



## بررسی اثر شرایط آب و هوایی بر ارزش تغذیه‌ای، فراسنجه‌های تولید گاز و مولفه‌های تجزیه‌پذیری یونجه کشت شده در دو منطقه کوهستانی و دشتی در مراحل مختلف رشد

ابراهیم ولی<sup>۱</sup>، یوسف مصطفی‌لو<sup>۲</sup>، جواد بیات کوهسار<sup>۳\*</sup>، فرید مسلمی پور<sup>۲</sup>

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گنبد کاووس

۲- استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گنبد کاووس

(تاریخ دریافت: ۹۴/۰۴/۱۰ - تاریخ پذیرش: ۹۶/۱۰/۰۶)

### چکیده

تحقیق حاضر به منظور مقایسه ارزش تغذیه‌ای و فراسنجه‌های تخمیری و تجزیه‌پذیری یونجه مناطق کوهستانی و دشتی در مراحل مختلف رشد (قبل از گلدهی، گلدهی و پس از گلدهی) در چین دوم انجام شد. نمونه‌های یونجه‌ها به صورت تصادفی از یک گونه در چین دوم از دو منطقه کوهستانی (یونجه کوهستانی از مراتع برفچال واقع در مینودشت) و دشتی (یونجه دشتی اطراف شهرستان گنبد کاووس) جمع‌آوری و به آزمایشگاه منتقل شدند. سپس نمونه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد خشک و با الک یک و دو میلی‌متری آسیاب شدند. نتایج نشان داد که یونجه دشتی در مقایسه با یونجه کوهستانی دارای چربی خام، ماده آلی و پروتئین خام پایین‌تری بود. مقدار و نرخ تولید گاز یونجه کوهستانی و دشتی در مراحل مختلف رشد نشان داد که هر دو یونجه (کوهستانی و دشتی) در مرحله قبل از گل‌دهی پتانسیل تولید گاز بالاتری داشتند ( $P < 0.05$ ). از نظر فراسنجه‌های تخمینی نیز بین هر دو یونجه در مراحل مختلف رشد اختلاف معنی‌داری وجود داشت ( $P < 0.05$ ). از نظر فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری، یونجه کوهستانی در مرحله گل‌دهی و نوع دشتی در مرحله پس از گل‌دهی به ترتیب دارای بالاترین و پایین‌ترین مقدار بخش سریع تجزیه ماده خشک بودند. بر اساس نتایج حاصل از ترکیب شیمیایی، یونجه کوهستانی در مقایسه با یونجه دشتی دارای پروتئین خام و چربی خام بالاتر و از خاکستر خام، الیاف نامحلول در شوینده خنثی و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی پایین‌تری برخوردار بود. به طور کلی، می‌توان نتیجه گرفت که شرایط آب و هوایی توانسته است ارزش تغذیه‌ای یونجه کوهستانی را به طور مثبت بهبود دهد.

**واژه‌های کلیدی:** ارزش تغذیه‌ای، شرایط آب و هوایی، مراحل رشد، یونجه

## مقدمه

صحيح متناسب با نیازهای این دام‌ها، تا حد زيادى تابع دقت در تخمین کمیت و کیفیت علوفه مصرف شده است. ترکیب شیمیایی گیاهان علوفه‌ای در شرایط طبیعی تحت تأثیر عواملی همانند توپوگرافی، زمان برداشت، چین و شرایط آب و هوایی قرار می‌گیرند. کاهش ارزش غذایی یونجه با پیشرفت مرحله رشد، به دلیل کاهش غلظت کربوهیدرات‌های محلول و پروتئین خام، افزایش سهم کربوهیدرات‌های ساختمانی و لیگنین در گیاه است (Van Soest, 1994). گزارش شده است که با افزایش مرحله بلوغ، قابلیت هضم ماده خشک و فراسنجه‌های تجزیه پذیرى کاهش می‌یابد (Yari et al., 2012). همچنین در گزارش دیگری، با افزایش بلوغ، محتوای دیواره سلولی و دیواره سلولی بدون همی سلولز افزایش یافت (Kamalak et al., 2005). با توجه به اینکه برآیند عملکرد در کیفیت گیاهان علوفه‌ای، هدف اصلی سیستم‌های تولید علوفه و دام است، لذا با توجه به اینکه عوامل مختلفی بر کیفیت علوفه تأثیرگذار هستند، هدف از این تحقیق بررسی اثر شرایط آب و هوایی و مراحل مختلف رشد بر ارزش تغذیه‌ای، فراسنجه‌های تولید گاز، قابلیت هضم و فراسنجه‌های تخمیری یونجه کشت شده در دو منطقه در مراحل مختلف رشد بود.

## مواد و روش‌ها

جمع‌آوری و آماده‌سازی نمونه: نمونه‌های یونجه با هماهنگی مرکز تحقیقات شهرستان گنبد کاووس از دو منطقه کوهستانی (منطقه برفچال مینودشت، با مختصات جغرافیایی ۵۵ درجه و ۲۵ دقیقه طول شرقی و ۳۱ درجه و ۱۰ دقیقه عرض شمالی از دامنه با ارتفاعی حدود ۱۳۲۰ متر از سطح دریا، حداقل و حداکثر درجه حرارت به ترتیب ۱۳ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد، میانگین بارندگی حدود ۵۲۱ میلی‌متر) و دشتی (اطراف شهرستان گنبد کاووس، با مختصات جغرافیایی ۵۵ درجه و ۱۲ دقیقه طول شرقی و ۳۷ درجه و ۱۶ دقیقه عرض شمالی و ۴۵ متر ارتفاع از سطح دریا، متوسط بارندگی ده ساله در حدود ۴۵۰ میلی‌متر و میانگین دمای سالانه ۲۰ درجه سانتی‌گراد)، جمع‌آوری و به آزمایشگاه منتقل شدند. عمل نمونه‌برداری در سه مرحله از رشد (قبل از گل‌دهی، گل‌دهی و پس از گل‌دهی) و در هر مرحله از قسمت‌های مختلف مزرعه با قطع گیاه از محل ۵ سانتی‌متری سطح خاک انجام شد. سپس

