Journal of Farm Animal Nutrition
Vol. 1, No. 1, 2022 (1-10)

Shabestar branch

Estimating nutritive value of dried and ensiled grapevine leaves using *in vitro* gas production technique

Ramin Farazhi, Naser Maheri-Sis, Abolfazl Aghajanzadeh-Golshani*

Department of Animal Science, Shabestar Branch, Islamic Azad University, Shabestar, Iran
***Corresponding Author:** aaghajanzadeh50@gmail.com

(Received: 24-01-2022 Accepted: 18-04-2022)

Abstract:
Introduction: The leaves of fruit trees due to their abundance, cheapness, palatability and appropriate nutritional value, can be used as a suitable alternative to forage in the diet of small ruminants. The aim of this study was to determine the chemical composition and estimate the nutritional value of dried and ensiled leaves of red and white grapevines using *in vitro* gas production technique.
Materials and Methods: The chemical composition of dried and ensiled leaves of red and white grape trees was determined using standard methods and gas production test was performed using ruminal liquor obtained from three cannulated Iranian Gezel rams.
Results: The crude protein content of dried and ensiled red grape leaves were 11.82% and 11.55%, respectively, and for dried and ensiled white grape leaves was 11.98% and 11.24%, respectively. The results showed that there was a significant difference in gas production at different incubation times between the dried and ensiled leaves of the tested grapevine. The gas production of dry leaves of the grape trees at the incubation times was higher than that of ensiled. The gas production potential of soluble and insoluble fermentable fractions as well as amounts of metabolizable energy, net energy for lactation, organic matter digestibility and production of short-chain fatty acids of dried leaves were significantly higher than those of leaves. Metabolizable energy of dried and ensiled red grape leaves was 9.29 and 7.79 MJ/Kg dry matter, and dried and ensiled white grape leaves were estimated to be 9.06 and 7.16 MJ/Kg dry matter, respectively.
Conclusion: According to the results of the present study, the leaves of red and white grape trees in the dried form have more nutritional value than the ensiled.
Key words: Grapevine leaves, Metabolizable energy, Ensiled, Gas production, Sheep

فصلنامه تغذیه حیوانات مزرعه‌ای
سال اول/ شماره اول/ بهار ۱۴۰۱ (۱۰-۱)
واحد شبستر

برآورد ارزش غذایی برگ‌های خشک و سیلو شده درخت انگور با استفاده از روش تولید گاز آزمایشگاهی

رامین فراژی، ناصر ماهری سیس، ابوالفضل آقاجانزاده گلشنی*

گروه علوم دامی، واحد شبستر، دانشگاه آزاد اسلامی، شبستر، ایران
***نویسنده مسئول:** aaghajanzadeh50@gmail.com

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۱/۰۴ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۱/۲۹)

چکیده:

مقدمه: برگ درختان میوه به دلیل فراوانی، ارزان بودن، خوشخوراکی و ارزش غذایی مطلوب، می‌تواند به عنوان یک جایگزین مناسب به جای علوفه در تغذیه نشخوارکنندگان کوچک مورد استفاده قرار گیرد. هدف از این پژوهش تعیین ترکیبات شیمیایی و برآورد ارزش غذایی برگ‌های درختان انگور قرمز و سفید به صورت خشک و سیلو شده با استفاده از روش تولید گاز آزمایشگاهی می‌باشد.

مواد و روش‌ها: ترکیب شیمیایی برگ‌های خشک و سیلوشده درختان انگور قرمز و سفید با استفاده از روش‌های استاندارد تعیین و آزمایش تولید گاز با استفاده از مایع شکمبه اخذ شده از سه راس گوسفند نر توده قزل کانوله‌گذاری به اجرا در آمد.

نتایج: مقادیر پروتئین خام برگ انگور قرمز خشک و سیلو شده به ترتیب ۱۱/۸۲ و ۱۱/۵۵ درصد و برگ انگور سفید خشک و سیلو شده به ترتیب ۱۱/۹۸ و ۱۱/۲۴ درصد به دست آمد. نتایج نشان داد از نظر تولید گاز در زمان‌های مختلف انکوباسیون بین دو حالت خشک و سیلو شده در برگ‌های درختان انگور مورد آزمایش تفاوت معنی‌داری وجود داشت و مقادیر تولید گاز برگ‌های خشک درختان انگور در زمان‌های انکوباسیون بیشتر از حالت سیلو شده بود. پتانسیل تولید گاز حاصل از بخش محلول و نامحلول قابل تخمیر و نیز مقادیر انرژی قابل متابولیسم، انرژی خالص شیردهی، قابلیت هضم ماده آلی و تولید اسیدهای چرب کوتاه زنجیر برگ‌های خشک مورد آزمایش به طور معنی داری بیشتر از برگ‌های سیلو شده بود. انرژی قابل متابولیسم برگ انگور قرمز خشک و سیلو شده به ترتیب ۹/۲۹ و ۷/۷۹ مگاژول در کیلوگرم ماده خشک و برگ انگور سفید خشک و سیلو شده به ترتیب ۹/۰۶ و ۷/۱۶ مگاژول در کیلوگرم ماده خشک برآورد شد.

