نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد ۶، شماره ۴، زمستان ۱۳۹۳، ص. ۲۹۴-۲۸۶

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 6, No. 4, Winter 2015, p. 286-294

ویژگیهای مورفولوژیکی، ترکیب شیمیایی و فرآسنجه‌های تخمیری اندازه گیری شده به روش تولید گاز یونجه اوایل غنچه دهی برداشت شده در چین‌های مختلف و در صبح و بعدازظهر

هادی قربانی فارمد[۱*] - عباسعلی ناصریان[۲] - رضا ولی زاده[۲] - مجتبی یاری[۳]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۸/۲۲
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۲/۲

چکیده

در مورد ارزش تغذیه ای یونجه کشت داده شده در شرایط نیمه خشک شمال شرق ایران در چین‌های مختلف و در صبح و بعدازظهر اطلاعات اندکی موجود است. در این آزمایش اثر چین های مختلف یونجه برداشت شده در اوایل غنچه دهی در طول فصل رشد و زمان چیدن (ساعت ۶ صبح و ۶ بعدازظهر) بر ترکیب شیمیایی و فرآسنجه‌های تخمیری اندازه گیری شده به روش تولید گاز بررسی شد. یونجه چین‌های ۱ و ۲ (برداشت شده در بهار) در مقایسه با چین‌های ۳ و ۴ (برداشت شده در تابستان) محتوای پروتئین خام، خاکستر، میزان تولید گاز، انرژی متابولیسمی، انرژی خالص شیردهی، اسیدهای چرب کوتاه زنجیر و قابلیت هضم ماده آلی آزمایشگاهی بیشتر و فیبر نامحلول در شوینده خنثی (NDF) و فیبر نامحلول در شوینده اسیدی (ADF) کمتری داشتند. چیدن یونجه در صبح در مقایسه با بعدازظهر مقدار پروتئین خام را افزایش و محتوای برگ و نسبت برگ به ساقه را کاهش داد. چیدن یونجه در صبح و یا بعدازظهر تأثیری بر فرآسنجه‌های تخمیری یونجه خشک نداشت. نتایج این آزمایش نشان داد که یونجه اوایل غنچه دهی برداشت شده در فصل بهار و بعدازظهر دارای ارزش تغذیه ای بهتری نسبت به یونجه اوایل غنچه دهی در تابستان و صبح می باشد.

واژه های کلیدی: یونجه اوایل غنچه دهی، زمان چیدن، ترکیب شیمیایی، تولید گاز.

مقدمه

یونجه (*Medicago sativa L.*) یکی از مهمترین علوفه‌های مورد استفاده در جهان (۱۲) و ایران (۲ و ۱۵) در جیره گاوهای شیری می باشد. ایران دارای ۲۰ میلیون هکتار زمین زراعی است. از این میزان ۲۸۴/۹ هزار هکتار سطح زیر کشت یونجه است و بیشترین سطح را در بین نباتات علوفه ای به خود اختصاص داده است (۱). اطلاعات کمی در مورد الگو و قابلیت دسترسی مواد مغذی یونجه برداشت شده در مراحل مختلف بلوغ و در زمان‌های مختلف روز در شرایط نیمه خشک (ایران) وجود دارد (۲۹). یاری و همکاران نتیجه گرفتند که برداشت یونجه در مرحله اوایل غنچه دهی در شرایط نیمه خشک منجر به تولید علوفه با کیفیت خواهد شد (۱). در فصل های مختلف رشد، شرایط آب و هوایی بویژه درجه حرارت هوا، شدت و زاویه تابش نور خورشید تغییر می کند، که این امر ممکن است بر میزان تولید کربوهیدرات ها (ساختمانی و غیر ساختمانی) و ترکیبات نیتروژن دار اثر گذاشته و در نهایت ارزش تغذیه ای یونجه خشک را تحت تاثیر قرار دهد (۲۶). با این وجود، تعیین ارزش تغذیه ای یونجه خشک در هر منطقه جغرافیایی جهت متوازن کردن جیره گاوهای شیرده ضروری به نظر می رسد (۲).

از عوامل موثر دیگر بر ارزش تغذیه ای یونجه زمان چیدن آن در طول روز است(۵، ۶ و ۷). کربوهیدرات های محلول مثل گلوکز، فروکتوز و ساکارز بوسیله فتوسنتز در گیاهان در طول روز تولید می شوند. در طول روز فتوسنتز سبب افزایش خالص در غلظت قندهای محلول برگ ها می گردد ولی در طول شب، این قندها تا حد زیادی توسط گیاه مصرف می شوند (۲۶). پژوهش های مختلف نشان داده اند که غلظت کل کربوهیدرات های غیر ساختمانی در گراس ها (۸ و ۱۳) و لگوم های (۵) برداشت شده در غروب در مقایسه با صبح به دلیل توانایی گیاه در تجمع کربوهیدرات های محلول در طول روز بیشتر بوده است.

یاری و همکاران نتیجه گرفتند که چیدن یونجه در بعدازظهر در مقایسه با صبح در شرایط نیمه خشک باعث بهبود ارزش تغذیه ای

۱ - دانشجوی دکتری گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد،
۲ - استاد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد،
۳ – استادیار دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه ملایر.
(*- نویسنده مسئول: Email:ghorbanihadi20@gmail.com)

یونجه در نشخوارکنندگان شد (۲۹). این پژوهشگران گزارش کردند که یونجه برداشت شده در سه مرحله بلوغ (اوایل و اواخر غنچه دهی و اوایل گل دهی)در بعدازظهر در مقایسه با صبح محتوای برگ، پروتئین حقیقی و مقادیر انرژی خالص بیشتر و نیتروژن غیر پروتئینی کمتری داشت. این پژوهشگران اثر چیدن صبح در مقابل بعدازظهر را فقط در یک چین (اوایل تابستان) بررسی کردند. با این وجود، این محققین ارزش تغذیه ای یونجه اوایل غنچه دهی چیده شده در چین های مختلف را بررسی نکردند. در این آزمایش فرض شد که اثر زمان چیدن (صبح در مقابل بعدازظهر) در چین های مختلف برداشت بر ارزش تغذیه ای یونجه برداشت شده به صورت خشک متفاوت خواهد بود. بنابراین در این آزمایش اثر زمان چیدن در چین های مختلف یونجه اوایل غنچه دهی بر ترکیب شیمیایی و فرآسنجههای تخمیری اندازه گیری شده با روش تولید گاز بررسی شد.

