برآورد ارزش غذایی دانه‌های گندم و جو با روش تولید گاز آزمایشگاهی با استفاده از دو منبع میکروارگانیسم شیرابه شکمبه و سوسپانسیون مدفوع گوسفند قزل

- **ابوالفضل آقاجانزاده‌گلشنی***: گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و دامپزشکی، واحد شبستر، دانشگاه آزاد اسلامی، شبستر، ایران
- **ناصر ماهری‌سیس**: گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و دامپزشکی، واحد شبستر، دانشگاه آزاد اسلامی، شبستر، ایران
- **رامین سلامت‌دوست‌نوبر**: گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و دامپزشکی، واحد شبستر، دانشگاه آزاد اسلامی، شبستر، ایران
- **یحیی ابراهیم‌نژاد**: گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و دامپزشکی، واحد شبستر، دانشگاه آزاد اسلامی، شبستر، ایران
- **ابوالفضل قربانی**: گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و دامپزشکی، واحد شبستر، دانشگاه آزاد اسلامی، شبستر، ایران

تاریخ دریافت: اردیبهشت ۱۳۹۸ تاریخ پذیرش: مرداد ۱۳۹۸

چکیده

هدف از این مطالعه بررسی امکان جایگزینی سوسپانسیون مدفوع با شیرابه شکمبه در روش تولید گاز آزمایشگاهی برای برآورد ارزش غذایی دانه‌های گندم و جو برای نشخوارکنندگان است. برای انجام آزمایش تولید گاز آزمایشگاهی با استفاده از شیرابه شکمبه، مایع شکمبه از سه رأس گوسفند کانوله‌دار و برای انجام آزمایش مشابه با استفاده از سوسپانسیون مدفوع، مدفوع تازه از همان حیوانات دریافت شد. نتایج نشان داد از نظر تولید گاز آزمایشگاهی بین دو روش استفاده از شیرابه شکمبه و سوسپانسیون مدفوع در زمان‌های مختلف انکوباسیون در مواد خوراکی آزمایشی، تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. هم‌چنین اختلاف معنی‌داری از نظر فراسنجه A (حجم گاز حاصل از بخش قابل تخمیر) و ارزش غذایی برآورد شده بین دو روش مورد آزمایش وجود نداشت، ولی ثابت نرخ تولید گاز (c) به‌دست آمده از روش استفاده از مدفوع به‌طور معنی‌دار بیش‌تر از روش شیرابه شکمبه بود. با توجه به معادلات رگرسیون به‌دست آمده می‌توان با استفاده از سوسپانسیون مدفوع به‌عنوان منبع میکروارگانیسم مقدار گاز تولیدی در روش شیرابه شکمبه را برآورد کرد که این معادلات برای دانه گندم Y=-۳/۸۷۵۱+۱/۰۰۵۲ X و برای دانه جو Y=-۱/۷۱۷۲+۱/۰۳۶۷ X می‌باشد. هم‌چنین اختلاف معنی‌داری در مقادیر انرژی قابل متابولیسم، انرژی خالص شیردهی، قابلیت هضم ماده آلی و اسیدهای چرب زنجیر کوتاه برآورد شده از روی مقدار تولید گاز آزمایشگاهی با استفاده از شیرابه شکمبه و سوسپانسیون مدفوع مشاهده نشد. در مجموع به‌نظر می‌رسد سوسپانسیون مدفوع جایگزین مناسبی برای شیرابه شکمبه در روش تولید گاز آزمایشگاهی برای ارزشیابی مواد خوراکی برای نشخوارکنندگان باشد.

کلمات کلیدی: شیرابه شکمبه، سوسپانسیون مدفوع، تولید گاز آزمایشگاهی، انرژی قابل متابولیسم

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: aaghajanzadeh50@gmail.com

مقدمه

به‌منظور استفاده بهینه از مواد خوراکی، نیاز به اطلاعات کافی در زمینه نیازهای حیوان، ارزش غذایی مواد خوراکی مورد استفاده و قابلیت دسترسی به مواد مغذی توسط دام می‌باشد. از آن‌جایی‌که مواد مغذی ضروری برای حیوان از طریق منابع مختلف تأمین می‌شوند برای بهبود سیستم غذایی دام، شناخت ویژگی‌های کمی و کیفی مواد خوراکی در ارتباط با ارزش غذایی خوراک مصرفی و هم‌چنین تأمین نیازهای حیوان برای اهداف مختلف پرورشی ضرورتی اجتناب ناپذیر است. بنابراین برای تغذیه صحیح در درجه اول باید ترکیب شیمیایی و اجزای مغذی خوراک‌ها مشخص و سپس قابلیت هضم و یا قابلیت استفاده از مواد مغذی خوراک‌ها شناخته شوند (نیکخواه و مهدوی، ۱۳۸۵). ارزشیابی خوراک‌ها از نظر دامداران، کارخانه‌های تهیه و تولید خوراک‌دام و پژوهشگران امری ضروری‌بوده‌و به‌همین جهت روش‌های مختلفی نیز تاکنون ابداع و استفاده شده است. روش تجزیه شیمیایی ماده خوراکی جزو قدیمی‌ترین روش‌های ارزشیابی به‌حساب می‌آید. این روش با وجود این که برای ارزشیابی مواد خوراکی ضروری است اما به تنهایی توانایی تعیین ارزش غذایی مواد خوراکی برای دام‌ها را ندارد. مهم‌ترین و کاربردی‌ترین روش‌های ارزشیابی مواد خوراکی برای نشخوارکنندگان در سه روش حیوان زنده، کیسه‌های نایلونی و آزمایشگاهی خلاصه شده است (Madsen و همکاران، ۱۹۹۷). روش "تولید گاز" یکی از روش‌های آزمایشگاهی سریع و ارزان قیمت برای برآورد ارزش غذایی مواد خوراکی است. اما در این روش نیاز به دام کانوله‌دار برای تهیه شیرابه شکمبه وجود دارد. لزوم داشتن دام کانوله‌دار برای تأمین لیکور شکمبه مشکلاتی ازجمله نیاز به انجام جراحی، مراقبت دایم برای جلوگیری از عفونت، هزینه‌های مربوط به نگه‌داری طولانی مدت این حیوانات و اختلال در هضم شکمبه‌ای حیوان دهنده لیکور و نیز ملاحظات مربوط به حقوق حیوانات را به همراه دارد (Aghajanzadeh-Golshani و همکاران، ۲۰۱۵). بنابراین ابداع روش‌های آزمایشگاهی که نیاز به لیکور شکمبه و دام کانوله‌دار در آن‌ها کم‌تر باشد ضروری به‌نظر می‌رسد (Mauricio و همکاران، ۲۰۰۱). شاید El Shaer و همکاران (۱۹۸۷) اولین پژوهشگرانی بودند که از مدفـوع گوسفند به‌عنوان جایگزین لیکور شکمبه در روش‌های آزمایشگاهی‌استفاده کردند.در تحقیقی Cutrignelli‌وهمکاران(۲۰۰۵) نیز از مدفوع گاومیش به‌جای شیرابه شکمبه در روش تولید گاز آزمایشگاهی استفاده کردند و اختلاف معنی‌داری بین نتایج آن‌ها مشاهده نکردند. پژوهشگران مختلف ضریب هم‌بستگی بالایی (بیش‌تر از ۰/۹) را بین قابلیت هضم ماده خشک برآورد شده از طریق روش تولید گاز با استفاده از لیکور مدفوع حیوانات مختلف و قابلیت هضم ظاهری ماده خشک به‌دست آمده از روش‌های مرسوم گزارش کردند (Solangi،۱۹۹۷؛ El Shaer و همکاران، ۱۹۸۷؛ Balfe، ۱۹۸۵). به‌نظر می‌رسد در صورت استفاده گسترده از لیکور مدفوع و آشکار شدن نقاط ضعف و قوت این روش، می‌توان امیدوار بود که روش تولید گاز با نیاز به امکانات کم‌تر و عدم وابستگی به حضور حیوان جراحی شده در مناطقی که با کمبود امکانات روبرو هستند، به‌کار گرفته شود. با توجه با این که جو یک ماده خوراکی ایده‌آل برای نشخوارکنندگان محسوب شده و گندم برای افزایش تولید پروتیین شیر مفید است و هر دوی این مواد خوراکی به‌عنوان منبع تولیدکننده انرژی در بخش کنسانتره جیره‌های گاوهای شیری استفاده می‌شوند. لذا هدف از این مطالعه بررسی امکان جایگزینی سوسپانسیون تهیه شده از مدفوع با لیکور شکمبه در روش تولید گاز آزمایشگاهی برای برآورد ارزش غذایی دانه‌های گندم و جو برای نشخوارکنندگان است.