نتیجه‌گیری: بر اساس نتایج پژوهش حاضر، برگ خشک شده درختان انگور قرمز و سفید دارای ارزش غذایی بیشتری نسبت به حالت سیلو شده می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: برگ انگور، انرژی قابل متابولیسم، تولید گاز، سیلو شده، گوسفند

مقدمه:

امروزه تامین نهاده‌های دامی یکی از چالش‌های مهم پیش روی صنعت دامپروری در بسیاری از مناطق خشک و نیمه خشک جهان از جمله ایران می‌باشد. شرایط خاص کشور به ویژه مشکلات عدیده مربوط به واردات خوراک دام از خارج و همچنین خشکسالی‌های اخیر، بسیاری از دامداری‌ها را با مشکل جدی مواجه کرده است [۱]. با توجه به اینکه تغذیه بیش از ۷۰ درصد هزینه‌های پرورش دام را به خود اختصاص می‌دهد، پیدا کردن منابع ارزان قیمت و پایدار می‌تواند بخش مهمی از نگرانی‌های بخش دامپروری کشور را برطرف نماید و از بحران این صنعت مادر بکاهد. در این راستا استفاده از منابع خوراکی بومی و محلی به ویژه پسماندهای کشاورزی و باغی می‌تواند بخش مهمی از نیازهای تغذیه‌ای دام‌ها به ویژه نشخوارکنندگان را به صورت راهبردی و پایدار تامین و تضمین نماید [۲]. با توجه به شرایط متنوع آب و هوایی و موقعیت جغرافیایی مناسب، ایران دارای بیش از ۲/۵ میلیون

هکتار باغ میوه است که برگ این درختان در فصل پاییز می‌تواند به صورت بالقوه به عنوان یک منبع جایگزین علوفه در تغذیه دام استفاده شود [۳]. استفاده از برگ درختان میوه از دیرباز در دامداری‌های سنتی ایران به ویژه در تغذیه گوسفند و بز رایج بوده است. برگ درختان میوه به دلیل فراوانی، سهولت دسترسی، خوشخوراکی و همچنین ارزش غذایی مطلوب می‌تواند به عنوان یک جایگزین مناسب به جای منابع علوفه‌ای در تغذیه نشخوارکنندگان کوچک مورد استفاده قرار گیرد [۱]. برگ اکثر درختان نسبت به گراس‌ها منبع غنی‌تری از مواد مغذی اساسی و مواد فعال زیستی بوده و به عنوان منابع غذایی شناخته شده برای نشخوارکنندگان در طول سال هستند [۴]. یوسف‌الهی [۵] نیز عنوان کرد که برگ درختان را می‌توان از نظر ارزش غذایی در ردیف علوفه‌های متوسط دسته‌بندی کرد. در پژوهش‌های مختلف ارزش تغذیه‌ای و اثرات استفاده از برگ درختان میوه از جمله برگ درختان بادام، هلو، سیب، گردو، انار، توت، گیلاس، زردآلو، پسته، انجیر و انگور در تغذیه نشخوارکنندگان مورد مطالعه قرار گرفته است [۱، ۳، ۶، ۷، ۸ و ۹].

برگ درخت انگور یکی از منابع خوشخوراک و دارای ارزش غذایی مناسب در تغذیه نشخوارکنندگان می‌باشد. یک گوسفند بالغ روزانه براساس ماده خشک می‌تواند تا یک کیلوگرم برگ درخت انگور را بدون اینکه تانن آن مشکلی برای حیوان ایجاد نماید، مصرف کند [۱۰]. کاظمی و قاسمی بزدی [۳] بیان داشتند که به دلیل بالا بودن مقدار پروتئین در برگ انگور نسبت به بسیاری از برگ‌های دیگر درختان، استفاده از این برگ در تغذیه دام ارجحیت دارد.

ایران یکی از مهمترین کشورهای تولید کننده انگور در دنیا بوده و از نظر تنوع میوه انگور نیز جایگاه بسیار مناسبی را به خود اختصاص داده است. ارقام متعددی از جمله کشمش، عسگری، رازقی، یاقوتی، شاهانی، صاحبی و لعل را که در رنگ‌های اغلب قرمز و سفید می‌باشند، در اکثر مناطق کشور کشت می‌شوند [۳].

در دنیا بالغ بر ۷ میلیون هکتار باغ انگور وجود دارد [۱۱] و سطح باغات انگور در ایران بالغ بر ۳۰۵ هزار هکتار می‌باشد که بیش از ۴۰ هزار هکتار آن در استان‌های آذربایجان شرقی و غربی قرار دارد [۱۲] و با توجه به سطح کشت زیاد آن در کشور و استان‌های شمال غربی می‌توان از این ظرفیت بالقوه در راستای تامین بخشی از خوراک دام‌های محلی استفاده کرد. از برگ مو می‌توان به عنوان خوراک روزانه گوسفند و بز به صورت چرا بر روی درخت و یا تغذیه دستی در گوسفند، بز و گاو استفاده کرد. ارزش تغذیه‌ای برگ درخت انگور قابل مقایسه با یونجه بوده و مقدار پروتئین آن بین ۱۴/۳۴ تا ۱۶/۴ درصد متغیر است [۳ و ۹]. با توجه به اینکه فصل ریختن برگ اکثر درختان از جمله انگور مصادف با فصل پاییز و شروع بارش‌های پاییزی و کوتاه شدن طول روز بوده و این امر باعث ایجاد محدودیت در فرآیند خشک کردن آن‌ها می‌شود، به نظر می‌رسد سیلو کردن می‌تواند یک روش جایگزین مناسب برای حفظ ارزش غذایی برگ درختان و استفاده از این منابع خوراکی در طول سال باشد.

