

اثر مرحله رشد و زمان برداشت بر ترکیب شیمیایی، قابلیت هضم آزمایشگاهی و تولید گاز

یونجه

رضا ولی‌زاده¹ - مهدی محمودی ایبانه² - رضا گنجوی³

تاریخ دریافت: 1392/10/21

تاریخ پذیرش: 1393/05/06

چکیده

در این مطالعه اثر مرحله رشد و زمان چیدن بر ترکیب شیمیایی، تولید گاز و قابلیت هضم آزمایشگاهی، یونجه در قالب یک طرح کاملاً تصادفی به روش فاکتوریل 2×3 مورد مطالعه قرار گرفت. علف یونجه در سه مرحله رشد اوایل غنچه‌دهی، اواخر غنچه‌دهی و اوایل گلدهی و در دو زمان چیدن ساعت 06:00 و 18:00 برداشت شد. با افزایش سن گیاه یونجه و مرحله رشد، محتوای برگ و نسبت برگ به ساقه کاهش یافت، ولی ماده خشک و تولید گیاه در واحد سطح افزایش نشان داد. با افزایش مرحله رشد از اوایل غنچه‌دهی تا اوایل گلدهی محتوای پروتئین خام، قابلیت هضم ماده خشک، نرخ هضم NDF و نرخ تولید گاز کاهش یافت و الگوی تخمیر به‌روش تولید گاز بهبود پیدا کرد. چیدن یونجه در بعد از ظهر در مقایسه با صبح غلظت کربوهیدرات‌های محلول، مقدار پروتئین، نرخ تولید گاز و قابلیت هضم ماده خشک را به‌طور معنی‌داری افزایش داد. از نتایج به‌دست آمده چنین به‌نظر می‌رسد که چیدن یونجه در اوایل غنچه‌دهی و در بعد از ظهر برای تولید علوفه با کیفیت بهتر در تغذیه دام مناسب‌تر است.

واژه‌های کلیدی: تولید گاز، زمان برداشت، قابلیت هضم، مرحله رشد، یونجه.

مقدمه

دام‌ها قرار داده می‌شود، باید با مقدار مناسب از انرژی مکمل شود تا کارایی استفاده از نیتروژن آن در شکمبه بهبود یابد و کمتر به آمونیاک تبدیل شود (12 و 30). از این‌رو شناخت تغییرات نیتروژن قابل تجزیه در شکمبه و نسبت آن به انرژی قابل تجزیه در شکمبه با افزایش مرحله رشد یونجه و زمان چیدن آن در طول روز باعث متوازن شدن بهتر جیره خواهد شد. کیم (13) گزارش کرد که وارد کردن یونجه چیده شده در بعد از ظهر به مقدار 40 درصد جیره پایه کاملاً مخلوط باعث بهبود عملکرد گاوهای شیرده شد. با این وجود، عوامل متعددی مانند زمان چیدن در طول روز، درجه حرارت هوا، شدت نور و طول روز، عرض جغرافیایی و روش ذخیره کردن یونجه می‌تواند بر تجمع کربوهیدرات‌های محلول مؤثر باشد (25). هدف از این مطالعه بررسی تأثیر زمان و دوره برداشت علوفه یونجه بر قابلیت هضم آزمایشگاهی آن بود.

مواد و روش‌ها

زمان چیدن و برداشت نمونه یونجه‌ها

مزرعه یونجه رقم رنجر به سه قسمت مساوی تقسیم شد. هر یک از این قسمت‌ها به یک مرحله رشد یونجه شامل: اوایل غنچه‌دهی، اواخر غنچه‌دهی و اوایل گلدهی اختصاص داده شد. هر کدام از این سه قسمت سپس به دو قسمت مساوی (800 مترمربع) جهت

در سیستم صنعتی پرورش گاو بسته به وضعیت تولیدی حدود 35 تا 75 درصد از کل ماده خشک مصرفی گاوهای شیرده را علوفه تشکیل می‌دهد (1 و 18). یونجه به‌عنوان یک علوفه با ارزش و دارا بودن محتوای پروتئین بالا، خوش‌خوراکی و قابلیت هضم مطلوب و نسبت مناسب کربوهیدرات‌های ساختمانی به غیر ساختمانی در تغذیه گاوهای شیرده بسیار بااهمیت است و قسمت اعظم علوفه مصرفی گاوهای پر تولید را تشکیل می‌دهد (29). علوفه‌ها کیفیت خیلی متغیر دارند و این خصوصیت تأثیر عوامل مهمی مثل سن گیاه، فصل برداشت و روش ذخیره کردن قرار می‌گیرد. بدیهی است به‌هنگام متوازن کردن جیره‌ها باید به کیفیت علوفه توجه لازم معطوف شود (20). در عین حال بالا بودن مقدار نیتروژن غیر پروتئینی (تقریباً 40 درصد کل پروتئین خام)، نسبت بالای نیتروژن قابل تجزیه به انرژی قابل تجزیه در شکمبه بیان‌گر نیازمندی این علوفه به کاهش تجزیه‌پذیری پروتئین در شکمبه است. همین‌طور زمانی که در جیره

1- استاد گروه علوم دامی دانشگاه فردوسی مشهد،

2- دانشجوی دکتری دانشگاه بوعلی سینا، همدان،

3- دانشجوی دکتری دانشگاه بیرجند.

* - نویسنده مسئول: (Email: valizadeh@um.ac.ir)

DOI: 10.22067/ijasr.v0i0.30903

اختصاص به چیدن یونجه در صبح و بعد از ظهر تقسیم‌بندی شد. رشد (سه‌سطح) و زمان چیدن (2سطح) بودند. بنابراین یونجه‌های آزمایشی حاصل اثر متقابل دو عامل اصلی مرحله

جدول 1- تاریخ چیدن و برداشت نمونه یونجه در بهار و تابستان

Table 1- Cutting and harvesting time of alfalfa samples in spring and summer

تاریخ Date	حداقل دمای هوا (°C) Minimum temperature	حداکثر دمای هوا (°C) Maximum temperature	مرحله چیدن Cutting stage	پرس کردن و جمع آوری Press and collecting	طلوع خورشید (ساعت) Sunrise	غروب خورشید (ساعت) Sunset(h)	بارش (میلی‌متر) Rainfall
23 خرداد June 13	20	36	EBPM ¹		05:14	19:50	0
24 خرداد June 14	20	36	EBAM ¹		05:14	19:51	0
25 خرداد June 15	18	35			05:14	19:51	0
26 خرداد June 16	18	35			05:14	19:51	0
27 خرداد June 17	20	37			05:14	19:52	0
28 خرداد June 18	20	39		اوایل غنچه‌دهی Early bud	05:14	19:52	0
29 خرداد June 19	24	40	LBPM ¹		05:14	19:52	0
30 خرداد June 20	24	39	LBPM ¹		05:15	19:53	0
31 خرداد June 21	24	39			05:15	19:53	0
1 تیر June 22	22	37			05:15	19:53	1.3
2 تیر June 23	18	35			05:15	19:53	0
3 تیر June 24	20	32		اواخر غنچه‌دهی Late bud	05:16	19:53	0
4 تیر June 25	19	35			05:16	19:54	0
5 تیر June 26	19	36	EFPM ¹		05:16	19:54	0
6 تیر June 27	19	37	EFAM ¹		05:17	19:54	0
7 تیر June 28	21	37			05:17	19:54	0
8 تیر June 29	20	36			05:17	19:54	0
9 تیر June 30	21	38			05:17	19:54	0
10 تیر May 1	21	39			05:18	19:54	0