مواد و روش‌ها

مکان آزمایش: عملیات مزرعه‌ای تحقیق حاضر (تهیه لیکور شکمبه و مدفوع گوسفندی) در ایستگاه تحقیقاتی دامپروری دانشگاه آزاد اسلامی واحد شبستر صورت گرفت. قسمت عمده کارهای آزمایشگاهی نمونه‌ها در آزمایشگاه‌های تغذیه دام دانشگاه آزاد اسلامی واحد شبستر به‌اجرا درآمد.

تهیه مواد خوراکی و تجزیه شیمیایی آن‌ها: دانه گندم رقم الوند و دانه جو پاییزه از روستای کافی‌الملک از توابع شهرستان شبستر تهیه شدند. از هر نمونه خوراکی به‌مقدار حدود ۵۰۰ گرم انتخاب و با اندازه ذرات یک میلی‌متر در آسیاب چکشی آسیاب شدند. تعیین مقدار ماده خشک، خاکستر، چربی خام، پروتئین خام، فیبر نامحلول در شوینده خنثی و فیبر نامحلول در شوینده اسیدی، طبق روش‌های استاندارد انجام گرفت (Van Soest و همکاران، ۱۹۹۱؛ AOAC، ۱۹۹۰). مقدار ماده آلی از محاسبه اختلاف مقادیر ماده خشک با خاکستر به‌دست آمد. مقدار کربوهیدرات‌های غیرفیبری (Non Fibrous Carbohydrates) از رابطه زیر محاسبه شد (NRC، ۲۰۰۱).

$$NFC = ۱۰۰ - (NDF + CP + EE + Ash)$$

NFC: کربوهیدرات‌های غیرفیبری (درصد در ماده خشک)، CP: پروتئین خام (درصد در ماده خشک)، NDF: دیواره سلولی (درصد در ماده خشک)، EE: چربی خام (درصد در ماده خشک)، Ash: خاکستر (درصد در ماده خشک).

روش‌های آماری و نوع طرح آزمایشی: این آزمایش در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی روی دو ماده خوراکی و هر کدام در سه تکرار انجام شد.

روش تولید گاز آزمایشگاهی معمول با استفاده از شیرابه

شکمبه: برای انجام آزمایش تولید گاز، لیکور شکمبه از سه راس گوسفندنر توده قزل کانوله‌گذاری شده با سن ۲±۲۲ ماه، قبل از غذای وعده صبحگاهی به‌وسیله شلنگی که به یک سرنگ ۵۰ میلی‌لیتری متصل بود، گرفته شده و بلافاصله به فلاسک گرم حاوی دی‌اکسید کربن منتقل شد. شیرابه شکمبه از یک شال پنیر دو لایه عبور داده شده و در دمای ۳۹ درجه سلسیوس و تحت شرایط گاز کربنیک نگه‌داری شد. گوسفندان مورد استفاده دارای وزنی در دامنه ۵۵ الی ۶۰ کیلوگرم بوده و با جیره غذایی حاوی ۷۰ درصد علوفه (یونجه خشک) و ۳۰ درصد کنسانتره (جو، کنجاله سویا و کنجاله پنبه‌دانه، مکمل‌های مواد معدنی و ویتامینی)، در حد ۱۰ درصد بیش‌تر از احتیاجات نگه‌داری به‌صورت جیره غذایی کاملاً مخلوط در دو نوبت صبح و عصر تغذیه شدند و در تمام شبانه روز دسترسی آزاد به آب سالم داشتند. انکوباسیون با استفاده از سرنگ‌های مدرج معلق با حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر در انکوباتور شیکردار (در دمای ۳۹/۵ درجه سلسیوس) انجام شد. محتویات سرنگ‌ها حاوی ۲۰۰ میلی‌گرم از مواد خوراکی مورد آزمایش (براساس ماده خشک)، ۱۰ میلی‌لیتر شیرابه شکمبه و ۲۰ میلی‌لیتر بزاق مصنوعی بود (Menke و Steingass، ۱۹۸۸). برای جلوگیری از خطاهای ناشی از گاز تولیدی در اثر عمل میکروارگانیسم‌ها روی مواد خوراکی احتمالی در مایع شکمبه از سرنگ‌های بدون ماده خوراکی مورد آزمایش استفاده شد تا از روی آن‌ها گاز تولیدی سرنگ‌های اصلی حاوی نمونه خوراکی تصحیح شود. بدین طریق هم اثر روز بررسی گردیده و هم از خطای مقدار گاز تولیدی ناشی از حضور ماده غذایی موجود در شیرابه شکمبه جلوگیری شد. بدین منظور، سه عدد سرنگ بدون آن‌که نمونه غذایی ریخته شود (شاهد)، فقط ۱۰ میلی‌لیتر شیرابه شکمبه و ۲۰ میلی‌لیتر بزاق مصنوعی ریخته و در انکوباتور قرار داده شدند و در هر یک از زمان‌ها، مقدار گاز تولیدی سرنگ‌های شاهد، از کل گاز تولیدی سرنگ‌های حاوی مواد خوراکی مورد آزمایش کسر گردید تا مقدار گاز خالص تولید شده از تخمیر ماده غذایی مورد آزمایش به‌دست آید. گاز تولیدی در سرنگ‌ها در زمان‌های ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۲، ۱۶، ۲۴، ۳۶، ۴۸، ۶۰ و ۷۲ ساعت قرائت و ثبت شد و برای هر زمان انکوباسیون سه بار تکرار صورت گرفت. مقادیر تولید گاز بخش قابل تخمیر و سرعت تولید گاز با استفاده از نرم‌افزار Fitcurve به‌دست آمد. (Chen، ۱۹۹۵؛ Menke و Steingass، ۱۹۸۸؛ Orskov و McDonald، ۱۹۷۹).

