های درون آزمایشگاهی و درون کیسه‌ای قابلیت هضم ماده خشک 11 نوع خوراک مختلف را مقایسه کردند و همبستگی برابر با 0/90 (p<0/01) را بین روش تعیین قابلیت هضم درون کیسه‌ای و آزمایشگاهی (انکوباتور دیزی) گزارش کردند.

علاوه بر این محققین دیگری (22 و 23) نیز گزارش کردند که مقدار قابلیت هضم بدست آمده از روش آزمایشگاهی انکوباتور دیزی بیشتر از مقادیر روش درون کیسه‌ای بود اما تگلیاپیترا و همکاران (26) عکس این را گزارش کردند که علت آن را تفاوت در اندازه ذرات مورد استفاده در دو روش ذکر کرده‌اند.

یکی از دلایلی که در منابع علمی برای بالاتر بودن مقادیر قابلیت هضم به دست آمده از روش آزمایشگاهی انکوباتور دیزی در مقایسه با روش درون کیسه‌ای برای محدوده‌ی وسیعی از خوراک‌های بررسی شده گزارش شده است اینست که در روش درون کیسه‌ای برخی از میکروب‌ها قادر نیستند از کیسه‌های پلی استر (با قطر منافذ حدود 50 میکرومتر) عبور کنند زیرا در شکمبه هر یک از انواع میکروب‌ها در فازی مشخص وجود دارند و ممکن است برخی از آنها در محل قرارگیری کیسه در شکمبه حضور نداشته باشند، در حالی که در روش آزمایشگاهی انواع میکروب‌های شکمبه در تجزیه مواد مغذی خوراک به صورت فعال حضور دارند و این سبب افزایش مقدار قابلیت هضم مواد مغذی در روش آزمایشگاهی می‌گردد (30). در آزمایش حاضر نیز میانگین قابلیت هضم ماده خشک به روش آزمایشگاهی در هر دو زمان انکوباسیون 24 و 48 ساعت به لحاظ عددی بالاتر از روش درون کیسه‌ای بود اما به لحاظ آماری این اختلاف‌ها معنی دار نبودند.

با توجه به اینکه تعیین قابلیت هضم به روش آزمایشگاهی تیلی و تری (29) ساده‌تر از روش آزمایشگاهی انکوباتور دیزی است در آزمایشات متعددی با استفاده از محدوده وسیعی از مواد خوراکی این روش با روش انکوباتور دیزی یا روش درون کیسه‌ای مورد مقایسه قرار گرفته است. به عنوان مثال ویلمن و آدسوگان (31) مقادیر قابلیت هضم ماده خشک 72 نمونه علوفه از دو گونه چمن ایتالیایی و یونجه را به دو روش آزمایشگاهی تیلی و تری (29) و انکوباتور دیزی برآورد کردند و پس از مقایسه دو روش گزارش کردند که روش تیلی و تری دقیق‌تر از انکوباتور دیزی است. با این وجود این محققین توصیه کردند در صورتی که صرفه جویی در نیروی انسانی حائز اهمیت باشد انکوباتور دیزی نسبت به روش تیلی و تری مقادیر قابلیت هضم قابل قبول‌تری را برای علوفه‌ها تخمین می‌زند. هولدن (11) گزارش کرد که مقادیر بدست آمده از دو روش آزمایشگاهی تیلی و تری و انکوباتور دیزی مشابه همدیگر است. کاتانی و همکاران (5) و تگلیاپیترا و همکاران (26) گزارش کردند مقادیر قابلیت هضم بدست آمده از روش انکوباتور دیزی کمتر از مقادیر روش تیلی و تری بود که علت آن را ممانعت ایجاد شده در اثر وجود کیسه دانستند که ورود و خروج معمول مایع شکمبه را تحت تاثیر قرار می‌دهد. از آنجا که روش انکوباتور دیزی بر گرفته از روش تیلی و تری (29) است و در واحد زمان تعداد نمونه بیشتری را می‌توان با استفاده از آن آنالیز نمود بنابراین نسبت به روش آزمایشگاهی تیلی و تری مؤثرتر است.

