پژوهش‌های آبخیزداری (پژوهش و سازندگی)
شماره ۹۴، بهار ۱۳۹۱

برآورد پارامترهای کیفیت علوفه در چند گونه مرتعی به‌وسیله دستگاه طیف‌سنج مادون قرمز نزدیک (NIR)

• **ندا چاره ساز** (نویسنده مسئول)
دانش آموخته کارشناسی ارشد مرتع داری، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران
• **علی اشرف جعفری**
استاد، موسسه تحقیقات جنگل ها و مراتع کشور
• **حسین ارزانی**
استاد، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران
• **حسین آذرنیوند**
دانشیار، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران
تاریخ دریافت: بهمن ماه ۱۳۸۸ تاریخ پذیرش: فروردین ماه ۱۳۹۰
تلفن تماس: ۰۹۱۴۸۳۴۴۳۱۸
Email: nedacharehsaz@gmail.com

چکیده

تعیین ظرفیت چرایی در مراتع یک عامل مهم در مدیریت دام می‌باشد. یکی از اهداف مهم در راستای بهبود عملکرد دام ارتقاء کیفیت علوفه است. هدف این مطالعه ارزیابی دستگاه طیف سنج مادون قرمز نزدیک (NIR) به‌عنوان یک روش سریع، قابل اطمینان و معتبر برای برآورد پارامترهای کیفیت در نه گونه مرتعی شامل سه گونه گرامینه *Bromus tomentellus*، *Dactylis glomerata* و *Agropyron intermedium*، سه گونه پهن برگ علفی *Achillea millefolium*، *Centaurea virgata* و *Coronilla varia* و سه گونه بوته‌ای *Artemisia aucheri*، *Scariola orientalis* و *Thymus kotschyanus* بود. کالیبراسیون‌های NIR برای پروتئین خام (CP)، هضم‌پذیری ماده خشک (DMD) و دیواره سلولی منهای همی سلولز (ADF) به‌دست آمد. برای افزایش تنوع نمونه‌ها برای آنالیز، برداشت نمونه‌های گیاهی در سه مرحله رشد رویشی، گلدهی و رسیدن بذر در مراتع ییلاقی ارتفاعات البرز (طالقان) انجام شد. نمونه‌ها در آزمایشگاه به‌وسیله روش‌های استاندارد آزمایشگاهی خشک و آسیاب شدند. سپس به‌وسیله روش‌های شیمیایی آزمایشگاهی استاندارد به‌منظور برآورد درصد DMD، CP و ADF و خاکستر کل (Ash) مورد آنالیز قرار گرفتند. باقی مانده نمونه‌ها به‌وسیله ۲۰ فیلتر دستگاه Inframatic ۸۶۲۰ اسکن شدند. طیف دستگاه NIR برای هر نمونه ثبت شد. یک تنظیمات مستقل و جداگانه برای پیشگویی به‌کار گرفته شد. کالیبراسیون‌هایی که از این مطالعه به‌دست آمد سطح بالایی از دقت و صحت را برای موارد ضریب تبیین (R^2)، اشتباه استاندارد کالیبراسیون (SEC) و اشتباه استاندارد صحت (SEP) دارا بود. SEC برابر با ۱/۰۹- ۰/۱۵، ۳/۹۴- ۰/۸۳، ۴/۹۶- ۰/۵۲ و ۰/۸۶- ۰/۲۱ و SEP برابر با ۰/۷۵-۰/۱۳، ۳/۳۴-۰/۶۲، ۳/۸۴-۰/۳۱، ۰/۶۱-۰/۱۷ به‌ترتیب برای صفات پروتئین خام، قابلیت هضم، دیواره سلولی منهای همی سلولز و خاکستر کل به‌دست آمدند. مقادیر همبستگی بین داده‌های آزمایشگاهی و نتایج پیشگویی NIR برای تمام صفات به‌ویژه پروتئین خام خیلی بالا بود(۹۵٪ <). نتایج تأیید می‌کنند که تکنولوژی NIR به‌عنوان یک روش سریع، معتبر و کم‌هزینه برای ارزیابی صفات کیفیت علوفه گیاهان مرتعی قابل استفاده است.

کلمات کلیدی: کیفیت علوفه، طیف سنجی مادون قرمز نزدیک (NIR)، کالیبراسیون، گیاهان مرتعی، مراحل فنولوژی.

www.SID.ir

Watershed Management Research (Pajouhesh & Sazandegi) No 94 pp: 45-54

Prediction of forage quality parameters in some range species by near infrared reflectance spectroscopy

By: N. Charehsaz , Former Master Student, Faculty of Natural Resources, University of Tehran. (Corresponding Author; Tel: +989148344318) A.A. Jafari , Associate Professor, Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran. H. Arzani Professor, Faculty of Natural Resources, University of Tehran. H, Azarnivand Associate Professor, Faculty of Natural Resources, University of Tehran.

Determination of grazing capacity in rangelands is an important factor for livestock husbandry. Improved forage quality is an important goal for improving animal performance. The aim of this study was to assess near infrared reflectance spectroscopy (NIR) as a rapid and reliable method for estimating quality parameters in nine range species as three grasses *Bromus tomentellus*, *Agropyron intermedium* and *Dactylis glomerata*, three forbs *Achillea millefolium*, *Coronilla varia*, *Centaurea virgata* and three shrubs *Scariola orientalis, Artemisia aucheri* and *Thymus kotschyanus.* NIR calibrations were derived for crude protein (CP), dry matter digestibility (DMD) and acid detergent fiber (ADF). To maximize variability of samples for analysis, were collected at three phenological stages as initiated growth, full flowering and seed ripening in ranges of central Alborz (Taleghan). Samples were dried and grinded using standard laboratory methods. A sub samples were analyzed using standard laboratory chemical procedures to estimate CP, DMD, ADF and total ash. The other sub samples were scanned by means of a 20-filter set of the Inframatic8620. NIR spectra were recorded for each sample. A separate independent set was used for predictions. The calibrations obtained from this study had a high level of accuracy based on coefficient of determination (R2), standard errors of calibration (SEC) and standard errors prediction (SEP). SEC were ranged from (0.15 to 1.09), (0.21 to 0.86), (0.83 to 3.94) and (0.52 to 4.96) and SEP were ranged from (0.13 to 0.75), (0.17 to 0.61), (0.62 to 3.34) and (0.31 to 3.84) for CP, Ash, DMD and ADF, respectively. The correlation values between laboratory data and NIR prediction was very high for all traits in particular for CP. The results confirm that NIR can use a rapid, precise and cost effective method for measurement quality traits in range species.

Keywords: Forage quality, Near infrared reflectance, Calibration, Rangeland plants and phenological stages.

مقدمه

آگاهی از میزان ارزش غذایی گیاهان به مرتعداران و دامداران کمک می‌کند تا بین مواد غذایی در دسترس و نیاز غذایی دام ها تعادل برقرار نموده و عملکرد دام را به حداکثر برسانند. تأمین نیاز غذایی دام از لحاظ انرژی، پروتئین، مواد معدنی و ویتامین‌ها امری ضروری است و زمانی امکان‌پذیر است که کیفیت علوفه از لحاظ ترکیبات شیمیایی و فیزیکی مطالعه شده باشد (Arzani، ۲۰۰۲).