روش تولید گاز آزمایشگاهی معمول با استفاده از سوسپانسیون تهیه شده از مدفوع: نمونه‌های مدفوع مورد نیاز برای روش تولید گاز آزمایشگاهی نیز از حیوانات مورد استفاده در آزمایش‌های یادشده گرفته شده و بر مبنای روش El Shaer و همکاران (۱۹۸۷) فرآوری و آماده شد و سپس تمام مراحل روش تولید گاز آزمایشگاهی بر مبنای لیکور شکمبه، در این آزمایش نیز اجرا شد. برای تهیه لیکور مدفوع براساس روش El Shaer و همکاران (۱۹۸۷) قبل از خوراک وعده صبحگاهی، مدفوع تازه از رکتوم حیوان تهیه شد. مدفوع در فلاسک گرمی به آزمایشگاه منتقل شده و ۵۰ گرم از آن انتخاب و در ۵۰ میلی‌لیتر بزاق مصنوعی تهیه شده باروش Menke و Steingass (۱۹۸۸)که با گاز دی‌اکسید کربن اشباع شده بود خیسانده و سپس مخلوط نسبتاً یکنواختی تهیه شد. این مرحله برای جداسازی باکتری‌های متصل به ذرات مواد خوراکی ضروری است. سپس روی آن ۲۵۰ میلی‌لیتر از بزاق مصنوعی اضافه و در انتها مخلوط صاف شده و pH آن به ۶/۸ رسانیده شد. انکوباسیون با استفاده از سرنگ‌های مدرج معلق باحجم ۱۰۰ میلی‌لیتر در انکوباتور شیکردار (در دمای ۳۹/۵ درجه سلسیوس) انجام شد. محتویات سرنگ‌ها حاوی ۲۰۰ میلی‌گرم از مواد خوراکی مورد آزمایش (براساس ماده خشک) و ۳۰ میلی‌لیتر از سوسپانسیون تهیه شده از مدفوع بود. برای تصحیح گاز تولیدی با منشأ شیرابه مدفوع، سه عدد سرنگ بدون آن‌که نمونه غذایی ریخته شود (شاهد)، فقط ۳۰ میلی‌لیتر سوسپانسیون تهیه شده از مدفوع ریخته و در انکوباتور قرار داده شدند و در هر زمان مقدار گاز تولیدی این سرنگ‌ها از کل گاز تولیدی در هر ساعت کسر شد تا مقدار گاز تولیدی ناشی از تخمیر ماده غذایی مورد آزمایش به‌دست آید. گاز تولیدی در سرنگ‌ها در زمان‌های مشابه با روش لیکور شکمبه، قرائت و ثبت شد و برای هر زمان انکوباسیون سه بار تکرار صورت گرفت.

معادلات مورد استفاده: مقدار اسیدهای چرب زنجیره کوتاه، قابلیت هضم ماده‌آلی، انرژی قابل سوخت و ساز و انرژی خالص شیردهی مواد خوراکی مورد آزمایش به ترتیب از رابطه‌های زیر برآورد شدند.

$$SCFA=۰/۰۲۲۲\ Gas - ۰/۰۰۴۲۵ \quad \text{(Makkar، ۲۰۰۵)}$$

$$DOM=۰/۹۹۹۱Gas+۰/۵۹۵CP+۰/۱۸۱CA+۹ \quad \text{(Menke و Steingass، ۱۹۸۸)}$$

$$ME=۰/۱۵۷Gas+۰/۰۸۴CP+۰/۲۲EE-۰/۰۸۱CA+۱/۰۶ \quad \text{(Menke و Steingass، ۱۹۸۸)}$$

$$NEl=۰/۱۱۵Gas+۰/۰۵۴CP+۰/۱۴\ EE-۰/۰۵۴\ CA-۰/۳۶ \quad \text{(Menke و Steingass، ۱۹۸۸)}$$

که در آن‌ها، SCFA : اسیدهای چرب زنجیره کوتاه (میلی‌مول)، Gas: تولید گاز (میلی‌لیتر به‌ازای ۲۰۰ میلی‌گرم ماده خشک در ۲۴ ساعت اولیه تخمیر)، DOM: قابلیت هضم ماده آلی (درصد)، CP: پروتئین خام (درصد)، CA: خاکستر (درصد)، ME: انرژی قابل سوخت و ساز (مگاژول بر کیلوگرم ماده خشک)، EE: چربی خام (درصد)، NE_l: انرژی خالص شیردهی (مگاژول بر کیلوگرم ماده خشک)

فراسنجه‌های تولید گاز آزمایشگاهی: مقدار تولید گاز و فراسنجه‌های مربوطه با استفاده از معادله $Y=A\ (1-e^{-ct})$ برآورد شد (Orskov و McDonald، ۱۹۷۹) که در آن، Y: حجم گاز تولیدی در

زمان t (میلی‌لیتر)، A: حجم گاز حاصل از بخش قابل تخمیر (میلی‌لیتر)، e: عدد نپری (۲/۷۱۸۲)، c: ثابت سرعت تولید گاز در طول انکوباسیون (میلی‌لیتر در هر ساعت)، t: مدت زمان انکوباسیون

روش تجزیه و تحلیل اطلاعات: محاسبات، استخراج معادلات رگرسیونی و تجزیه آماری داده‌ها با استفاده از بسته نرم‌افزاری SAS (۲۰۰۱)نسخه ۹/۱ و نرم‌افزار Fitcurve نسخه ۶ (Chen، ۱۹۹۵) انجام شد و برای مقایسات میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵ درصد استفاده شد.