مواد و روش ها

مدیریت کرت های آزمایشی یونجه

در این آزمایش از زمینی به مساحت ۱۶۰ متر مربع واقع در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه فردوسی، از یونجه دو ساله کشت داده شده با رقم رنجر استفاده شد. چین اول این زمین در ۱۷ فروردین ۱۳۸۹ انجام شد. بعد این زمین به ۵ بلوک ۳۲ متر مربع تقسیم شد. در هر بلوک دو کرت ۱۶ مترمربع (۴×۴ متر) به زمان چیدن در صبح و در بعدازظهر به طور تصادفی اختصاص داده شد. در کل ۱۰ کرت موجود بود که وقتی یونجه به مرحله اوایل غنچه دهی می رسید ۵ کرت آن در بعدازظهر (ساعت ۶) و ۵ کرت دیگر در فردا صبح (ساعت ۶) چیده شد. این برنامه چیدن در طول فصل رشد ادامه داشت که تاریخ چیدن چین های مختلف در جدول ۱ نشان داده شده است. کرت های یونجه در طول آزمایش به طور متوسط هر ۱۰ روز آبیاری شدند.

تعیین مرحله رشد یونجه

تعیین مرحله رشد بر اساس روش کالو و فیک انجام شد (۱۴). به طور خلاصه، یک مربع (۲۵۰ سانتی متر مربع) به طور تصادفی در هر کرت (یکبار) انداخته شد و تمام ساقه هایی که بیشتر از ۳ سانتی متر ارتفاع داشتند و در داخل این مربع قرار می گرفتند (در حدود ۷۰ تا ۸۰ ساقه) برای محاسبه میانگین مرحله بلوغ مورد استفاده قرار گرفتند. در هر برداشت، یونجه ها بوسیله داس (از ۵ سانتی متر بالای خاک) و در محدوده ای حدود ۳ متر × ۳ متر چیده شدند. بلافاصله بعد از برداشت بیست ساقه به طور تصادفی از هر کرت انتخاب و برگ ها و ساقه بوسیله دست از هم جدا شدند. ماده خشک برگ ها، ساقه و کل گیاه از طریق خشک کردن در آون به مدت ۴۸ ساعت و در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد تعیین شد. باقیمانده یونجه تازه برداشت شده در سایه و در هوا خشک شدند (۱۰–۱۵ روز). یونجه بلوک های ۱، ۲ و ۳ با هم و یونجه بلوک های ۴ و ۵ نیز با هم برای اندازه گیری ترکیب شیمیایی و فرآسنجههای تولید گاز در جهت شیب زمین ترکیب شدند.

آنالیز ترکیب شیمیایی

یونجه بوسیله آسیاب به اندازه های ۱ میلی متری برای آزمایش تولید گاز و آنالیز شیمیایی خرد شد. از روشهای استاندارد (AOAC,2000) برای اندازه گیری ماده خشک (DM; AOAC 930. 15)، خاکستر (AOAC 942.05)، پروتئین خام (CP; AOAC 984.13) و عصاره اتری (EE; AOAC 954.02) استفاده شد. الیاف نامحلول در شوینده خنثی (NDF) و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی (ADF) بر اساس روش ون سوست و همکاران اندازه گیری شد (۲۶).

جدول ۱– تاریخ چیدن یونجه ها و شرایط آب و هوایی در طول آزمایش (۱۳۸۹)*

چین	زمان برداشت	تاریخ برداشت	دما		رطوبت (٪)	وضعیت هوا
			حداقل	حداکثر		
۱	۶ صبح	۱۳۸۹/۲/۲۲	۱۴	۲۸	۴۷	قسمتی ابری
	۶ بعدازظهر	۱۳۸۹/۲/۲۱	۱۵	۳۱	۴۶	ابری تا بارانی
۲	۶ صبح	۱۳۸۹/۳/۲۶	۱۹	۳۵	۱۵	صاف
	۶ بعدازظهر	۱۳۸۹/۳/۲۵	۱۹	۳۵	۱۲	صاف
۳	۶ صبح	۱۳۸۹/۴/۲۴	۲۵	۴۳	۱۲	صاف
	۶ بعدازظهر	۱۳۸۹/۴/۲۳	۲۲	۳۶	۱۸	صاف
۴	۶ صبح	۱۳۸۹/۵/۲۵	۱۹	۳۴	۲۱	صاف
	۶ بعدازظهر	۱۳۸۹/۵/۲۴	۲۰	۳۴	۲۱	صاف

چین پنجم در تاریخ ۲۴ مهر انجام شد ولی داده های آن در تعیین ترکیب شیمیایی و تولید گاز استفاده نشد.
*برگرفته از سایت هواشناسی خراسان رضوی

پروتئین غیرمحلول متصل به الیاف نامحلول در شوینده خنثی (NDICP) و پروتئین نامحلول متصل به الیاف نامحلول در شوینده اسیدی (ADICP) از طریق آنالیز باقیمانده های آزمایش اندازه گیری ADF و NDF با روش کلدال اندازه گیری شد. ADF و NDF گزارش شده برای مقادیر ADICP و NDICP تصحیح شدند.

بررسی فرآسنجه های تخمیر به روش تولید گاز

مقدار ۲۰۰ میلی گرم از هر نمونه یونجه آسیاب شده با قطر منافذ الک ۱ میلی‌متری توزین و به داخل بطری‌های شیشه‌ای ۱۲۵ میلی لیتری منتقل گردید، برای هر نمونه ماده غذایی ۱۲ تکرار در نظر گرفته شد. مایع شکمبه قبل از وعده خوراک صبح از ۴ راس گوسفند نر بلوچی بالغ فیستولا شده در دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی که به مدت دو هفته از جیره‌ای ثابت تغذیه شدند، جمع آوری شد. گوسفندان روزانه ۵۰۰ گرم یونجه خرد شده (غیر از یونجه‌های مورد آزمایش) و ۲۰۰ گرم کنسانتره طی دو وعده تغذیه شدند و به طور آزاد دسترسی به آب داشتند. مایع شکمبه (تقریبا ۲ لیتر) توسط پارچه متقالی چهار لایه صاف شده و در داخل فلاسک گرم شده سریعاً به آزمایشگاه منتقل شد. قبل از انتقال به داخل بطری‌های شیشه‌ای، مایع شکمبه با بافر تهیه شده به روش منک و استینگاس به نسبت ۱ به ۲ (یک قسمت مایع شکمبه و دو قسمت بافر) مخلوط شد (۱۹). بطری‌ها قبل از انتقال مایع شکمبه و بافر، جهت جلوگیری از شوک حرارتی، به مدت نیم ساعت در دمای ۳۹ درجه سانتیگراد گرم شدند. در مرحله انتقال بافر و مایع شکمبه از ارلن به بطری‌ها، جریان مداوم گاز دی اکسید کربن به ارلن که در بن ماری ۳۹ درجه سانتیگراد قرار داشت، تزریق شد.