یونجه جزء گیاهان علوفه‌ای خانواده بقولات (پروانه‌آسا) است. این جنس ۶۰ گونه دارد که یک‌سوم آنها چندساله و دو سوم یکساله هستند (Blummel et al., 1997). به طور کلی، یونجه یکی از بهترین نباتات علوفه‌ای به شمار می‌رود زیرا بسیار پر محصول است، غنی از مواد غذایی قابل هضم است و با شرایط مختلف آب و هوایی سازگاری دارد (Brito, 2008). ارزش تغذیه‌ای گیاهان تحت تأثیر عوامل مختلفی مانند آب و هوا، خاک و مرحله رشد گیاه است. در این میان، مرحله رشد گیاه در هنگام برداشت بیشتر از هر عامل دیگری بر کیفیت علوفه تأثیر می‌گذارد، به طوری که با پیشرفت رشد و بالغ شدن گیاه، بافت‌های ساختمانی آن افزایش یافته و در نتیجه مقادیر کربوهیدرات‌های ساختمانی و لیگنین آن افزایش می‌یابد. در مقابل، غلظت پروتئین خام و قابلیت هضم علوفه کاهش می‌یابد (Oberhuber and Kofler, 2000). یونجه در هر چین دارای مراحل مختلفی از رشد است که ترکیبات شیمیایی آن در هر مرحله با مرحله قبل و بعد از آن فرق می‌کند. این گیاه از نظر کلسیم غنی بوده و فسفر آن متوسط است (Sommart and Wanapat, 2000). اهمیت ارزش تغذیه‌ای یونجه باعث شده است که این گیاه زودتر از هر گیاه علوفه‌ای دیگری اهلی شود. یونجه در بین گیاهان علوفه‌ای به علت کیفیت خوب، خوشخوراکی و دارا بودن مواد مغذی مانند کلسیم و مواد پروتئینی اهمیت خاصی پیدا کرده است؛ به طوری که مقدار تولید پروتئین آن بیش از دو تن در هکتار می‌باشد. یونجه در منطقه‌ای که دارای آب و هوای سرد و تابستان‌های گرم و خشک می‌باشد، رشد و تکامل یافته است. این خصوصیات آب و هوایی، با منطقه سازش یونجه در کشور ایران شامل نواحی سردتر یا مناطق غربی کشور منطبق است. نشخوارکنندگان در جیره غذایی خود، معمولاً مقدار زیادی علوفه مصرف می‌کنند. در زراعت گیاهان علوفه‌ای، افزایش عملکرد علوفه از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. اما عملکرد به تنهایی تعیین‌کننده حد مطلوب علوفه نیست و کیفیت علوفه اهمیت بیشتری دارد (میرلوحی و همکاران، ۱۳۷۹). از عوامل مهم تولید در مدیریت گیاهان علوفه‌ای، بالا بودن کیفیت علوفه است. افزایش کیفیت علوفه، موجب افزایش راندمان تغذیه می‌شود. تأمین تغذیه

نمونه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد خشک و با استفاده از توری ۱ میلی‌متری (ترکیبات شیمیایی)، ۱/۵ میلی‌متری (آزمایش‌های تولید گاز و قابلیت هضم) و ۲ میلی‌متری (اندازه‌گیری قابلیت تجزیه-پذیری) آسیاب شدند.

تجزیه شیمیایی: مقدار ماده خشک، خاکستر خام (سوزاندن در کوره الکتریکی)، چربی خام (روش سوکسله) و پروتئین خام (کج‌لدال، شرکت Tecator - کشور سوئد) طبق روش‌های استاندارد (AOAC, 2005) تعیین شدند. الیاف نامحلول در شوینده خنثی و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی بر اساس روش Van Soest *et al.* (1991) بدون استفاده از آمیلاز تعیین شد. مقدار کربوهیدرات‌های محلول در آب بر اساس روش Hedge and (1962) Hofreiter و فنل کل بر اساس روش Malik and (1980) Singh تعیین شد.

تعیین تولید گاز و قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی در شرایط آزمایشگاهی: برای آزمون تولید گاز طبق پیشنهاد Menke and Staingass (1988)، مایع شکمبه از تعداد سه گوسفند دارای فیستولای شکمبه‌ای با میانگین وزن  $45 \pm 2$  کیلوگرم جمع‌آوری شد. حیوانات در سطح نگهداری با جیره حاوی ۷۰ درصد علوفه (یونجه و سیلاژ ذرت به نسبت مساوی) و ۳۰ درصد کنسانتره (جو، کنجاله تخم پنبه، سبوس و مکمل) تغذیه شدند و آزادانه به آب دسترسی داشتند. مقدار ۲۰۰ میلی‌گرم ماده خشک از نمونه‌ها با ۳۰ میلی‌لیتر مخلوط بافر و مایع شکمبه (نسبت ۲ به ۱) در بطری‌های شیشه‌ای ریخته شده و درب آنها با استفاده از درپوش لاستیکی و پوشش آلومینیومی کاملاً بسته و در دمای ۳۹ درجه به مدت ۹۶ ساعت انکوباسیون شدند. به منظور تصحیح گاز تولید شده با منشأ مایع شکمبه، پنج ویال شیشه‌ای بدون نمونه خوراکی و دارای ۳۰ میلی‌لیتر از مخلوط مایع شکمبه و بزاق مصنوعی، به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. برای ایجاد شرایط بی‌هوازی، گاز دی‌اکسید کربن به داخل ویال‌ها تزریق و بعد از درپوش‌گذاری، در حمام آب گرم با دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. فشار گاز تولید شده در فواصل زمانی ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۲، ۲۴، ۳۶، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت بعد از انکوباسیون ثبت شد. مقادیر قابلیت هضم ماده آلی طبق روش Menke *et al.* (1997)، اسیدهای چرب کوتاه زنجیر با استفاده از معادله Makkar

که عامل تفکیک بنا به تعریف برابر است با نسبت میلی-گرم ماده آلی حقیقی هضم شده بر میلی‌لیتر حجم گاز خالص تولیدی. بازده مقدار توده میکروبی با تقسیم توده

پیشنهادی زیر انجام شد (Blummel *et al.*, 1997):  
 (۲/۲ - عامل تفکیک) - نسبت ماده تجزیه شده واقعی = توده میکروبی تولید شده (میلی‌گرم به ازاء گرم ماده خشک)

