

## Hoofstuk 2

### 2. STUDIEMATERIAAL EN -METODES

#### 2.1 Inleiding

##### Hipotese

1. Daar is betekenisvolle verskille tussen die *C. ciliaris* kultivars Molopo en Gayndah as staandehooi in terme van kwantitatiewe en kwalitatiewe innames .
2. Daar is betekenisvolle verskille in die parsieële verteerbaarheid van die twee *C. ciliaris* kultivars, Molopo en Gayndah.
3. Daar is betekenisvolle verskille in diereprestasie tussen die *C. ciliaris* kultivars, Molopo en Gayndah.

#### 2.2 Prosedures

##### 2.2.1 Studiearea

Die studie is in Pretoria uitgevoer by die Hatfield-proefplaas van die Universiteit van Pretoria. Die studie is in 'n tweejaar periode tydens 1991 en 1992 uitgevoer. Die Proefplaas is 1372 m bo seevlak by 28.11° oos en 25.44° suid koördinate geleë. Gemiddelde reënval vir die area is 674 mm per jaar met 'n droë herfs en winter. Gemiddelde reënval en temperature per maand vir die periodes Januarie tot Desember 1990, Januarie tot Desember 1991 en Januarie tot Desember 1992, soos deur die Suid-Afrikaanse Weerburo verskaf, kan onderskeidelik in Tabele 19, 20 en 21 gesien word.

Tabel 19 Gemiddelde reënvalsyfers en gemiddelde minimum en maksimum temperature per maand vir 1990 (SA Weerburo)

	Jan.	Feb.	Mrt.	Apr.	Mei	Jun.	Jul.	Aug.	Sep.	Okt.	Nov.	Des.
Reënval (mm)	56.6	72.2	94.4	111.0	6.5	0.0	1.4	0.1	7.0	74.7	31.0	103.7
Min. temperatuur (°C)	17.9	16.2	16.2	13.9	8.5	5.2	6.2	7.6	12.3	15.3	17.3	17.2
Maks. temperatuur (°C)	28.7	27.6	26.8	24.6	21.4	19.8	20.8	22.0	25.7	27.1	29.6	28.7

Tabel 20 Gemiddelde reënvalsyfers en gemiddelde minimum en maksimum temperature per maand vir 1991 (SA Weerburo)

	Jan.	Feb.	Mrt.	Apr.	Mei	Jun.	Jul.	Aug.	Sep.	Okt.	Nov.	Des.
Reënval (mm)	173.6	90.2	161.9	0.0	2.5	4.3	0.0	0.0	7.2	43.4	44.5	118.3
Min. temperatuur (°C)	18.2	17.8	15.7	11.6	8.5	6.2	4.7	8.1	13.0	15.9	16.4	16.2
Maks. temperatuur (°C)	28.2	28.9	28.1	27.4	22.9	19.0	20.0	22.8	25.6	28.0	28.1	27.4

Tabel 21 Gemiddelde reënvalsyfers en gemiddelde minimum en maksimum temperature per maand vir 1992 (SA Weerburo)

	Jan.	Feb.	Mrt.	Apr.	Mei	Jun.	Jul.	Aug.	Sep.	Okt.	Nov.	Des.
Reënval (mm)	58.4	84.5	8.7	12.6	0.0	0.0	0.0	2.9	0.0	15.5	92.9	97.5
Min. temperatuur (°C)	18.7	19.0	16.9	14.6	8.1	5.4	5.2	7.4	14.7	15.7	15.5	19.2
Maks. temperatuur (°C)	31.3	31.9	29.1	27.3	23.7	20.6	21.2	20.9	29.0	29.4	27.3	30.0

Die totale reënval vir 1990, 1991 en 1992 het op onderskeidelik 558 mm, 646 mm en 373 mm te staan gekom. Die gemiddelde reënval oor die drie jare was dus laer as die jaarlikse gemiddelde reënval. Gedurende 1991 is goeie neerslae gedurende Januarie tot Maart gemeet, wat die kwaliteit en kwantiteit van die staandehooi kon beïnvloed het, teenoor

laer neerslae gedurende 1992. Die reën in Mei en Junie 1991 kon veroorsaak dat van die weiding meer groenmateriaal gedurende die winter kon bevat.