شاخص‌های متعددی برای اندازه گیری کیفیت علوفه مورد اندازه‌گیری قرار می‌گیرند که از آن جمله : پروتئین خام، چربی خام، دیواره سلولی (NDF) ، دیواره سلولی منهای همی‌سلولز (ADF)، ماده خشک قابل هضم، انرژی خام و متابولیسمی، کربوهیدرات های محلول در آب، عصاره عاری از ازت، فیبرخام، لیگنین، ماده خشک قابل هضم، عناصر معدنی (فسفر، پتاسیم، کلسیم، منیزیم و...)، ارزش غذایی نسبی و بسیاری دیگر که به هر صورت باید عواملی را مدنظر قرار داد که اولاً هزینه و زمان کمتری برای انجام آنها صرف گردد و ثانیا" برآورد خوبی از کیفیت علوفه ارائه دهند (Arzani،۲۰۰۲). در حال حاضر روش‌های بسیاری برای اندازه‌گیری کیفیت و ارزش غذایی علوفه ایجاد شده و توسعه یافته‌اند که به طور کلی بر سه قسم استفاده از دام زنده (*In vivo*)، تلفیق آزمایشگاه و دام (*In sito*) و آزمایشگاهی (*In vivo*) هستند. امروزه بیشتر توجه روی روش‌های فیزیکی و غیرمخرب از جمله طیف سنجی اشعه مادون قرمز نزدیک (NIR)[1] متمرکز شده است.

در این روش، هیچ گونه محلول شیمیایی به کار نمی‌رود و علاوه بر ایمنی، دارای سرعت فوق‌العاده زیادی است. البته جهت حصول به نتایج مفید و کارآمد، باید در زمینه تنظیمات (کالیبراسیون) این روش با سایر روش های مرجع مرسوم، استاندارد کردن ابزار و نیز مطالعه روی ویژگی طیف‌ها، روش‌های مطمئن‌تر آماری ، مدل‌ها و معادلات دقیق‌تر، کار وسیع و همه جانبه‌ای صورت گیرد. با وجود سابقه مطالعاتی نسبتاً زیاد (بیش از دو دهه) در برخی کشورها، روش NIR در ایران، نسبتاً جدید و ناشناخته است و هنوز مطالعه‌ای جدی و جامع در اندازه گیری پارامترهای گیاهان علوفه‌ای در این زمینه صورت نگرفته است. Jafari (۲۰۰۱) امکان استفاده از NIR را در تخمین قابلیت هضم در گراس‌های علوفه‌ای و Ahmadi (۲۰۰۳) کیفیت علوفه چندگونه مرتعی را در مراحل مختلف رشد فنولوژیکی با استفاده از دو روش آزمایشگاهی و NIR مورد مطالعه قرار داد و در نهایت روش NIR را به عنوان یک فن‌آوری جدید، سریع، دقیق و کارآمد در اندازه‌گیری کیفیت علوفه گیاهان مرتعی ارزیابی نمود.

تکنولوژی NIR براساس جذب و انعکاس اشعه مادون قرمز در طول موج‌های بین ۱۱۰۰ تا ۲۵۰۰ نانومتر استوار است. در این روش اشعه بر جسم تابانیده می‌شود و انرژی منعکس شده R از نمونه براساس Log۱/R اندازه‌گیری می‌گردد. براساس برازش معادلات خطی رگرسیون چندگانه (MLR)[2] بین انرژی‌های منعکس شده از جسم و داده‌های آنالیز شیمیایی، دستگاه کالیبره می‌گردد. دقت NIR بستگی به شرایط کالیبراسیون آن

Archive of SID
www.SID.ir

دارد. بنابراین روش‌های شیمیایی باید دقیق و استاندارد باشند و نمونه‌های علوفه مورد استفاده بایستی دامنه کافی برای صفات داشته باشند؛ معمولاً با استفاده از سری طول موج‌های مختلف چندین معادله رگرسیونی برازش داده می‌شوند و براساس پارامترهای آماری هر یک از آنها (مثل ضریب همبستگی بیشتر و اشتباه استاندارد کمتر) بهترین معادله برای کالیبراسیون NIR انتخاب می‌شود.

از سال ۱۹۷۰ طیف سنجی NIR برای آنالیز فاکتورهای درصد پروتئین، درصد NDF و درصد قابلیت هضم در غلات و علوفه مورد استفاده واقع شد (Norris و همکاران ، ۱۹۷۶ و Dexville و Flinn ،۲۰۰۰) در تحقیقی Norris و همکاران (۱۹۷۶) اشتباه معیار برآود (SEP)[۳] ۰/۹۵، ۳/۱، ۲/۵، ۲/۱، ۳/۵ درصد را به ترتیب برای درصد پروتئین خام، درصد NDF ، درصدADF، لگنین و قابلیت هضم بیان کردند. در تحقیق مشابهی که توسط Garcia و Cozzolino (۲۰۰۶) بر روی لگوم‌ها و گراس‌ها انجام شد، کالیبراسیون NIR برای فاکتورهای DM، CP، ADF و DMD ضرایب همبستگی نسبتاً بالا و اشتباه استاندارد پایینی را نشان داد.

Gatius و همکاران (۲۰۰۴) NIRS را در تخمین مقدار پروتئین خام (CP) علوفه‌ها به کار بردند و برای ۲۷ نمونه با سه مرحله رشد (رویشی، گلدهی و بذردهی) یک برنامه کالیبراسیون انجام دادند و براساس آن محتوی پروتئین خام نمونه‌ها با یک مدل جامع برای تمام مراحل رویشی و یک مدل مختص آن رویشگاه برای مرحله بذردهی اندازه گیری در نتایج مشابهی Parnnell و White (۱۹۸۳) کارآیی NIR را به عنوان جایگزینی مناسب برای تعیین پروتئین خام در گونه‌های مختلف گیاهان علوفه‌ای نشان دادند. Jafari (۲۰۰۱) با استفاده از روش NIR محتوی پروتئین خام را در گراس‌های علوفه‌ای بدست آورد.

هدف از این پژوهش بررسی کارائی روش NIR در تخمین پروتئین خام(CP)، انرژی متابولیسمی (ME)، قابلیت هضم ماده خشک (DMD)، دیواره سلولی منهای همی‌سلولز (ADF) و خاکستر کل (Ash) در ۹ گونه مرتعی در مقایسه با روش های آزمایشگاهی متداول بود.

مواد و روش‌ها

الف- مطالعه میدانی

- محل جمع‌آوری نمونه‌ها

- گونه‌های مورد مطالعه

- روش نمونه‌برداری

این تحقیق در حوزه آبخیز طالقان یکی از سرشاخه‌های سفیدرود انجام گرفت. این حوزه در ۱۱۰ کیلومتری شمال غربی تهران قرار دارد. ارتفاع متوسط حوزه ۲۶۶۵ متر از سطح دریا (ارتفاع حداکثر ۴۴۰۰ متر وارتفاع حداقل ۱۰۸۰ متر) می‌باشد. جهت کلی حوزه آبخیز طالقان شرقی- غربی است. گونه های مورد مطالعه شامل ۹ گونه گیاهی *Bromus tomentellus*، *Agropyron intermedium*، *Dactylis glomerata*، *Achillea millefolium*، *Centaurea virgata*، *Artemisia aucheri*، *Coronilla varia* و *Scariola orientalis*، *Thymus kotschyanus* بود.