### نتایج و بحث

ترکیب شیمیایی یونجه‌های کشت شده در شرایط کوهستانی و دشتی در مراحل مختلف رشد در جدول ۱ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که یونجه‌های در مراحل مختلف رشد از نظر چربی خام، ماده آلی، الیاف نامحلول در شوینده خنثی و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی با هم اختلاف معنی‌داری داشتند ( $P < 0.05$ ). هر چند اختلاف بین پروتئین خام، کربوهیدرات‌های غیرالیافی و همی سلولز از نظر آماری با هم معنی‌دار نشد، اما نتایج حاصل در مراحل مختلف رشد (قبل از گل‌دهی، زمان گل‌دهی و بعد از گل‌دهی) روند نزولی نشان داد. درصد ماده آلی بدست آمده در بین تیمارهای مختلف با افزایش مراحل رشد یک روند کاهشی داشت؛ به طوری که در مرحله بعد از گل‌دهی در یونجه دشتی و کوهستانی کمترین میزان را داشت ( $P < 0.05$ ). تفاوت‌های معنی‌داری بین میانگین خاکستر در تیمارهای مورد آزمایش در مراحل مختلف رشد (قبل از گل‌دهی، زمان گل‌دهی و بعد از گل‌دهی) مشاهده شد ( $P < 0.05$ ). از نظر میانگین پروتئین خام در تیمارهای مورد آزمایش اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ( $P > 0.05$ ). Heristov (1998) درصد پروتئین خام یونجه تازه در چین دوم را در مرحله ۱۰ درصد گل‌دهی ۲۱/۸۲ درصد گزارش نمود. در میانگین چربی خام در تیمارهای مورد آزمایش تفاوت‌های معنی‌داری بین تیمارها مشاهده شد ( $P < 0.05$ ). بدیهی است با افزایش سن گیاه، مقادیر پروتئین خام، چربی خام و نیز قابلیت هضم کاهش و میزان الیاف خام، الیاف نامحلول در شوینده خنثی، الیاف نامحلول در شوینده اسیدی و لیگنین افزایش و به دنبال آن ارزش تغذیه‌ای نسبی آن‌ها کاهش می‌یابد (American Society of Agronomy, 1983; Blummel and Becker, 1997). بین دو یونجه کشت شده در دو منطقه کوهستانی و دشتی در مراحل مختلف رشد از نظر الیاف نامحلول در شوینده خنثی هم اختلاف معنی‌داری وجود داشت ( $P < 0.05$ ). درصد الیاف نامحلول در شوینده خنثی با افزایش مراحل رشد یونجه روند افزایشی داشت. با این حال، مقایسه متناظر یونجه منطقه دشتی با یونجه منطقه کوهستانی نشان داد که یونجه منطقه دشتی درصد الیاف نامحلول در شوینده خنثی بالاتری داشت. بیش‌ترین مقدار مربوط به

میکروب تولید شده بر مقدار ماده آلی حقیقی قابل تخمیر در پایان زمان انکوباسیون (۲۴ ساعت) محاسبه شد. داده‌های حاصل با نرم‌افزار SAS (2001) بر اساس مدل آماری  $Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij}$  تجزیه و تحلیل شد. در این مدل  $Y_{ij}$  مقدار مربوط به مشاهده‌های فراسنجه‌های تولید گاز،  $\mu$  میانگین به‌دست آمده،  $T_i$  اثر تیمار و  $e_{ij}$  اثر خطای باقیمانده است.

تجزیه‌پذیری دو نوع یونجه در مراحل مختلف رشد با استفاده از کیسه‌های نایلونی: برای تعیین تجزیه‌پذیری نمونه‌ها، تعداد سه گوسفند دارای فیستولای شکمبه‌ای با میانگین وزن  $45 \pm 2$  کیلوگرم که در حد نگهداری دو بار در روز تغذیه می‌شدند، استفاده شد. نمونه ماده خوراکی با آسیاب مخصوص و با غربال ۲ میلی‌متری آسیاب شد. حدود ۳ گرم از نمونه خوراک در هر کیسه نایلونی (۹×۱۵ سانتی‌متر و قطر منافذ کیسه‌ها بین ۴۵ تا ۵۰ میکرومتر) ریخته شد. کیسه‌های نایلونی از جنس الیاف پلی استر مصنوعی به لوله‌های لاستیکی به قطر ۰/۵ و طول ۲۰ سانتی‌متر متصل شد و از راه فیستولای شکمبه‌ای در داخل شکمبه غوطه‌ور شدند. برای هر زمان در هر دام، دو تکرار (کیسه) در نظر گرفته شد (Olivera, 1998). کیسه‌ها را پس از مدت زمان صفر، ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۲، ۲۴، ۳۶، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت انکوباسیون از شکمبه خارج نموده و جهت توقف فعالیت میکروبی (همچنین نمونه‌های زمان صفر)، کیسه‌ها با آب سرد شستشوی دستی شدند و این عمل تا خروج آب شفاف و زلال ادامه یافت. برای زمان صفر فقط از شستشوی کیسه‌ها در زیر آب جاری استفاده شد. بعد از عمل شستشو، کیسه‌ها جهت خشک شدن به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. تجزیه‌پذیری ماده خشک حاصل از کیسه‌گذاری، پس از تعیین درصد ماده خشک نمونه‌ها قبل و بعد از کیسه‌گذاری مطابق با روش‌های استاندارد، تعیین شد. بخش سریع تجزیه (a)، بخش کند تجزیه (b) و ثابت نرخ تجزیه (c) با استفاده از معادله:

$$P = a + b(1 - e^{-ct})$$

تخمین و تجزیه‌پذیری مؤثر شکمبه (ED) به وسیله فرمول  $ED = a + \{(b \times c) / (c + k)\}$  محاسبه شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی و با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS (2001) انجام شد.

معنی‌داری با هم نداشتند ( $P > 0.05$ )؛ اما با افزایش مراحل رشد یک روند کاهشی داشت که در هر دو یونجه در زمان بعد از گل‌دهی کمترین میزان را داشت. ترکیبات شیمیایی گیاهان علوفه‌ای در شرایط طبیعی تحت تأثیر عواملی همانند ویژگی‌های توپوگرافی (Tefera, 2008)، شرایط آب و هوایی (Theodorou *et al.*, 1994)، زمان برداشت و چین (Gurbuz, 2007) قرار می‌گیرد. به طور کلی مرحله برداشت، نوع خاکی که علوفه در آن کشت می‌شود، شرایط آب و هوایی، دیگر عوامل محیطی و حتی شرایط آزمایشگاهی که ارزش تغذیه‌ای مواد خوراکی در آن تعیین می‌شود می‌تواند دلیل تفاوت ترکیبات شیمیایی مواد خوراکی مشابه در مناطق مختلف باشند (Randy, 2000). مناطقی که نمونه‌های یونجه مورد مطالعه از آنجا جمع‌آوری شدند از لحاظ شرایط آب و هوایی و موقعیت جغرافیایی با هم متفاوت بودند. با توجه به تفاوت شرایط رشد دو نوع یونجه از نظر شرایط جغرافیایی، آب و هوا و خاک دو منطقه (کوهستانی و دشتی)، این شرایط می‌تواند علت تفاوت‌های مشاهده شده در ترکیبات شیمیایی نمونه‌های یونجه مورد استفاده در این مطالعه را تا حدود زیادی توجیه نماید.