¹ EBPM¹ یونجه چیده شده در اوایل غنچه‌دهی و در بعد از ظهر؛ EBAM یونجه چیده شده در اوایل غنچه‌دهی و در صبح؛ LBPM یونجه چیده شده در اواخر غنچه‌دهی و در بعد از ظهر؛

LBAM یونجه چیده شده در اواخر غنچه‌دهی و در صبح؛ EFPM یونجه چیده شده در اوایل گلدهی و در بعد از ظهر و EFAM یونجه چیده شده در اوایل گلدهی و در صبح

¹ Alfalfa harvested at early bud stage in the morning (EBAM), alfalfa harvested at early bud stage in the afternoon (EBPM), alfalfa harvested at late bud stage in the morning (LBAM), alfalfa harvested at late bud stage in the afternoon (LBPM), alfalfa harvested at early bloom stage in the morning (EFAM), and alfalfa harvested at early bloom stage in the afternoon (EFPM).

گرفت و در هر دوره برای هر تیمار در هر زمان سه تکرار در نظر گرفته شد. پس از هر زمان کشت، محتویات هر ظرف با استفاده از پارچه‌های نایلونی با منافذ 44 میکرومتر صاف شد. مواد باقی‌مانده بر روی صافی برای اندازه‌گیری قابلیت هضم ماده خشک در دمای 60 درجه در آن به مدت 72 ساعت خشک و الیاف نامحلول در شوینده خنثی این مواد اندازه‌گیری شد. برای تعیین پارامترهای کینتیک هضم از مدل نمایی مرتبه اول استفاده شد. کینتیک هضم گونه‌های مورد مطالعه بر اساس رابطه $D_{(t)} = D_{(i)} \cdot e^{-(k \cdot t)} + I$ شامل باقی‌مانده دارای قابلیت هضم $(D_{(t)})$ ، بخش غیرقابل هضم (I) ، بخش دارای پتانسیل هضم $(D_{(i)})$ و نرخ هضم (K) به دست آمد (16). برای اندازه‌گیری نیتروژن آمونیاکی مقدار 10 سی‌سی از محلول صاف شده هر یک از تکرارها برداشته شد و با 10 میلی‌لیتر اسید کلریدریک 0/2 نرمال مخلوط شد و تا زمان اندازه‌گیری نیتروژن آمونیاکی در فریزر با دمای 18- درجه سانتی‌گراد نگاه‌داری شد و سپس نمونه‌ها یخ‌گشایی و با دستگاه کج‌دال تیترا گردید (17).

تجزیه آماری داده‌ها

داده‌های آزمایش در قالب طرح فاکتوریل 3×2 بر پایه طرح کاملاً تصادفی با استفاده از برنامه آماری SAS (24) تجزیه و تحلیل شد و مدل آماری مورد استفاده به صورت زیر بود:

$$X_{ijk} = \mu + CT_i + GS_j + CT_i \times GS_j + e_{ijk}$$

که X_{ijk} متغیر وابسته؛ μ اثر ثابت میانگین جمعیت برای متغیر؛ CT_i اثر ثابت زمان چیدن (i برابر با 2؛ در ساعت 06:00 و 18:00)؛ GS_j اثر ثابت مرحله رشد (j با سه سطح، اوایل غنچه‌دهی، اواخر غنچه‌دهی و اوایل گلدهی)؛ $CT_i \times GS_j$ اثر ثابت مربوط به اثر متقابل بین مرحله رشد در سطح i و مرحله چیدن در سطح j و e_{ijk} اثر تصادفی مربوط به خطای آزمایشی مربوط به مشاهده ijk بود. قابل ذکر است در آنالیز داده‌های قابلیت هضم ابتدا بر اساس مدل ذکر شده (17) مقادیر I و D و K برای هر دوره محاسبه گردید و سپس این داده‌ها در قالب طرح فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی تجزیه و تحلیل شد.

نتایج و بحث

ترکیب شیمیایی

اثر زمان چیدن در مراحل مختلف رشد بر خصوصیات مرفولوژیکی و ترکیب شیمیایی یونجه در جدول 2 نشان داده شده است. با افزایش مرحله رشد مقدار ماده خشک یونجه افزایش و خاکستر، محتوای برگ و نسبت برگ به ساقه کاهش یافت ($P < 0/01$). در مقایسه با دیگر

یونجه‌های آزمایشی شامل یونجه چیده شده در اوایل غنچه‌دهی و در بعد از ظهر (EBPM)، یونجه چیده شده در اوایل غنچه‌دهی و در صبح (EBAM)، یونجه چیده شده در اواخر غنچه‌دهی و در بعد از ظهر (LBPM)، یونجه چیده شده در اواخر غنچه‌دهی و در صبح (LBAM)، یونجه چیده شده در اوایل گلدهی و در بعد از ظهر (EFPM) و یونجه چیده شده در اوایل گلدهی و در صبح (EFAM) بود. زمان چیدن در صبح و بعد از ظهر بین ساعت شش تا 6:30 بود. تاریخ چیدن و برداشت یونجه‌ها (به صورت پرس) و شرایط آب‌وهوایی در جدول 1 گزارش شده است. یونجه‌های آزمایشی بعد از برداشت در زیر سایبان نگاه‌داری شد. مزرعه به‌طور متوسط هر هشت تا 10 روز به‌روش نشتی آبیاری شد و هیچ‌گونه کودی نیز مورد استفاده قرار نگرفت.

تجزیه شیمیایی

نمونه‌های یونجه به مدت 72 ساعت در درجه حرارت 60 درجه سانتی‌گراد خشک شد. سپس متغیرهای ماده خشک، پروتئین خام (روش کج‌دال)، چربی خام (روش سوکسله)، خاکستر، الیاف نامحلول در شوینده خنثی (NDF) و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی (ADF) آن‌ها طبق روش‌های استاندارد تجزیه شیمیایی خوراک دام تعیین شد (3).

اندازه‌گیری گاز تولیدی در شرایط آزمایشگاهی

مایع شکمبه از سه رأس گوسفند دارای فیستول دائمی قبل تغذیه صبحگاهی گرفته شد و بلافاصله با چهار لایه پارچه متقال صاف گردید. پس از وارد کردن گاز CO_2 در حمام بن‌ماری 39 درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. هر نمونه به وزن 200 میلی‌گرم به همراه 30 میلی‌لیتر مایع شکمبه مخلوط شده با بزاغ مصنوعی به نسبت یک به 2 در داخل ویال‌های شیشه‌ای قرار گرفت (15). میزان گاز تولید شده در زمان‌های 2، 4، 6، 8، 12، 24، 36، 48، 72 و 96 ساعت پس از انکوباسیون توسط دستگاه مبدل فشارسنج ثبت گردید. سپس حجم تولید تجمعی گازها بر حسب زمان محاسبه و بر اساس برآزش رابطه‌ی $P = b(1 - e^{-ct})$ (21) به کمک نرم‌افزار آماری SAS (24) مقدار تولید گاز (b) و نرخ تولید آن در زمان (c) به دست آمد (20) و شکل نمودار آن با استفاده از نرم‌افزار Excel رسم شد.