در هر بطری حاوی تیمار آزمایشی مقدار ۳۰ میلی لیتر مخلوط مایع شکمبه و بافر افزوده شد و بعد از بی‌هوازی نمودن داخل بطری به وسیله تزریق گاز دی اکسید کربن درب بطری‌ها توسط درپوش لاستیکی و پرس آلومنیومی، بطور محکم بسته شد. به منظور تصحیح گاز تولیدی با منشاء مایع شکمبه و بافر،۳ بطری بدون آنکه ماده غذایی ریخته شود و فقط دارای مایع شکمبه و بافر بودند، در نظر گرفته شد. کل بطری‌ها جهت اندازه گیری گاز تولیدی به داخل دستگاه بن ماری در دمای ۳۹ درجه سانتیگراد، منتقل شد.

فشار گاز در زمان های ۰، ۳، ۶، ۱۲، ۲۴، ۳۶، ۴۸ و ۷۲ ساعت بعد از انکوباسیون ثبت گردید و حجم گاز بر طبق فرمول V= 0.112p2 +4.1098p بدست آمد که V حجم گاز(میلی لیتر) و p فشار گاز (پاسگال) می باشد. بعد از تجمعی کردن مقدار گاز تولیدی برای زمانهای مختلف بر اساس میلی لیتر/گرم ماده خشک به ترتیب b، پتانسیل تولید گاز و c، نرخ نولید گاز با استفاده از مدل ارسکوف و مکدونالد (۲۲) با استفاده از برنامه غیر خطی نرم افزار SAS (۲۰۰۳) برآورد شد. مدل مربوطه به صورت Y=b(1-e-ct) است که Y گاز تجمعی تولید شده در زمان t (ساعت) انکوباسیون است.

وزن باقیمانده نمونه های یونجه بر روی صافی اندازه گیری شده و سپس قابلیت هضم ماده خشک (IVDMD) بر اساس معادله زیر بدست آمد (۲۱).

تجزیه پذیری ماده خشک در محیط آزمایشگاه =
(وزن ماده خشک ابتدایی– وزن ماده خشک باقیمانده – بلانک)* ۱۰۰
وزن ماده خشک ابتدایی

قابلیت هضم ماده آلی (درصد)، انرژی متابولیسمی (مگاژول در کیلوگرم ماده خشک) و انرژی خالص شیردهی (مگاژول در کیلوگرم ماده خشک) نمونه ها بر مبنای معادلات منک و استینگاس بدست آمد (۱۹).

ME (MJ/kg DM):
0.136*GP+0.0057*CP+0.000286*EE۲+2.2

NEL (MJ/kg DM):
0.096*GP+0.0038*CP+0.000173* EE2

DOM %:
0.9042*GP+0.0492*CP+0.0387*ash+16.49

GP, CP, EE و ash به ترتیب چربی خام، پروتئین خام، تولید گازدر ۲۴ ساعت (میلی لیتر در ۲۰۰ میلی گرم ماده خشک) خاکستر می باشند. اسیدهای چرب کوتاه زنجیر نیز از رابطه زیر بدست آمد (۱۷). G24 تولید گاز در ۲۴ ساعت (میلی لیتر در ۲۰۰ میلی گرم ماده خشک) می باشد.

SCFA (mmol) = 0.0222 (G24h) – 0.00425

تجزیه و تحلیل آماری

داده های گیاه شناسی، ترکیب شیمیایی وفرآسنجههای اندازه گیری شده و برآورد شده درآزمایش تولید گاز با استفاده از طرح کرت های خرد شده در قالب طرح پایه بلوک های کاملا تصادفی آنالیز شدند، به صورتی که اثر چین های مختلف به عنوان پلات فرعی (اثر ثابت) و اثر زمان برداشت به عنوان فاکتور اصلی (اثر ثابت) و بلوک به عنوان اثر تصادفی در مدل قرار گرفتند. اثر بلوک برای آزمون اثرات ثابت، به صورت تصادفی در نظر گرفته شد. اثر متقابل چین در زمان برداشت نیز به عنوان اثر ثابت در مدل قرار داده شد. داده ها با استفاده از رویه مدل های آمیخته خطی و با نرم افزار SAS 9.2(2003) آنالیز شدند. مدل آماری مورد استفاده به صورت مقابل بود:

$$Y_{ijk} = \mu + B_k + CT_i + C_j + CT_i \times C_j + e_{ijk}$$

که Y_{ijk} مشاهده متغیر وابسته ijk؛ μ اثر ثابت میانگین جمعیت برای متغیر؛ B_k اثر تصادفی بلوک (k=5 برای خصوصیات گیاه شناسی و k=2 برای سایر اندازه گیریها)؛ CT_i اثر ثابت زمان برداشت (i=2 ، ۶ صبح و ۶ بعد ازظهر)؛ C_j اثر ثابت چین‌های مختلف (j=4،

۲ بر داشت در بهار و ۲ برداشت در تابستان)؛ $C_j \times CT_i$ اثر ثابت متقابل بین فاکتور CT در سطح i و C در سطح j و e_{ijk} اثر تصادفی مربوط به مشاهده ijk می باشد. برای مقایسه میانگین از آزمون حداقل تفاوت معنی دار (LSD) و از رویه LSMEAN در نرم افزار SAS 9.2 (2003) استفاده شد.

نتایج و بحث

صفات گیاهشناسی

صفات گیاهشناسی یونجه در چین‌های مختلف و برداشت شده در صبح و بعدازظهر در جدول ۲ نشان داده شده است. ماده خشک برگ، ماده خشک ساقه و بوته در چین‌های ۳ و ۴ (یونجه برداشت شده در تابستان) بیشتر از ماده خشک برگ، ساقه و بوته در چین‌های ۱ و ۲ بود (P<۰/۰۰۱). همچنین ماده خشک برگ، ساقه و بوته در یونجه بعدازظهر بیشتر از ماده خشک برگ، ساقه و بوته در یونجه صبح بود. تولید علوفه به صورت هوا خشک (کیلوگرم در متر مربع) در چین‌های ۲ و ۳ بیشتر از چین‌های ۱ و ۴ بود و کمترین میزان تولید علوفه مربوط به چین ۴ بود؛ هرچند که تفاوت معنی داری با چین ۱ نداشت. تولید یونجه هوا خشک بین یونجه صبح و بعدازظهر تفاوت معنی داری نداشت (P= ۰/۱۸). بیشترین محتوای برگ (گرم در کیلوگرم ماده خشک) در چین‌های ۱ و ۴ بود و کمترین میزان مربوط به چین ۳ بود؛ هرچند که تفاوت معنی داری با چین ۲ نداشت. محتوای برگ به لحاظ عددی در یونجه بعدازظهر بیشتر از یونجه صبح بود (۳۶۲/۲۶ و ۳۷۳/۳۹ گرم در کیلوگرم ماده خشک به ترتیب در یونجه صبح و بعدازظهر) ولی تفاوت معنی داری بین یونجه صبح و بعدازظهر وجود نداشت (P= ۰/۰۷۹). میزان محصول برگ (گرم در متر مربع) در چین ۴ کمترین میزان را داشت، بین سایر چین‌های یونجه تفاوت معنی داری وجود نداشت (۱۰۹/۸۷، ۱۱۹/۳۵، ۱۱۷/۹۵ و ۱۰۳/۹۱ به ترتیب برای چین‌های ۱ تا ۴). یونجه چیده شده در بعدازظهر محصول برگ بیشتری نسبت به یونجه صبح داشت (۱۰۸/۳۵ گرم در متر مربع در یونجه صبح و ۱۱۷/۱۹ در یونجه بعدازظهر). کمترین محصول ساقه (گرم در متر مربع) نیز در چین ۴ بود (۱۵۸/۸۸)، در حالیکه بیشترین محصول ساقه مربوط به چین‌های ۲ و ۳ بود (۲۱۸/۴۴ و ۲۲۳/۷۶ گرم در متر مربع به ترتیب برای چین ۲ و ۳). نسبت برگ به ساقه در چین‌های ۱ و ۴ بیشترین مقدار و در چین‌های ۲ و ۳ کمترین مقدار بود (۰/۶۱، ۰/۵۵، ۰/۵۳ و ۰/۶۵ به ترتیب از چین ۱ تا چین ۴). نسبت برگ به ساقه در بعدازظهر نسبت به صبح روند صعودی داشت (۰/۶ در بعدازظهر در برابر ۰/۵۷ در صبح).