در خصوص تعیین قابلیت هضم شکمبه‌ای تفاله دانه انار تحقیقات اندکی در داخل یا خارج کشور انجام شده است. میرزایی و همکاران (17) قابلیت هضم ماده آلی دانه انار خشک به روش تولید گاز را پس از 24 ساعت انکوباسیون برابر با 423/4 گرم به ازای هر کیلوگرم ماده خشک گزارش کردند. همچنین در مطالعه‌ای دیگر قابلیت هضم ماده آلی دانه انار خشک و سیلو شده به روش تولید گاز بعد از 24 ساعت انکوباسیون به ترتیب 57/29 و 57/18 درصد گزارش شد (25). در مطالعه حاضر مقادیر برآورد شده برای قابلیت هضم ماده خشک تفاله دانه انار خشک و تازه متفاوت از مقادیر گزارش شده توسط طاهر مداح و همکاران (28) بود که می‌تواند به دلیل تفاوت بین ارقام انار مورد استفاده و یا ترکیبات تفاله باشد.

معادلات تابعیت برآورد شده در تحقیق حاضر از دقت بالایی (با R^2 برابر با 99 درصد) برخوردار بود که این نشان‌دهنده این است که می‌توان مقدار قابلیت هضم درون کیسه‌ای را به طور دقیق از داده‌های قابلیت هضم انکوباتور دیزی تخمین زد. تگلیاپیترا و همکاران (27) نیز معادلات تابعیت روش درون کیسه‌ای از روش دیزی را برای 11 خوراک مختلف در مدت زمان 48 ساعت انکوباسیون برآورد نمودند. آنها معادله تابعیت را y=0.94x + 101 (R^2= 0.93) گزارش کردند که نزدیک به نتایج تحقیق حاضر بود. در تحقیقی دیگر دامیران و همکاران (6) روش دیزی را بهترین برآورد کننده برای قابلیت هضم درون کیسه‌ای دانستند و معادله تابعیت y=0.904x + 0.27 (R^2= 0.81) را برای چندین نمونه علوفه در مدت زمان 48 ساعت انکوباسیون گزارش کردند.

در تحقیق حاضر دو مدت زمان 24 و 48 ساعت برای تعیین قابلیت هضم ماده خشک تفاله دانه انار خشک و سیلویی استفاده شد و مقادیر قابلیت هضم حاصل از دو روش در هر یک از این زمان‌ها با یکدیگر مقایسه شدند. برای تفاله خشک مقدار قابلیت هضم بدست آمده از دو روش در زمان 48 ساعت بیشترین همبستگی را داشت در حالی که برای تفاله سیلویی در زمان 24 ساعت بیشترین همبستگی مشاهده شد. مدت زمان انکوباسیون برای تعیین قابلیت هضم مواد خوراکی با ترکیب شیمیایی آنها رابطه دارد به طوری که تحقیقات مختلف زمان انکوباسیون 48 ساعت و بالاتر را برای برآورد قابلیت هضم مواد مغذی علوفه‌ها مناسب دانسته‌اند (9، 12 و 18) که علت آن را میزان دیواره سلولی بیشتر در علوفه‌ها نسبت به خوراک‌های کنسانتره‌ای ذکر کرده‌اند در حالی که برای خوراک‌های کنسانتره‌ای

مدت زمان 24 ساعت را کافی دانسته‌اند. با توجه به اینکه تفاله دانه انار از میزان دیواره سلولی نسبتا بالایی برخوردار است (حدود 50 درصد ماده خشک (13)) و از طرفی اطلاعات زیادی در مورد میزان قابلیت هضم آن در دست نبود هر دو زمان 24 و 48 ساعت برای تعیین قابلیت هضم آن مورد استفاده قرار گرفت.