اندازه‌گیری قابلیت هضم آزمایشگاهی

محیط کشت بر اساس روش آرکوی و همکاران (2005) آماده شد. نمونه‌های خوراکی در زمان‌های 4، 8، 12، 16، 24، 36، 48، 72، 96 و 120 ساعت کشت داده شد. آزمایش در سه دوره (رانند) صورت

مقایسه با کربوهیدرات‌ها بر تولید گاز به‌طور خلاصه توسط استینگاس (1983) گزارش شده است (25). در چنین محیط‌هایی، افزایش مقدار پروتئین خام سوبسترا تا حدی که بتواند نیاز میکروبه‌ها را تأمین کند، باعث افزایش تولید گاز می‌شود، ولی در سطوح بالاتر از نیاز میکروبه‌ها به آمونیاک تبدیل و مانع تولید گاز بیشتر می‌شود. هر چند این فرایند بستگی به منبع نیتروژن و سوبسترا دارد (9). تولید گاز به مقدار بیشتری از بخش کربوهیدرات‌های خوراک ناشی می‌شود و بخش‌های پروتئین، چربی و خاکستر تأثیر کمتری در تولید گاز دارند و ممکن است تغییرات نرخ تولید گاز در زمان‌های اول ناشی از همین تفاوت بین میزان کربوهیدرات‌های ساختمانی نظیر قندها، پکتین‌ها و نشاسته که به سرعت تخمیر و تولید گاز می‌کنند، باشد. این موضوع با یافته‌های اوپا و آلن (1988) مطابقت دارد (20). بالاتر بودن قندهای محلول در یونجه چیده شده در بعد از ظهر در ساعت‌های اولیه انکوباسیون باعث بهبود تولید گاز شد (9) و نرخ تولید گاز (c) بیشتری در آن‌ها مشاهده گردید. بهبود پتانسیل تولید گاز (فراسنج b) در یونجه چیده شده در بعد از ظهر می‌تواند به‌خاطر کمتر بودن کربوهیدرات‌های غیرقابل هضم و بالاتر بودن قندهای محلول و الیاف غیرساختمانی باشد (10).

قابلیت هضم با کشت ثابت آزمایشگاهی نیتروژن آمونیاکی

تأثیر اعمال سطوح مختلف تنش شوری بر غلظت نیتروژن آمونیاکی در زمان در آزمایش کشت آزمایشگاهی در شکل 2 نشان داده شده است. هرچند غلظت نیتروژن آمونیاکی در این آزمایش از روند خاصی تبعیت نکرد، اما غلظت نیتروژن آمونیاکی در مرحله رشد اوایل غنچه‌دهی بیش از مراحل دیگر بود. در عین حال یونجه برداشت شده در بعدازظهر در اوایل گلدهی کمترین میزان نیتروژن آمونیاکی را داشت، که می‌تواند به‌دلیل مصرف نیتروژن توسط باکتری‌ها و پایین بودن میزان پروتئین خام در این نمونه باشد. با این حال نمونه‌های برداشت شده در بعدازظهر نسبت به صبح در مراحل رشد اوایل گلدهی و اوایل گلدهی غلظت نیتروژن آمونیاکی پایین‌تری داشت که می‌تواند نشان‌گر مصرف پروتئین به‌دلیل قند محلول بیشتر در نمونه‌های بعد از ظهر باشد. میکروارگانیسم‌های مختلف، منابع مختلفی از نیتروژن را ترجیح می‌دهند. برای مثال، باکتری‌های سلولولیتیک از آمونیاک به‌عنوان منبع اصلی نیتروژن و باکتری‌های آمیلولیتیک از آمونیاک، پپتید و اسیدهای آلی استفاده می‌کنند (22). از آنجاکه نمونه‌های مورد استفاده در این مطالعه علوفه‌ای بودند احتمالاً باکتری‌های سلولولیتیک فعالیت بیشتری داشتند و تیمارهای برداشت شده در اوایل گلدهی که دارای مقدار بیشتری NDF بودند، آمونیاک (نیتروژن) بیشتری در طول روز مصرف کردند.

مراحل، در اوایل غنچه‌دهی مقدار ADF، nNDF و NDICP کاهش و پروتئین خام، کربوهیدرات‌ها افزایش نشان داد ($P < 0/05$). در مقایسه با اواخر غنچه‌دهی، مرحله اوایل غنچه‌دهی مقدار ADL و سلولز کمتر ولی مقدار TESC بیشتر بود ($P < 0/05$). چیدن یونجه در بعد از ظهر در مقایسه با صبح ماده خشک، محتوای برگ، ADL و TESC را به ترتیب 3/4، 0/9 و 1/5 (گرم در 100 گرم ماده خشک) و نسبت برگ به ساقه را 0/06 افزایش داد، ولی مقدار خاکستر را 0/3 (گرم در 100 گرم ماده خشک) کاهش داد ($P < 0/05$).

در مقایسه با سایر تیمارها، بیش‌ترین ماده خشک مربوط به نمونه EFPM و کمترین مربوط به EBAM بود، همین‌طور در نمونه‌های EBPM، LBAM و EFAM محتوای ماده خشک بیشتر از نمونه LBPM بود ($P < 0/05$). مقدار ADF، nNDF در نمونه یونجه مربوط به تیمارهای EBPM و EBAM کمترین بود ($P < 0/05$) و نمونه یونجه LBAM نسبت به EFAM مقدار بیشتری ADF، nNDF و نسبت به LBPM مقدار بیشتری nNDF داشت ($P < 0/05$). در مقایسه با تیمارهای LBAM و EFPM، نمونه‌های یونجه EFAM، EBAM و EBPM مقدار کمتری سلولز مشاهده شد ($P < 0/05$). خاکستر نمونه تیمارهای LBAM و LBPM کمتر از بقیه تیمارها بود ($P < 0/05$), هرچند نمونه یونجه EBPM نسبت به نمونه EFPM مقدار بیشتری خاکستر داشت ($P < 0/05$). بیشترین مقدار TESC در نمونه یونجه تیمار EBPM مشاهده شد ($P < 0/05$). مقدار این فاکتور (TESC) در نمونه تیمار EFPM نسبت به LBAM بیشتر بود.