نمونه‌برداری از نه گونه ذکر شده در ۳ مرحله فنولوژیکی (مرحله رویشی، گلدهی و رسیدن بذر) به صورت تصادفی انجام گرفت. در هر مرحله با رجوع به منطقه مطالعاتی از هر گونه گیاهی ۳ نمونه و از هر نمونه ۵ تکرار به صورت تصادفی نمونه‌برداری شدند.

نمونه‌برداری با قیچی باغبانی و از حدود ۱ سانتی‌متری بالای سطح خاک برای گراس ها و فورب ها و رشد سال جاری برای بوته ای ها (عادت چرایی دام) انجام گرفت. علوفه قطع شده در پاکت‌های کاغذی که از قبل به وسیله دستگاه پانچ سوراخ شده بودند با ذکر مشخصات نمونه ریخته شد. نمونه‌ها پس از انتقال از عرصه به آزمایشگاه به مدت ۲ هفته و یا بیشتر در هوای آزاد، قبل از آسیاب شدن در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت خشک شدند. از هر نمونه مقداری برای اندازه گیری شیمیایی در نظر گرفته شده و بقیه برای NIR نگهداری شد.

ب- مطالعه آزمایشگاهی

اندازه گیری صفات به روش شیمیایی در آزمایشگاه برای صفات پروتئین خام(CP)، قابلیت هضم ماده خشک (DMD)، دیواره سلولی منهای همی‌سلولز (ADF)، و خاکستر کل (Ash) مطابق با دستورالعمل Issac (۱۹۹۰) انجام گردید.پس از انجام اندازه گیری های شیمیایی، باقی‌مانده نمونه‌ها (حدود ۱۵ گرم در هر نمونه) جهت تهیه برنامه کالیبراسیونی استفاده گردید. برای اسکن کردن نمونه‌ها از دستگاه Inframatic ۸۶۲۰ استفاده شدکه دارای ۲۰ فیلتر می‌باشد. در جدول ۱ مشخصات طول موج فیلتر های ۲۰ گانه NIR و قابلیت اندازه گیری صفات در هر یک از آنها آمده است. از هر گونه گیاهی در مجموع ۴۵ نمونه برای سه مرحله رویشی به طور مجزا در داخل محفظه دستگاه ریخته شد و بوسیله تاباندن پرتوهای مختلف اشعه مادون قرمز نزدیک انرژی های جذب و یا منعکس شده اندازه گیری شوند. نمونه ها دو بار بوسیله NIR پرتوتابی شدند. حدود دو سوم نمونه‌ها برای برازش معادله کالیبراسیون و بقیه آنها برای صحت معادله کالیبراسیونی به کار برده شدند. کالیبراسیون (هم‌سنجی) NIR با کاربرد معادلات رگرسیون خطی چندمتغیره بر اساس روش Wester haus (۱۹۸۸) و با استفاده از نرم‌افزار Percon V ۷/۸۹ انجام شد.

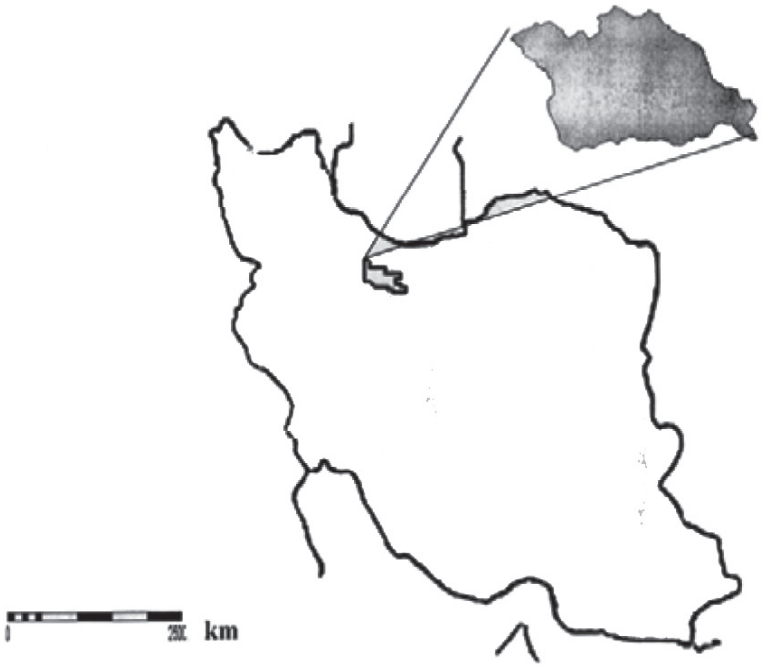
در مجموع برای هر کدام از گونه ها یا فرم های رویشی (شبدرک، آویشن، کمپوزیته علفی، کمپوزیته بوته‌ای و گراس‌ها) یک برنامه کالیبراسیونی برای صفات (CP، ADF، DMD، ASH) تهیه شد. بنابراین جمعاً ۲۰ برنامه کالیبراسیونی به روش زیر تهیه گردید.

۱- ابتدا از گزینه جستجوی اتوماتیک فیلترها[۴]. نسبت به انتخاب بهترین فیلترها (طول موج‌ها) براساس ضریب تبیین یا R^2 ، اشتباه استاندارد کالیبراسیون (SEC)، و آزمون F اقدام شد و برای هر صفت در گونه جمعاً ۹ ترکیب از فیلترهای ۳، ۴ و ۵ تایی انتخاب شدند.

۲- در مرحله بعد با استفاده از گزینه رگرسیون چند متغیره MLR ضرایب رگرسیونی b۱ تا b۲۰ برای هر یک از طول موج های انتخابی محاسبه گردید. در خروجی این برنامه، پارامترهای آماری شامل ضریب تبیین (R^2)، اشتباه استاندارد کالیبراسیون (SEC)[۵] و t استیودنت مورد بررسی قرار گرفتند و بر این اساس فیلترهای غیرمعنی‌دار و داده های پرت حذف شدند.

۳- در مرحله بعد صحت معادلات کالیبراسیون بررسی شده و اعتباریابی[۶] بهترین معادله های کالیبراسیونی مورد ارزیابی قرار گرفتند. به همین منظور هر یک از این معادلات با یک سری از نمونه‌های دیگر از یک سوم بقیه نمونه‌ها

Archive of SID



شکل ۱-موقعیت جغرافیایی منطقه مورد مطالعه

کنترل نهایی شـدند. در این مرحله با اسـتفاده از گزینه Test Calibration سودمندی هر یک از معادلات بر اساس کمترین اشتباه استاندارد صحت (SEP) و بیشـترین ضریب همبستگی بین آزمایشـگاه و NIR و شیب خط رگرسیون نزدیک به ۱ و حداقل اریبی مورد بررسـی قرار گرفتند و در نهایت یک معادله برای هر صفت در هر گونه برای اندازه گیری نهایی مشخص گردید.