برگهای یونجه، پروتئین بیشتر قابلیت هضم بیشتر و محتوای فیبر کمتری در مقایسه با ساقه یونجه دارد (۲۶). بنابراین احتمالا کاهش پروتئین خام و افزایش کربوهیدرات ساختمانی (ADF و NDF) از چین ۱ به چین ۲ و ۳ (جدول ۳) بدلیل کاهش نسبت برگ به ساقه از چین اول به چین‌های ۲ و ۳ می باشد. ولی در چین ۴ با اینکه نسبت برگ به ساقه افزایش یافته است ولی میزان پروتئین خام نسبت چین های قبلی کاهش و میزان کربوهیدرات های ساختمانی افزایش یافته است (جدول ۳). دما، طول روز، رطوبت و سایر عوامل محیطی که فصل تغییر می کنند، می تواند بر ترکیب گیاه تاثیرگذار باشد (۵، ۶، ۷ و ۲۶). همچنین میزان کربوهیدرات های ساختمانی (ADF و NDF) در یونجه بعدازظهر نسبت به صبح کاهش یافت که احتمالا بدلیل کاهش میزان محتوای برگ در یونجه صبح نسبت به بعدازظهرباشد.

جدول ۲- ویژگیهای مورفولوژیکی یونجه اوایل غنچه دهی برداشت شده در چین‌های مختلف و در صبح و بعدازظهر

صفت	چین				SEM	زمان برداشت		SEM	سطح معنی داری	
	۱	۲	۳	٤		صبح	بعداز ظهر		چین	زمان برداشت
[۱](%)DMl	۲۲/۴۷^{b}	۲۲/۹۸^{b}	۲۴/۶۴^{a}	۲۴/۴۱^{a}	۰/۳۵۹	۲۱/۲۰^{b}	۲۶/۰۴^{a}	۰/۲۶۷	۰/۰۰۰۲	<۰/۰۰۰۱
[۲](%)DMs	۱۹/۲۰^{b}	۲۰/۱۴^{b}	۲۵/۳۴^{a}	۲۴/۴۳^{a}	۰/۳۸۳	۲۱/۲۲^{b}	۲۳/۳۴^{a}	۰/۲۷۲	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱
[۳](%)DMb	۲۰/۲۶^{b}	۲۱/۰۵^{b}	۲۵/۰۸^{a}	۲۴/۴۲^{a}	۰/۳۲۴	۲۱/۱۹^{b}	۲۴/۲۱^{a}	۰/۲۳۳	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱
[۴](kg/m^2)DMy	۰/۲۹^{b}	۰/۳۴^{a}	۰/۳۴^{a}	۰/۲۶^{b}	۰/۰۱۱	۰/۳۰	۰/۳۲	۰/۰۰۸	<۰/۰۰۰۱	۰/۱۸
[۵](g/kg DM)LC	۳۷۸/۵۲^{a}	۳۵۳/۴۹^{b}	۳۴۴/۵۹^{b}	۳۹۴/۷^{a}	۶/۱۰۸	۳۶۲/۲۶	۳۷۳/۳۹	۴/۳۱۹	<۰/۰۰۰۱	۰/۰۷۹
[۶](g/m^2)L yield	۱۰۹/۸۷^{ab}	۱۱۹/۳۵^{a}	۱۱۷/۹۵^{a}	۱۰۳/۹۱^{b}	۳/۹۱۰	۱۰۸/۳۵^{b}	۱۱۷/۱۹^{a}	۲/۷۶۵	۰/۰۳۱	۰/۰۳۲
[۷](g/m^2)S yield	۱۸۲/۶۰^{b}	۲۱۸/۴۴^{a}	۲۲۳/۷۶^{a}	۱۵۸/۸۸^{c}	۷/۶۶۱	۱۹۲/۷۲	۱۹۹/۱۲	۵/۴۱۷	<۰/۰۰۰۱	۰/۴۱
[۸]l to s	۰/۶۱^{a}	۰/۵۵^{b}	۰/۵۳^{b}	۰/۶۵^{a}	۰/۰۱۵	۰/۵۷	۰/۶۰	۰/۰۱۱	<۰/۰۰۰۱	۰/۰۸

۱- ماده خشک برگ ۲- ماده خشک ساقه ۳- ماده خشک بوته ۴- ماده خشک محصول ۵- میزان برگ ۶- محصول برگ ۷- محصول ساقه ۸- نسبت برگ به ساقه

* چین های ۱ تا ۴ عبارتند از : ۱- چیده شده در تاریخ ۲۱ و ۱۳۸۹/۲/۲۲، ۲- چیده شده در تاریخ ۲۵ و ۱۳۸۹/۳/۲۶، ۳- چیده شده در تاریخ ۲۳ و ۱۳۸۹/۴/۲۴ و ۴- چیده شده در تاریخ ۲۴ و ۱۳۸۹/۵/۲۵