### 2.2.2 Eksperimentele weiding

Die proef is op twee kampe van elk *C. ciliaris* cv. Molopo en *C. ciliaris* cv. Gayndah, in die winter van 1991 en 1992 uitgevoer. Kampe het elk 'n oppervlak van 200 m x 110 m, dus 2.2 ha gehad. 'n Hutton grondtipe, volgens die Macvicar *et al.* (1977) klassifikasie, word op die terrein aangetref met 'n kleipersentasie van 34-38 persent. Grond op die proefterrein kan as 'n sanderige leemgrond beskryf word met 'n pH (KCl) van 4.2, fosforvlakke van 29 mg/kg, K-vlakke van 73 mg/kg, Ca-vlakke van 158 mg/kg, Mg-vlakke van 38 mg/kg en natriumvlakke van 11 mg/kg. Tydens vestiging is die grond met 2:3:4 (30) teen 100 kg/ha bemes. Na een jaar en met die aanvang van die reënseisoen is die weidings met kaliumammoniumnitraat (KAN – 28% N) teen 300 kg/ha. bemes. Dit beteken 'n effektiewe stikstoftoediening van 84 kg/ha. Die twee kampe is in die tweede helfte van Februarie 1991 en 1992 vir hooi gesny en en daarna met 75 kg N/ha bemes. Hierdie kampe is toe vir die tydperk tot aanvang van die studie laat rus.

### 2.2.3 Eksperimentele diere

Merino tipe skape is vir die proef gebruik. Twaalf hamels is ewekansig per tipe weiding ingedeel. Die diere se ouderdom het gewissel van 2-4 tand. Aanvangsgewigte het gewissel van 40-56 kg. Die diere het gedurende die proef tydperk vrye toegang tot skoon drinkwater gehad. 'n Lek bestaande uit 50% dikalsiumfosfaat en 50% sout was op 'n *ad lib.* basis aan die diere voorsien. Voor die aanvang van die eksperiment is die diere behandel teen inwendige parasiete, geënt teen bloednier en het 'n vitamien A inspuiting as aanvulling gekry. Behandeling teen inwendige parasiete is elke ses weke herhaal.

## 2.2.4 Eksperimentele ontwerp

### 2.2.4.1 Weidingskampe

Van elke kultivar was daar twee afsonderlike kampe met 'n grootte van 2.2 ha. Soos in Tabel 22 uiteengesit.

Tabel 22 Skematiese voorstelling van die uiteensetting van kampe vir proewe tydens beide vroeg en laat winter op twee *C. ciliaris* kultivars

Molopo (I)	Gayndah (II)
Gayndah (I)	Molopo (II)

Beweiding op Molopo (I) en Gayndah (I) het gedurende Junie (1991/1992) in aanvang geneem. Die weiding is vir ses weke benut. Na die eerste periode is skape vir nog ses weke na Molopo (II) en Gyandah (II) geskuif. Die laat winter proef het Augustus (1991/1992) begin.

### 2.2.4.2 Diere

In totaal was daar 12 hamels per kamp op 'n ewekansige basis per weiding toegedeel. Die diere is aan die begin van die periode, nadat hulle oornag uitgehonger is, geweeg. Daar was 'n twee dae aanpassingstydperk waarna diere elke week geweeg is. Ses hamels per weiding is met missakke toegerus. Verder is daar addisionele vier multi-gekanuleerde hamels per weiding vir die parsiele verteringsstudie gebruik. Die diere is gekanuleer met T-vormige plastiese kanulae en kurkproppe, in die rumen, abomasum en terminale ileum. Die diere is toegerus met harnasse, battery aangedrewe peristaltiese infusiepompe vir toediening van merkers en missakke vir miskolleksies. Om die kwaliteit van weiding geselekteer te bepaal, is daar addisionele vier oesofageaal gefistuleerde skape per weiding toegedeel. Die twee kampe wat in die laat winterperiode bewei is, is in die eerste helfte van Februarie (1991/1992) gesny vir hooi en daarna met 75 kg N/ha bemes. Die kampe is gerus tot Augustus (1991/1992) toe beweiding begin het. Benutting het weereens ongeveer ses weke geduur.