آزمون تولید گاز

فراسنجه‌های کینتیک تولید گاز در جدول 2 نشان داده شده است. با افزایش مرحله رشد، میزان گاز تولیدی (بخش b) در نمونه‌های مورد مطالعه افزایش یافت، ولی این افزایش در بین تیمارها معنی‌دار نبود، در حالی که تأثیر مرحله رشد و زمان برداشت و اثر متقابل این دو فاکتور بر نرخ تولید گاز (بخش c) معنی‌دار بود ($P < 0/01$). نرخ تولید گاز در تیمار برداشت شده در اوایل غنچه‌دهی در بعدازظهر به‌نحو معنی‌داری بالاتر از سایر تیمارها بود ($P < 0/05$). روند تولید گاز (شکل 1) نیز نشان می‌دهد که در زمان‌های اولیه میزان گاز تولیدی در اوایل غنچه‌دهی بیش از مراحل دیگر رشد بود و در زمان‌های بالاتر این مقدار دچار کاهش شد. نمونه‌های یونجه برداشت شده در بعدازظهر گاز تولیدی بیشتری در زمان‌های اولیه نشان داد و با افزایش زمان روند کاهشی داشت. جان و ون گلدر (1999) گزارش کردند که با افزایش سن گراس پتانسیل تولید گاز به‌خاطر کاهش مقدار پروتئین خام و افزایش کربوهیدرات‌های ساختاری افزایش یافت (11). به‌ازای هر درصد افزایش در مقدار پروتئین خام تولید گاز به مقدار 2/48 میلی‌لیتر در هر گرم ماده آلی کاهش یافت. اثر پروتئین خام در

قابلیت هضم ماده خشک، NDF و ماده آلی

بر اساس نتایج کینتیک هضم ماده خشک، میزان بخش قابل هضم (D) ماده خشک در یونجه برداشت شده در بعد از ظهر و مرحله اوایل غنچه دهی به صورت معنی داری بالاتر ($P < 0/05$) از تیمارهای دیگر بود (جدول 3). هم چنین اثرات مرحله رشد و زمان برداشت و اثرات متقابل آن‌ها بر قابلیت هضم معنی دار شد، در حالی که برای نرخ هضم (K) هیچ یک از این اثرات معنی دار نبود. برگ‌های یونجه مقدار بالاتری پروتئین خام، قابلیت هضم و مقدار کمتری الیاف در مقایسه با ساقه‌ها دارند (27). بنابراین کاهش نسبت برگ به ساقه با افزایش مرحله رشد در این مطالعه احتمالاً سبب کاهش پروتئین

خام و قابلیت هضم و افزایش کربوهیدرات ساختاری (مثل nNDF و ADF) شده است که با نتایج منتشر شده مطابقت دارد (4، 15، 29 و 30). نتایج نشان داد که چیدن در بعد از ظهر نسبت برگ به ساقه و محتوای برگ را در نمونه‌ها افزایش داد، که در توافق با نتایج لختنبرگ و همکاران (1971) است (14). بروز این حالت ممکن است به خاطر تجمع مواد سنتز شده از فرایند فتوسنتز در طول روز در برگ‌ها باشد (14 و 26). عواملی مانند زمان چیدن، طول روز، درجه حرارت، شدت تابش خورشید و روش ذخیره علوفه می‌تواند بر اجزا کربوهیدرات‌ها و در نتیجه دیگر ترکیبات شیمیایی در طول روز مؤثر باشد (6، 7، 8 و 26).

جدول 2- اثر زمان چیدن (CT) در مراحل مختلف رشد (GS) بر خصوصیات مرفولوژیکی و ترکیب شیمیایی یونجه خشک

Table 2- The effect of growth stage (GS) and cutting time (CT) on morphological and chemical composition of dried alfalfa forage

موارد Items	اوایل غنچه دهی Early bud		اواخر غنچه دهی Late bud		اوایل گلدهی Early bloom		SEM	سطح معنی داری Significance level		
								GS	CT	GS×CT ¹
	بعد از ظهر Afternoon	صبح Morning	بعد از ظهر Afternoon	صبح Morning	بعد از ظهر Afternoon	صبح Morning				
خصوصیات مرفولوژیکی (گرم / 100 گرم ماده خشک به جز برگ/ساقه که به صورت نسبت است) Morphological characteristics g/100g DM (except Leaf/stem ratio)										
DM	25.4 ^c	21.1 ^d	26.4 ^b	24.8 ^c	30.4 ^a	24.2 ^c	0.55	<0.01	<0.01	<0.01
LC	37.1	34.0	34.0	32.0	30.0	28.0	1.10	<0.01	<0.01	0.8
برگ/ساقه Leaf/stem	0.60	0.52	0.52	0.47	0.43	0.38	0.02	<0.01	<0.01	0.67
ترکیب شیمیایی (گرم / 100 گرم ماده خشک) ¹ Chemical composition (g/100g DM)										
ADF	34.0 ^c	35.0 ^c	38.8 ^{ab}	41.1 ^a	40.6 ^{ab}	38.0 ^b	0.22	<0.01	0.68	<0.06
ADL	7.5	7.1	8.8	8.4	8.8	7.1	0.43	<0.05	<0.05	0.26
nNDF	42.7 ^c	41.5 ^c	45.7 ^b	48.9 ^a	47.6 ^{ab}	45.6 ^b	0.83	<0.01	0.98	<0.02
NDICP	10.8	10.6	13.6	13.5	11.6	13.4	0.67	<0.02	0.41	0.32
سلولز Cellulose	25.4 ^b	26.6 ^b	27.2 ^{ab}	29.1 ^a	29.4 ^a	25.5 ^b	0.69	<0.05	0.63	<0.01
خاکستر Ash	9.8 ^b	10.1 ^a	9.1 ^d	9.1 ^d	9.4 ^c	9.9 ^{ab}	0.2	<0.01	<0.01	<0.03
CP	20.7	20.1	18.0	16.8	15.9	17.3	0.61	<0.01	0.63	0.17
TESC	11.1 ^a	8.5 ^{bc}	8.7 ^{bc}	7.9 ^c	9.7 ^b	8.5 ^{bc}	0.37	<0.03	<0.01	<0.1
EE	2.1	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	0.03	0.5	0.92	0.85
CHO	68.7	68.1	71.1	72.3	73.1	71.3	0.82	<0.01	0.35	0.30

¹ اثر متقابل زمان چیدن در مرحله رشد (CT×GS)؛ در هر ردیف میانگین‌های با حروف غیر مشابه دارای اختلاف معنی دار می باشند ($P < 0/05$).

LC= محتوای برگ؛ DM= ماده خشک؛ ADF= الیاف نامحلول در شوینده اسیدی؛ ADL= لیگنین شوینده اسیدی؛ nNDF= الیاف شوینده خنثی تصحیح شده برای مقدار پروتئین خام (CP) متصل به دیواره سلولی (NDICP)؛ EE= چربی خام؛ TESC= کل کربوهیدرات‌های محلول در اتانول؛ EE= چربی خام؛ CHO= کل کربوهیدرات‌ها-100 = (EE + CP) خاکستر (NRC). (2001)

¹The interaction effect of cutting time by growth stage (CT×GS); Means with different superscript letters within the same row differ ($P < 0.05$); LC= leaves content; DM= dry matter; ADF= acid detergent fiber; ADL= acid detergent lignin; nNDF= the corrected NDF; CP= crude protein; NDICP= crude protein with cell wall; EE= crude fat; TESC= total CHO dissolved in ethanol; CHO=total carbohydrates.

میزان بخش قابل هضم (D) NDF، در نمونه‌های مورد آزمایش و نیز اثر مرحله برداشت معنی دار نشد، در حالی که اثر مرحله برداشت بر

بود، ولی تأثیر معنی‌داری نشان نداد. هرچند بر اساس سطح معنی‌داری متمایل به معنی‌داری بود. بنابراین احتمالاً با افزایش مرحله رشد و برداشت یونجه در بعد از ظهر میزان NDF نمونه افزایش یافته و موجب افزایش هضم آن در واحد زمان گردیده است.