هدف از این پژوهش تعیین ترکیبات شیمیایی و برآورد ارزش غذایی برگ‌های درختان انگور قرمز و سفید به صورت خشک و سیلو شده با استفاده از روش تولید گاز آزمایشگاهی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

۱- محل انجام آزمایش

عملیات مزرعه‌ای این پژوهش (تهیه شیرابه شکمبه) در ایستگاه تحقیقاتی دام‌پروری دانشگاه آزاد اسلامی واحد شبستر صورت گرفت. عمل سیلو کردن بخشی از نمونه‌ها و همچنین قسمت عمده تجزیه شیمیایی نمونه‌ها در آزمایشگاه آنالیز مواد خوراکی و مراحل تولید گاز آزمایشگاهی در آزمایشگاه تولید گاز دانشگاه آزاد اسلامی واحد شبستر به انجام شد.

۲- تهیه مواد خوراکی

مواد خوراکی مورد آزمایش (برگ درخت انگور قرمز و برگ درخت انگور سفید) در شهریور ماه از نهالستان‌های تحت پوشش جهاد کشاورزی استان آذربایجان غربی تهیه و بخشی از آن‌ها در هوا خشک شد و حدود ۲۵۰۰ گرم از هر کدام از برگ‌ها با سه تکرار در هر سیلوی آزمایشگاهی فشرده شده و پس از تخلیه هوا، در آن محکم بسته شد. سیلوهای تهیه شده به مدت ۴۵ روز در دمای

آزمایشگاه نگهداری و پس از تعیین شاخص‌های مهم سیلاژ (ماده خشک، pH و فلیگ پوینت)، جهت انجام آزمایش مورد استفاده قرار گرفتند. مقادیر مربوط به فلیگ پوینت از رابطه $\text{Fleig points} = 220 + (2 \times \text{DM\%} - 15) - 40 \times \text{pH}$ محاسبه شد.

۳- تجزیه شیمیایی نمونه‌ها

تعیین مقدار ماده خشک، خاکستر، عصاره اتری، پروتیین‌خام [۱۳]، الیاف نامحلول در شوینده اسیدی و الیاف نامحلول در شوینده خنثی [۱۴] طبق روش‌های استاندارد انجام شد. مقدار کربوهیدرات‌های غیر فیبری[1] از رابطه زیر محاسبه شد [۱۵].

$$\text{NFC} = ۱۰۰ - (\text{NDF} + \text{CP} + \text{EE} + \text{Ash})$$

NFC : کربوهیدرات‌های غیر فیبری (درصد در ماده خشک)

CP : پروتیین 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).

۴- روش تولید گاز آزمایشگاهی

برای انجام آزمایش تولید گاز آزمایشگاهی، شیرابه شکمبه از سه راس گوسفند نر توده قزل کانوله‌گذاری شده، قبل از غذای وعده صبح به وسیله 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 در این آزمایش دارای وزنی در دامنه ۵۵ الی ۶۰ کیلوگرم بوده و با جیره غذایی حاوی ۷۰ درصد 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 به صورت 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 (بر اساس ماده خشک)، ۱۰ میلی‌لیتر شیرابه شکمبه و ۲۰ میلی‌لیتر بزاق مصنوعی بود [۱۶]. برای جلوگیری از خطاهای ناشی از گاز تولیدی در اثر عمل میکروارگانیسم‌ها روی مواد خوراکی احتمالی در شیرابه 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 نرم افزار Fitcurve به‌دست آمد [۱۶، ۱۷ و ۱۸].

۵- روش‌های آماری و نوع طرح آزمایشی

این آزمایش در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی به صورت جداگانه هرکدام روی یک ماده خوراکی در دوحالت خشک و سیلو شده و هر کدام در سه تکرار انجام شد.

1 - Non Fibrous Carbohydrates

۶- معادلات مورد استفاده

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

$SCFA = ۰/۰۲۲۲ Gas - ۰/۰۰۴۲۵$ [۱۹]

$DOM = ۰/۸۸۹ Gas + ۰/۴۵ CP + ۰/۶۵۱ CA + ۱۴/۸۸$ [۱۶]

$ME = ۰/۱۳۶ Gas + ۰/۰۵۷ CP + ۰/۰۰۲۸۶ EE^2 + ۲/۲$ [۱۶]

$NE_L = ۰/۰۹۶ Gas + ۰/۰۳۸ CP + ۰/۰۰۱۷۳ EE^2 + ۰/۵۴$ [۱۶]

SCFA : اسیدهای چرب زنجیره کوتاه (میلی‌مول)

DOM : قابلیت هضم ماده آلی (درصد)

ME : انرژی قابل متابولیسم (مگاژول بر کیلوگرم ماده خشک)

NE_L : انرژی خالص شیردهی (مگاژول بر کیلوگرم ماده خشک)

Gas : تولید گاز (میلی‌لیتر به ازای ۲۰۰ میلی‌گرم ماده خشک در ۲۴ ساعت اولیه تخمیر)

EE : چربی خام (درصد)

CP : پروتیین خام (درصد)

CA : خاکستر (درصد)

۷- فراسنجه‌های تولید گاز آزمایشگاهی

مقدار تولید گاز و فراسنجه‌های مربوطه با استفاده از معادله $Y=A\ (1-e^{-ct})$ برآورد شد [۱۷].

Y: حجم گاز تولیدی در زمان t (میلی‌لیتر)

A : حجم گاز حاصل از بخش قابل تخمیر (میلی‌لیتر)

c : ثابت سرعت تولید گاز در طول انکوباسیون (بخش در هر ساعت)

t : مدت زمان انکوباسیون

۸- روش تجزیه و تحلیل اطلاعات

محاسبات، استخراج معادلات رگرسیونی و تجزیه آماری داده‌ها با استفاده از بسته نرم‌افزاری SAS [۲۰] نسخه ۹/۱ و نرم افزار Fitcurve نسخه ۶ [۱۸] انجام شد و برای مقایسات میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن استفاده شد.