یونجه دشتی بعد از گل‌دهی با مقدار ۶۳ درصد و کم‌ترین مقدار مربوط به یونجه کوهستانی قبل از گل‌دهی با مقدار ۵۵ درصد بود. در مطالعات گذشته نشان داده شده است که شرایط آب و هوایی تأثیر بسزایی در مقدار الیاف دارد، به طوری که در مناطق گرم، رشد گیاه سریع‌تر بوده و میزان الیافی شدن آن نیز سریع‌تر اتفاق می‌افتد (Van Soest, 1994). با توجه به تفاوت شرایط آب و هوایی دو منطقه از نظر درجه حرارت، یونجه منطقه دشتی در شرایط دمایی بالاتری رشد کرده است، لذا مقدار الیاف و دیواره سلولی آن بیشتر است. از طرف دیگر طبق مطالعات، افزایش درجه حرارت محیط (در چین دوم) زمان رسیدن گیاه را تسریع کرده و به تبع آن مقدار الیاف خام و چوبی شدن گیاه افزایش و نیز نسبت برگ به ساقه کاهش می‌یابد که سبب کاهش ارزش تغذیه‌ای یونجه می‌شود (Liano and Depeters, 2003). فعالیت‌های آنزیمی مرتبط با سنتز لیگنین نیز به واسطه درجه حرارت بالای هوا افزایش می‌یابد (Van Soest, 1994). همچنین درجه حرارت هوا بر پیوندهای موجود در بافت محتوای دیواره سلولی موثر است. میزان کربوهیدرات‌های محلول دو نوع یونجه در زمان‌های مختلف رشد اختلاف

جدول ۱- ترکیبات شیمیایی و مقدار فنل کل (درصد ماده خشک) دو نوع یونجه کشت شده در شرایط کوهستانی و دشتی در

مراحل مختلف رشد در چین دوم

Table 1. Chemical composition and total phenolic content (percent of DM) of both mountain and plain alfalfa at different stages of growth in the second harvest

|                  | Treatments <sup>1</sup> |                     |                     |                    |                    |                    | SEM   |
|------------------|-------------------------|---------------------|---------------------|--------------------|--------------------|--------------------|-------|
|                  | 1                       | 2                   | 3                   | 4                  | 5                  | 6                  |       |
| DM               | 90.8                    | 91.7                | 92.6                | 90.3               | 92.4               | 91.5               | 0.619 |
| Ash              | 6.80 <sup>d</sup>       | 7.60 <sup>c</sup>   | 8.80 <sup>b</sup>   | 7.0 <sup>d</sup>   | 8.45 <sup>b</sup>  | 10.15 <sup>a</sup> | 0.144 |
| EE               | 4.3 <sup>a</sup>        | 4.5 <sup>a</sup>    | 2.6 <sup>ab</sup>   | 2.3 <sup>ab</sup>  | 2.6 <sup>ab</sup>  | 2.0 <sup>b</sup>   | 0.608 |
| OM               | 93.2 <sup>a</sup>       | 92.4 <sup>ab</sup>  | 91.2 <sup>cd</sup>  | 93.0 <sup>a</sup>  | 91.5 <sup>bc</sup> | 89.8 <sup>d</sup>  | 0.295 |
| CP               | 22.08                   | 21.66               | 18.26               | 21.27              | 21.63              | 19.78              | 1.427 |
| NDF              | 55.0 <sup>c</sup>       | 56.5 <sup>bc</sup>  | 60.0 <sup>c</sup>   | 56.0 <sup>bc</sup> | 61.0 <sup>b</sup>  | 63.0 <sup>a</sup>  | 1.199 |
| ADF              | 31.2 <sup>d</sup>       | 34.5 <sup>cd</sup>  | 42.5 <sup>b</sup>   | 32.7 <sup>cd</sup> | 37.3 <sup>c</sup>  | 51.0 <sup>a</sup>  | 1.324 |
| HEM              | 24.05                   | 22.25               | 21.40               | 23.65              | 24.50              | 16.80              | 1.213 |
| NDS              | 45.0 <sup>a</sup>       | 43.5 <sup>b</sup>   | 40.0 <sup>c</sup>   | 43.6 <sup>b</sup>  | 44.0 <sup>c</sup>  | 37.0 <sup>d</sup>  | 0.695 |
| NDS <sub>c</sub> | 11.78 <sup>a</sup>      | 11.35 <sup>bc</sup> | 10.29 <sup>bc</sup> | 12.05 <sup>b</sup> | 6.26 <sup>bc</sup> | 5.35 <sup>c</sup>  | 1.471 |
| WSC              | 1.56                    | 1.24                | 0.97                | 1.23               | 1.02               | 0.75               | 0.412 |
| Total phenol     | 1.33                    | 1.91                | 1.36                | 1.83               | 1.18               | 1.53               | 0.391 |

<sup>1</sup>Treatments: 1) mountainous Alfalfa before flowering, 2) treatments mountainous Alfalfa flowering, 3) mountainous Alfalfa after flowering, 4) plain Alfalfa before flowering, 5) plain Alfalfa flowering and 6) plain Alfalfa after flowering. DM: Dry Matter, EE: Ether Extract, OM: Organic Matter, CP: Crude Protein, NDF: Non Detergent Fiber, ADF: Acid Detergent Fiber, HEM: Hemicellulose, NDS: Neutral Detergent Soluble (NDS= 100- NDF), NDS<sub>c</sub>: (NDS<sub>c</sub>= NDS-(CP+Ash+CF)), WSC: Water Soluble Carbohydrate.

<sup>a-d</sup>Means in a column with different letters differ significantly ( $P < 0.05$ ).

کوهستانی در مرحله قبل از گل‌دهی تولید گاز بالاتری در مقایسه با سایر تیمارها داشت. اختلاف بین میزان گاز تولیدی یونجه‌های کوهستانی و دشتی ممکن است به دلیل اختلاف در ترکیب شیمیایی آنها باشد. همانطور که در بخش ترکیب شیمیایی مشاهده شد، یونجه‌ها در مرحله قبل از گل‌دهی ماده آلی، پروتئین خام و کربوهیدرات محلول در آب بالاتری و دیواره سلولی کمتری داشتند. از آنجایی که تولید گاز در شرایط شکمبه حاصل فعالیت مستقیم باکتریایی و بخشی به خاطر خنثی شدن اسیدهای چرب فرار تولیدی با بیکربنات موجود در محیط است، می‌توان اختلاف در تولید گاز بین نمونه‌های یونجه را به این خاطر دانست که در یونجه‌های با تولید گاز بالاتر، مقدار سوبسترای قابل تخمیر بیشتری در اختیار میکروارگانیسم‌ها قرار گرفته است. میزان انرژی قابل متابولیسم حاصل از میزان گاز تولیدی در ساعت ۲۴ تیمارها نیز همانند میزان اسیدهای چرب کوتاه زنجیر به طور معنی‌داری در یونجه کوهستانی قبل از گل‌دهی (۲۰/۵۶ مگا ژول) نسبت به سایر تیمارها بیشتر بود (P < ۰/۰۵). بالا بودن انرژی قابل متابولیسم یونجه کوهستانی قبل از گل‌دهی در مقایسه با سایر یونجه‌ها در مراحل مختلف رشد نتیجه نرخ بالاتر تولید گاز و میزان تولید گاز بالاتر در ساعت ۲۴ است.