نتایج

ترکیب شیمیایی: میانگین ترکیب شیمیایی مواد خوراکی مورد آزمایش در جدول ۱ آورده شده است. همان‌طوری‌که مشاهده می‌شودمقادیر ماده آلی، پروتئین خام و چربی خام دانه گندم به‌ترتیب ۹۸/۰۸، ۱۰/۱۹ و ۰/۸۰ درصد و برای دانه جو ۹۷/۷۹، ۱۳/۶۳ و ۰/۸۹ درصد به‌دست آمد.

جدول ۱: ترکیبات شیمیایی دانه‌های گندم و جو (درصد در ماده خشک)

ماده خوراکی	ماده خشک	ماده آلی	پروتئین خام	چربی خام	دیواره سلولی	دیواره سلولی بدون همی سلولز	کربوهیدرات‌های غیرفیبری
دانه گندم	۹۰/۴۳	۹۸/۰۸	۱۰/۱۹	۰/۸۰	۱۰/۴۸	۳/۶۱	۷۶/۶۱
دانه جو	۹۰/۲۱	۹۷/۷۹	۱۳/۶۳	۰/۸۹	۱۹/۹۵	۶/۵۲	۶۳/۳۲

مقایسه مقادیر گاز تولیدی در ساعت‌های مختلف انکوباسیون در دو روش تولید گاز آزمایشگاهی با استفاده از شیرابه شکمبه و سوسپانسیون مدفوع برای دانه‌های گندم و جو: در جدول ۲ نتایج تجزیه آماری و مقایسه میانگین تولید گاز بین دو روش تولید گاز آزمایشگاهی در زمان‌های مختلف انکوباسیون در دانه‌های گندم و جو آورده شده است. همان‌طوری‌که مشاهده می‌شود در زمان‌های مختلف انکوباسیون در هیچ‌کدام از مواد خوراکی مورد آزمایش، تفاوت معنی‌داری بین دو روش استفاده از شیرابه شکمبه و سوسپانسیون مدفوع وجود ندارد (P>۰/۰۵) (به‌غیر از زمان ۱۲ ساعت انکوباسیون مربوط به گندم که در آن بین دو روش تفاوت معنی‌داری‌وجوددارد (P<۰/۰۵) و در روش استفاده از سوسپانسیون مدفوع گاز بیش‌تری در مقایسه با استفاده از شیرابه شکمبه تولید شده است.

جدول ۲: مقدار گاز تولیدی (میلی‌لیتر) با استفاده از شیرابه شکمبه و سوسپانسیون مدفوع در زمان‌های مختلف انکوباسیون برای دانه‌های گندم و جو

ماده خوراکی	نوع شیرابه	زمان انکوباسیون (ساعت)										
		۲	۴	۶	۸	۱۲	۱۶	۲۴	۳۶	۴۸	۶۰	۷۲
گندم	شکمبه	۴/۷۸	۷/۹۵	۱۲/۷۸	۲۴/۷۰	۵۵/۸۰^{b}	۷۴/۵۰	۸۴/۸۳	۹۱/۱۷	۹۴/۵۰	۹۵/۸۳	۹۶/۵۰
	مدفوع	۳/۷۲	۷/۶۱	۱۹/۰۰	۴۲/۰۰	۶۸/۴۲^{a}	۷۸/۵۰	۸۵/۸۳	۹۰/۹۵	۹۴/۲۰	۹۵/۵۸	۹۶/۵۸
	SEM	۱/۵۶	۲/۰۴۶	۳/۵۴	۵/۷۷	۲/۷۳	۲/۵۹	۲/۴۲	۲/۴۶	۲/۳۷	۲/۳۸	۲/۲۳
	ارزشP	۰/۶۶	۰/۹۲	۰/۲۸	۰/۱۰	۰/۰۳	۰/۳۳	۰/۷۸	۰/۹۵	۰/۹۳	۰/۹۴	۰/۹۸
جو	شکمبه	۴/۶۱	۸/۶۱	۱۴/۹۵	۲۵/۸۶	۴۸/۱۴	۶۴/۵۰	۷۶/۶۷	۸۳/۰۰	۸۶/۸۳	۸۹/۳۳	۹۱/۳۳
	مدفوع	۳/۵۵	۸/۱۱	۱۸/۱۷	۳۰/۶۷	۵۵/۲۵	۶۶/۰۰	۷۳/۶۷	۷۹/۷۸	۸۳/۳۶	۸۵/۲۵	۸۷/۲۵
	SEM	۱/۵۲	۱/۹۹	۲/۴۷	۲/۶۴	۳/۱۵	۲/۸۶	۲/۶۹	۲/۴۷	۲/۴۹	۲/۴۸	۲/۴۱
	ارزشP	۰/۶۵	۰/۸۷	۰/۴۱	۰/۲۷	۰/۱۹	۰/۷۳	۰/۴۷	۰/۴۱	۰/۳۸	۰/۳۱	۰/۳۰

حروف غیرمشابه (a، b، c و ....) مربوط به هر ترکیب مغذی در هر ستون نشان‌دهنده وجود تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد است. SEM: Standard error of means: اشتباه معیار میانگین‌ها

مقایسه دو روش تولید گاز با استفاده از شیرابه شکمبه و سوسپانسیون مدفوع از نظر فراسنجه‌های تولید گاز و شاخص‌های ارزش غذایی برای دانه‌های گندم و جو: نتایج تجزیه آماری فراسنجه‌های تولید گاز شامل مقدار گاز حاصل از بخش قابل تخمیر (A)، سرعت تولید گاز (c)، انرژی قابل متابولیسم، انرژی خالص شیردهی، قابلیت هضم ماده آلی و اسیدهای چرب زنجیر کوتاه با دو روش استفاده از شیرابه شکمبه و سوسپانسیون مدفوع برای هر یک از دانه‌های گندم و جو در جدول ۳ نشان داده شده است. همان‌طورکه ملاحظه می‌شود در مورد گندم و جو اختلاف معنی‌داری از نظر فراسنجه A (حجم گاز حاصل از بخش قابل تخمیر) و شاخص‌های برآورد شده ارزش غذایی بین دو روش وجود ندارد (P>۰/۰۵) ولی مقدار ثابت سرعت تولید گاز (c) با روش استفاده از مدفوع،هم‌در دانه گندم و هم دانه جو به‌طور معنی‌داری (P<۰/۰۵) بیش‌تر از روش‌استفاده از شیرابه شکمبه است.