نتایج

الف: درصـد پروتئین خام: خلاصه نتایج تجزیه شـیمیایی گونه‌های مورد مطالعه در آزمایشـگاه حاوی تعداد نمونه، دامنـه میانگین و انحراف معیار نمونه‌هـا برای صفات مورد مطالعه در جدول ۱ آمده اسـت. چون میانگین درصد پروتئین خام در شبدرک نسبت به سایر گونه‌ها از لحاظ آماری بیشتر و در آویشـن کمتر بـود، بنابراین یک برنامه کالیبراسـیونی جداگانه برای هریـک از این دو گونه تهیه گردیـد. برای فورب‌ها و گونه‌های بوته‌ای تیره کمپوزیته و گراس‌ها نیز معادله‌های کالیبراسـیونی مجزا محاسبه گردید. برای کالیبراسـیون درصد پروتئین خام از فیلترهای ۱۲ تا ۲۰ استفاده شد که دارای طول موج هـای بین ۱۴۴۵ تا ۱۹۸۲ نانومتر بودند. نتایج برنامه کالیبراسیون نشـان داد که ضریب تشـخیص (R^2) برای همه گونه‌ها بالا بـود و در دامنـه بین ۹۳ تا ۹۹ درصد قرار داشـت (جدول ۲، شـکل ۱). در برنامه آزمون دقت کالیبراسـیون نتایج نشـان داد که همبستگی بالایی (۰/۹۷ تا ۰/۹۹) بین داده‌های آزمایشگاهی و NIR مشاهده گردید و اشتباه استاندارد صحت برای گونه‌های مختلف بین ۰/۱۳ تا ۰/۹۰ بود (جدول۳).

ب: درصد خاکسـتر کل: خلاصه نتایج تجزیه شـیمیایی درصد خاکسـتر کل در آزمایشـگاه نشـان داد کـه آویشـن و کمپوزیته‌هـای فـورب (*Achillea millefolium، Centaurea virgata*) به ترتیب ۸/۸۳ و ۵/۱۶ بیشـترین و کمترین درصد خاکستر کل داشتند (جدول ۱). بهترین برنامـه های کالیبراسـیونی خاکسـتر کل از ترکیبات ۵ فیلتری بدسـت آمدند. فیلتر شـماره ۱۷ در اکثر معادلات کالیبراسـیونی شـرکت داشت. نتایج معادلات کالیبراسـیون نشـان داد که ضریب تشـخیص (R^2) برای کمپوزیته‌های بوته‌ای و گراس‌ها بیشتر بود (۰/۹۶ و ۰/۹۸). ولی مقدار آن برای شـبدرک، آویشـن و کمپوزیته علفی به نسبت کمتر (از ۰/۸۲ لغایت ۰/۸۸) بود و به همین جهت مقدار اشـتباه استاندارد کالیبراسیون (SEC) برای آویشـن و کمپوزیته علفی بیشتر بود (۰/۸۶ تا ۰/۷۷ درصد) (جدول ۲). در برنامه آزمون کالیبراسیون نتایج نشان داد که ضریب همبستگی بین داده‌های آزمایشـگاهی و NIR در همه گونه‌ها به نسبت بالا بود (۰/۹۰ تا ۰/۹۹). به همین ترتیب اشتباه استاندارد صحت نیز کم و در دامنه ۰/۱۷ و ۰/۶۱ قرار گرفت که نشان دهنده دقت بالای برنامه‌های کالیبراسیونی برای پیشگویی خاکستر کل در گونه‌های مورد استفاده بود (جدول ۳ شکل ۱).

ج: درصـد قابلیـت هضـم: بیشـترین و کمتریـن درصـد قابلیت هضم بـه ترتیـب بـا ۵۰/۳۵ و ۴۳/۰۴ مربـوط بـه کمپوزیته‌هـای فـورب (*Achillea millefolium، Centaurea virgata*) و شـبدرک بـود که نشـان دهنده خوشـخوراکی بالای گونه های تیره کمپوزیته می‌باشد. انحـراف معیار شـبدرک با ۱۰/۲۳ نسـبت به سـایر گونه ها بیشـتر بود (جدول ۱). در محاسـبه برنامه کالیبراسـیونی قابلیت هضم از ترکیبات ۵ فیلتری اسـتفاده شد. شماره فیلترها برای گونه‌های مختلف متفاوت بود و برخلاف درصد پروتئین خام این صفت تحت تأثیر طول موج‌های متفاوتی قرار می‌گیرد. بر اساس گزارش Jafari (۲۰۰۳)، چون قابلیت هضم حاوی ترکیبات گوناگونی است و تحت تأثیر میکرورارگانیسم های شکمبه و آنزیم های مختلفی قرار می‌گیرند، بنابراین دقت NIR در تخمین آن نسـبت به

Archive of SID

پروتئین خام کمتر است. نتایج معادلات کالیبراسیونی نشان داد که ضریب تشخیص (R^2) برای آویشن و گراس‌ها بیشتر بود (۰/۹۶ و ۰/۹۸) ولی مقدار آن برای شبدرک و کمپوزیته علفی به نسبت کمتر (از ۰/۸۴ تا ۰/۸۹) بود (جدول ۲، شکل ۲).

د: درصد ADF: خلاصه نتایج تجزیه شیمیایی گونه های در آزمایشگاه شامل تعداد نمونه، حداکثر و حداقل، دامنه میانگین و انحراف معیار نمونه‌ها برای درصد ADF نشان داد که کمترین و بیشترین درصد ADF به ترتیب با ۴۹/۴۸ و ۵۸/۸۷ مربوط به کمپوزیته های فورب (*A.millefolium، C.virgata*) و شبدرک بود. انحراف معیار شبدرک با ۱۳/۱۳ نسبت به سایر گونه ها بیشتر بود که نشان دهنده تنوع بالای آن بود (جدول ۱).

در محاسبه برنامه کالیبراسیونی ADF در همه گونه ها از ترکیبات ۵ فیلتری استفاده شد. نتایج نشان داد که ضریب تشخیص (R^2) برای آویشن و گراس‌ها بیشتر بود (به ترتیب ۰/۹۹ و ۰/۹۶). ولی مقدارآن برای کمپوزیته علفی به نسبت کمتر (۰/۸۴) بود کمترین و بیشترین اشتباه استاندارد کالیبراسیون (SEC) با ۰/۸۳ و ۴/۹۶ درصد به ترتیب مربوط به گراس ها و شبدرک بود که نشان دهنده دقت بسیار بالای NIR در تخمین ADF در گراس ها بود (جدول ۲، شکل ۲). در برنامه آزمون کالیبراسیون، ضریب همبستگی بین داده‌های آزمایشگاهی و NIR در فورب ها با ۰/۸۹ کمترین و در گراس ها و آویشن با ۰/۹۹ بیشترین بود که نشان دهنده دقت بالای برنامه‌های کالیبراسیونی برای پیشگویی ADF در گونه های مختلف مرتعی می باشد (جدول۳).