## **2.2.5 Metodologie**

### **2.2.5.1 Weeg van diere**

Die diere is op 'n weeklikse basis op 'n spesifieke tyd elke dag sonder uithongering geweeg.

### **2.2.5.2 Weidingsparameters**

#### **2.2.5.2.1 Droëmateriaalbeskikbaarheid**

Ewekansig gestratifiseerde kwadrate (vyf per replikaat) binne elke behandeling is gesny om droëmateriaalbeskikbaarheid te bepaal. Die grootte van elke kwadrant was 2.5 m<sup>2</sup>. Die vars gesnyde materiaal is geweeg nadat alle dooie materiaal verwyder is en 'n droëmateriaal bepaling is gedoen deur monsters by 100 °C vir 24 uur te droog. Die plantmateriaal is toe weer geweeg. Die gemiddelde droëmateriaalproduksie per kamp is bepaal en omgeskakel na opbrengs per hektaar.

#### **2.2.5.2.2 Bepaling van hoogte van weiding**

Die hoogte van die weiding is op dieselfde tyd en plek as die droëmateriaalbeskikbaarheid bepaling gedoen. Die hoogte is bepaal met 'n weidingskyfmeter, soos beskryf deur Bransby & Tainton (1977).

### **2.2.5.3 Monsternemings prosedures**

#### **2.2.5.3.1 Innamestudie**

Totale miskolleksie per dier is tydens die eerste 10 dae van elke periode per kamp en ook elke laaste 10 dae van elke periode per kamp gedoen. Kolleksies het twee keer per dag plaasgevind naamlik om agtuur die oggend en drieuur die middag. Hierdie monsters is geweeg en 'n 10% grypmonster is geneem en gevries. Aan die einde van die tien dae periode is die monsters ontdooi en goed gemeng. 'n Droëmateriaalbepaling is op die monster gedoen en daarna is 'n hoeveelheid by 60 °C gedroog. Die finale mengsel is toe in lugdigte houers geberg.

Slukdermonsters is een keer per week geneem vir elk van die ses weke wat die diere op die onderskeie weidings deurgebring het. Vier monsters is per weiding geneem. Die

monsters is gemaal, gevries en aan die einde van die proef ontdooi en gedroog vir 48 uur by 60 °C en in lugdigte houers gestoor.

### 2.2.5.3.2 Kwaliteitsparameters en parsieële verteerbaarheidstudie

Vier multi-gefistuleerde skape per weiding is toegerus met harnasse, missakke, battery aangedrewe infusiepompe en sakkies gevul met merkervloeistof. Die dubbelmerker tegniek met deurlopende infusie van merker en monsterneming op voorafbepaalde tye, soos deur Faichney (1975) beskryf, is gebruik. Merkers is deurlopend toegedien deur gebruik te maak van 'n battery-aangedrewe peristaltiese pomp wat op die rug van die skaap aangebring is (Corbett *et al.*, 1976). Die twee merkers wat gebruik is, was Cr-EDTA, as die vloeistofmerker, en Yb-asetaat as die soliede fase merker. Beide die merkers is direk op 'n 24 uur basis in die rumen ingepomp. Die skape het 'n vyf dae aanpassingsperiode gehad. Daarna is die merkers vir agt dae lank deurlopend toegedien. Op die eerste dag van toediening is daar 'n dubbele dosis toegedien om die vestiging van 'n stabiele staat te bespoedig. Merkers is vir vier dae toegedien om die stabiele staat te verkry en daarna is gepoelde monsters op die opeenvolgende vier dae geneem.

Om 'n verteenwoordigende monster uit die verskillende kompartemente van die spysverteringskanaal te verkry, is monsters geneem uit die rumen, abomasum en terminale ileum. Monsters is twee maal daagliks op die volgende tye geneem.