قابلیت هضم و فراسنجه‌های تخمیری شکمبه‌ای یونجه کشت شده در شرایط کوهستانی و دشتی در شرایط آزمایشگاهی: نتایج مربوط به قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی، بازدهی تولید گاز، عامل تفکیک، تولید توده میکروبی و فراسنجه‌های تخمیری در جدول ۴ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که بین تیمارهای آزمایشی از نظر قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی اختلاف معنی‌داری وجود داشت (P < ۰/۰۵). قابلیت هضم هر دو یونجه با افزایش مراحل رشد به طور معنی‌داری کاهش یافت (P < ۰/۰۵). بازده تولید گاز به طور معنی‌داری تحت تأثیر تیمارها قرار گرفت (P < ۰/۰۵)، به طوری که در مراحل مختلف رشد روند افزایشی داشت. در یونجه کوهستانی با افزایش مراحل رشد، عامل تفکیک روند نزولی داشت. اما به طور کلی یونجه دشتی، عامل تفکیک بالاتری داشت. عامل تفکیک بیان‌کننده نسبت تجزیه واقعی سوبسترا به حجم گاز تولید شده در دوره‌های زمانی انکوباسیون (معمولاً ۲۴ یا ۴۸ ساعت) بوده (Elizade *et al.*, 1999) و شاخصی از

تعیین ارزش تغذیه‌ای یونجه کشت شده در شرایط کوهستانی و دشتی با استفاده از روش تولید گاز: مؤلفه‌های تولید گاز دو نوع یونجه در مراحل مختلف رشد (قبل از گل‌دهی، زمان گل‌دهی و بعد از گل‌دهی) در جدول ۲ نشان داده شده است. مقایسه تولید گاز تجمعی این تیمارها نشان داد که بین نمونه‌های مراحل قبل از گل‌دهی در هر دو نوع یونجه با نمونه‌های سایر مراحل اختلافات معنی‌داری وجود داشت (P < ۰/۰۵). منابع خوراکی که الیاف نامحلول در شوینده خنثی بالایی دارند دارای پتانسیل تولید گاز کمتری هستند و با افزایش نسبت بخش محتوای دیواره سلولی لیگنینی شده، تخمیر کمتر شده و منجر به کاهش تولید گاز می‌شود (Makkar, 2005). افزایش مقدار دیواره سلولی، الیاف نامحلول در شوینده خنثی و اسیدی موجب کاهش کربوهیدرات‌های غیر الیافی و قندهای محلول شده و در نهایت موجب کاهش سهولت هضم و تخمیر و تولید گاز می‌شود (Getachew *et al.*, 2004; Hoy and Brummer, 2002; Madsen and Hvelplund, 1994). اندازه‌گیری گاز تولیدی در شرایط آزمایشگاهی اطلاعات مفیدی را درباره سرعت و میزان هضم خوراک فراهم می‌کند. بکارگیری این تکنیک به منظور تجزیه‌پذیری خوراک‌های الیافی به اثبات رسیده است (Burns and Mayland, 2007). غلظت اسیدهای چرب کوتاه زنجیر حاصل از میزان گاز تولیدی در ساعت ۲۴ تیمارها به ترتیب از تیمار ۱ تا تیمار ۶ عبارت بودند از: ۰/۷۷، ۰/۷۱، ۰/۷۴، ۰/۸۴ و ۰/۸۵ میلی‌مول، که در یونجه کوهستانی قبل از گل‌دهی (۰/۹۲) به طور معنی‌داری نسبت به بقیه تیمارها بیشتر بوده است (P < ۰/۰۵). میزان گاز تولیدی در تمام زمان‌های انکوباسیون و فراسنجه‌های تخمینی گاز تولیدی و همچنین اسیدهای چرب کوتاه زنجیر همبستگی منفی با میزان الیاف نامحلول در شوینده خنثی، الیاف نامحلول در شوینده اسیدی، که کربوهیدرات‌های دیر هضم هستند، داشت. این مطلب توسط محققین دیگر نیز گزارش شده است (Getachew *et al.*, 1998).

روند تولید گاز یونجه‌های کوهستانی و دشتی در ساعت-های مختلف انکوباسیون در جدول ۳ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که در تمام ساعت‌های انکوباسیون، روند تولید گاز در یونجه‌های کوهستانی و دشتی با افزایش مراحل رشد کاهشی بوده است. به طور کلی یونجه

شده است. نتایج نشان داد که یونجه کوهستانی در مرحله گل‌دهی و نوع دشتی در مرحله پس از گل‌دهی به ترتیب دارای بالاترین و پایین‌ترین مقدار بخش سریع تجزیه بودند. با افزایش مراحل رشد، تجزیه‌پذیری مؤثر و پتانسیل تجزیه‌پذیری روند کاهشی داشت. از این نظر یونجه دشتی در مرحله قبل از گل‌دهی و یونجه کوهستانی در مرحله پس از گل‌دهی به ترتیب بالاترین و پایین‌ترین مقادیر تجزیه‌پذیری مؤثر و پتانسیل تجزیه‌پذیری را داشتند. تجزیه‌پذیری مؤثر ماده خشک (ED) یونجه دشتی در مراحل مختلف رشد نسبت به یونجه کوهستانی بیشتر بود و با بلوغ گیاه این عامل در هر دو نوع یونجه کاهش یافت. (Griffin *et al.*, 1994) بیان داشتند که میزان ماده خشک محلول تحت تأثیر ساختمان فیزیکی گیاه، میزان دیواره سلولی، دیواره سلولی بدون همی سلولز، اجزای الیافی و مواد معدنی است، به طوری که هر چه اجزای الیافی بیشتر باشد میزان اجزای محلول کاهش می‌یابد. میزان تجزیه‌پذیری به ترکیبات الیافی و حلالیت بستگی دارد. با افزایش مرحله رشد، مقدار پروتئین خام و محتوی کربوهیدرات‌های محلول کاهش و مقدار فیبر خام، پروتئین دیواره سلولی و پروتئین دیواره سلولی بدون همی سلولز افزایش می‌یابد که می‌تواند بر تجزیه‌پذیری تأثیر داشته باشد (Abarsaji *et al.*, 2008). روند کاهش در بخش b، پتانسیل تجزیه‌پذیری و تجزیه‌پذیری مؤثر در یونجه‌های کوهستانی و دشتی با افزایش مراحل رشد منطقی است؛ چرا که با پیشرفت مرحله رشد، افزایش در لیگنینی شدن گیاه (Cogswell and Kamestra, 1976) و بخش کربوهیدرات‌های ساختمانی (Keserlyngk *et al.*, 1997) اتفاق می‌افتد که این امر باعث طولانی شدن فاز تاخیر (Keserlyngk *et al.*, 1997) و کاهش تجزیه‌پذیری می‌شود.