نتایج این تحقیق نشان داد که مقادیر قابلیت هضم بدست آمده از روش آزمایشگاهی انکوباتور دیزی بسیار نزدیک به مقادیر قابلیت هضم حاصل از روش درون کیسه‌ای است و از معادله تابعیت بدست آمده می‌توان برای برآورد مقدار قابلیت هضم درون کیسه‌ای از مقادیر قابلیت هضم بدست آمده از روش انکوباتور دیزی استفاده نمود.

نتیجه گیری کلی

منابع

1- Agricultural and Food Research Council, AFRC. 1995. Energy and Protein Requirements of Ruminants. An advisory manual prepared by the AFRC Technical Committee on Responses to Nutrients. Wallingford: CAB International.
2- Ankom Technology Corporation, 1997. Operator's manual: Ankom 200/220 fiber analyzer. Ankom Technol. Corp, Fairport, NY, USA.
3- Anonymous, 2011. Agricultural Statistics. Ministry of Agriculture, Tehran, Iran. (In Persian).
4- Cattani, M. 2010. In situ and in vitro techniques for studying rumen fermentations: methodology and applications. Ph.D. thesis, University of Padova, Italy.
5- Cattani, M., F. Tagliapietra., L. Bailoni., and S. Schiavon. 2009. In vitro rumen feed degradabilityassessed with DaisyII and batch culture: effect of sample size. Italian Journal of Animal Science, 8: 169-171.
6- Damiran, D., T. DelCurto., D. W. Bohnert., and S. L. Findholt. 2008. Comparison of techniques and grinding size to estimate digestibility of forage based ruminant diets. Animal Feed Science And Technology, 141:15–35.
7- Dehghan, M., R. Tahmasbi., A. Dayani., and A. Khezri. 2011. Determination of physical, chemical and digestibility of some agricultural by-products. Iranian Journal of Animal Science Research, 4: 412-421. (In Persian).
8- Goering, H.K., and P. J. Van Soest. 1970. Forage fibre analysis. USDA Agricultural Handbook No 379, (USDA: Washington, DC).
9- Guggolz, J., R. M. Saunders., G. O. Kohler., and T. J. Klopfenstein. 1971. Enzymatic evaluation of processes for improving agricultural wastes for ruminant feeds. Journal of Animal Science, 33:167.
10- Hersini, M., M. Boujarpour., M. Eslami., M. Chaji., and T. Mohammadabadi. 2013. Effect of Chestnut kernels on digestibility and ruminal degradability of Arabian sheep. Iranian Journal of Animal Science Research, 2: 127-135. (In Persian).
11- Holden, L.A. 1999. Comparison of methods of in vitro dry matter digestibility for ten feeds. Journal of Dairy Science, 82:1791-1794.
12- Jones, D. I. H., and M. V. Hayward. 1973. A cellulose digestion technique for predicting the dry matter digestibility of grasses. Journal of the Science of Food and Agriculture, 24:1419.
13- Khosravi, F., and M. H. Fathi Nasri. 2012. Effect of pomegranate seed pulp conserving method on its chemical composition and ruminal degradability parameters. Journal of Animal Production, 2: 51-61. (In Persian).
14- Kitessa, S., P. C. Flinn., and G. G. Irish. 1999. Comparison of methods used to predict in vivo digestibility of feeds in ruminants. Australian Journal of Agricultural Research, 50: 825-841.
15- Lattimer J. M., S. R. Cooper., D. W. Freeman., and D. L. Lalman. 2007. Effect of yeast culture on in vitro fermentation of a high-concentrate or high-fiber diet using equine fecal inoculum in a DaisyII incubator. Journal of Animal Science, 85:2484-2491.
16- Mehrez, A. A., and E. R. Orskov. 1977. A study of theartificial bag technique for determining the digestibilityof feeds in the rumen. Journal of Agricultural Science, (Cambridge), 88:645.
17- Mirzaei-Aghsaghali, A., N. Maheri-Sis., H. Mansouri., M. Razeghi., A. Mirza-Aghazadeh., H. Cheraghi.,and A. Aghajanzadeh-Golshani. 2011. Evaluating potential nutritive value of pomegranate processing by-products for ruminants using in vitro gas production technique. Journal of Agriculture and Biological Science, 6:45-51.
18- Nocek, J. E. 1988. Insitu and other methods to estimate ruminal protein and energy digestibility: A review. Journal of Dairy Science, 71:2051-2069.
19- Orskov, E. R., and I. McDonald. 1979. The estimate of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. Journal of Agricultural Science, (Cambridge), 92:499.
20- Ørskov, E. R., F. D. Deb Hovell., and F. L Mould. 1980. The use of the nylon bag technique for evaluation of