جدول ۳: مقایسه فراسنجه‌های تولید گاز آزمایشگاهی، انرژی قابل متابولیسم، انرژی خالص شیردهی، اسیدهای چرب زنجیر کوتاه و قابلیت هضم ماده آلی با دو روش استفاده از شیرابه شکمبه و سوسپانسیون مدفوع برای هر یک از دانه‌های گندم و جو

ماده خوراکی	نوع شیرابه	A	C	ME	NE_L	SCFA	OMD
دانه گندم	شکمبه	۹۸/۳۶	۰/۰۸۱[b]	۱۵/۲۶	۹/۹۵	۱/۸۸	۹۸/۱۷
	مدفوع	۹۶/۲۲	۰/۱۰۶[a]	۱۵/۴۱	۱۰/۰۷	۱/۹۰	۹۹/۱۷
	SEM	۲/۱۴	۰/۰۰۴	۰/۳۸	۰/۲۸	۰/۰۵	۲/۴۱
	ارزشP	۰/۵۲	۰/۰۰۸	۰/۷۸	۰/۷۸	۰/۷۸	۰/۷۸
دانه جو	شکمبه	۹۱/۶۱	۰/۰۷۴[b]	۱۴/۲۶	۹/۲۰	۱/۷۰	۹۴/۱۱
	مدفوع	۸۶/۱۶	۰/۰۹۰[a]	۱۳/۷۹	۸/۸۵	۱/۶۳	۹۱/۱۱
	SEM	۲/۳۳	۰/۰۰۳	۰/۴۲	۰/۳۱	۰/۰۶	۲/۶۸
	ارزشP	۰/۱۷	۰/۰۱۲	۰/۴۷	۰/۴۷	۰/۴۷	۰/۴۷

A: حجم گاز حاصل از بخش قابل تخمیر (میلی‌لیتر)، c: سرعت تولید گاز (میلی‌لیتر در ساعت)، ME: انرژی قابل متابولیسم (مگاژول در کیلوگرم ماده خشک)، NE_L: انرژی خالص شیردهی (مگاژول در کیلوگرم ماده خشک)، OMD: قابلیت هضم ماده آلی (درصد)، SCFA: اسیدهای چرب زنجیر کوتاه (میلی‌مول)، SEM: Standard error of means: اشتباه معیار میانگین‌ها، حروف غیرمشابه (a، b، c و ....) مربوط به هر ترکیب مغذی در هر ستون نشان‌دهنده وجود تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد است.

معادلات رگرسیون برآورد گاز تولیدی با شیرابه شکمبه از روی گاز تولید شده به‌روش مدفوع: در جدول‌های ۴ و ۵ اجزای معادلات برآورد گاز تولیدی به با شیرابه شکمبه از روی گاز تولید شده به‌روش مدفوع در هر ساعت انکوباسیون با دخالت زمان و بدون دخالت زمان برای دانه‌های گندم و جو آورده شده است. معادله رگرسیون عبارت از $Y=a+bX$ که در هر دو جدول Y گاز تولیدی برآورد شده با شیرابه شکمبه، a عرض از مبدأ، b ضریب گاز تولیدی با مدفوع و X مقدار گاز تولیدی با روش مدفوع می‌باشد.

جدول ۴: اجزای معادله‌های رگرسیون برآورد گاز تولیدی با شیرابه شکمبه از روی گاز تولیدی با روش مدفوع برای دانه گندم

	متغیر	ضرایب	ارزشP	
با دخالت زمان	عرض از مبدأ	-۲/۲۷۶۰	۰/۳۷۵۵	r^2=۰/۹۶۶۰
	گاز تولیدی با مدفوع	۰/۸۶۳۶	<۰/۰۰۰۱	n=۳۳
	زمان	۰/۲۷۴۴	۰/۰۰۳۸	
بدون دخالت زمان	عرض از مبدأ	-۳/۸۷۵۱	۰/۱۷۷۷	r^2=۰/۹۵۴۹
	گاز تولیدی با مدفوع	۱/۰۰۵۲	<۰/۰۰۰۱	n=۳۳

جدول ۵: اجزای معادله‌های رگرسیون برآورد گاز تولیدی با شیرابه شکمبه از روی گاز تولیدی با روش مدفوع برای دانه جو

	متغیر	ضرایب	ارزشP	
با دخالت زمان	عرض از مبدأ	-۰/۱۹۳۷	۰/۹۱۷۳	r^2=۰/۹۷۷۷
	گاز تولیدی با مدفوع	۰/۸۹۹۱	<۰/۰۰۰۱	n=۳۳
	زمان	۰/۲۲۴۲	۰/۰۰۳۱	
بدون دخالت زمان	عرض از مبدأ	-۱/۷۱۷۲	۰/۴۰۶۰	r^2=۰/۹۷۰۰
	گاز تولیدی با مدفوع	۱/۰۳۶۷	<۰/۰۰۰۱	n=۳۳

بحث

ترکیب شیمیایی: از نظر ترکیب شیمیایی هر یک از مواد خوراکی مورد آزمایش، در تحقیقات مختلف تفاوت‌هایی وجود دارد. ترکیب شیمیایی دانه گندم شامل پروتئین خام، چربی خام، خاکستر، دیواره سلولی و دیواره سلولی بدون همی‌سلولز در تعدادی از تحقیقات انجام شده به‌ترتیب در دامنه ۱۰/۲ تا ۱۷، ۰/۹۱ تا ۲/۸۹، ۱/۴۵ تا ۲/۹، ۹/۴ تا ۱۶/۶۱ و ۲/۶۴ تا ۴/۳۴ درصد در ماده خشک (Parnian و همکاران، ۲۰۱۳؛ Mohammadian-Tabrizi و همکاران، ۲۰۱۱؛ Gençoglu و همکاران، ۲۰۱۱) و برای دانه جو به‌ترتیب در دامنه ۹

تا ۱۴/۴۳، ۱ تا ۳/۹۱، ۲/۱۲ تا ۴/۱۱، ۱۹/۲۸ تا ۲۶/۸ و ۵/۴ تا ۱۰/۶ درصد در ماده خشک است (Jahani-Azizabadi و همکاران، ۲۰۰۹؛ Taghizadeh و Nemati، ۲۰۰۸؛ سمیعی زفرقندی و همکاران، ۱۳۸۹).