نتایج و بحث:

۱- ترکیب شیمیایی

میانگین ترکیب شیمیایی و شاخص‌های کیفی برگ‌های انگور مورد آزمایش در جدول شماره ۱ آورده شده است. ترکیب شیمیایی برگ‌های انگور مورد آزمایش در تحقیق حاضر در دامنه نتایج گزارش شده توسط محققین مختلف قرار داشت [۱۱، ۲۱ و ۲۲]. کمالاک [۲۱] ترکیبات شیمیایی برگ ۱۰ واریته انگور را شامل پروتیین خام، خاکستر و فیبر نامحلول در شوینده خنثی را به ترتیب در دامنه ۷/۹ تا ۱۱/۲، ۱۱/۲ تا ۱۴/۸ و ۲۷/۱ تا ۴۶/۳ درصد در ماده خشک بیان کرد. گوربوز [۲۲] ترکیبات شیمیایی برگ ۴ واریته انگور را شامل پروتیین خام، خاکستر و فیبر نامحلول در شوینده خنثی را به ترتیب در دامنه ۹/۹۴ تا ۱۲/۱۴، ۱۱/۸۵ تا ۱۲/۴۹ و ۲۸/۴۶ تا ۳۸/۴۳ درصد در ماده خشک به دست آورد. هویز و همکاران [۱۱] نیز میانگین مقادیر پروتیین خام، خاکستر و فیبر نامحلول در شوینده خنثی را به ترتیب ۱۰/۴، ۱۲/۷ و ۳۴ درصد در ماده خشک بیان کردند.

مقدم و همکاران [۹] نیز ترکیب شیمیایی برگ درخت انگور شامل پروتیین خام، خاکستر و فیبر نامحلول در شوینده خنثی را به ترتیب ۱۴/۳۴، ۱۴/۵۶ و ۳۲/۰۲ درصد در ماده خشک به دست آوردند که مقدار دیواره سلولی در تحقیق حاضر با نتایج

پژوهشگران یاد شده مطابقت داشته ولی از نظر مقدار پروتیین خام و خاکستر کمتر بود. مقادیر پروتیین خام و دیواره سلولی تحقیق حاضر کمتر و مقدار خاکستر بیشتر از مطالعه کاظمی و قاسمی بزدی [۳] بود که این محققین پروتیین خام، خاکستر و فیبر نامحلول در شوینده خنثی را به ترتیب ۱۶/۴، ۸/۸۶ و ۴۳/۵ درصد در ماده خشک برگ انگور به دست آوردند. تفاوت در ترکیب شیمیایی برگ‌های درختان در بین محققین مختلف می‌تواند ناشی از عوامل ژنتیکی از جمله واریته و عوامل محیطی و جغرافیایی مانند نوع خاک، شرایط رشد، کوددهی و زمان برداشت باشد [۶، ۸ و ۱۱].

براساس نتایج پژوهش حاضر (جدول شماره ۱) سیلو کردن باعث افزایش دیواره سلولی، دیواره سلولی بدون همی‌سلولز و همچنین چربی خام شده است و این امر می‌تواند ناشی از تخمیر کربوهیدرات‌های محلول در آب و تولید اسیدهای آلی باشد [۲۳].

جدول ۱- ترکیبات شیمیایی و شاخص‌های کیفی برگ‌های درخت انگور قرمز و سفید

Table1: Chemical composition and quality indices red and white grape tree leaves

FP	pH	NFC %	ADF %	NDF %	EE %	CP %	Ash %	DM %	ماده خوراکی Feedstuff
-	-	34.79	22.47	25.62	12.11	11.82	15.66	93.42	برگ انگور قرمز خشک شده dried red grape leaves
83.26	4.54	28.0	28.34	32.20	14.00	11.55	14.16	29.93	برگ انگور قرمز سیلو شده ensiled red grape leaves
-	-	39.45	19.53	21.74	13.60	11.98	13.23	93.32	برگ انگور سفید خشک شده dried white grape leaves
86.96	4.42	35.10	21.14	26.11	13.94	11.24	13.61	29.38	برگ انگور سفید سیلو شده ensiled white grape leaves

DM: dry matter, CP: crude protein, EE: ether extract, NDF: neutral detergent fibre, ADF: acid detergent fibre, NFC: non fibrous carbohydrate, FP: Fleig Point

DM: ماده خشک، Ash: خاکستر، CP: پروتئین خام، EE: چربی خام، NDF: دیواره سلولی،ADF: دیواره سلولی بدون همی‌سلولز، NFC: کربوهیدرات‌های غیر فیبری، FP: فلیگ پوینت

۲- نتایج تولید گاز آزمایشگاهی

در جدول شماره ۲ نتایج تجزیه آماری و مقایسه میانگین تولید گاز آزمایشگاهی برگ درخت انگور قرمز و سفید (خشک و سیلو شده) در زمان‌های مختلف انکوباسیون نمایش داده شده است. تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اختلاف معنی‌داری از نظر گاز تولید شده در تمامی زمان‌های انکوباسیون بین برگ‌های خشک شده و سیلو شده درختان انگور قرمز و سفید وجود داشت و مقدار گاز تولیدی در برگ سیلو شده کمتر از برگ خشک بود. بیشترین مقدار گاز (۷۲ ساعت انکوباسیون) حاصل از برگ انگور قرمز خشک و سیلو شده به ترتیب ۵۲/۲۰ و ۴۰/۶۳ میلی‌لیتر به ازای ۲۰۰ میلی‌گرم ماده خشک و برای برگ انگور سفید خشک و سیلو شده به ترتیب ۴۸/۲۰ و ۳۵/۷۹ میلی‌لیتر به ازای ۲۰۰ میلی‌گرم ماده خشک به دست آمد.