ترکیب شیمیایی

ترکیب شیمیایی یونجه برداشت شده در چین‌های مختلف و در صبح و بعدازظهر در جدول ۳ نشان داده شده است. میزان پروتئین خام، الیاف نامحلول در شوینده اسیدی، الیاف نامحلول در شوینده خنثی و پروتئین خام نامحلول در شوینده اسیدی و همچنین میزان خاکستر در یونجه چیده شده در صبح در مقایسه با بعد ازظهر بیشتر بود ($P < ۰/۰۵$). این یافته ها نتایج تحقیقات گذشته را تایید می کند (۵، ۷). کاهش در سایر اجزاء در یونجه بعدازظهر در مقایسه با صبح ممکن است بخاطر تجمع کربوهیدرات های غیر ساختمانی در طول روز باشد که باعث رقیق شدن سایر اجزاء می شود (۲۶). غلظت کل کربوهیدرات های غیر ساختمانی در گراس ها (۷، ۱۳) و لگوم های (۵) چیده شده در غروب نسبت به صبح به دلیل توانایی گیاه در تجمع کربوهیدرات های غیر ساختمانی در طول روز بیشتر است. بنابراین بخشی از کاهش غلظت کربوهیدرات های ساختمانی در بعدازظهر، بدلیل اثر رقتی است که با افزایش غلظت نشاسته و کربوهیدرات های محلول در بعدازظهر همراه است (۵). همچنین با توجه به اینکه محصول برگ در یونجه بعدازظهر نسبت به صبح افزایش معنی داری داشت (جدول ۲) ($P= ۰/۰۳$) و محصول ساقه تفاوت معنی داری بین یونجه صبح و بعدازظهر نداشت ($P= ۰/۴۱$) و با توجه به کمتر بودن میزان کربوهیدرات های ساختمانی در برگ یونجه نسبت به ساقه (۲۶)، بنابراین کاهش میزان کربوهیدرات های ساختمانی در یونجه بعدازظهر نسبت به یونجه صبح قابل انتظار است.

ترکیب شیمیایی یونجه ها، تحت تاثیر چین‌های مختلف قرار گرفت. در بیشتر خصوصیات از جمله پروتئین خام، الیاف نامحلول در شوینده خنثی، الیاف نامحلول در شوینده خنثی، پروتئین خام نامحلول در شوینده خنثی و خاکستر بین یونجه های چین ۱ و ۲ تفاوت معنی داری وجود نداشت. میزان کربوهیدرات های ساختمانی در چین‌های ۳ و ۴ (یونجه های چیده شده در تابستان) و با گرم شدن هوا، افزایش یافت. برنز و همکاران (۲۰۰۵) نیز گزارش کردند که چین‌های یونجه در آخر تابستان، کربوهیدرات ساختمانی بیشتری نسبت به اوایل تابستان دارند. عوامل زیادی مانند زمان برداشت (۷، ۲۳)، طول روز، دما و بلوغ گیاه (۲۶، ۲۹) و نحوه نگهداری علوفه می تواند بر تجمع کربوهیدرات ها و قندها و سایر ترکیبات تاثیر گذار باشد. ویلسون و همکاران (۲۸)، گزارش کردند که افزایش دما باعث تحریک تولید بیشتر فیبر نامحلول در شوینده خنثی و لیگنین در ساقه گراس برمودا شد. یونجه های برداشت شده در فصل بهار(چین‌های ۱ و ۲) حاوی پروتئین بیشتری نسبت به یونجه های برداشت شده در تابستان (چین های ۳ و ۴) بودند (جدول ۳). با توجه به اینکه برگ یونجه نسبت به ساقه دارای پروتئین بیشتر، قابلیت هضم بیشتر و فیبر کمتری است (۲۶)، بنابراین احتمالا در چین ۱ که دارای نسبت برگ به ساقه بیشتری نسبت به چین ۲ و ۳ بود، میزان پروتئین خام نسبت به ۲ چین دیگر افزایش یافته است. سالم (۲۵)، نیز گزارش کرد گیاه آکاسیا در تابستان دارای محتوای پروتئین کمتری نسبت به فصل بهار بود. سالم همچنین نشان داد که گیاه آکاسیا در فصل زمستان، محتوای فیبر نامحلول در شوینده خنثی، فیبر نامحلول در شوینده اسیدی و سلولز کمتری نسبت به سایر فصل ها دارد.

جدول ۳- ترکیب شیمیایی یونجه اوایل غنچه دهی برداشت شده در چین‌های مختلف و در صبح و بعدازظهر

صفت	چین*				SEM	زمان برداشت		SEM	سطح معنی داری	
	۱	۲	۳	٤		صبح	بعداز ظهر		چین	زمان برداشت
[۱](g/kgDM)CP	۲۲۴/۳۷^{a}	۲۲۵/۵۳^{a}	۲۱۲/۱۶^{b}	۲۰۹/۷۸^{b}	۲/۳۰۱	۲۲۴/۱۷^{a}	۲۱۱/۷۴^{b}	۱/۷۱۲	۰/۰۰۲	۰/۰۰۰۷
[۲](g/kgDM)ADF	۳۲۹/۲۳^{c}	۳۳۰/۳۵^{c}	۳۴۷/۵۱^{b}	۳۵۳/۰۴^{a}	۰/۹۷۴	۳۴۱/۵۵^{a}	۳۳۸/۵۲^{b}	۰/۶۸۹	<۰/۰۰۰۱	۰/۰۱۷
[۳] (g/kgDM)NDF	۴۵۰/۸۴^{c}	۴۵۲/۹۹^{c}	۴۶۳/۲۱^{b}	۴۷۲/۶۸^{a}	۱/۵۳۵	۴۶۲/۷۳^{a}	۴۵۷/۱۳^{b}	۱/۳۴۷	<۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۱
[۴](g/kgCP)ADICP	۸۰/۰۰^{b}	۸۱/۲۰^{ab}	۸۶/^{a}۰۴	۸۰/۵۱^{ab}	۲/۸۱۳	۸۵/۶۲^{a}	۸۰/۷۵^{b}	۲/۵۳۳	۰/۱	۰/۰۳
[۵](g/kgCP)NDICP	۱۳۰/۳۲^{a}	۱۰۵/۲۱^{c}	۱۰۹/۲۶^{bc}	۱۱۷/۶۹^{b}	۳/۴۷۸	۱۱۸/۳۶	۱۱۲/۸۷	۲/۴۵۹	۰/۰۰۶	۰/۱۶
[۶](g/kgDM)Ash	۱۱۲/۳۲^{a}	۱۱۳/۰۷^{a}	۹۹/۰۹^{c}	۹۶/۶۵^{c}	۲/۳۴۲	۱۰۸/۵۱^{a}	۱۰۲/۰۵^{b}	۲/۱۲۵	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۲

۱- پروتئین خام (گرم در کیلوگرم ماده خشک) ۲- الیاف نامحلول در شوینده اسیدی (گرم در کیلوگرم ماده خشک) ۳- الیاف نامحلول در شوینده خنثی (گرم در کیلوگرم ماده خشک) ۴- پروتئین خام نامحلول در شوینده اسیدی (گرم در کیلوگرم پروتئین) ۵- پروتئین خام نامحلول در شوینده خنثی (گرم در کیلوگرم پروتئین) ۵- خاکستر (گرم در کیلوگرم ماده خشک)