نرخ هضم (K) معنی‌دار شد و نمونه‌های برداشت شده در اوایل غنچه‌دهی از نرخ هضم پایین‌تری برخوردار بودند از جمله برای نمونه برداشت شده در بعد از ظهر معنی‌دار نیز بود ($P < 0/05$). اثر زمان برداشت بر نرخ هضم در هر مرحله رشد در بعد از ظهر کمتر از صبح

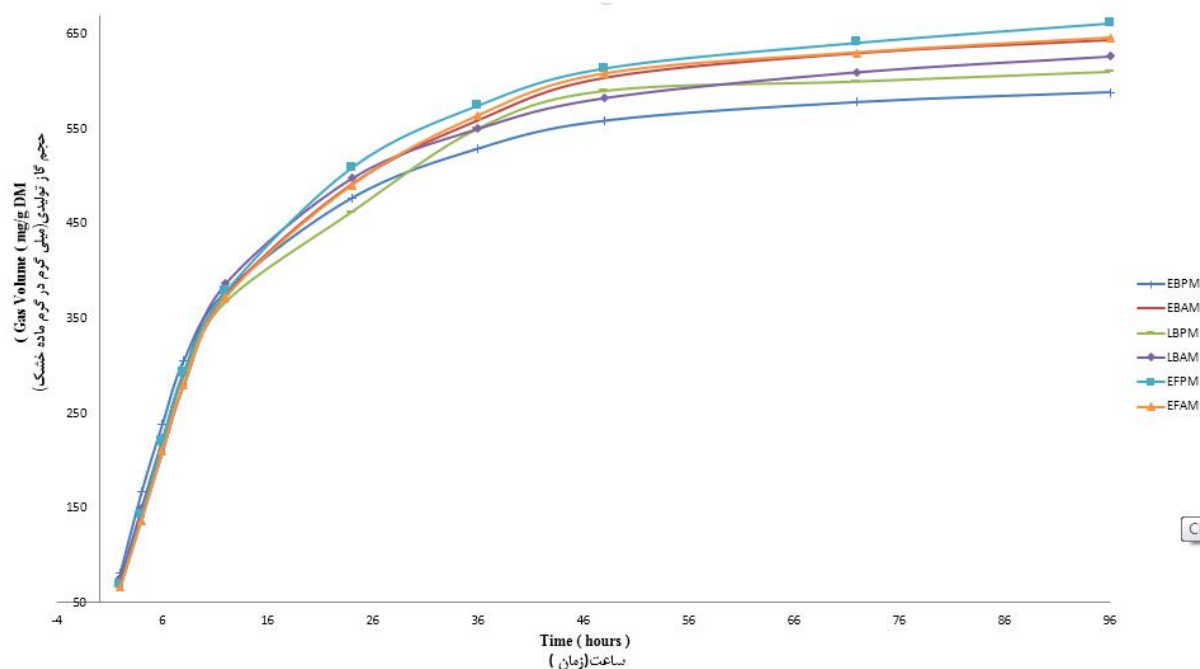
جدول 3 - اثر زمان چیدن (CT) در مراحل مختلف رشد (GS) بر میزان و نرخ گاز تولیدی

Table 3- The effect of growth stage (GS) and cutting time (CT) on amount and rate of gas production

موارد Items	اوایل غنچه‌دهی Early bud		اواخر غنچه‌دهی Late bud		اوایل گلدهی Early bloom		SEM	سطح معنی‌داری Significance level		
	بعد از ظهر Afternoon	صبح Morning	بعد از ظهر Afternoon	صبح Morning	بعد از ظهر Afternoon	صبح Morning		GS	CT	GS×CT ¹
b) در گرم ماده میلی لیتر خشک ²	570.4	640.9	607.5	601.5	644.6	634.3	5.573	0.07	0.16	0.04
c ³ (میلی لیتر در ساعت)	0.087 ^a	0.067 ^d	0.077 ^b	0.073 ^c	0.069 ^d	0.067 ^d	0.0003	<0.01	<0.01	<0.01

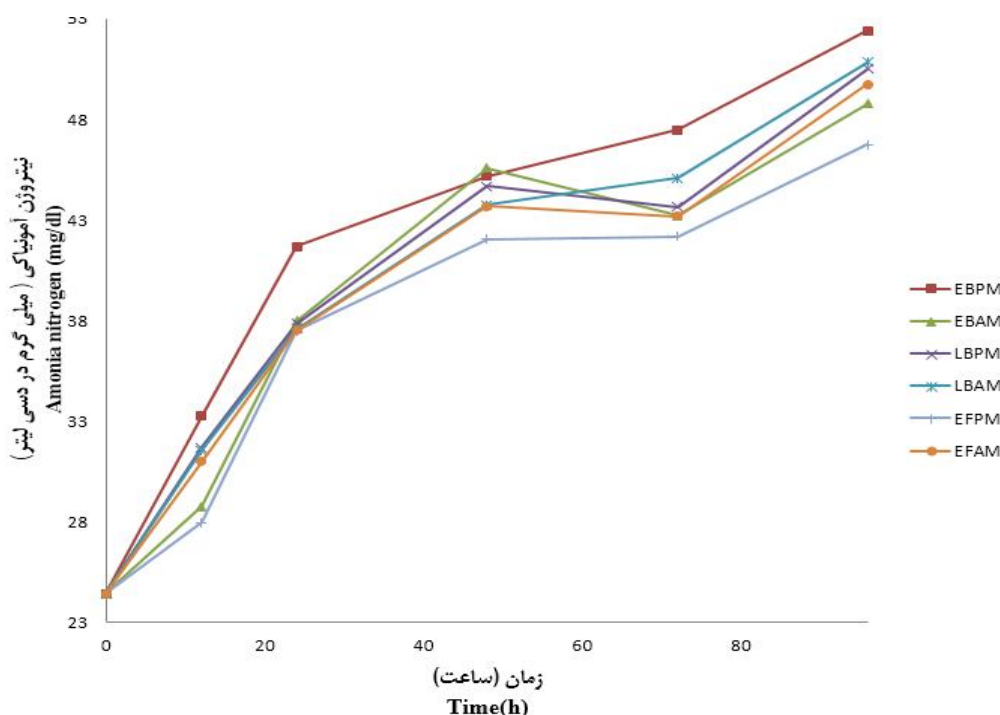
¹ اثر متقابل زمان چیدن در مرحله رشد (CT×GS): در هر ردیف میانگین‌های با حروف غیر مشابه دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند ($P < 0/05$). $b^2 =$ کل گاز تولیدی؛ $c^3 =$ نرخ تولید گاز

¹The interaction effect of cutting time by growth stage (CT×GS); SEM= Standard error of means; Means with different superscript letters within the same row differ ($P < 0.05$); ²b = Total gas production (ml/g DM); ³c = Rate of gas production (ml/h)



شکل 1- روند تولید گاز در محیط آزمایشگاهی (EBPM) یونجه چیده شده در اوایل غنچه‌دهی و در بعد از ظهر؛ EBAM یونجه چیده شده در اوایل غنچه‌دهی و در صبح؛ LBPM یونجه چیده شده در اواخر غنچه‌دهی و در بعد از ظهر؛ LBAM یونجه چیده شده در اواخر غنچه‌دهی و در صبح؛ EFPM یونجه چیده شده در اوایل گلدهی و در بعد از ظهر و EFAM یونجه چیده شده در اوایل گلدهی و در صبح

Figure 1- The amount of gas produced from the incubated alfalfa samples in laboratory conditions. (Alfalfa harvested at early bud stage in the morning (EBAM), alfalfa harvested at early bud stage in the afternoon (EBPM), alfalfa harvested at late bud stage in the morning (LBAM), alfalfa harvested at late bud stage in the afternoon (LBPM), alfalfa harvested at early bloom stage in the morning (EFAM), and alfalfa harvested at early bloom stage in the afternoon (EFPM)).