نتایج تولید گاز مربوط به برگ خشک انگور مطابقت نسبی با مقادیر گاز تولید شده در زمان‌های مختلف انکوباسیون در پژوهش کاظمی و قاسمی بزدی [۳] گزارش شد. این محققان مقدار گاز تولیدی برگ انگور را در ۱۲، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت انکوباسیون به ترتیب ۳۵/۵، ۴۳/۴، ۴۸/۶ و ۵۳ میلی‌لیتر به ازای ۲۰۰ میلی‌گرم ماده خشک به دست آوردند. گوربوز [۲۲] گاز آزمایشگاهی حاصل از انکوباسیون برگ ۴ واریته انگور را در ۲۴ ساعت انکوباسیون در دامنه ۴۶/۶ تا ۵۳/۴ و برای ۷۲ ساعت انکوباسیون، ۶۲/۳ تا ۶۸/۹ میلی‌لیتر به ازای ۲۰۰ میلی‌گرم ماده خشک گزارش کرد. این محقق بیان داشت تولید گاز ناشی از تخمیر سوبسترا توام با تولید اسیدهای چرب فرار بوده می‌باشد و هر چه تخمیر سوبسترا بیشتر باشد، تولید گاز و همچنین تولید اسیدهای چرب فرار نیز بیشتر خواهد بود. تفاوت بین تولید گاز نهایی را می‌توان با تفاوت در تولید کل اسیدهای چرب فرار و نسبت مولی آن‌ها توضیح داد. مقدم

و همکاران [۹] مقدار گاز تولیدی برگ خشک انگور را در ۱۲، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت انکوباسیون به ترتیب ۲۱/۶، ۲۵/۴، ۳۹/۵ و ۴۴/۴ میلی‌لیتر به ازای ۲۰۰ میلی‌گرم ماده خشک به دست گزارش کردند. حجم گاز تولیدی در ساعات مختلف انکوباسیون در پژوهش حاضر بیشتر از مقادیر گزارش شده توسط محققین مذکور می‌باشد. طاهر مداح و همکاران [۲۴] تغییر در ترکیب شیمیایی مواد خوراکی از قبیل کربوهیدرات‌های غیرفیبری، ماده آلی، دیواره سلولی و قندهای محلول را از عوامل تاثیرگذار بر تغییرات تولید گاز آزمایشگاهی ناشی از تخمیر شکمبه‌ای اعلام داشتند. آقاجانزاده گلشنی و همکاران [۲۵] نیز یکی از عوامل تغییر در تولید گاز آزمایشگاهی بین محققان مختلف را تغییر در جمعیت میکروبی شیرابه شکمبه بیان کردند.

مشابه با نتایج این تحقیق، مختارپور و همکاران [۲۶] و علی‌پور و روزبهان [۲۷] نیز اعلام داشتند که سیلو کردن مواد خوراکی، می‌تواند باعث کاهش تولید گاز آزمایشگاهی شود و دلیل آن را کاهش کربوهیدرات‌های محلول در آب که سوبسترای حیاتی برای رشد میکروارگانیسم‌های شکمبه هستند بیان کردند. ماهری سیس و همکاران [۲۳] نیز اظهار داشتند کاهش تجزیه‌پذیری و تخمیرپذیری مواد خوراکی سیلوشده و در نتیجه تولید گاز در مقایسه با حالت خشک شده می‌تواند ناشی از افزایش دیواره سلولی، دیواره سلولی بدون همی‌سلولز و همچنین چربی خام در خوراک‌های سیلو شده باشد. همچنین هانگ و همکاران [۴] اعلام کردند که سیلو کردن برگ درختان باعث کاهش در تولید گاز آزمایشگاهی و مقادیر اسیدهای چرب فرار تولید شده در شکمبه می‌شود.

جدول۲: تولید گاز آزمایشگاهی برگ درخت انگور قرمز و سفید خشک و سیلو شده در زمان‌های مختلف انکوباسیون (میلی‌لیتر به ازای ۲۰۰ میلی‌گرم ماده خشک)

Table 2: Cumulative gas production volume (ml/ 200 mgDM) from dried and ensiled form of red and white grape leaves at different incubation times

ماده خوراکی Feedstuff	حالت خوراک feeding form	زمان انکوباسیون (ساعت) incubation times (h)									
		2	4	6	8	12	16	24	36	48	72
برگ انگور قرمز red grape leaves	خشک شده dried	10.29	17.12[a]	21.25[a]	26.42[a]	34.71[a]	38.25[a]	44.16[a]	48.25[a]	50.62[a]	52.20[a]
	سیلو شده ensiled	10.00	13.67[b]	17.25[b]	18.92[b]	26.08[b]	30.50[b]	32.29[b]	37.25[b]	39.20[b]	40.63[b]
	SEM	1.0865	0.3117	0.2886	0.2635	0.3333	0.7359	0.4409	0.5400	0.5137	0.6561
	P value	0.8611	0.0014	0.0006	<0.0001	<0.0001	0.0017	<0.0001	<0.0001	<0.0001	0.0002
برگ انگور سفید white grape leaves	خشک شده dried	14.12[a]	18.95[a]	22.42[a]	27.25[a]	34.38[a]	36.75[a]	41.50[a]	45.08[a]	47.12[a]	48.20[a]
	سیلو شده ensiled	8.13[b]	10.33[b]	12.92[b]	15.50[b]	20.50[b]	26.33[b]	28.29[b]	31.81[b]	34.63[b]	35.79[b]
	SEM	0.4082	0.1666	0.2635	0.4564	0.4564	0.4713	0.3726	0.3922	0.2040	0.1666
	P value	0.0005	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001

حروف غیر مشابه (a و b) مربوط به هر ترکیب مغذی در هر ستون نشان‌دهنده وجود تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد است.