بیش‌تر ترکیبات شیمیایی مواد خوراکی مورد استفاده در تحقیق حاضر در دامنه نتایج گزارش شده توسط پژوهش‌گران مختلف بود. Koehler و Wieser (۲۰۱۳) بیان کردند تفاوت قابل توجهی از نظر ساختار و ترکیب شیمیایی بین غلات وجود دارد، حتی در بین گونه‌ها و ارقام هر یک از غلات این تفاوت‌ها وجود دارد. به گفته این محققان به‌طور میانگین مقدار پروتیین دانه‌های غلات در دامنه ۸ تا ۱۱ درصد است، هرچند که این دامنه کوچک است ولی قابل توجه می‌باشد. مقدار پروتیین بستگی به ژنوتیپ(نوع غله، گونه و رقم)و شرایط رشد ازجمله خاک، اقلیم و کوددهی به‌ویژه مقدار و زمان کوددهی نیتروژن دارد.

مقایسه مقادیر گاز تولیدی در ساعت‌های مختلف انکوباسیون در دو روش تولید گاز آزمایشگاهی با استفاده از شیرابه شکمبه و سوسپانسیون مدفوع برای دانه‌های گندم و جو: در مطالعه‌ای Zhao و Chen (۲۰۰۴) مقدار گاز تولیدی با روش Menke و همکاران (۱۹۷۹) را با استفاده از شیرابه شکمبه گوسفند برای دانه گندم در ساعت‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت انکوباسیون به‌ترتیب ۷۵، ۸۴ و ۸۸ میلی‌لیتر به‌ازای ۲۰۰ میلی‌گرم ماده خشک و در استفاده از سوسپانسیون مدفوع گوسفند با غلظت ۱۵۰ گرم مدفوع در یک لیتر بزاق (در تحقیق حاضر غلظت سوسپانسیون ۵۰ گرم مدفوع در ۳۰۰ میلی‌لیتر بزاق بود) به‌ترتیب ۶۹، ۷۸ و ۸۰ میلی‌لیتر به‌ازای ۲۰۰ میلی‌گرم ماده خشک، گزارش کردند. این محققان در آزمایش خود درصدهای مختلف سوسپانسیون مدفوع (۳۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ گرم مدفوع در یک لیتر بزاق) را با شیرابه شکمبه گوسفند مقایسه کردند ولی با توجه به این که در تحقیق حاضر غلظت سوسپانسیون مدفوع تقریباً با غلظت ۱۵۰ گرم در لیتر مشابه است به همین دلیل نتایج تولید گاز آن آورده شده است. در تحقیقی V´aradyov´a و همکاران (۲۰۰۵) دانه جو را با دو منبع میکروبی شیرابه شکمبه و سوسپانسیون مدفوع در سرنگ تخمیر کرده و گاز حاصل را با استفاده از شیرابه شکمبه در ساعت‌های ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ انکوباسیون به‌ترتیب ۱۷۰، ۲۵۵، ۲۹۰ و ۲۹۶ میلی‌لیتر به‌ازای یک گرم ماده خشک و با استفاده از سوسپانسیون مدفوع به ترتیب ۱۱۰، ۱۸۰، ۲۱۵ و ۲۴۶ میلی‌لیتر به‌ازای یک گرم ماده خشک گزارش کردند. این پژوهشگران عنوان داشتند که هنگام استفاده از تکنیک‌های آزمایشگاهی متغیرهایی از قبیل جیره حیوان دهنده شیرابه شکمبه، سازگاری جمعیت میکروبی، مدت زمان گرفتن شیرابه شکمبه بعد از خوردن غذا و درجه بی‌هوازی سازی محیط در انکوباسیون، می‌توانند روی پروفایل تولید گاز اثرگذار باشند.

مقایسه دو روش تولید گاز با استفاده از شیرابه شکمبه و سوسپانسیون مدفوع از نظر فراسنجه‌های تولید گاز و شاخص‌های ارزش غذایی برای دانه‌های گندم و جو: در تحقیقی Mohammadian-Tabrizi و همکاران (۲۰۱۱) در روش تولید گاز آزمایشگاهی با شیرابه شکمبه گاو مقادیر گاز بخش قابل تخمیر (A)، سرعت تولید گاز (c)، انرژی قابل متابولیسم و قابلیت هضم ماده آلی دانه گندم را به‌ترتیب ۹۴/۷۴ میلی‌لیتر، ۰/۰۷۴ میلی‌لیتر در هر ساعت، ۱۴/۳۵ مگاژول و ۹۲/۵۷ درصد محاسبه کردند. در مطالعه Parnian و همکاران (۲۰۱۳) با استفاده از فن تولید گاز آزمایشگاهی با شیرابه شکمبه گوسفند مقادیر انرژی قابل متابولیسم، انرژی خالص شیردهی، اسیدهای چرب فرار و قابلیت هضم ماده آلی دانه گندم به‌ترتیب ۹/۷۷، ۶ مگاژول در کیلوگرم ماده خشک، ۱/۲ میلی‌مول در ۲۰۰ میلی‌گرم ماده خشک و ۶۴/۴۷ درصد برآورد شد. هم‌چنین پرند و تقی‌زاده (۱۳۸۹) در روش تولید گاز آزمایشگاهی با شیرابه شکمبه گوسفند مقادیر انرژی قابل متابولیسم، اسیدهای چرب زنجیر کوتاه و قابلیت هضم ماده آلی دانه جو را به‌ترتیب ۱۰/۶ مگاژول در کیلوگرم ماده خشک، ۱/۲۲ میلی‌مول در ۲۰۰ میلی‌گرم ماده خشک و ۶۵ درصد برآورد کردند. دلیل تفاوت در مقادیر فراسنجه‌های تولید گاز آزمایشگاهی و هم‌چنین مقادیر برآورد شده ارزش غذایی دانه‌های گندم و جو بین تحقیقات مختلف را می‌توان به تغییر در ترکیب شیمیایی و نیز تغییرات در جمعیت میکروبی شیرابه شکمبه نسبت داد.