جدول ۱- پارامترهای آماری شامل تعداد نمونه، میانگین و انحراف معیار داده‌های آزمایشگاهی کیفیت علوفه گونه‌های مرتعی مورد مطالعه

فرمهای رویشی/گونه ها	تعداد نمونه ها	پروتئین خام	خاکستر	هضم‌پذیری ماده خشک	دیواره سلولی منهای همی سلولز
Coronilla varia	۱۲	۱۴/۰۶ ±۳/۷۶	۷/۷۱ ±۰/۴۵	۴۳/۰۴ ± ۱۰/۲۳	۵۸/۸۷ ±۱۳/۱۳
Thymus kotschyanus	۱۲	۶/۱۱ ± ۱/۱۵	۸/۸۳ ± ۱/۸۵	۴۷/۸۶ ±۶/۹۷	۵۲/۶۸ ±۸/۹۴
کمپوزیته فورب	۱۸	۶/۴۴ ± ۳/۵۵	۵/۱۶ ± ۲/۱۱	۵۰/۳۵ ±۷/۰۷	۴۹/۴۸ ±۹/۰۸
کمپوزیته بوته ای	۱۸	۷/۷۳ ± ۴/۲۵	۶/۴۳ ± ۲/۸۳	۴۹/۶۶ ±۷/۷۳	۵۰/۴۳ ±۹/۹۵
گراس ها	۱۸	۶/۷۳ ±۴/۴۴	۶/۰۱ ±۲/۰۸	۴۷/۸۲ ±۷/۰۴	۵۳/۴۳ ±۹/۰۳

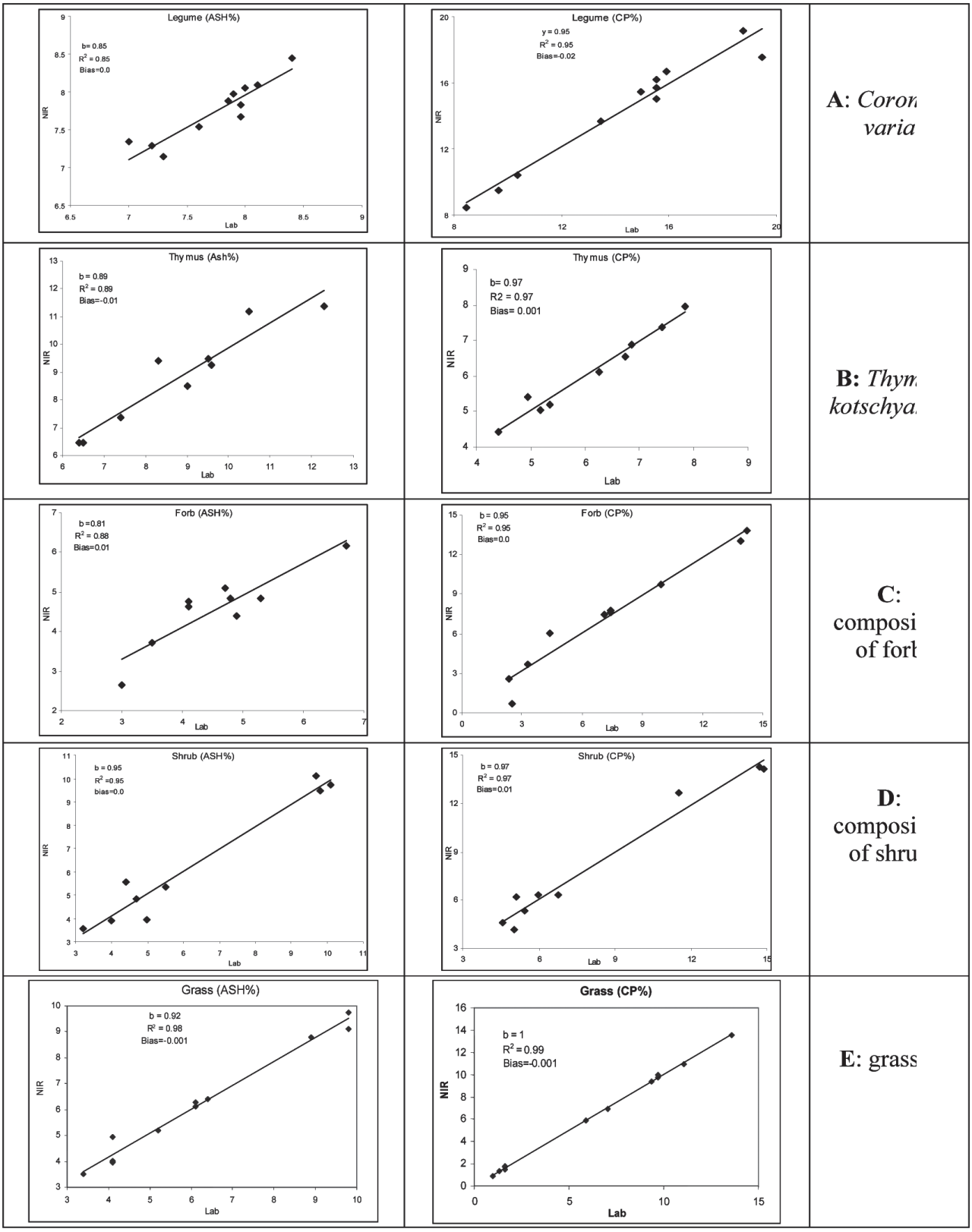
جدول۲- پارمترهای آماری شامل اشتباه استاندارد کالیبراسیون SEC و ضرایب تشخیص R^2 برای صفات مورد مطالعه

فرمهای رویشی/گونه ها	پروتئین خام		خاکستر		هضم‌پذیری ماده خشک		دیواره سلولی منهای همی سلولز	
	R۲	SEC	R^2	SEC	R۲	SEC	R۲	SEC
Coronilla varia	۰/۹۳	۱/۰۹	۰/۸۲	۰/۲۱	۰/۸۹	۳/۹۴	۰/۸۸	۴/۹۶
Thymus kotschyanus	۰/۹۴	۰/۳۱	۰/۸۳	۰/۸۶	۰/۹۶	۱/۴۵	۰/۹۶	۱/۸۶
کمپوزیته فورب	۰/۹۵	۰/۷۹	۰/۸۸	۰/۷۷	۰/۸۴	۲/۹۹	۰/۸۳	۳/۸۶
کمپوزیته بوته ای	۰/۹۷	۰/۶۹	۰/۹۶	۰/۵۴	۰/۹۳	۲/۲۳	۰/۹۳	۲/۸۳
گراس ها	۰/۹۹	۰/۱۵	۰/۹۸	۰/۳۱	۰/۹۸	۰/۸۳	۰/۹۹	۰/۵۲