SEM: اشتباه معیار میانگین‌ها

(a and b) Means within same column with differing superscript are significantly different ($p<0.05$). SEM: standard error of the means.

۳- نتایج فراسنجه‌های تولید گاز آزمایشگاهی و ارزش غذایی برآورد شده

نتایج تجزیه آماری فراسنجه‌های تولید گاز آزمایشگاهی (پتانسیل و نرخ تولید گاز) و همچنین مقادیر برآورد شده انرژی قابل متابولیسم، انرژی خالص شیردهی، اسیدهای چرب کوتاه زنجیر و قابلیت هضم ماده آلی برگ‌های انگور قرمز و سفید حاکی از وجود اختلاف معنی‌دار بین حالت خشک و سیلو شده بود، به طوری‌که مقادیر مربوط به پتانسیل و نرخ تولید گاز و همچنین ارزش غذایی در هر دو نوع برگ انگور قرمز و سفید، در حالت خشک بیشتر از سیلو شده بود. انرژی قابل متابولیسم و قابلیت هضم ماده آلی در برگ خشک انگور قرمز به ترتیب ۹/۲۹ و ۶۹/۶۵ و در برگ سیلو شده انگور قرمز ۷/۷۹ و ۵۷/۷۴ و در برگ خشک انگور سفید

۹/۰۶ و ۶۵/۷۸ و در برگ سیلو شده انگور سفید ۷/۱۶ مگاژول بر کیلوگرم ماده خشک و ۵۴/۰۳ درصد برآورد شد. با توجه به اینکه گاز تولیدی در ۲۴ ساعت انکوباسیون در برگ‌های سیلو شده نسبت به برگ خشک کاهش داشته، لذا ارزش غذایی برآورد شده شامل انرژی و قابلیت هضم ماده آلی نیز تحت تاثیر کاهش تولید گاز، کمتر شده است. شیبک و یوسف‌الهی [۲۸] نیز گزارش کردند که سیلوکردن پسماند درخت موز باعث کاهش تولید گاز آزمایشگاهی، مقدار انرژی قابل متابولیسم و قابلیت هضم ماده آلی گردید.

جدول۳: فراسنجه‌های تولید گاز آزمایشگاهی و ارزش غذایی برآورد شده برگ درخت انگور قرمز و سفید خشک و سیلو شده

Table 3*: In vitro* gas production parameters and estimate nutritive value of dried and ensiled form of red and white grape leaves

ماده خوراکی Feedstuff	حالت خوراک feeding form	پتانسیل تولید گاز (میلی لیتر) A	نرخ تولید گاز (بخش در ساعت) *c*	انرژی قابل متابولیسم (مگاژول در کیلوگرم ماده خشک) ME (MJ/kg DM)	انرژی خالص شیردهی (مگاژول در کیلوگرم ماده خشک) NE_L (MJ/kg DM)	اسیدهای چرب کوتاه زنجیر (میلی‌مول) SCFA (mmol)	قابلیت هضم ماده آلی (درصد) OMD (%)
برگ انگور قرمز red grape leaves	خشک شده dried	51.61[a]	0.08[a]	9.29[a]	5.48[a]	0.98[a]	69.65[a]
	سیلو شده ensiled	40.43[b]	0.07[b]	7.79[b]	4.41[b]	0.71[b]	57.74[b]
	SEM	0.5988	0.0028	0.0689	0.0484	0.0098	0.4996
	P value	0.0002	0.0407	0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001
برگ انگور سفید white grape leaves	خشک شده dried	47.80[a]	0.08[a]	9.06[a]	5.29[a]	0.92[a]	65.78[a]
	سیلو شده ensiled	35.99[b]	0.06[b]	7.16[b]	3.97[b]	0.62[b]	54.03[b]
	SEM	0.1444	0.0028	0.0537	0.0371	0.0083	0.4418
	P value	<0.0001	0.0087	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001

حروف غیر مشابه (a و b) مربوط به هر ترکیب مغذی در هر ستون نشان‌دهنده وجود تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد است.

SEM: اشتباه معیار میانگین‌ها

(a and b) means within same column with differing superscript are significantly different ($p<0.05$).

OMD: organic matter digestibility, SCFA: short chain fatty acids, ME: metabolizable energy , NE_L: net energy for lactation, *c* = the gas production rate constant for the insoluble fraction (/h), A: total gas production from fermentable fraction(ml). SEM: standard error of the means.