* چین های ۱ تا ۴ عبارتند از : ۱- چیده شده در تاریخ ۲۱ و ۱۳۸۹/۲/۲۲، ۲- چیده شده در تاریخ ۲۵ و ۱۳۸۹/۳/۲۶، ۳- چیده شده در تاریخ ۲۳ و ۱۳۸۹/۴/۲۴ و ۴- چیده شده در تاریخ ۲۴ و ۱۳۸۹/۵/۲۵

فرآسنجه‌های تخمیر به روش تولید گاز

فرآسنجه‌های تخمیری در آزمایش تولید گـاز و ارزش تغذیـه ای برآورد شده در جدول ۴ نشان داده شده است. میزان تولید گـاز (b) در اولین چین یونجه در بهار بیشترین مقدار را داشت؛ هرچند کـه میـزان تولید گاز در چین اول نسبت به چین دوم تفاوت معنی داری نداشـت. یونجه های برداشت شده در تابسـتان (چـین ۳ و ۴) کمتـرین میـزان تولید گاز را داشتند. همچنین میزان تولید گاز در یونجه های برداشـت شده در نوبت صبح و بعدازظهر تفاوت معنی داری نداشتند (P= ۰/۵۱). بدلیل اینکه پروتئین به طور گسترده تخمیر نمـی شـود و آمونیـاک تولید شده از تخمیر آن، اثر مهارکنندگی بر حجـم گـاز تولیـدی دارد، بنابراین در یونجه برداشـت شـده در نوبـت صـبح کـه پـروتئین خـام بیشتری نسبت به یونجه بعدازظهر داشت، انتظار می رفت کـه میـزان تولید گاز کمتر از یونجه برداشت شده در بعدازظهر باشد؛ ولـی تفـاوت معنی داری بین یونجه صبح و بعدازظهر بـه لحـاظ تولیـد گـاز وجـود نداشت. روند تولید گاز در یونجه برداشت شده در صبح و بعدازظهر بـا یکدیگر تفاوتی نداشتند (شکل ۲).

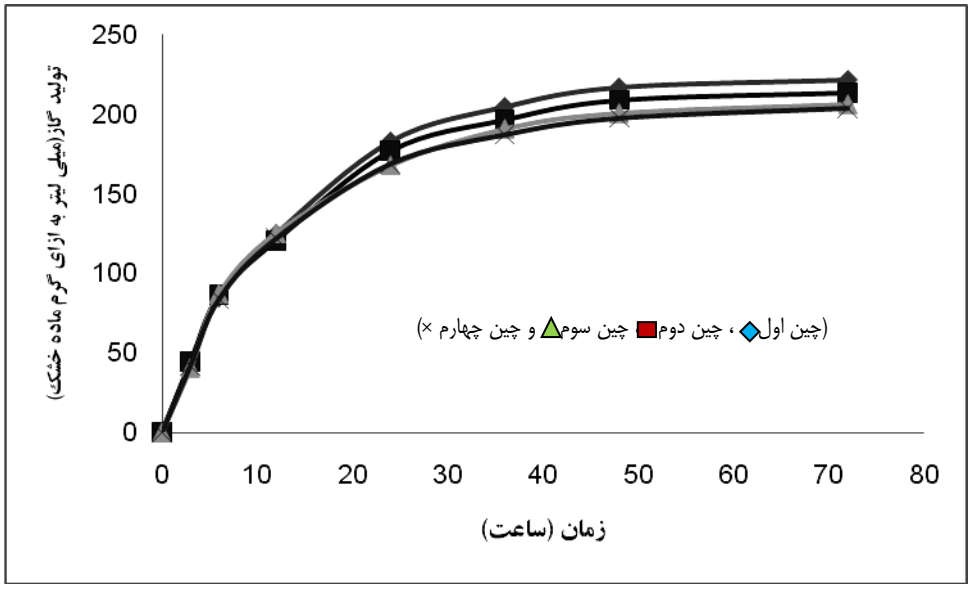
روند تولید گاز در ۲۰ ساعت ابتدایی انجام آزمایش در چین‌هـای مختلف یونجه رونـد یکسـانی دارنـد، ولـی در مراحـل بعـدی انجـام آزمایش، میزان تولید گاز بتدریج در یونجه های برداشت شده در بهـار افزایش می یابد؛ بطوریکه بیشترین میزان تولید گاز (میلی لیتر بـه ازاء گرم ماده خشک) مربوط به چین ۱ می باشد (۲۲۶/۴۸ میلی لیتـر بـه ازاء گرم ماده خشک) و کمترین مقـدار مربـوط بـه چـین ۴ (۲۰۱/۱۵ میلی لیتر به ازاء گرم ماده خشک) می باشد (شکل ۱).

یونجه های برداشت شده در نوبت صبح و بعدازظهر تفاوت معنـی داری به لحاظ فرآسنجه‌های تولید گاز نداشـتند؛ هرچنـد کـه تجزیـه پذیری ماده خشک آزمایشگاهی به لحاظ عددی در یونجـه بعـدازظهر بیشتر از یونجه صبح بـود (۶۷/۲۱ درصـد در یونجـه صـبح و ۶۵/۹۱ درصد در یونجه بعدازظهر). برگ یونجه نسبت به ساقه دارای پروتئین بیشتر، قابلیت هضم بیشتر و فیبر کمتری است (۲۵)، بنـابراین بیشـتر بودن تجزیه پذیری مـاده خشـک آزمایشـگاهی در یونجـه بعـدازظهر احتمالا بدلیل محصول برگ بیشتر و نسبت برگ به یونجـه بـالاتر در یونجه بعدازظهر نسبت به یونجه صبح بود (جدول ۲). نرخ تولیـد گـاز (C) نیز تفاوت معنی داری بین چـین‌هـای مختلـف یونجـه و یونجـه برداشت شده در صـبح و بعـدازظهر نداشـت (بـه ترتیـب P= ۰/۳۳ و P= ۰/۲۴).