feedstuff. Tropical Animal Production, 5:195-213.
21- Persia, M. E., C. M. Parsons., M. Schang., and L. Azcona. 2003. Nutritional evaluation of dried tomato seeds. Poultry Science, 82: 141-146.
22- Robinson, P. H., M. Campbell Mathews., and J. G. Fadel. 1999. Influence of storage time and temperature on in vitro digestion of neutral detergent fibre at 48 h, and comparison to 48 h in sacco neutral detergent fibre digestion. Animal Feed Science and Technology, 80:257-266.
23- Spanghero, M., S. Boccalon., L. Gracco., and L. Gruber. 2003. NDF degradability of hays measured in situ and in vitro. Animal Feed Science and Technology, 104:201-208.
24- Statistical Analysis Systems Institute (SAS). 2002. SAS version 9.1. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.
25- Stern, M. D., A. Bach., and S. Calsamiglia. 1997. Alternative techniques for measuring nutrient digestion in ruminants. Journal of Animal Science, 75: 2256-2276.
26- Tagliapietra, F., S. Schiavon, J. C. Hall, M. Dal Maso., M. Cattani., and L. Bailoni. 2008. Dry matterand NDF rumen degradability assessed by two in vitro techniques on seven feeds. Page 226 in 59th Annual Meeting of European Federation of Animal Science Book of Abstracts, Vilnius, Lithuania.
27- Tagliapietra, F., M. Cattani., I. K. Hindrichsen., H. Hansen., S. Colombini., L. Bailoni., and S. Schiavon. 2012. True dry matter digestibility of feeds evaluated in situ with different bags and in vitro using rumen fluid collected from intact donor cows. Animal Production Science, 52:338-346.
28- Taher-Maddah, M., N. Maheri-Sis., R. Salamatdoustnobar., A. Ahmadzadeh. 2012. Comparing nutritive value of ensiled and dried pomegranate peels for ruminants using in vitro gas production technique. Annual Biological Research, 3:1942-1946.
29- Tilley, J. M. A., and R. A. Terry. 1963. A two stage technique for in vitro digestion of forage crops. Journal of the British Grassland Society, 18:104.
30- Varel, V. H., and K. K. Kreikemeier. 1995. Technical Note: comparison of in vitro and in situ digestibility methods. Journal of Animal Science, 73:578-582.
31- Wilman, D., and A. Adesogan.2000. A comparison of filter bag methods with conventional tube methods of determining the in vitro digestibility of forages. Animal Feed Science and Technology, 84:33–47.