گوربوز [۲۲] بر اساس تولید گاز آزمایشگاهی حاصل از انکوباسیون، انرژی قابل متابولیسم برگ‌های چهار واریته انگور را در دامنه ۹/۲ تا ۱۰/۲ مگاژول بر کیلوگرم ماده خشک و پتانسیل تولید گاز حاصل از بخش محلول و نامحلول قابل تخمیر را بین ۶۱/۴ تا ۶۷/۷ میلی‌لیتر به ازای ۲۰۰ میلی‌گرم ماده خشک گزارش کرد. در تحقیق یاد شده، همبستگی منفی بین فراسنجه‌های تولید گاز و ارزش غذایی برآورد شده با دیواره سلولی مشاهده شد. مقدم و همکاران [۹] پتانسیل تولید گاز، نرخ تولید گاز، اسیدهای چرب فرار و انرژی قابل متابولیسم برگ خشک انگور را به ترتیب ۲۸۹/۴۹ میلی‌لیتر به ازای هر گرم ماده خشک، ۰/۰۱۵ درصد در ساعت، ۱/۸۷ میلی‌مول بر گرم و ۱۵/۷۴ مگاژول بر کیلوگرم ماده خشک گزارش کردند. کاظمی و قاسمی بزدی [۳] مقادیر پتانسیل تولید گاز، نرخ تولید گاز، اسیدهای چرب فرار، انرژی قابل متابولیسم و قابلیت هضم ماده آلی برگ خشک انگور را به ترتیب ۵۱/۲ میلی‌لیتر به ازای ۲۰۰ میلی‌گرم ماده خشک، ۰/۱۰ درصد در ساعت، ۴۳/۹ میلی‌مول بر لیتر، ۹/۱۱ مگاژول بر کیلوگرم ماده خشک و ۵۲/۲ درصد گزارش کردند. رومرو و همکاران [۱۰] قابلیت هضم ظاهری ماده آلی برگ تر انگور را روی حیوان زنده ۴۷ درصد به دست آوردند. هویز و همکاران [۱۱] قابلیت هضم ماده آلی برای برگ انگور تر را ۴۷/۲ درصد و انرژی قابل متابولیسم آن را ۶/۳ مگاژول بر کیلوگرم ماده خشک گزارش کردند. کمالاک [۲۱] قابلیت هضم آزمایشگاهی ماده خشک برگ واریته‌های مختلف انگور را بین ۵۹/۸ تا ۷۲/۲ درصد به دست آورد.

تفاوت‌های مشاهده شده بین نتایج پژوهش‌های مختلف در خصوص تولید گاز و ارزش غذایی برآورد شده مواد خوراکی می‌تواند ناشی از جیره غذایی حیوان مورد آزمایش، تغییر در ترکیب شیمیایی خوراک مورد آزمایش، گونه حیوان مورد آزمایش و شکل ماده خوراکی (خشک، تر و سیلوشده) مورد آزمایش باشد. آقاجانزاده گلشنی و همکاران [۲۹] عنوان کردند مقادیر تولید گاز و اسیدهای چرب فرار تحت تاثیر جیره مصرفی و به تبع آن تغییر در جمعیت میکروبی شکمبه حیوان دهنده شیرابه قرار می‌گیرد، به طوری که با افزایش مصرف کنسانتره در جیره غذایی حیوان، مقدار تولید گاز و تولید اسیدهای چرب فرار و همچنین نسبت استات به پروپیونات افزایش می‌یابد.

نتیجه‌گیری کلی:

بر اساس نتایج پژوهش حاضر، برگ درختان انگور قرمز و سفید در حالت خشک شده دارای ارزش غذایی بیشتری نسبت حالت سیلو شده بوده و به نظر می‌رسد اگر شرایط خشک کردن در فصل برداشت مهیا باشد، خشک کردن برگ‌های درختان انگور روش مناسب‌تری در مقایسه با سیلو کردن آنها می‌باشد.

سپاسگزاری:

این مقاله مستخرج از پایان‌نامه کارشناسی ارشد رشته علوم دامی به راهنمایی دکتر ناصر ماهری سیس در دانشگاه آزاد اسلامی واحد شبستر می‌باشد. بدینوسیله نویسندگان از همکاری‌های ارزشمند مسئولین و کارشناسان محترم موسسه دامپروری و آزمایشگاه‌های دانشگاه آزاد اسلامی واحد شبستر کمال تشکر دارند.

منابع:

1. Kazemi, M., Mokhtarpour, A. *In vitro* and *in vivo* evaluation of some tree leaves as forage sources in the diet of Baluchi male lambs. *Small Ruminant Research,* 2021; 201. Article 106416. doi:10.1016/j.smallrumres.2021.106416.
2. Kalantar, M. using processed agricultural by- product in animals, poultry and aquatics nutrition. Booklet published by Qom jihade- agriculture extension. 2016. 32 pp. [In Persian].
3. Kazemi, M., Ghasemi Bezdi, K. The nutritional value of some fruit tree leaves for finishing lambs. *Animal Biotechnology,* 2021. doi: 10.1080/10495398.2021.1891929.
4. Huang, H., Szumacher-Strabel, M., Patra, AK., Ślusarczyk, S., Lechniak, D., Vazirigohar, M., Varadyova, Z., Kozłowska, M., Cie´slak, A. Chemical and phytochemical composition, *in vitro* ruminal fermentation, methane production, and nutrient degradability of fresh and ensiled *Paulownia* hybrid leaves. *Animal Feed Science and Technology,* 2021; 279. 115038. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2021.115038.
5. Yousefollahi. M. Determination of the nutritive value of Oak leaves and its effects on ruminal physiological and microbiological characteristics in goat. Ph.D. thesis in animal science. Tarbiat Modares University. Iran. 2007. [In Persian].
6. Kiyani Nahand, M., Salamat Doust-Nobar, R., Maheri-Sis, N., Ansari Sadigh, A., Noshadi, A., Salamat Azar, M., Hassanpour, S. Estimation of nutritional value of almond tree leaves as a feeding in ruminants using gas production technique. *Global Veterinaria,* 2010; 5(2): 150-153.
7. Nahand, M.K., Doust-Nobar, R.S., Maheri-Sis, N. Ghorbani, A. Rumen degradation of dry matter and organic matter digestibility of Cherry tree leaves in ruminant nutrition using *in vitro* gas production and in situ techniques. *Journal of American Science,* 2011; 7(6): 286- 289.
8. Nahand, M.K., Doust-Nobar, R.S., Maheri-Sis, N., Mahmoudi, S. Determination of feed value of cherry, apricot and almond tree leaves in ruminant using *in situ* method. *Open Veterinary Journal,* 2012; 2: 83-87.
9. Moghaddam, M., Taghizadeh, A., Nobakht, A., Ahmadi, A. Determination of metabolizable energy of grape pomace and *raisin vitis* leaves using *in vitro* gas production technique. *Animal Production,* 2013; 15(1):40-46.
10. Romero, M J., Madrid, J., Hernandez, F., Ceron, J. J. Digestibility and voluntary intake of vine leaves (*Vitis vinifera L.*) by sheep. *Small Ruminant Research,* 2000; 38:191-195. doi:10.1016/S0921-4488(00)00157-7
11. Heuzé, V., Thiollet, H., Tran, G. Grape leaves and vine shoots. Feedipedia, a programme by INRAE, CIRAD, AFZ and FAO. https://www.feedipedia.org/node/512 Last updated on May 10, 2017; 17:17