جدول ٤- فرآسنجه‌های تولید گاز در محیط انکوباسیون آزمایشگاهی

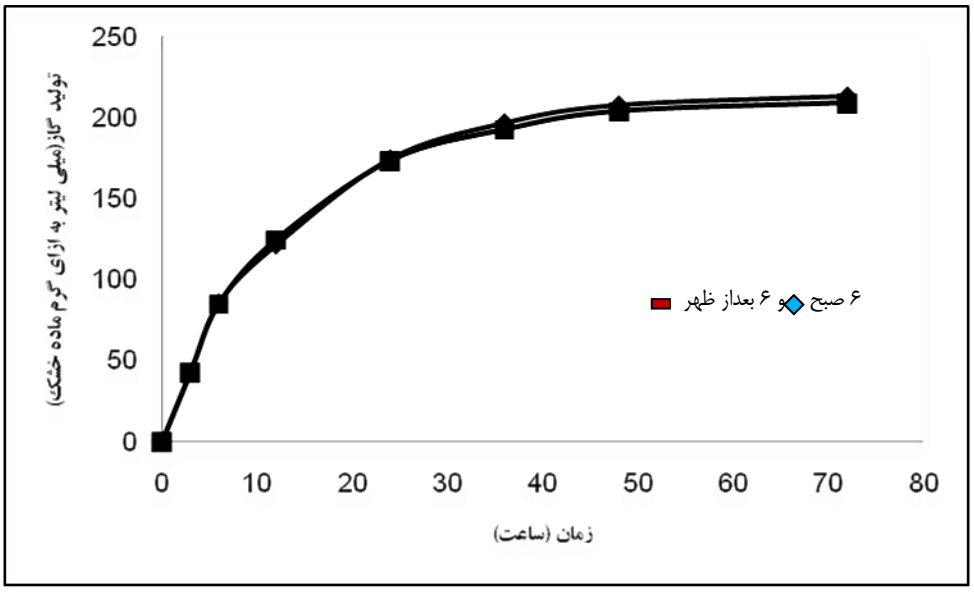
صفت	چین*				SEM	زمان برداشت		SEM	سطح معنی داری	
	۱	۲	۳	٤		صبح	بعداز ظهر		چین	زمان برداشت
کل تولید گاز در ۷۲ ساعت (میلی لیتر به ازای گرم ماده خشک)	۲۲۶/۴۸^{a}	۲۱۲/۷۳^{ab}	۲۰۴/۲۸^{b}	۲۰۱/۱۵^{b}	۴/۲۶۳	۲۱۲/۶۳	۲۰۹/۶۹	۳/۰۱۴	۰/۰۱	۰/۵۱
نرخ تولید گاز (میلی لیتر در ساعت به ازای گرم ماده خشک)	۰/۰۷	۰/۰۷	۰/۰۸	۰/۰۸	۰/۰۰۴	۰/۰۷	۰/۰۸	۰/۰۰۳	۰/۳۳	۰/۲۴
قابلیت هضم ماده آلی (گرم در ۱۰۰ گرم ماده خشک)	۵۱/۱۴^{a}	۵۰/۰۶^{ab}	۴۸/۳۱^{b}	۴۸/۴۴^{b}	۰/۵۸۰	۴۹/۶۵	۴۹/۳۳	۰/۴۱۰	۰/۰۰۸	۰/۵۶
انرژی قابل متابولیسم (مگاژول در کیلوگرم ماده خشک)	۷/۳۱^{a}	۷/۱۵^{ab}	۶/۸۹^{b}	۶/۹۲^{b}	۰/۰۸۷	۷/۰۹	۷/۰۵	۰/۰۶۲	۰/۰۱	۰/۶۱
اسیدهای چرب کوتاه زنجیر (میلی مول)	۰/۸۱^{a}	۰/۷۸^{ab}	۰/۷۴^{b}	۰/۷۴^{b}	۰/۰۱۴	۰/۷۷	۰/۷۷	۰/۰۱۰	۰/۰۱	۰/۶۶
انرژی خالص شیردهی (مگاژول در کیلوگرم ماده خشک)	۴/۱۴^{a}	۴/۰۳^{ab}	۳/۸۶^{b}	۳/۸۵^{b}	۰/۰۶۱	۳/۹۸	۳/۹۵	۰/۰۴۳	۰/۰۱	۰/۶۱
تجزیه پذیری ماده خشک آزمایشگاهی (٪)	۶۷/۳۵	۶۸/۴۴	۶۵/۱۹	۶۵/۲۶	۱/۳۸۳	۶۵/۹۱	۶۷/۲۱	۰/۹۷۸	۰/۵۱	۰/۴۸

* چین های ۱ تا ۴ عبارتند از : ۱- چیده شده در تاریخ ۲۱ و ۱۳۸۹/۲/۲۲، ۲- چیده شده در تاریخ ۲۵ و ۱۳۸۹/۳/۲۶، ۳- چیده شده در تاریخ ۲۳ و ۱۳۸۹/۴/۲۴ و ۴- چیده شده در تاریخ ۲۴ و ۱۳۸۹/۵/۲۵



شکل ۱- روند تولید گاز ۴ چین در محیط انکوباسیون آزمایشگاهی

قابلیت هضم ماده آلی، انرژی متابولیسمی، اسیدهای چرب کوتاه زنجیر و همچنین انرژی خالص شیردهی در چین‌های مختلف دارای روند یکسان بودند؛ بطوریکه چین اول و دوم یونجه بالاترین میزان را داشتند و چین‌های ۳ و ۴ کمترین میزان را داشتند. سالم نیز گزارش کرد، تجزیه پذیری ماده خشک آزمایشگاهی در آکاسیای برداشت شده در زمستان و بهار بیشتر از پاییز و تابستان بود (۲۵). آنها همچنین بیان کردند میزان تولید گاز در آکاسیای برداشت شده در تابستان کمتر از بهار و پاییز بود. آنها نرخ تولید گاز را در گاو، بوفالو و گوسفند در فصول مختلف مورد بررسی قرار دادند و بیان نمودند که در ۱۱ ساعت پس از شروع آزمایش، بیشترین نرخ تولید گاز در همه گونه ها در فصل بهار بود.



شکل ۲- روند تجمعی تولید گاز ۲ زمان برداشت در محیط انکوباسیون آزمایشگاهی

نتیجه گیری

ارزش فراهمی مواد مغذی یونجه های چیده شده در بهـار (چـین های ۱ و ۲) نسبت به یونجه های چیده شده در تابستان (چین‌های ۳ و ۴) افزایش یافت. یونجه های چین ۳ و ۴ حاوی کربوهیدرات هـای ساختمانی بیشتر و پروتئین خام کمتر نسبت به چین‌های ۱ و ۲ بودند. همچنین میزان تولید گاز و فرآسنجه‌هـای تخمیـری از جملـه انـرژی متابولیسمی، انرژی خـالص شـیردهی و قابلیـت هضـم مـاده آلـی در آزمایش تولید گاز در چین‌های ۱ و ۲ نسبت به چین‌های ۳ و ۴ بهبود یافت. همچنین یونجه برداشت شده در بعدازظهر حاوی محصول برگ بیشتر و در نتیجه میزان کربوهیدرات ساختمانی کمتر نسبت به یونجه برداشت شده در صـبح بـود. همچنـین تجزیـه پـذیری مـاده خشـک آزمایشگاهی در آزمایش تولید گاز در یونجه برداشت شده در بعدازظهر نسبت به صبح نیز روند افزایشی داشت. بنـابراین بـا توجـه بـه نتـایج بدست آمده در این آزمایش، به نظر می رسد یونجه اوایل غنچه دهی برداشت شده در فصل بهار و در نوبـت بعـدازظهر دارای ارزش تغذیـه ای بیشتری نسبت به یونجـه اوایـل غنچـه دهـی برداشـت شـده در تابستان و صبح می باشد.