شکل 2- روند غلظت نیتروژن آمونیاکی در آزمایش کشت آزمایشگاهی (EBPM) یونجه چیده شده در اوایل غنچه‌دهی و در بعد از ظهر؛ EBAM یونجه چیده شده در اوایل غنچه‌دهی و در صبح؛ LBPM یونجه چیده شده در اواخر غنچه‌دهی و در بعد از ظهر؛ LBAM یونجه چیده شده در اواخر غنچه‌دهی و در صبح؛ EFPM یونجه چیده شده در اوایل گلدهی و در بعد از ظهر و EFAM یونجه چیده شده در اوایل گلدهی و در صبح)

Figure 2- The concentration of ammonia nitrogen of *in vitro* batch culture. Alfalfa harvested at early bud stage in the morning (EBAM), alfalfa harvested at early bud stage in the afternoon (EBPM), alfalfa harvested at late bud stage in the morning (LBAM), alfalfa harvested at late bud stage in the afternoon (LBPM), alfalfa harvested at early bloom stage in the morning (EFAM), and alfalfa harvested at early bloom stage in the afternoon (EFPM).

کاهش یافت (5 و 27). یو و همکاران (2003 a و b) با انجام آزمایشی در شرایط غرب کانادا (استان ساسکاچوان)، با بررسی اثر مرحله رشد یونجه از مرحله اوایل غنچه‌دهی تا اوایل گلدهی نتیجه گرفتند که چیدن در مرحله اواخر غنچه‌دهی بهترین کیفیت را داشت (28 و 29). علوفه یونجه تقریباً نیمی از علوفه مصرفی بسیاری از واحدهای دامداری را تشکیل می‌دهد (1) و در بعضی موارد تنها علوفه مورد استفاده است، بنابراین تعیین مرحله رشد مناسب چیدن ضروری است. طباطبایی و همکاران (1384) نتیجه گرفتند که چیدن در اوایل گلدهی در شرایط آب‌وهوایی استان همدان بهترین زمان جهت دستیابی به یونجه با بیشترین مقدار مواد مغذی قابل هضم بود (26). مطالعات نشان داده که زمان چیدن بر ارزش غذایی یونجه مؤثر است (6، 7 و 8). در طول روز طی فرایند فتوسنتز قندهای محلولی که عمدتاً منوساکاریدها، دی ساکاریدها و الیگوساکاریدها هستند، ساخته می‌شوند و مقدار آن‌ها در بعد از ظهر در گیاه به حداکثر می‌رسد و با چیدن یونجه قبل از غروب خورشید می‌تواند با افزایش ارزش غذایی علوفه همراه باشد (6، 7 و 8).

روند قابلیت هضم ماده آلی در جدول 5 نشان داده شده است. قابلیت هضم ماده آلی در زمان چهار ساعت معنی‌دار نگردید و تا زمان 24 ساعت اثر مرحله رشد معنی‌دار بود، درحالی‌که اثر زمان برداشت و اثر متقابل زمان و مرحله برداشت معنی‌دار نشد. با افزایش زمان انکوباسیون از 24 تا 72 ساعت اثر زمان برداشت معنی‌دار شد (0/01 < P)، ولی اثر مرحله رشد معنی‌دار نشد. مرحله رشد به‌عنوان یکی از عوامل مهم مؤثر بر تولید برگ، ساقه و ارزش غذایی یونجه عنوان شده است (26). چیدن در مرحله غنچه‌دهی تا اوایل گلدهی جهت دستیابی به یونجه‌ای با کیفیت متوسط به بالا برای نشخوارکنندگان توصیه شده است (5 و 29). ویر و همکاران (1967) و سفر و همکاران (2000) گزارش کردند که با افزایش مرحله رشد یونجه، محتوای برگ و پروتئین خام کاهش ولی مقدار ساقه و محتوای دیواره سلولی افزایش یافت (23 و 26). ویر و همکاران (1967) نتیجه گرفتند که برداشت در سطح 10 درصد گلدهی بیشترین مقدار ماده آلی قابل هضم را در واحد سطح ایجاد کرد (27). اگرچه تأخیر در مرحله رشد و چیدن منجر به تولید علوفه بیشتری در واحد سطح شد، ولی ارزش غذایی آن

جدول 4- اثر زمان چیدن (CT) در مراحل مختلف رشد (GS) بر کینتیک هضم ماده خشک و NDF یونجه خشک**Table 4-** The effect of growth stage (GS) and cutting time (CT) on Kinetics of dry matter and Neutral detergent fiber digestibility of dried alfalfa forage

موارد Items	اوایل غنچه‌دهی Early bud		اواخر غنچه‌دهی Late bud		اوایل گلدهی Early bloom		SEM	سطح معنی‌داری Significance level		
	صبح Morning	بعد از ظهر Afternoon	صبح Morning	بعد از ظهر Afternoon	صبح Morning	بعد از ظهر Afternoon		GS	CT	GS×CT ¹
قابلیت هضم ماده خشک (گرم در کیلوگرم ماده خشک به جز نرخ هضم بر اساس گرم در ساعت)										
Dry matter digestibility (g/kg DM except Rate of digestion based on g/h)										
I	371.2 ^e	384.2 ^{de}	398.2 ^{cd}	430.1 ^a	421.1 ^{ab}	406.5 ^{bc}	2.095	<0.01	0.05	<0.01
D	644.5 ^a	588.9 ^b	583.5 ^b	553.3 ^d	561.7 ^{cd}	575.8 ^{bc}	2.397	<0.01	0.03	0.02
K	0.170	0.129	0.163	0.137	0.151	0.164	0.0100	0.93	0.40	0.56
فیبر نامحلول در شوینده خنثی (گرم در کیلوگرم NDF به جز نرخ هضم بر اساس گرم در ساعت)										
Neutral detergent fiber digestibility (g/kg NDF except Rate of digestion based on g/h)										
I	593.7 ^{bcd}	625.8 ^{ab}	563.3 ^d	627.1 ^a	613.5 ^{abc}	582.4 ^{cd}	3.714	0.31	0.03	<0.01
D	424.1	400.6	428.9	378.9	396.0	421.6	6.748	0.88	0.28	0.15
K	0.044 ^b	0.048 ^{ab}	0.060 ^a	0.063 ^a	0.058 ^b	0.061 ^a	0.0018	0.03	0.37	0.99

¹ اثر متقابل زمان چیدن در مرحله رشد (CT×GS): در هر ردیف میانگین‌های با حروف غیر مشابه دارای اختلاف معنی دار می باشند (P<0/05); I, بخش غیر قابل هضم; D, بخش دارای پتانسیل هضم; K, نرخ هضم.