12. Karimi, A.,Abdzadeh, H., Hatami, F., Hossinpour, R., Abdshah, H. Agricultural statistics of Iran. Horticultural products. Vol.3. 2018; 233 pp. [In Persian].
13. AOAC. Official methods of analysis. Association of official analytical chemists. Virginia, USA: AOAC. 1990.
14. Van Soest, PJ., Robertson, J.B., Lewis, B.A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, 1991; 74: 3583–3597. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2.
15. National Research Council (NRC). Nutrient requirements of dairy cattle. 7th revised edition. National Academy of Science. Washington, DC. 2001.
16. Menke, K.H., Steingass, H. Estimation of energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. *Animal Research Development*, 1988; 28: 7-55.
17. Orskov, E.R., McDonald, I. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurement weight according to rate of passage. *Journal of Agricultural Science,* 1979; 92: 499-503. https://doi.org/10.1017/S0021859600063048.
18. Chen, X.B. "Fitcurve" macro, IFRU, The Macaulay Institute, Aberdeen, UK. 1995.
19. Makkar, H. P. S. *In vitro* gas methods for evaluation of feeds containing phytochemicals. *Animal Feed Science and Technology,* 2005;123-124: 291-302. doi:10.1016/j.anifeedsci.2005.06.003.
20. SAS. SAS for Windows Version 8.02, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA. 2001.
21. Kamalak, A. Chemical composition and in vitro dry matter digestibility of leaves of *Vitis vinifera*. *Livestock Research for Rural Development*, 2005; 17 (1). http://www.lrrd.org/lrrd17/1/kama17003.htm.
22. Gurbuz, Y. 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 Research,* 2007; 71: 59–66. https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2006.04.009.
23. Maheri-Sis, N., Chamani, M., Sadeghi, A. A., Mirzaaghazadeh, A., Nazeradl, K., Aghajanzadeh-Golshani, A. Effects of drying and ensiling on in situ cell wall degradation kinetics of tomato pomace in ruminant. *Asian Journal of Animal Sciences*, 2012; 6(4): 196-202. doi: 10.3923/ajas.2012.196.202.
24. Taher-Maddah, M., Maheri-Sis, N., Salamatdoustnobar, R., Ahmadzadeh, A. Comparing nutritive value of ensiled and dried pomegranate peels for ruminants using *in vitro* gas production technique. *Annals of Biological Research,* 2012; 3(4):1942-1946.
25. Aghajanzadeh-Golshani, A., Maheri Sis, N., SalamatDoust-Nobar, R., Ebrahimnezhad, Y., Ghorbani, A. Estimating nutritional value of wheat and barley grains by *in vitro* gas production technique using rumen and faeces liquor of Gezel rams. *Journal of Animal Environment*, 2020; 12(2): 45-52. doi: 10.22034/aej.2020.105888. [In Persian].
26. Mokhtarpour, A., Naserian, A. A., Valizadeh, R., Tahmasbi, A. Effect of polyethylene glycol and urea treated pistachio by-products silage on phenolic compounds, *in vitro* gas production and holstein dairy cow's performance. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 2012; 4(1): 55-62. doi: 10.22067/ijasr.v4i1.13912. [In Persian].
27. Alipour, D., Rouzbehan, Y. Effects of ensiling grape pomace and addition of polyethylene glycol on *in vitro* gas production and microbial biomass yield. *Animal Feed Science and Technology,* 2007; 137: 138–149. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2006.09.020.
28. Shibak, A., Yousefollahi. M. a study of nutritive value of banana tree by- product's silage, using *in vitro* and *in situ* methods. *Iranian Journal of Animal Science*, 2013; 43(3): 317-325. Serial Number: 1253249. Pages doi: 10.22059/ijas.2012.29339. [In Persian].
29. Aghajanzadeh-Golshani, A., Maheri-Sis, N., Salamat Doust-Nobar, R., Ebrahimnezhad Y., Ghorbani, A. Comparison of the efficiency of ruminal and faecal microbial population from sheep to estimate the nutritional value of corn and sorghum grains using *in vitro* gas production technique. *Journal of Animal Biology,* 2022; 14(2):107-117. doi: 10.22034/ascij.2021.687835. [In Persian].