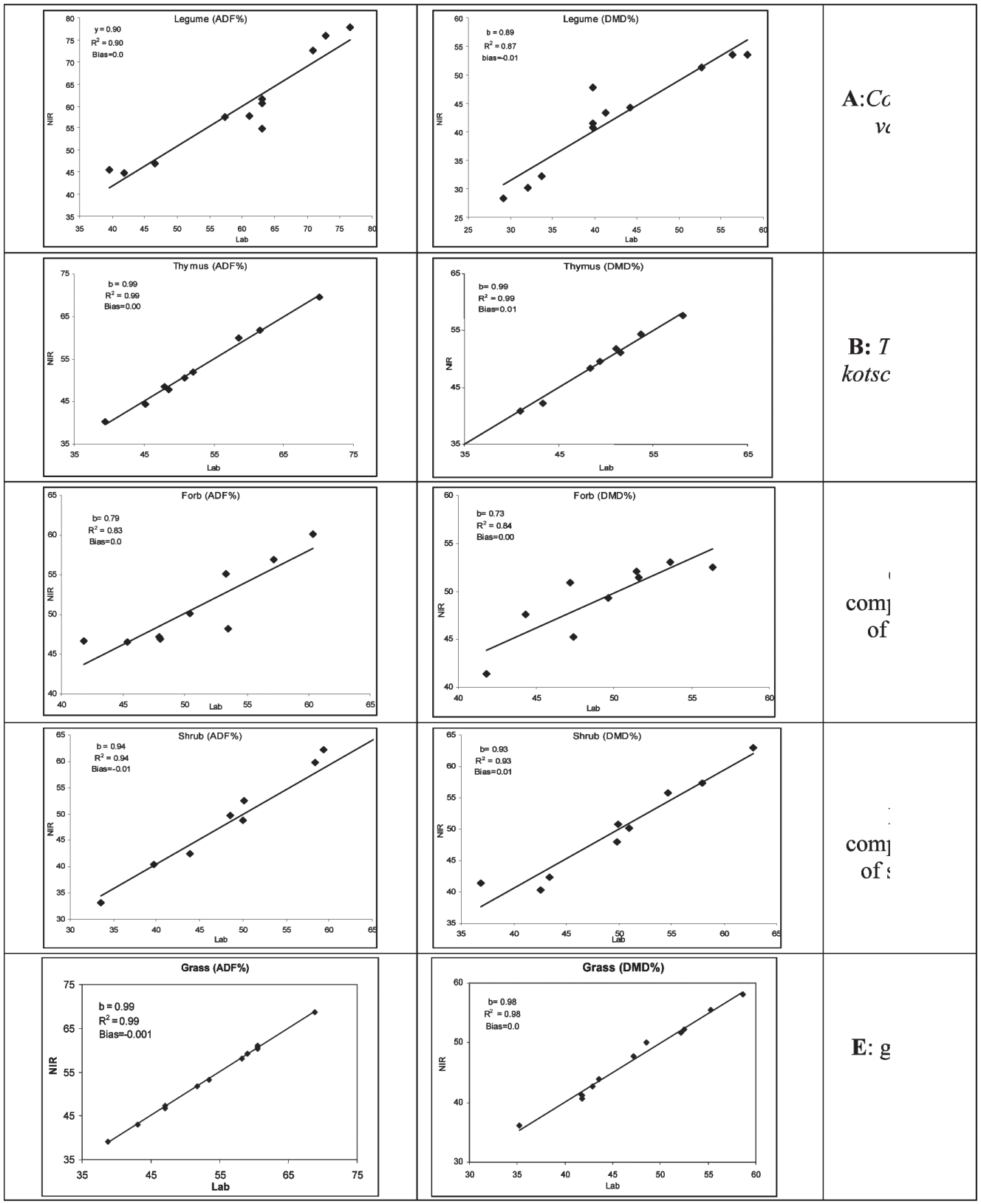
جدول۳- پارمترهای آماری شامل اشتباه استاندارد پیشگویی (مورد انتظار) SEP و ضریب همبستگی بین داده‌های آزمایشگاهی و NIR برای صفات مورد مطالعه

فرم های رویشی/گونه ها	پروتئین خام		خاکستر		هضم‌پذیری ماده خشک		دیواره سلولی منهای همی سلولز	
	r	SEP	r	SEP	r	SEP	r	SEP
Coronilla varia	۰/۹۷	۰/۷۵	۰/۹۲	۰/۱۷	۰/۹۴	۳/۳۴	۰/۹۵	۳/۸۴
Thymus kotschyanus	۰/۹۸	۰/۲۱	۰/۹۵	۰/۶۱	۰/۹۹	۰/۶۲	۰/۹۹	۰/۸۱
کمپوزیته فورب	۰/۹۸	۰/۹۰	۰/۹۰	۰/۴۷	۰/۸۶	۲/۳۵	۰/۸۹	۲/۷۰
کمپوزیته بوته ای	۰/۹۸	۰/۷۴	۰/۹۷	۰/۶۱	۰/۹۷	۲/۰۴	۰/۹۷	۲/۴۹
گراس ها	۰/۹۹	۰/۱۳	۰/۹۹	۰/۳۴	۰/۹۹	۰/۷۴	۰/۹۹	۰/۳۱

www.SID.ir



شکل ۱- رابطه رگرسیونی بین نتایج آزمایشگاه و NIR به منظور اندازه گیری درصد پروتئین خام و درصد خاکستر در گونه های مورد مطالعه



شکل ۲- رابطه رگرسیونی بین نتایج آزمایشگاه و NIR به منظور اندازه گیری درصد ADF و درصد قابلیت هضم در گونه های مورد مطالعه

www.SID.ir

بحث و نتیجه‌گیری

در برنامه آزمون کالیبراسیون نتایج نشان داد که ضریب همبستگی بین داده‌های آزمایشگاهی و NIR برای بیشتر گونه‌ها (به جزء فورب ها) بین ۰/۹۴ تا ۰/۹۹ بود که نشان دهنده دقت بالای برنامه های کالیبراسیونی برای پیشگویی قابلیت هضم در گونه های مختلف مرتعی می باشد. این دقت برای فورب ها به نسبت ۰/۸۶ بود (جدول۳).

نتایج ارزیابی معادلات کالیبراسیونی برای چهار صفت CP، ADF، DMD و ASH اندازه گیری شده مشابه نتایج گزارش شده در منابع مختلف می‌باشد. Noris و همکاران (۱۹۷۶) در گونه های *Festuca artundinaceâ* و *Bromus tomentellus* (که با گراس های تحقیق ما شباهت دارند) ضریب تشخیص مشابه این تحقیق گزارش کردند ولی اشتباه استاندارد صحت SEP آنها از تحقیق حاضر بیشتر بود که می‌توان دلیل آن را تعداد بیشتر نمونه اندازه گیری شده توسط آنها باشد. Ahmadi (۲۰۰۳) در تحقیق خود در مورد گونه شبدرک ضریب تشخیص بالاتر (R^2=۰/۹۸) و رابطه رگرسیونی قوی‌تری را برای CP نسبت به ADF و NDF به دست آورد (R^2=۰/۹۳). همچنین در مورد گراس ها R^2>۰/۹۳ را برای پروتئین خام و ADF به دست آورد که با نتایج تحقیق حاضر کاملاً همخوانی دارد. Garcia و Cozzolina (۲۰۰۶) برای پیش‌بینی ترکیبات شیمیایی علوفه‌ها از طریق مدل های کالیبراسیون NIR به نتایجی دست یافتند که مشابه نتایج تحقیق حاضر است. در تحقیق آنها رابطه رگرسیونی بین NIR و داده‌های آزمایشگاهی لگوم و گراس برای CP نسبت به خاکستر بیشتر بود که با نتایج این تحقیق مطابقت کامل دارد.