¹The interaction effect of cutting time by growth stage (CT×GS); Means with different superscript letters within the same row differ (P<0.05); I= Indigestible fraction; D= Digestible fraction; R= Rate of digestion.

جدول 5- اثر زمان چیدن (CT) در مراحل مختلف رشد (GS) بر روند قابلیت هضم ماده آلی یونجه خشک**Table 5-** The effect of growth stage (GS) and cutting time (CT) on Organic matter digestibility of dried alfalfa forage

ساعت hour	اوایل غنچه‌دهی Early bud		اواخر غنچه‌دهی Late bud		اوایل گلدهی Early bloom		SEM	سطح معنی‌داری Significance level		
	صبح Morning	بعد از ظهر Afternoon	صبح Morning	بعد از ظهر Afternoon	صبح Morning	بعد از ظهر Afternoon		GS	CT	GS×CT ¹
4	326.1	304.0	303.5	263.6	248.3	267.9	15.49	0.38	0.67	0.73
12	496.5 ^a	474.6 ^{ab}	422.6 ^{bc}	449.3 ^{abc}	404.2 ^c	442.3 ^{abc}	6.77	0.02	0.33	0.24
24	534.1 ^{ab}	546.0 ^a	537.9 ^{ab}	490.2 ^b	489.2 ^b	497.1 ^{ab}	5.73	0.04	0.44	0.14
48	627.3 ^a	576.8 ^{ab}	591.7 ^{ab}	549.9 ^b	561.4 ^b	555.3 ^b	7.04	0.10	0.05	0.44
72	635.0 ^a	597.3 ^{bc}	609.1 ^{ab}	566.5 ^c	610.5 ^{ab}	573.3 ^c	4.11	0.06	<0.01	0.95

¹ اثر متقابل زمان چیدن در مرحله رشد (CT×GS): در هر ردیف میانگین‌های با حروف غیر مشابه دارای اختلاف معنی دار می باشند (P<0/05)

¹The interaction effect of cutting time by growth stage (CT×GS); Means with different superscript letters within the same row differ (P<0.05)

هضم NDF و نرخ تولید گاز را کاهش داد در حالیکه بخش‌های الیافی و نیتروژنی دیواره سلولی افزایش یافت و الگوی تخمیر با استفاده از روش تولید گاز بهبود پیدا کرد. چیدن یونجه در بعد از ظهر در مقایسه با صبح غلظت کربوهیدرات‌های محلول، مقدار پروتئین و میزان گاز تولیدی، نرخ تولید گاز و قابلیت هضم را افزایش داد. به‌طور

نتیجه‌گیری کلی

با افزایش سن یونجه و مرحله رشد محتوای برگ و نسبت برگ به ساقه کاهش یافت، ولی ماده خشک و تولید گیاه در واحد سطح افزایش نشان داد. افزایش مرحله رشد از مرحله اوایل غنچه‌دهی تا اوایل گلدهی محتوای پروتئین خام، قابلیت هضم ماده خشک، نرخ

کلی می‌توان چنین برداشت نمود که چیدن یونجه در اوایل غنچه‌دهی و در بعد از ظهر برای تولید علوفه با کیفیت بهتر مناسب‌تر باشد.

منابع

- 1- Agricultural statistics. 2010. Ministry of Agriculture of Iran, No.1. page 29.
- 2- AOAC. 2000. Official methods of analysis. Association of Agricultural Chemists (17th Ed.). Virginia, D.C., USA.
- 3- Arroquy, J. I., R. C. Cochran, T. G. Nagaraja, E. C. Titgemeyer, and D. E. Johnson. 2005. Effect of types of non-fiber carbohydrate on in vitro forage fiber digestion of low-quality grass hay. *Animal Feed Science and Technology*, 120(1), 93-106.
- 4- Balde, A. T., J. H. Vandersall, R. A. Erdman, J. B. Reeves and B. P. Glenn. 1993. Effect of stage of maturity of alfalfa and orchard grass on in situ dry matter and crude protein degradability and amino acid composition. *Animal Feed Science and Technology*, 44:29-43.
- 5- Ball, D. M., M. Collines, G. D. Lacefield, N. P. Martin, D. A. Mertens, K. E. Olson, D. H. Putanam, D. J. Undersander and M. W. Wolf. 2001. Understanding forage Quality. American Farm Bureau Federation Publication, 1-10, Park Ridge, IL.
- 6- Brito, F., G. F. Tremblay, A. Bertrand, Y. Castonguay, G. Bélanger, R. Michaud, Lapierre, H., Benchaar C., Petit H. V., Ouellet D. R. and Berthiaume, R. 2008. Alfalfa cut at sundown and harvested as baleage improves milk yield of late-lactation dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 1: 3968-3982.
- 7- Brito F., Tremblay G. F., Bertrand A., Castonguay Y., G. Bélanger, R. Michaud, H. Lapierre, C. Benchaar, H. V. Petit, D. R. Ouellet and R. Berthiaume. 2009. Alfalfa cut at sundown and harvested as baleage increases bacterial protein synthesis in late-lactation dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 92: 1092–1107.
- 8- Burns, J. C., D. S. Fisher and H. F. Mayland. 2007. Diurnal shifts in nutritive value of alfalfa harvested as hay and evaluated by animal intake and digestion. *Journal of Crop Science*, 47: 2190-2197.
- 9- Dryhurst, N. and C. D. Wood. 1998. The effect of nitrogen source and concentration on in vitro gas production using rumen micro-organisms. *Animal Feed Science and Technology*, 71: 131–143.
- 10- Getachew, G., P. H. Robinson, E. J. De Peters and S. J. Taylor. 2004. Relationships between chemical composition, dry matter degradation and in vitro gas production of several ruminant feeds. *Animal Feed Science and Technology*, 111: 57–71.
- 11- John W. C. and A. H. Van Gelder. 1999. Influence of protein fermentation on gas production profiles. *Animal Feed Science and Technology*, 76: 251-264.
- 12- Jonker, A. 2011a. Characterization of Anthocyanidin-Accumulating Lc-Alfalfa for Ruminants: Nutritional Profiles, Digestibility, Availability and Molecular Structure, and Bloat Characteristics. PhD dissertation, University of Saskatchewan, Saskatoon, SK, Canada.
- 13- Kim, D. 1995. Effect of plant maturity, cutting, growth stage, and harvesting time on forage quality. PhD. Dissertation. Utah State University, Logan, UT.
- 14- Lechtenberg, V. L., D. A. Holt and H. W. Youngberg. 1971. Diurnal variation in non-structural carbohydrates, in vitro digestibility, and leaf to stem ratio of alfalfa. *Agronomy journal*, 63: 719-723.
- 15- Llamas-Lamas, G. and D. K. Combs, 1990. Effect of alfalfa maturity on fiber utilization by high producing cows. *Journal of Dairy Science*, 73: 1069-1080.
- 16- Mertens, D. R., J. R. Loften, 1980. The effect of starch on forage fiber digestion kinetics in vitro. *Journal of Dairy Science*, 63: 1437–1446.
- 17- Mowat, D. N., R. S. Fulkerson, W. E. Tossell and J. E. Winch. 1965. The in vitro digestibility and protein content of leaf and stem portions of foragers. *Canadian Journal of Plant Science*, 45:321-331.
- 18- Muck, R. E. 1987. Dry matter level effect on alfalfa silage quality: I. Nitrogen transformations. *Transactions of ASAE*. 30:7–14.
- 19- National Research Council. 2001. Nutrient Requirements of Dairy Cattle, 7th revised ed. National Academic Science, Washington, DC, USA.
- 20- Oba, M. and M. Allen. 2005. In vitro digestibility of forages. Proc. Tri-State Dairy Nutrition Conference. The Ohio State University, Columbus, pp 81-92.
- 21- Orskov, E. R. and I. McDonald. 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *The Journal of Agricultural Science*, 92:499-503.
- 22- Russel, J. B., J. D. O. Connor, D. G. Fox, P. J. Van Soest and C. J. Sniffer. 1992. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets. I. Ruminant fermentation. *Journal of Animal Science*, 70: 3551-3561.
- 23- Sheaffer, C. C., N. P. Martin, J. F. S. Lamb, G. R. Cuomo and J. G. Jewett. 2000. Leaf and Stem Properties of Alfalfa Entries. *Agronomy journal*, 92: 733–739.
- 24- Statistical Analysis System. 2003. User guide: Statistics, Version 9. 2. SAS institute, Inc, Cary, NC, USA.
- 25- Steingass H (1983). Bestimmung des energetischen Futterwertes von wirtschaftseigenen Futtermitteln aus der