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 8, No. 1, Spring 2016, p. 26-33

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد 8، شماره 1، بهار 1395، ص. 33-26

Comparison of Two Methods of Ruminal Digestibility Determination (*in situ* and *in vitro*) of Pomegranate Seed Pulp

M. H. Fathi[1]*- F. Khosravi[2]

Received: 05-01-2014
Accepted: 12-03-2016

Introduction Using of agro-industrial by-products in diet of livestock not only reduces the production costs but also can dwindle the use of human foods in animal nutrition and competition between human and livestock. Thus, proper use of these by-products in animal nutrition and identification of new and low cost feed resources may be one of the priorities in livestock husbandry of our country. Pomegranate seed pulp (PSP) is a by-product of the industrial decoction of pomegranate. Iran with annually production of more than 900 tons of pomegranates is one of the most important regions of pomegranate cultivation and PSP produced from pomegranate processing factories may be extensively used in animal nutrition. Digestibility determination of feeds is one of the most effective ways to evaluate their nutritional value. In addition, there is a strong relationship between feeds digestibility and performance of animal. There are in vivo, in vitro and in situ methods to determine the digestibility of feeds. Although in vivo methods are reference for digestibility values of feeds and are of high precision but they are usually expensive and time consuming. In addition, these methods do not provide any information related to ruminal degradability kinetic of nutrients. The aim of this study was comparison of two methods of ruminal degradability determination methods namely, in situ (nylon bag) and in vitro (Daisy incubator), using dried and ensiled pomegranate seed pulp (PSP).

Materials and Methods The PSP used in this study was prepared from Anaryan Co. in Ferdows, Iran. Decocted pomegranate was a mixture of Yazd varieties which were harvested at early autumn of 1389. Two types of PSP as dried and ensiled were used to compare the methods of ruminal digestibility determination, pervasively. The PSP silage was prepared by ensiling of wet PSP (containing 475 g/kg DM) in 3 kg bins (4 replicates)and with density of 650 kg wet PSP per cubic meter for 60 days and dried PSP was prepared by drying of wet PSP in oven at 60ºC. The digestibility of each feed was determined by both in situ and in vitro methods using two Holstein fistulated heifers and Daisy incubator, respectively. Animals were fed a total mixed ration containing 1.8 kg/d of alfalfa hay, 1.8 kg/d of concentrate, 0.5 kg/d of corn silage and 1.8 kg/d of wheat straw (DM basis) at two meals. The ingredients of concentrate were barley grain (35%), corn grain (18%), soybean meal (10%), canola meal (15%), wheat bran (11.5%), molasses (7%), vitamin-mineral supplement (1%), oyster shell (2%) and salt (0.5%) (DM basis). Comparison between treatments for each of digestibility methods at 24 and 48 h of incubation was done separately based on completely randomized design using SAS software. Correlation between digestibility determination methods was estimated using Corr proc of SAS and regression coefficient and also regression equation of in situ digestibility method on in vitro digestibility method was determined using Reg proc of SAS.

Results and Discussion The results showed that DM digestibility of PSP (both ensiled and dried) was estimated higher when measured by in vitro than in situ method at both incubation times. The correlation between two methods of digestibility determination for dried and ensiled PSP after 24h incubation was 0.81 and 0.96, respectively and after 48h incubation was 0.99 and 0.75, respectively. The regression equations of DM in situ digestibility estimation from DM in vitro digestibility data were of high accuracy. Tagliapietra et al. (27) compared the in vitro and in situ DM digestibility of 11 different feeds and found a high correlation coefficient of 0.90 ($P < 0.01$) between two methods. Other researchers also reported higher digestibility estimation from in vitro method than in situ. One reason for this, which also may be applicable for the data obtained from present study, is that in in situ method some of ruminal microbes cannot penetrate to bags because in rumen each microbe type is located at a distinct phase while in in vitro method of digestibility all microbes can participate in digestion actively and this will increase the DM digestibility.

Conclusion It was concluded that two studied methods of digestibility determination were highly correlated and regression equation may be used to estimate the in situ DM digestibility of experimental feed samples from in vitro digestibility data precisely.

Keywords: Daisy Incubator, Digestibility, In Situ, In Vitro, Pomegranate Seed Pulp.

1- Associate Professor of Animal Science Department, University of Birjand, Iran,
2- Former MSc. Student of Animal Science Department, University of Birjand, Iran.
(*- Corresponding author email: hfathi@birjand.ac.ir)