منابع

۱- دلاور، م. ح.، ع، طهماسبی.، ر، ولی زاده. ۱۳۹۱. تأثیر زمان برداشت، طول مدت سیلوکردن و کـاربرد افزودنیهـای میکروبـی بـر مؤلفـه هـای شیمیایی سیلاژ یونجه. پژوهشهای علوم دامی ایران. جلد ۴، شماره ۲، ص . ۱۴۴- ۱۳۷.

۲- یاری، م. ۱۳۹۱. اثر مرحله رشد، زمان چیدن و فصل برداشت بر الگو و قابلیت دسترسی مواد مغذی و ساختار مولکولی یونجه و تـأثیر آن بـر عملکرد گاوهای شیرده هلشتاین. رساله دکتری تغذیه دام، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد.

3- AOAC. 2000. Official methods of analysis.17th ed. Association of official analytical chemists. Washington, DC.

4- Berthiaume, R., C. Benchaar., A. V. Chaves., G. F. Tremblay., Y. Castonguay., A. Bertrand., G. Bélanger., R. Michaud., C. Lafrenière., and A. F. Brito. 2007. Increasing non structural carbohydrates in alfalfa improves in vitro microbial N synthesis. J. Dairy Sci. 90(Suppl. 1):430. (Abstr).

5- Brito, A. F., G. F. Tremblay., A. Bertrand., Y. Castonguay., G. Bélanger., R. Michaud., H. Lapierre., C. Benchaar., H. V. Petit., D. Ouellet., and R. Berthiaume. 2008. Alfalfa cut at sundown improves milk yield of late-lactation dairy cows. J. Dairy Sci. 91:3968–3982.

6- Brito, A. F., G. F. Tremblay., H. Lapierre, A. Bertrand., Y. Castonguay., G. Bélanger., R. Michaud., C. Benchaar., D. R. Ouellet., and R. Berthiaume. 2009. Alfalfa cut at sundown increases bacterial protein synthesis in late-lactation dairy cows. J. Dairy Sci. 92:1092–1107.

7- 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. Crop Sci. 47:2190–2197.

8- Burns, J. C., H. F. Mayland., and D. S. Fisher. 2005. Dry matter intake and digestion of alfalfa harvested at sunset and sunrise. J. Anim. Sci. 83:262–270.

9- Coblentz, W. K., G. E. Brink., N. P. Martin., and D. J. Undersander. 2008. Harvest timing effects on estimates of rumen degradable protein from alfalfa forages. Crop Sci. 48:778–788.

10- Cone, J. W., and A. H.Van Gelder. 2000. Influence of protein fermentation on gas production. In: Gas Production: Fermentation Kinetics for Feed Evaluation and to Assess Microbial Activity. An EAAP Satellite Symposium, British Society of Animal Science and Wageningen University, Wageningen, The Netherlands. 23–24.

11- Elizalde, J. C., N. R. Merchen., and D. B. Faulkner. 1999. Fractionation of fiber and crude protein in fresh forages during the spring growth. J. Anim. Sci. 77:476–484.

12- Hanson, A. A., D. K. Barnes., and R. R. Hill. 1988. Alfalfa and alfalfa improvement. Agronomy no. 29. The American Society of Agronomy, Madison, WI, USA.

13- Huntington, G. B., and J. C. Burns. 2007. Afternoon harvest increases readily fermentable carbohydrate concentration and voluntary intake of gamagrass and switchgrass baleage by beef steers. J. Anim. Sci. 85:276–284.

14- Kalu, B.A., and G.W. Fick. 1981. Quantifying morphological development of alfalfa for studies of herbage quality. Crop Sci. 21:267–271.

15- Kowsar, R., G. R. Ghorbani., M. Alikhani., M. Khorvash., and A. Nikkhah. 2008. Corn silage partially replacing short alfalfa hay to optimize forage use in total mixed rations for lactating cows. J. Dairy Sci. 91: 4755–4764.

16- Lamb, J. F. S., C. C. sheaffer., and A. Debroah. 2003. Population density and harvest maturity effects on leaf and stem yield in alfalfa. Agron. J. 95:635–641.

17- Lee, M. R. F., L. J. Harris., J. M. Moorby., M. O. Humphreys., M. K. Theodorou., J. C. MacRae., and N. D. Scollan. 2002. Rumen metabolism and nitrogen flow to the small intestine in steers offered Lolium perenne containing different levels of water-soluble carbohydrate. Anim. Sci. 74:587–596.

18- Makkar, H. P. S. 2005. In vitro gas methods for evaluation of feeds containing phytochemicals. Anim. Feed Sci. Technol. 123-124:291:302.
19- Menke, K.H., and H. Steingass. 1988. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and gas production using rumen fluid. Anim. Res. Dev. 28:7–55.
20- Merry, R. J., M. R. F. Lee., D. R. Davies., R. J. Dewhurst., J. M. Moorby., N. D. Scollan., and M. K. Theodorou. 2006. Effects of high-sugar ryegrass silage and mixtures with red clover silage on ruminant digestion. 1. In vitro and in vivo studies of nitrogen utilization. J. Anim. Sci. 84:3049–3060.
21- Njidda, A. A., and I. Ikhimioya. 2010. In vitro gas production and dry matter digestibility of semi-arid browses of north eastern nigeria. Slovak J. Anim. Sci. 43:154-159.
22- Ørskov, E.R., and I. Mcdonald. 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. J. Agric. Sci. Cambridge 92: 499–503.
23- Owens, V. N., K. A. Albrecht., R. E. Muck., and S. H. Duke. 1999. Protein degradation and fermentation characteristics of red clover and alfalfa silage harvested with varying levels of total nonstructural carbohydrates. Crop Sci. 39:1873–1880.
24- SAS, 2003. User Guide: Statistics, Version 9.2. SAS institute, Inc., Cary, NC, USA.
25- Salem, A. Z. M. 2005. Impact of season of harvest on in vitro gas production and dry matter degradability of Acacia saligna leaves with inoculums from three ruminant species. Animal Anim. Feed Sci. Technol. 123-124:67–79.
26- Van Soest, P. J. 1994. Nutritional Ecology of the Ruminant. 2nd ed. Cornell University Press, Ithaca, NY.
27- 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. J. Anim. Sci. 19: 5–19.
28- Wilson J. R., B. Deinum., and F. M. Engels. 1991. Temperature effects on anatomy and digestibility of leaf and stem tropical and temperate forage species. Neth. J. Agric. Sci. 39:31−48.
29- Yari, M., R. Valizadeh., A. A. Naserian., G. R. Ghorbani., P. Rezvani Moghaddam., A. Jonker., P. Yu. 2012. Botanical traits, protein and carbohydrate fractions, ruminal degradability and energy contents of alfalfa hay harvested at three stages of maturity and in the afternoon and morning. Anim. Feed Sci. Technol. 172:162–170.