### نتیجه‌گیری کلی

نتایج نشان داد که شرایط آب و هوایی دو منطقه کوهستانی و دشتی اثر معنی‌داری بر ترکیب شیمیایی، فراسنجه‌های تولید گاز و تجزیه‌پذیری یونجه داشت. با توجه به شرایط دو منطقه کوهستانی و دشتی از نظر وضعیت دمایی و میزان بارندگی و نیز ارتفاع از سطح دریا می‌توان تفاوت در ترکیب شیمیایی و سایر مولفه‌های تجزیه‌پذیری را مربوط به این شرایط دانست.

راندمن ساخت توده میکروبی در شرایط آزمایشگاهی است (Hoffman *et al.*, 1993). بیشتر شدن این شاخص در یونجه دشتی نشان‌دهنده آن است که ماده آلی هضم شده بیشتری به توده میکروبی وارد شده است. محققان بیان نمودند همبستگی مثبتی بین تولید گاز و تولید اسید چرب فرار و همبستگی منفی بین تولید گاز و تولید توده میکروبی وجود دارد (Griffin *et al.*, 1994). در نتیجه یونجه کوهستانی نسبت به یونجه دشتی به علت گاز تولیدی بیشتر (جدول ۲)، دارای عامل تفکیک و به دنبال آن توده میکروبی کمتر بود. مقدار توده میکروبی تولید شده در یونجه کوهستانی با افزایش مرحله رشد، کاهش یافت. در این پژوهش، بین مقدار گاز تولید شده و توده میکروبی تولید شده همبستگی منفی و معنی‌دار ( $P < 0.05$ ) وجود داشت. (Blummel and Orskov, 1993) همبستگی منفی معنی‌داری را بین مقدار تولید گاز و توده میکروبی گزارش نمودند. بالاترین بازده توده میکروبی مربوط به یونجه دشتی و پایین‌ترین بازده مربوط به یونجه کوهستانی بعد از گل‌دهی بود ( $P < 0.05$ ). با اینکه بین تیمارها از نظر pH محیط کشت و غلظت نیتروژن آمونیاکی اختلاف معنی‌داری وجود داشت ( $P < 0.05$ )، اما از روند خاصی تبعیت نمی‌کردند. با این حال مقدار pH محیط کشت بالا بود که می‌توان آن را به خاطر بالا بودن ظرفیت بافری، پروتئین خام و کلسیم یونجه دانست. علت تفاوت در pH محیط کشت در تیمارهای مختلف را می‌توان به تفاوت در شرایط خاک و تفاوت در ترکیب شیمیایی و عناصر معدنی آنها نسبت داد. شاید بتوان علت تفاوت در pH را به تأثیر pH خاک بر قابلیت جذب مواد معدنی به وسیله یونجه مرتبط دانست. بسیاری از مواد معدنی از جمله روی، منگنز، نیکل و کبالت بیشتر برای یونجه قابل جذب هستند که در خاک‌هایی با pH پایین کشت می‌شوند. در مقابل سایر مواد معدنی به ویژه مولیبدن و سلنیوم در خاک‌های با pH بالا بیشتر قابل جذب هستند (and Howard, 1993, Cash).

تعیین میزان تجزیه‌پذیری یونجه کشت شده در شرایط کوهستانی و دشتی به روش کیسه‌های نایلونی: پتانسیل تجزیه‌پذیری، تجزیه‌پذیری مؤثر، بخش سریع تجزیه، بخش کند تجزیه و نرخ تجزیه‌پذیری در یونجه کوهستانی و دشتی در مراحل مختلف رشد در جدول ۵ نشان داده

جدول ۲- مؤلفه‌های تولید گاز یونجه کشت شده در شرایط کوهستانی و دشتی در مراحل مختلف رشد در چین دوم  
Table 2. Components of gas production of mountainous and plain alfalfa at different stages of growth in the second harvest

| Treatments <sup>1</sup> | (a+b) | C     | OMD                 | ME                  | SCFA               |
|-------------------------|-------|-------|---------------------|---------------------|--------------------|
| 1                       | 304.8 | 0.056 | 62.85 <sup>a</sup>  | 20.56 <sup>a</sup>  | 0.92 <sup>a</sup>  |
| 2                       | 266.6 | 0.053 | 56.65 <sup>bc</sup> | 19.40 <sup>bc</sup> | 0.77 <sup>cd</sup> |
| 3                       | 261.7 | 0.047 | 52.95 <sup>d</sup>  | 17.11 <sup>e</sup>  | 0.71 <sup>d</sup>  |
| 4                       | 285.4 | 0.058 | 59.41 <sup>b</sup>  | 19.02 <sup>dc</sup> | 0.85 <sup>ab</sup> |
| 5                       | 278.0 | 0.057 | 59.39 <sup>b</sup>  | 19.79 <sup>b</sup>  | 0.84 <sup>cb</sup> |
| 6                       | 262.6 | 0.048 | 55.45 <sup>dc</sup> | 18.84 <sup>d</sup>  | 0.74 <sup>d</sup>  |
| SEM                     | 4.70  | 0.002 | 1.075               | 0.163               | 0.026              |

<sup>1</sup>Treatments: 1) mountainous Alfalfa before flowering, 2) mountainous Alfalfa flowering, 3) mountainous Alfalfa after flowering, 4) plain Alfalfa before flowering, 5) plain Alfalfa flowering and 6) plain Alfalfa after flowering. (a+b): Gas production potential (ml<sup>-1</sup> g DM). C: Gas production rate (ml<sup>-1</sup> h). OMD: Organic Matter Digestibility (% DM). ME Metabolizable Energy (MjKg<sup>-1</sup> DM). SCFA: Short Chain Fatty Acids (mmol).

<sup>a-d</sup>Means in a column with different letters differs significantly ( $P<0.05$ ).

جدول ۳- تولید گاز دو نوع یونجه کشت شده در شرایط کوهستانی و دشتی در مراحل مختلف رشد در چین دوم در شرایط آزمایشگاهی  
Table 3. *In vitro* gas production (mol g<sup>-1</sup> DM) of mountainous and plain alfalfa at different stages of growth in the second harvest