Nie و همکاران (۲۰۰۷) در پارامترهای کیفیت علوفه یونجه، DMD، ASH، NDF، ADF، ADL و CP دامنه ضریب همبستگی را بین ۰/۹۹-۰/۹۶ بیان کردند که در مورد شبدرک نیز دامنه ضریب همبستگی در تحقیق حاضر ۰/۹۷-۰/۹۲ می‌باشد که با این نتیجه شباهت دارد. Fonteli و همکاران (۲۰۰۴) پیش‌بینی ترکیبات شیمیایی Cynodon dactylon را به وسیله NIR انجام دادند و R۲ را برای CP و ADF به ترتیب ۰/۹۸ و ۰/۹۹ بدست آوردند. Jafari (۲۰۰۱) درتخمین پارامترهای مؤثر درکیفیت علوفه چچم دائمی (*Lolium perenne*) از طیف سنجی مادون قرمز نزدیک به نتایجی مشابه نتایج حاضر رسید. لوچر و همکاران (۲۰۰۵) با بررسی لگوم‌ها در کشت مخلوط گراس ها و لگوم ها از طریق بهبود کالیبراسیون‌های NIR به ضریب تشخیص (R^2) بزرگتر از ۹۹ درصد دست یافتند. به طوری که R^2 در گراس ها خیلی بالا بود که آنها را از لگوم‌ها متمایز می‌کرد. در تحقیق حاضر نیز نتایج به دست آمده از گراس ها نسبت به لگوم ها (شبدرک) به مراتب دقیق تر بودند. Jafari و همکاران (۲۰۰۳) R^2 را برای پروتئین خام گراس‌های چندساله برابر با ۰/۹۶ گزارش نمودند که با تحقیق حاضر شباهت دارد.

نتایج گزارش Ahmadi (۲۰۰۳) از نظر SEC و R^2 برای درصد پروتئین در گونه فورب *Ferula ovina* با تحقیق حاضر مشابهت دارد. در رابطه با درصد ADF مقدار SEC=۰/۷ کمتری را نسبت به تحقیق حاضر گزارش نمود. مقداری بالای این اشتباه استاندارد کالیبراسیون ممکن است به دلیل وجود ۲ گونه فورب با خصوصیات مختلف در یک برنامه کالیبراسیونی باشد که باعث پراکنش دامنه خطا شده است. به همین دلیلی به شرطی که تعداد نمونه های آزمایشگاهی در حد کافی باشند توصیه می شود برای هر گونه کالیبراسیون جداگانه انجام گردد.

به طور کلی، نتایج حاصل از ایجاد ارتباط بین داده‌های NIR و مقادیر حاصل از آنالیز شیمیایی نمونه‌ها در آزمایشگاه، نشان داد که در صفت درصدCP بهترین همبستگی بین این دو سری داده وجود داشت و ضریب تشخیص بالاتری به آن اختصاص یافت. پس از CP، مقادیر ASH در مرتبه بعدی و در نهایت ADF و DMD قرار داشتند. از بین گونه های مورد استفاده، گراس ها در مرتبه اول قرار گرفتند؛ آویشن، کمپوزیته های بوته‌ای، شبدرک و کمپوزیته‌های علفی در مرتبه‌های بعدی بودند. به عبارت دیگر بهترین همبستگی بین داده‌های NIR و آزمایشگاهی برای گراس ها و کمترین آن برای کمپوزیته‌های علفی به‌دست آمد. منابع منشر شده اشتباه استاندارد صحت (پیشگویی) برای اندازه گیری (ADF) توسط Patrick و همکاران (۲۰۰۴) در گراس‌ها ۱/۶۹=SEP Agnew، Agnew و همکاران (۲۰۰۴) در گراس‌ها ۰/۵۲= King SEC (۲۰۰۵) در برنج SEP=۰/۹۳ و Garcia و Cozolino (۲۰۰۶) در مخلوط گراس و لگوم SEP = ۳/۸ گزارش نمودند که در دامنه تحقیق حاضر قرار دارد. براساس گزارش Jafari و همکاران (۲۰۰۳) برای ایجاد برنامه کالیبراسیون هر صفت در هر گونه لازم است ۵۰ نمونه در مراحل مختلف فنولوژیکی اندازه گیری شیمیایی شود و ۶۵ درصد نمونه ها برای ایجاد برنامه کالیبراسیون و ۳۵ درصد برای ارزیابی صحت کالیبراسیون استفاده گردند.

محققان متعددی کارایی NIR را برای CP گزارش کرده اند. پارنل و وایت (۲۰۰۴)، Posseth (۱۹۸۵)، Robert و همکاران (۱۹۸۶)، O'Keeffe و همکاران (۱۹۸۷) و Jafari (۲۰۰۱) اشتباه استاندارد صحت (SEP) برای CP را به ترتیب ۰/۸۰ ، ۰/۳۸ ، ۰/۹۹ ، ۰/۶۳ و ۰/۶۸ برای گراس های چندساله و *Loliume perenne* گزارش نمودند، که با تحقیق حاضر مشابهت دارد. بنابراین با توجه به نتایج به دست آمده می‌توان گفت که استفاده از طیف سنجی مادون قرمز نزدیک (NIR) برای ارزیابی و اندازه‌گیری پروتئین خام به جای روش کلدال در آزمایشگاه با اطمینان بالا امکان‌پذیر است و با توجه به هزینه زیاد مواد شیمیایی و مدت زمان بالا برای انجام آن (مثلاً هضم هر نمونه حدود یک ساعت طول می‌کشد) استفاده از NIR منطقی به نظر می‌رسد.

بر اساس گزارشات منتشر شده مختلف اختلاف بیشتری بین دو پارامتر SEP و SEC دیده می‌شود ولی به طور کلی اشتباه استاندارد کالیبراسیون و صحت گزارش شده در منابع برای CP نسبت به تحقیق اخیر بیشتر بود. از طرف دیگر SEP و SEC برای ADF و NDF به نسبت از CP بیشتر بود این عمدتاً مربوط به دقت کمتر در روش‌های آزمایشگاهی به دلیل خطای آزمایش کننده بود. با این حال بازهم به دلیل همبستگی بالای بین دو روش NIR و آنالیز آزمایشگاهی بالای و اریبی کمتر و نیز زمان کمتر و عدم نیاز به آماده‌سازی شیمیایی، هزینه کمتر و دخالت کمتر خطای شخص اندازه‌گیر، روش NIR جهت اندازه‌گیریADF، CP و NDF توصیه می‌گردد. همچنین در مورد DMD و ASH نیز به ترتیب رابطه نسبتاً خوبی بین دو روش بدست آمد. با توجه به مقادیر کم اشتباه استاندارد ارزیابی (پیش‌گویی SEP) که در واقع اشتباه معیار، اختلاف اندازه‌گیری بین دو روش آزمایشگاهی و NIR را نشان می دهد می‌توان نتیجه گرفت که از طیف سنجی مادون قرمز نزدیک به عنوان یک فن‌آوری

Archive of SID

جدید، پیشـــرفته و در عین حال ساده می‌توان به مثابه جایگزینی سریع، و کارآمد از نظر هزینه و دقت برای بررســـی شـــاخص های کیفی و ترکیبات شیمیایی علوفه گیاهان مرتعی و علوفه‌ای استفاده کرد.