معادلات رگرسیون برآورد گاز تولیدی با شیرابه شکمبه از روی گاز تولید شده به روش مدفوع: در پژوهشی Cone و همکاران (۲۰۰۲) آزمایش تولید گاز را روی ۲۲ ماده خوراکی ازجمله دانه گندم، ذرت، کنجاله سویا و کنجاله آفتابگردان با دو منبع میکروبی شیرابه شکمبه گاو (یک قسمت شیرابه شکمبه و ۲ قسمت بزاق مصنوعی) و مدفوع (یک قسمت مدفوع و ۹ قسمت بزاق مصنوعی) انجام دادند و معادلات زیر را ارایه کردند و نتیجه گرفتند که در روش تولید گاز برای به‌دست آوردن گاز ۴۸ ساعت و حداکثر گاز تولیدی می‌توان به‌جای شیرابه شکمبه از سوسپانسیون مدفوع استفاده کرد ولی برآورد گاز تولیدی در ۲۴ ساعت انکوباسیون از با روش سوسپانسیون مدفوع را مناسب تشخیص ندادند:

=گاز تولیدی ۲۴ ساعت با شیرابه شکمبه (میلی‌لیتر به‌ازای هر گرم ماده آلی)
گاز ۲۴ ساعت با سوسپانسیون مدفوع×۰/۷۵+۱۰۷/۲

($P<0/001, r^2=0/61$)

=گاز تولیدی ۴۸ ساعت با شیرابه شکمبه (میلی‌لیتر به‌ازای هر گرم ماده آلی)
گاز ۴۸ ساعت با سوسپانسیون مدفوع×۰/۹۵+۷۲/۳

($P<0/001, r^2=0/88$)

= حداکثر گاز تولیدی با شیرابه شکمبه (میلی‌لیتر به‌ازای هر گرم ماده آلی)
حداکثر گاز تولیدی با سوسپانسیون مدفوع×۰/۹۱+۸۲/۵
($P<0/001$, $r^2=0/82$)

درتحقیقی که توسط Zhao و Chen (۲۰۰۴)، با روش تولید گاز آزمایشگاهی پیشنهادی Menke و همکاران (۱۹۷۹) انجام شد، دو روش استفاده از شیرابه شکمبه گوسفند و سوسپانسیون با غلظت ۱۰۰ گرم مدفوع در یک لیتر بزاق مصنوعی بر روی تعدادی از مواد خوراکی ازجمله ذرت، کنجاله سویا و پودر ماهی با هم مقایسه شده و معادله رگرسیون زیر ارایه شد. در معادله زیر Y مقدار گاز تولیدی در ۲۴ ساعت انکوباسیون با شیرابه شکمبه (میلی‌لیتر به‌ازای ۲۰۰ میلی‌گرم‌ماده‌خشک)و X مقدار گاز تولیدی در ۴۸ ساعت انکوباسیون (میلی‌لیتر به‌ازای ۲۰۰ میلی‌گرم ماده خشک)باسوسپانسیون با غلظت ۱۰۰ گرم مدفوع در یک لیتر بزاق مصنوعی می‌باشند.

$Y=0/82X+9/87$, $n=32$, $r^2=0/82$

هم‌چنین پرند و تقی‌زاده (۱۳۸۹) روش تولید گاز آزمایشگاهی را با دو منبع میکروارگانیسم شیرابه شکمبه و سوسپانسیون مدفوع روی دانه جو، جو فرآوری شده با بخار، میکروویو و تف داده انجام داده و به‌ترتیب ضرایب تبیین ۰/۹۷، ۰/۸۹، ۰/۹۵ و ۰/۹۰ به‌دست آوردند. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد مقدار گاز تولیدی با استفاده از شیرابه شکمبه و سوسپانسیون مدفوع تهیه شده از گوسفند، بین زمان‌های مشابه در هر دو ماده خوراکی تفاوت معنی‌داری نداشت و ضرایب تبیین بالایی بین مقدار گاز تولیدی با استفاده از شیرابه‌شکمبه و سوسپانسیون مدفوع به‌دست‌آمد. هم‌چنین اختلاف معنی‌داری در مقادیر انرژی قابل متابولیسم، انرژی خالص شیردهی، قابلیت هضم ماده‌آلی و اسیدهای‌چرب زنجیر کوتاه برآورد شده از روی مقدار گاز تولیدی با استفاده از شیرابه شکمبه و سوسپانسیون مدفوع مشاهده نشد. با توجه به نتایج به‌دست آمده از این آزمایش به‌نظر می‌رسد سوسپانسیون مدفوع جایگزین مناسبی برای شیرابه شکمبه در روش تولید گاز آزمایشگاهی باشد. پیشنهاد می‌شود مشابه همین پژوهش روی‌سایر ارقام‌گندم‌و جو و هم‌چنین خوراک‌های‌مخلوط‌مورد استفاده در تغذیه گوسفند نیز انجام و نتایج آن با یافته‌های این مطالعه و سایر تحقیقات انجام شده مقایسه شود.

تشکر و قدردانی

این‌مقاله‌مستخرج‌از رساله دکترای ابوالفضل آقاجانزاده گلشنی به راهنمایی دکتر ناصر ماهری‌سیس و دکتر رامین سلامت‌دوست در گروه علوم دامی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شبستر می‌باشد. نویسندگان مقاله مراتب تشکر خویش را از مسئولین موسسه تحقیقات علوم دامی و آزمایشگاه‌های دانشگاه آزاد اسلامی واحد شبستر اعلام می‌دارند.

منابع

۱. **پرند، ا. و تقی‌زاده، ا.، ۱۳۸۹.** بررسی قابلیت هضم دانه جو فرآوری شده با روش‌های مختلف با استفاده از روش تولید گاز و دو منبع آنزیم میکروبی. پژوهش‌های علوم دامی. سال ۲، جلد ۴، شماره ۲۰، صفحات ۱ تا ۱۳.

۲. **سمیعی‌زفرقندی، م.؛ قورچی، ت. و آهنی‌آذری، م.، ۱۳۸۹.** تعیین اثرات فرآوری شیمیایی دو رقم جو بر ناپدیدشدن شکمبه‌ای ماده خشک، نشاسته و بخش‌های کربوهیدرات سیستم کربوهیدرات و پروتئین خالص کرنل (CNCPS). مجله علوم دامی ایران. دوره ۴۱، شماره ۱، صفحات ۲۱ تا ۳۲.

۳. **نیکخواه، ع. و مهدوی، ع.، ۱۳۸۵.** مقایسه روش کیسه‌های نایلونی (*situ in*) و روش آزمون گاز در تعیین ارزش غذایی مواد خوراکی. مجله علوم کشاورزی ایران. جلد ۳۷، شماره ۲، صفحات ۲۸۱ تا ۲۹۲.