| Treatments <sup>1</sup> | Incubation time (h) |                      |                     |                      |                     |                      |                     |                      |                      |                     |
|-------------------------|---------------------|----------------------|---------------------|----------------------|---------------------|----------------------|---------------------|----------------------|----------------------|---------------------|
|                         | 2                   | 4                    | 6                   | 8                    | 12                  | 24                   | 36                  | 48                   | 72                   | 96                  |
| 1                       | 29.12 <sup>ab</sup> | 70.75 <sup>a</sup>   | 103.12 <sup>a</sup> | 124.0 <sup>a</sup>   | 155.1 <sup>a</sup>  | 209.12 <sup>a</sup>  | 248.12 <sup>a</sup> | 287.37 <sup>a</sup>  | 306.37 <sup>a</sup>  | 315.5 <sup>a</sup>  |
| 2                       | 26.37 <sup>ab</sup> | 60.80 <sup>abc</sup> | 86.75 <sup>bc</sup> | 104.5 <sup>bc</sup>  | 131.0 <sup>bc</sup> | 175.37 <sup>cd</sup> | 212.5 <sup>bc</sup> | 241.25 <sup>cd</sup> | 266.37 <sup>bc</sup> | 275.6 <sup>bc</sup> |
| 3                       | 23.87 <sup>bc</sup> | 53.62 <sup>bc</sup>  | 76.50 <sup>c</sup>  | 93.12 <sup>c</sup>   | 119.1 <sup>c</sup>  | 162.87 <sup>d</sup>  | 201.25 <sup>c</sup> | 231.75 <sup>d</sup>  | 256.62 <sup>c</sup>  | 266.6 <sup>c</sup>  |
| 4                       | 31.62 <sup>a</sup>  | 72.00 <sup>a</sup>   | 102.50 <sup>a</sup> | 120.25 <sup>ab</sup> | 145.5 <sup>ab</sup> | 194.37 <sup>ab</sup> | 235.25 <sup>a</sup> | 264.12 <sup>ab</sup> | 287.0 <sup>ab</sup>  | 297.2 <sup>ab</sup> |
| 5                       | 27.00 <sup>ab</sup> | 37.65 <sup>ab</sup>  | 93.25 <sup>ab</sup> | 113.0 <sup>ab</sup>  | 144.8 <sup>ab</sup> | 190.37 <sup>bc</sup> | 228.0 <sup>ab</sup> | 256.5 <sup>bc</sup>  | 278.6 <sup>bc</sup>  | 288.2 <sup>bc</sup> |
| 6                       | 18.41 <sup>c</sup>  | 49.50 <sup>c</sup>   | 75.87 <sup>c</sup>  | 94.3 <sup>c</sup>    | 124.6 <sup>c</sup>  | 169.5 <sup>d</sup>   | 206.0 <sup>c</sup>  | 235.75 <sup>d</sup>  | 257.6 <sup>c</sup>   | 267.5 <sup>c</sup>  |
| SEM                     | 2.22                | 4.10                 | 4.94                | 5.41                 | 5.12                | 5.98                 | 6.63                | 6.81                 | 7.05                 | 7.23                |

<sup>1</sup>Treatments: 1) mountainous Alfalfa before flowering, 2) mountainous Alfalfa flowering, 3) mountainous Alfalfa after flowering, 4) plain Alfalfa before flowering, 5) plain Alfalfa flowering and 6) plain Alfalfa after flowering.

<sup>a-d</sup>Means in a column with different letters differs significantly ( $P<0.05$ ).

جدول ۴- تعیین میزان قابلیت هضم و فراسنجه‌های تخمیری دو نوع کشت شده در شرایط کوهستانی و دشتی در مراحل مختلف رشد در چین دوم

Table 4. Determination of digestibility and fermentation parameters of both mountain and plain alfalfa at different stages of growth in the second harvest

| Treatments <sup>1</sup> | Gas yield <sub>24</sub> | IVDOD              | IVOMD             | PF                 | MB                  | EMB               | N-NH <sub>3</sub> | 6.69 <sup>b</sup>  |
|-------------------------|-------------------------|--------------------|-------------------|--------------------|---------------------|-------------------|-------------------|--------------------|
| 1                       | 246.89 <sup>ac</sup>    | 56.8 <sup>ab</sup> | 54.4 <sup>a</sup> | 3.62 <sup>ab</sup> | 126.6 <sup>b</sup>  | 0.45 <sup>a</sup> | 21.2 <sup>a</sup> | 6.71 <sup>ab</sup> |
| 2                       | 285.59 <sup>b</sup>     | 46.4 <sup>c</sup>  | 42.8 <sup>c</sup> | 3.01 <sup>c</sup>  | 91.3 <sup>c</sup>   | 0.38 <sup>b</sup> | 16.5 <sup>d</sup> | 6.74 <sup>a</sup>  |
| 3                       | 336.04 <sup>a</sup>     | 36.0 <sup>d</sup>  | 30.5 <sup>d</sup> | 2.32 <sup>d</sup>  | 47.6 <sup>d</sup>   | 0.25 <sup>c</sup> | 19.6 <sup>b</sup> | 6.72 <sup>ab</sup> |
| 4                       | 222.89 <sup>c</sup>     | 56.4 <sup>b</sup>  | 53.7 <sup>a</sup> | 3.99 <sup>a</sup>  | 146.6 <sup>ab</sup> | 0.51 <sup>a</sup> | 16.1 <sup>e</sup> | 6.68 <sup>b</sup>  |
| 5                       | 227.51 <sup>c</sup>     | 61.2 <sup>a</sup>  | 58.0 <sup>a</sup> | 3.83 <sup>ab</sup> | 155.6 <sup>a</sup>  | 0.50 <sup>a</sup> | 17.7 <sup>c</sup> | 6.72 <sup>ab</sup> |
| 6                       | 236.36 <sup>c</sup>     | 53.2 <sup>b</sup>  | 48.2 <sup>b</sup> | 3.46 <sup>b</sup>  | 126.6 <sup>b</sup>  | 0.48 <sup>a</sup> | 15.5 <sup>f</sup> | 0.014              |
| SEM                     | 8.648                   | 0.015              | 0.016             | 0.163              | 7.69                | 0.021             | 0.011             | 6.69 <sup>b</sup>  |

<sup>1</sup>Treatments: 1) mountainous Alfalfa before flowering, 2) mountainous Alfalfa flowering, 3) mountainous Alfalfa after flowering, 4) plain Alfalfa before flowering, 5) plain Alfalfa flowering and 6) plain Alfalfa after flowering. Gas yield<sub>24</sub>: Gas production in 24h (ml g<sup>-1</sup> DM), IVDOD: *In vitro* Dry Matter Digestibility (%), IVOMD: *In vitro* Organic Matter Digestibility (%), PF: Partitioning Factor (mg OM truly degraded/ml gas produced in 24 h), MB: Microbial Biomass (mg/g incubated feed), EMB: Efficiency Microbial Biomass, N-NH<sub>3</sub>: Ammonia (mg/dl).

<sup>a-d</sup>Means within a column that do not have a common superscript are significantly different ( $P<0.05$ ).