در این مقاله از ۹ گونه متفاوت استفاده شد که وقت زیادی صرف کالیبراسیون آنها گردید؛ بنابراین بهتر است که به جای مطالعه تعداد زیادی از گونه‌های مختلف گیاهی، از یک یا دو گونه با تکرار بســـیار بالا و در مراحل رویشـــی متنوع‌تر استفاده گردد تا هنگام استفاده از روش طیف سنجی مادون قرمز نزدیک، بتوان هم سنجی های مطمئن‌تر و دقیق‌تری را ایجاد کرد و مقایسه هـــای نزدیکتر و بهتری را بین ایـــن دو روش با روش‌های مرجع انجام داد. مســـلماً چنین کالیبراســـیون‌هایی را می‌توان جهت پژوهش‌های بعدی، با اطمینان بالایی مورد اســـتفاده قرار داد. یکی از محدودیت های NIR نیاز به کالیبراسیون های متعدد برای گونه‌ها و مناطق اکولوژیکی متفاوت رشد آنها می باشد یکی از راه حل های این موضوع استفاده از بیش از یک روش مرجع (آزمایشگاهی، *In vivo* و...) را برای مقایسه و برآورد با روش NIR می باشد تا مقایســـه های وسیع‌تری بین این روش ها انجام گیرد و برنامه کالیبراسونی معتبری برای گونه های مشابه به دست آید.

پاورقی ها

1- Near Infrared Reflectance Spectroscopy
2- Multiple Linear Regression
3- Standard Error of Prediction
4- Auto Filter Search
5- Standard Error of Calibration
6- Verification:

منابع مورد استفاده

1- Ahmadi, Abbas. (2003) *Investigation quality forage several range species in different stage of phonological growth by two methods of lab and NIR.* Ms.c. thesis of range management. Faculty of natural resources. Tehran University.

2- Arzani, H. Torkan, J. Jafari, M. Jalili, A. and Nikkhah, A. (2002) Effect different phonological stages and ecological factors on quality forage several range species. *Iranian Journal of Agricultural Science*. Vol, 2.No, 32.pp: 385-397.

3- Agnew, RE. Park, RS. Mayne, CS. and Laidlaw, AS. (2004) *Potential of near infrared spectroscopy to predict the voluntary intake of grazed grass,* I of Animal Feed Science and Technology. No, 115. pp: 169-178.

4- Deaville, E. Flinn. R, Givens. P. C, (2000) near infrared (NIR) spectropscopy and alternative approach for the estimation of forage quality and voluntary intake. *Forage evaluation in ruminant nutrition*. pp: 301-320.

5- Fontencli, RS. Scheffer-Basso. SM, Durr IW, and Appelt. IV. (2004) Prediction of chemical composition of cynodon spp by near infrared reflectance spectroscopy, *J of Animal Science*.No, 33. pp: 838-842.

6- Garcia, I. and Cozzolino, D. (2006) Use of near infrared reflectance (NIR) Spectroscopy to predict chemical composition of forages in Brood-based calibration models, *Journal Agricultural Technigue*, Jan-Mar.No, 66.pp: 41-47.

7- Gatius, F. Loveras, I. Ferran, I. and Puy, I. (2004) Prediction of crude Protein and classification of the growth stage of wheat plant samples from NIR Spectra, *Journal of Agricultural Science.* No, 145.pp: 517-524.

8- Issac, RA. Watson, ME. (1990) *Analytical instruments for soil and plant analysis.* In: Westerman RL (Ed) Soil testing and plant analysis. SSSA book series 3, 3rd edn. Madison. SSSA, pp: 691–704.

9- Jafari, A. A. (2001) *Investigation of possibility using from NIR for estimation digestibility in forage grasses,* Collection of papers third research seminar of nutrient livestock and birds, published by research institute of livestock science.pp: 55-63.

10- Jafari, A. Connolly, V. Frolich, A and Walsh, E.I. (2003) A note on estimation of quality parameters in perennial ryegrass by near infrared reflectance spectroscopy, *Irish Journal of agricultural and food research.*No, 42.pp:293-299, (ISI).

11- Kong, XG. xie. Jk, wu. XL, Huang Yj, and Bao. (2005) Rapid prediction of acid detergent fiber, neutral detergent fiber, and acid detergent lignin of rice materials by near-infrared spectroscopy. *Jouranl of Agricultural and Food chemistry.*No, 53.pp:2843-2848.

12- Locher, F.H, Heuwinkel. R, Gut ser and Schmidhalter. (2005) Development of near infrared reflectance spectroscopy calibrations to estimate legume content of multispecies legume-grass mixtures. *Agronomy Journal* (Jan-Feb).No, 97.pp: 11-17

13- Nie, ZD. Han. JG, Zhang LD, and IH. Li, (2007) Applications of near infrared reflectance spectroscopy technique (NIRS) to grassland ecology research, *Journal spectroscopy and Spectral Analysis*.No, 27.pp: 691-696.

14- Nie, ZD. Han. IG, zha. Y, Zhang LD, and IH. Li, (2007) Quality predictioin of alfalfa hay using Fourier transform near-infrared reflectance spectroscopy, *Journal spectroscopy and spectral Analysis.*No, 27.pp: 1308-1311.

15- Norris, K.H. Barnes, R.F. Moore, I.E and Shenk, J.S. (1976) Predicting Forage quality by NIRS, *Journal of animal science* Vol. 43.No, 4. pp: 889-897.

16- O'keeffe, M. Downey, G and Brogan, C. (1987) The use of near infrared reflectance spectroscopy for predicting the quality of grass silage. *Journal of the science of Food and Agricultur*.No, 38.pp: 209-216.

Archive of SID

www.SID.ir

17- Parnell, A. and White, I. (1983) The use of near infrared reflectance analysis in predicting the digestibility and the protein and water soluble carbohydrate Contents of Perennial ryegrass. *Journal of National Institute Agricultural Botany*.No, 16.pp: 221-227.

18- Patrick, J. Starks, Samuel. W, Coleman and William A. Phillips. (2004) Determination of forage chemical composition using remote Sensing, *Journal Range Management*Vol. 57. No, 6.pp:635-640.

19- Posselt, U.K. (1985) Prediction of quality parameters in loliume perenne by means of NIR. Report of EUCARPIA Fodder *Crop Section*. Sweden. pp: 76-80.

20- Robert, P. Bertrand, D. and Demarquilly, C. (1986) Prediction of Forage digestibility by principal component analysis of near infrared reflectance spectra. *Animal Feed Science and Technology*. No, 16.pp: 215-224.

21- Westerhaus, M.O. (1988) *Validation. In: Near Infrared reflectance spectroscopy (NIR):* Analysis of Forage quality (eds. Marten). Agricaltural hand book. No, 643, USD.

Archive of SID

www.SID.ir