۴. **Aghajanzadeh-Golshani, A.; Maheri-Sis, N.; Salamat Doust-Nobar, R.; Ebrahimnezhad, Y. and Ghorban, A., 2015.** Developing a modified *in vitro* gas production technique to replace the nylon bag method of evaluating protein degradation of alfalfa hay in ruminants. Iranian Journal of Applied Animal Science. Vol. 5, No. 2, pp: 339-345.

۵. **AOAC. 1990**. Official methods of analysis. Association of official analytical chemists. Virginia, USA: AOAC.

۶. **Balfe, B., 1985**. The development of a two-stage technique for the *in vitro* digestion of hay using ovine faeces (instead of rumen liquor) as a source of microorganisms. BSc (Hons) dissertation. University of Wales, Bangor.

۷. **Chen, X. B., 1995.** Fitcurve macro, IFRU, The Macaulay Institute, Aberdeen, UK.

۸. **Cone, J.W.; van Gelder, A.H. and Bachmann, H., 2002.** Influence of inoculum source on gas production profiles. Animal Feed Science and Technology. Vol. 99, pp: 221-231.

۹. **Cutrignelli, M.I.; Calabro, S.; Tudisco, R.; Zicarelli, F.; Gazaneo, M.P. and Piccolo, V., 2005**. Comparison of buffalo rumen liquor and buffalo faeces as inoculum for the *in vitro* gas production technique. Italian Journal of Animal Science. Vol. 4, No. 2, pp: 319-321.

۱۰. **El Shaer, H.M.; Omed, H.M.; Chamberlain, A.G. and Axford, R.F.E., 1987.** Use of faecal organisms from sheep for the *in vitro* determination of digestibility. The Journal of Agricultural Science. Vol. 109, pp: 257-259.

۱۱. **Gençoglu, H.; Biricik, H.; Kara, Ç. and Türkmen, İ.İ., 2011.** *In situ* ruminal crude protein and starch degradability of some grains and by-product feeds in Turkey. Journal of Biological & Environmental Sciences. Vol. 5, No. 15, pp: 203-206.

۱۲. **Jahani-Azizabadi, H.; Danesh Mesgaran, M.; Valizadeh, R. and Nasiri Moghadam, H., 2009.** Comparison of *in vivo* with *in situ* mobile bag and three step enzymatic procedures to evaluate protein disappearance of alfalfa hay and barley

grain. Iranian Journal of Veterinary Research. Vol. 10, No. 3, pp: 260-266.

۱۳. **Koehler, P. and Wieser, H., 2013.** Chemistry of cereal grains. In: Handbook on sourdough biotechnology. Springer New York Heidelberg Dordrecht London. pp: 11-45.

۱۴. **Madsen, J.; Hvelplund, T. and Weisbjerg, M.R., 1997.** Appropriat methods for the evaluation of tropical feeds for ruminats. Animal Feed Science and Technology. Vol. 69, pp: 53-66.

۱۵. **Makkar, H.P.S., 2005.** *In vitro* gas methods for evaluation of feeds containing phytochemicals. Animal Feed Science and Technology. Vol. 123-124, pp: 291-302.

۱۶. **Mauricio, R.M.; Owen, E.; Mould, F.L.; Givens, I.; Theodorou, M.K.; France, J.; Davies, D.R. and Dhanoa, M.S., 2001.** Comparison of bovine rumen liquor and bovine faeces as inoculum for an *in vitro* gas production technique for evaluating forages. Animal Feed Science and Technology. Vol. 89, pp: 33-48.

۱۷. **Menke, K.H.; Raab, L.; Salewski, A.; Steingass, H.; Fritz, D. and Schneider, W., 1979.** The estimation of digestibility and metabolisable energy content of ruminant feedstuffs from the gas production when they incubated with rumen liquor *in vitro*. The Journal of Agricultural Science. Vol. 93, pp: 217-222.

۱۸. **Menke, K.H. and Steingass, H., 1988.** Estimation of energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* production using rumen fluid. Animal Research Development. Vol. 28, pp: 7-55.

۱۹. **Mohammadian-Tabrizi, H.R.; Sadeghipanah, H.; Chamani, M.; Ebrahim Nejad, Y. and Fazaeli. H., 2011.** *In vitro* gas production of wheat grain flour coated with different fat types and levels. African Journal of Biotechnology. Vol. 10, No. 39, pp: 7710-7716.

۲۰. **National Research Council (NRC). 2001.** Nutrient requirements of dairy cattle. 7th revised edition. National Academy of Science. Washington, DC.

۲۱. **Orskov, E.R. and McDonald, I., 1979.** The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurement weight according to rate of passage. Journal of Agricultural Science. Vol. 92, pp: 499-503.

۲۲. **Parnian, F.; Taghizadeh, A. and Nobari. B.B., 2013.** Use of *in vitro* gas production technique to evaluate the effects of microwave irradiation on sorghum (*Sorghum bicolor*) and wheat (*Triticum* sp.) nutritive values and fermentation characteristics. Journal of Bioscience and Biotechnology. Vol. 2, No. 2, pp: 125-130.

۲۳. **SAS. 2001**. SAS for Windows Version 8.02, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.

۲۴. **Solangi, A.A., 1997.** Studies on the use of faecal organisms in the *in vitro* assessment of forages. PhD thesis, University of Wales, Bangor, UK.

۲۵. **Taghizadeh, A. and Nemati, Z., 2008.** Degradability characteristics of treated and untreated barley grain using *in situ* technique. American Journal of Animal and Veterinary Sciences. Vol. 3, No. 2, pp: 53-56.

۲۶. **V´aradyov´a, Z.; Baran, M. and Zeleˇn´ak, I., 2005.** Comparison of two *in vitro* fermentation gas production methods using both rumen fluid and faecal inoculum from sheep. Animal Feed Science and Technology. Vol. 123-124, pp: 81-94.

۲۷. **Van Soest, P.J.; Robertson, J.B. and Lewis, B.A., 1991.** Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. Journal of Dairy Science. Vol. 74, pp: 3583-3597.

۲۸. **Zhao, G.Y. and Chen, X.J., 2004.** The suitability of a faecal suspension of sheep as inocula for the estimation of utilizable crude protein of feeds by *in vitro* incubation. Archives of Animal Nutrition. Vol. 58, No. 2, pp: 137-148.