Dag			
1	2	3	4
06:00	09:00	12:00	15:00
18:00	21:00	0:00	3:00

Die merkers is voorberei voordat die proewe begin het en nuwe mengsels is vir elke periode gemeng. Vir elke periode is 'n monster van die merker geneem om die presiese hoeveelheid merker wat toegedien is te bepaal. Cr-EDTA is voorberei volgens die metode beskryf deur Morgan *et al.* (1976). Die Yb is voorberei deur 'n hoeveelheid Yb-asetaat oornag by 100°C te droog. Die gedroogde Yb-asetaat is toe opgelos in gedeïoniseerde water op so 'n manier dat 10 ml van die oplossing 100 mg Yb sal bevat.

Die peristaltiese pomp is so gekalibreer dat een liter van merker vloeistof 220 mg Cr en 90 mg Yb per dag sou toedien. Die onderskeie merkers is uit aparte houers, met afsonderlike poli-etileenbuise direk in die rumen toegedien. Die konsentrasie Cr en Yb in die oplossing is deur atoomabsorpsiespektrofotometrie bepaal en so is die werklike hoeveelheid van merker per dag toegedien bepaal.

Vir die neem van slukdermonsters is die diere eers vir drie dae op die spesifieke weiding aangepas. Die monsters is versamel nadat die diere vir twee ure gevas is. Die versamelde slukdermonsters is gefiltreer deur 'n dubbele laag kaasdoek, die vloeistofgedeelte is weggegooi en die vastestof gedeelte gedroog by 50 °C, soos voorgeskryf deur Engels *et al.* (1981). Stikstof (N) en as is bepaal volgens die metodes soos voorgeskryf deur AOAC (1995). Neutraalbestande vesel (NDF), suurbestande vesel (ADF) en suurbestande lignien (ADL) is almal bepaal volgens die metode van Van Soest & Wine (1967).

'n As-bepaling is uitgevoer op mis, oesofageale, abomasale en ileale monsters wat gedroog is teen 60 °C. Die monsters is by 600 °C vir 4 ure veras, afgekoel en toe geweeg. Die as-persentasie is soos volg bereken (A.O.A.C., 1995):

$$\text{As-persentasie} = (\text{gewig na verassing/gedroogde monster gewig}) \times 100$$

Die DM-bepaling is gedoen op nat mismonsters. 'n 50 g monster is gedroog by 100 °C vir 24 uur. Die DM-persentasie is soos volg bereken (A.O.A.C., 1995):

$$\text{DM-persentasie} = (\text{gewig na droging/monster gewig voor droging}) \times 100$$

Vir NH<sub>3</sub>-N-bepaling is gevriesde rumenvloeistof gesentifugeer, om die ammonium konsentrasie te bepaal. 'n Technicon Autoanalyser is gebruik om die NH<sub>3</sub>-N-konsentrasie te bepaal.

Die *in vitro*-tegniek soos beskryf deur Tilley & Terry (1963) en later gemodifiseer deur Engels *et al.* (1981), is gebruik om *in vitro*-verteerbare organiesemateriaal (IvVOM) te bereken. Die *in vitro* waardes is omgeskakel na *in vivo* waardes, soos voorgestel deur

Engels *et al.* (1981), deur van 'n regressiekoëffisiënt gebruik te maak vir monsters wat gekollekteer is deur slukderm gefistuleerde skape en waarvan die slukderm versamelde monster, nadat die speeksel uitgedruk is, gevriesdroog is. Die verteerbaarheid van organiesemateriaal is soos volg bereken:

$$IvVOM = 100 - \{[(a-BI)/b] \times 100\}$$

Waar :            a            = gewig van onverteerde residu  
                       b            = gewig van voermonster (OM)  
                       BI        = blanko

Die *in vivo* verteerbaarheid van die weiding (DIG) is soos volg bereken:

*in vitro* verteerbaarheid is omgeskakel na *in vivo* verteerbaarheid.

$$in\ vivo\ verteerbaarheid\ van\ OM = -5.4214 + 1.0996X$$

Waar :            X            = *in vitro* verteerbaarheid van OM (Engels *et al.*, 1981).