- Gasbildung bei der Pansenfermentation in vitro. Ph.D. thesis, University of Hohenheim, Germany.
- 26- Tabatabayi, M. M., KH. Zaboli and H. Aliarabi, 2005. The effect of different growth stages on the nutritional value of hay in the second cutting. *Animal science journal of pajouhesh & sazandegi*, 38:62-67. (In Persian).
- 27- Van Soest, P. J. 1994. *Nutritional Ecology of the Ruminant*, 2nd ed. Comstock Publishing Associated, a division of Cornell University Press, Ithaca, NY, USA.
- 28- Weir, W. C., L. G. Jones and J. H. Meyer. 1960. Effect of cutting interval and stage of maturity on the digestibility and yield of alfalfa. *Journal of Animal Science*. 19: 5-19.
- 29- Yu, P., D. A. Christensen and J. J. McKinnon. 2003a. Comparison of the national research council-2001 model with the Dutch system (DVE/OEB) in the prediction of nutrient supply to dairy cows from forages. *Journal of Dairy Science*, 86: 2178-2192.
- 30- Yu, P., D. A. Christensen, J. J. McKinnon and J. D. Markert. 2003b. Effect of variety and maturity stage on chemical composition, carbohydrate and protein subfractions, in vitro rumen degradability and energy values of timothy and alfalfa. *Canadian Journal of Animal Science*, 83: 279-290.
- 31- Yu, P., D. A. Christensen, J. J. McKinnon and J. D. Markert. 2004. In situ rumen degradation kinetics of timothy and alfalfa as affected by cultivar and stage of maturity. *Canadian Journal of Animal Science*, 84: 255-263.



The effect of growth stage and cutting time on chemical composition *in vitro* digestibility and fermentative gas production of alfalfa

R. Valizdeh^{*1} - M. Mahmoudi-Abyane² - R. Ganjavi³

Received: 11-01-2014

Accepted: 28-07-2014

Introduction Cultivated alfalfa (*Medicago sativa* L.) is the main, most of the time the only, forage for ruminants in Iran as well as many other parts of the world. Harvesting high quality forage is critical for Iranian dairy industry, because it affects the performance of animals and reduces amount of concentrates utilization in dairy diets. Unfortunately the most parts of the concentrates ingredients are imported. Growth stage and cutting time in the day are known as the main factors affecting alfalfa hay quality. Fiber content increases and protein fraction decrease with increasing the alfalfa maturity (31). Leaf: stem ratio, digestive behavior and availability of alfalfa hay are mainly influenced by stage of maturity and cutting time. However, there is limited published information on the effect of growth stage and cutting time on nutrient characteristics of alfalfa hay. Therefore, the objective of this study was to evaluate the chemical composition, *in vitro* digestibility and fermentative gas production of alfalfa hay harvested at different growth stage and cutting time through *in vitro* experiments.

Materials and method This study was done at the Research Farm of Ferdowsi University of Mashhad. Iran. The experimental farm was divided into 3 equal parts. Each part was allocated to one of the three growth stages (early bud, late bud and early bloom). Every main plot then was divided into 2 equal parts for allocation to two cutting times (at 6.00 and 18.00 hrs.). Therefore, the six plots were randomly assigned to six treatments in a factorial arrangement of 3x2. Oven dried (65°C for 48 h) chopped alfalfa hay samples were ground to pass through a 1-mm screen. The samples were analyzed according to the standard procedures for chemical composition (2, 27). Procedure of *in vitro* gas production was performed according to Menke and Steingass (1988). Rumen fluid was obtained from three fistulated Baluchi male sheep before morning feeding. The DM degradation data were fitted to the exponential equation $p = a + b(1 - e^{-ct})$ (21). The *in vitro* dry matter, NDF and organic matter digestibility were determined according to the Arroquy et al. (2005) procedure at 0, 2, 4, 6, 8, 12, 24, 36, 48, 72, 96 hrs after incubation. Test samples were incubated for different hrs and then filtered through the nylon cloth with the pore size of 44 microns. The remaining materials were dried at 60 °C for 72 hrs and utilized for the subsequent analysis according to the procedure. The digestibility data were fitted to the exponential equation $D_{(t)} = D_{(i)} \cdot e^{-(k \cdot t)} + I$ (3).

Results and Discussion Morphological characteristics and chemical composition of the alfalfa samples are shown in Table 1. With advancing the growth stage DM content was also increased but leaf to stem ratio reduced significantly (<0.01). Generally the valuable nutrient contents of the samples harvested in the afternoon were higher than the samples obtained in the morning. With the growth advancement amount of produced gas increased non-significantly (Figure 1), but the interaction between the growth stage and cutting time in case of gas production was significant (<0.01). Gas production rate for the early bud samples harvested in the afternoon was significantly (<0.5) higher. No noticeable trend was found for ammonia nitrogen (NH₃-N) in this study. According to the results of *in vitro* digestion measurements amount of digestible dry matter for the early bud alfalfa harvested in the afternoon was higher significantly (<0.05). It was concluded that the nutrient contents of alfalfa forage harvested at early bud stage and in the afternoon led to higher feeding value in case of CHO, CP contents. Alfalfa harvested at early bud stage in the morning (EBAM), alfalfa harvested at early bud stage in the afternoon (EBPM), alfalfa harvested at late bud stage in the morning (LBAM), alfalfa harvested at late bud stage in the afternoon (LBPM), alfalfa harvested at early bloom stage in the morning (EFAM), and alfalfa harvested at early bloom stage in the afternoon (EFPM).

1 - Professor of Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad,

2 - PhD student, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan,

3 - PhD student, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Birjand University, Birjand.

(*Corresponding Author Email: valizadeh@um.ac.ir)

Conclusion It was concluded that cutting time of alfalfa forage at early bud stage in the afternoon provides better hay for ruminants in case of nutritive value.

Key word: alfalfa, cutting time, gas production, growth stage, digestibility.