Die OM-inname is toe soos volg bereken (Langlands, 1975):

$$OMI = FO \times 100 / (100 - DIG)$$

Waar :            OMI    = Organiesemateriaalinname (g/d)  
                       FO     = Misuitskeiding (g OM/dag)  
                       DIG    = Verteerbaarheid van weiding

Alle voorafgenoemde parameters soos bepaal in die laboratorium, met die uitsondering van as, is op 'n OM-basis weergegee.

Vlugtige vetsure is met gaschromatografie bepaal. Gepreserveerde rumenvloeistof (10 ml) is gebruik en by 1.1 ml van 'n 50% ortofosforsuur gevoeg. Die monster is toe by 4500 revolusies per minuut gesentrifugeer vir 20 minute. Daarna is 9 ml van die vloeistof gepipeteer in 'n skoon bottel. Een milliliter van die interne standaard, Pivaliese suur (2000 mg/ 1000 ml), bygevoeg.

Die standaard is voorberei deur 40-50 ml gedistilleerde water en 2 ml ortofosforsuur in 'n volumetriese fles bo-op 'n skaal te plaas. Dieselfde hoeveelheid vlugtige vetsure soos normaalweg in die rumen gevind is bygevoeg met 'n pipet , asook 10 ml van die interne



standaard oplossing (Pivaliese suur, 2000 mg/ 1000 ml). Die fles is gevul met met gedistilleerde water.

'n Carbo Erba 4200 gaschromatograaf met 'n vlam ionisering bepaler is gebruik. Die apparaat is toegerus met 'n 2 m glaskolom met 'n 3 mm interne diameter, gepak met 'n 60/80 Carbowax 20M/0.1% ortofosforsuur. Die kolom is oornag gekondisioneer teen 150 °C met 'n N gasvloeitempo van omtrent 15 ml per minuut, met N as 'n draer-gas teen 'n vloeitempo van 30 ml/minuut. Vlamgasse was waterstof en lug, met 'n kolomtemperatuur van 130 °C.

Die standaard is ingespuut totdat opeenvolgende resultate vergelykbaar was. 'n Mikroliter op 'n keer is daarna ingespuut. Resultate is soos volg bereken:

PO = Piek oppervlak

A = Asynsuur

$(PO \text{ monster}(A)/PO \text{ standaard}(A)) \times \text{standaard konsentrasie}(A) \text{ (mg/100 ml)} \times \text{verdunningsfaktors} \times (PO \text{ van interne standaard in standaardoplossing}/ PO \text{ van interne standaard in monster}) = \text{mg/100 ml asynsuur in monster}$ . Dieselfde formule is gebruik vir die berekening van ander vlugtige vetsure.

### 2.2.6 Statistiese analise

In hierdie studie is die volgende data gebruik :

- a) Droëmateriaal beskikbaarheid is bepaal
- b) Hoogte van weiding is bepaal
- c) Gewigte van skape is weekliks bepaal
- d) Kwantitatiewe inname is tydens die begin en einde van elke periode bepaal
- e) Kwalitatiewe inname is weekliks vir elke periode bepaal
- f) Parsiële data is van gebalanseerde datastelle verkry.

Die data van (a) en (b) was nie statisties ontleed nie. Data van (c) is omgeskakel na gemiddelde daaglikse toenames per week en vir verskille op 'n weeklikse basis tussen die twee staandehooie ge-analiseer.

Die data van (c), (d) en (e) is ongebalanseerde datastelle. Verskille is getoets met behulp van Prog GLM (SAS 1985). Aangesien die data ongebalanseerd was, is Bonferoni in plaas van Tukey se t-reeks toetse gebruik. Daar is deurgaans die 95% waarskynlikheidspeil gebruik. Data van 1991 en 1992 is nie met mekaar vergelyk nie aangesien die datum en tydsduur van beweiding tussen die twee jare verskil het.

Vir die gebalanseerde data van (f) is statistiese analise uitgevoer met behulp van 'n tweerigting variansie-analise van Prog GLM (SAS, 1985). Die ANOVA-prosedure vir die toetsing van gebalanseerde data is gebruik. Weereens is daar in alle gevalle 'n 95% waarskynlikheidspeil gebruik.