جدول ۵- ضرائب تجزیه پذیری، پتانسیل تجزیه پذیری و تجزیه پذیری مؤثر ماده خشک یونجه کشت شده در شرایط کوهستانی و دشتی

Table 5. Coefficient degradability, potential degradability and effective degradability of dry matter of alfalfa mountain and plain

| Treatments <sup>1</sup> | Degradability parameters |                    |                    | PD                 | ED                  |
|-------------------------|--------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|---------------------|
|                         | a                        | b                  | c                  |                    |                     |
| 1                       | 24.28 <sup>b</sup>       | 53.58 <sup>a</sup> | 7.95 <sup>a</sup>  | 77.88 <sup>a</sup> | 61.93 <sup>ab</sup> |
| 2                       | 25.99 <sup>a</sup>       | 45.81 <sup>b</sup> | 5.93 <sup>ab</sup> | 64.20 <sup>c</sup> | 52.22 <sup>bc</sup> |
| 3                       | 24.29 <sup>b</sup>       | 38.74 <sup>d</sup> | 4.63 <sup>b</sup>  | 63.00 <sup>c</sup> | 47.81 <sup>bc</sup> |
| 4                       | 24.28 <sup>ab</sup>      | 55.25 <sup>a</sup> | 7.87 <sup>a</sup>  | 79.93 <sup>a</sup> | 64.68 <sup>a</sup>  |
| 5                       | 22.22 <sup>c</sup>       | 48.39 <sup>b</sup> | 7.36 <sup>ab</sup> | 70.44 <sup>b</sup> | 56.24 <sup>b</sup>  |
| 6                       | 21.59 <sup>c</sup>       | 42.94 <sup>c</sup> | 7.95 <sup>a</sup>  | 64.34 <sup>c</sup> | 52.79 <sup>bc</sup> |
| SEM                     | 0.0054                   | 0.0101             | 0.0077             | 2.54 <sup>c</sup>  | 3.72                |
| P Value                 | 0.0068                   | 0.0002             | 0.124              | 0.016              | 0.024               |

<sup>1</sup>Treatments: 1) mountainous Alfalfa before flowering, 2) mountainous Alfalfa flowering, 3) mountainous Alfalfa after flowering, 4) plain Alfalfa before flowering, 5) plain Alfalfa flowering and 6) plain Alfalfa after flowering. Means within a column with different superscript differ significantly ( $P < 0.05$ ).

a: the soluble dry matter (%) which is rapidly washed out of the bags and is assumed to be completely degradable, b: the proportion (%) of insoluble DM which is potentially degradable by microorganism, c: the degradation rate (%) of fraction b per hour, PD: The effective degradability (%) of samples calculated at a ruminal out flow rate (r) of 0.02/h, ED: Effective degradability of DM.

## فهرست منابع

میرلوحی ا.، بزرگوار ن. و بصیری م. ۱۳۷۹. اثر مقادیر مختلف کود ازته بر رشد، عملکرد و کیفیت سیلویی سه هیبرید سورگوم علوفه‌ای.

علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی، ۴(۲): ۱۱۶-۱۰۵.

- Abarsaji G. H., Shahi G. H. and Passandi M. 2008. Forage quality of *Hedysarum coronarium* at phenological stages. *Journal of Research and Development*, 78: 51-55.
- American Society of Agronomy. 1983. Multiple cropping ASA. Special Publication, No. 27.
- AOAC. 2005. Official Methods Of Analysis. Vol. 1. No. 1.18<sup>th</sup> ed. Association of Official Analytical chemists Washington, D.C.
- Blummel M., Makkar H. P. S. and Becker K. 1997. *In vitro* gas production: a technique revisited. *Journal of Animal and Physiology and Animal Nutrition*, 77: 24-34.
- Brito F., Tremblay G. F., Bertrand A., Castonguay Y., Belanger G., Michaud R., 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*, 91: 3968-3982.
- Broderik G. A. and Kang J. H. 1980. Automated simultaneous determination of ammonia and total amino acids in ruminal fluid and *in vitro* media. *Journal of Dairy Science*, 63: 64-75.
- Burns J. C., Fisher D. S. and Mayland H. F. 2007. Diurnal shifts in nutritive value of alfalfa harvested as hay and evaluated by animal intake and digestion. *Crop Science*, 47: 2190-2197.
- Cash D. and Howard F. 1993. Alfalfa Hay Quality Testing. Plant and soil science Department. Msu. Bozeman MT 59717.
- Cogswell C. and Kamestra L. D. 1976. The stage of maturity and its effect on the chemical composition of four native range species. *Journal of Range Manage*, 29: 460-463.
- Elizade J. C., Merchen N. R. and Faulkner O. B. 1999. *In situ* dry matter and crude protein degradation of fresh forages during the spring growth. *Journal of Dairy Science*, 82: 1978-1990.
- Getachew G., Blummel M., Makkar H. P. S. and Becker K. 1998. *In vitro* gas measuring techniques for assessment of nutritional quality of feeds: a review. *Animal Feed Science and Technology*, 72: 261-281.
- Getachew G., Depeters E. J. and Robinson P. H. 2004. *In vitro* gas production provides effective method for assessing ruminant feeds. *California Agriculture*, 58(1): 54-58.
- Ghanbari A. 2007. Study of nutrients and changes in energy metabolism and the dominant plants in three stages. M.Sc. Thesis, Islamic Azad University, Shabestar, 102 pp.
- Griffin T. S., Cassida K. A. and Hesterman S. R. 1994. Alfalfa maturity and cultivar effects on chemical and *in situ* estimates of protein degradability. *Journal of Crop Science*, 34: 1654-1661.
- Gurbuz Y. 2007. Determination of nutritive value of leaves of several vitis vinifera varieties as a source of alternative feedstuff for sheep using *in vitro* and *in situ* measurements. *Small Ruminant Research*, 71: 59-66.

- Hedge J. E. and Hofreiter B. T. 1962. In: Carbohydrate Chemistry 17 (Eds Whistle RL and Be Miller, JN) Academic Press, New York. 46: 3590-3595.
- Heristov A. N. 1998. Nitrogen fraction and *In sacco* dry matter and crude protein degradability of fresh and frozen alfalfa. Animal Feed Science and Technology, 71: 351-355.
- Hoffman P. C., Sievert S. J., Shaver R. D., Welch, D. A. and Combs, D. K. 1993. *In situ* dry matter, protein and fiber degradation of perennial forages. Journal of Dairy Science, 76: 2632-2642.
- Hoy M., Kenneth D., George R. and Brummer E. 2002. Alfalfa yield and quality as influenced by establishment method. Agronomy Journal, 94: 65-71.
- Kamalak A., Canbolat O., Gurbuz Y., Erol A. and Ozay O. 2005. Effect of maturity stage on the chemical composition, *in vitro* and *in situ* degradation of tumbleweed hay (*Gundelia tuonefortii* L.). Small Ruminant Research, 58: 149-156.
- Karnstra L. D. 1983. Seasonal change in quality of some important range grasses. Journal of Range Management, 26: 286-291.
- Keyserlingk von M. A. G., Swift M. L., Puchala R. and Shelford J. A. 1997. Degradability characteristics of dry matter and crude protein of forages in ruminants. Journal of Animal Feed Science and Technology, 57: 291-311.
- Madsen J. and Hvelpund T. 1994. Prediction of *In situ* protein digestibility in the rumen-results of a European ringtest. Livestock Production Science, 39: 201-212.
- Makkar H. S. P. 2004. Recent advances in the *in vitro* gas method for evaluation of nutritional quality of feed resources. Assessing quality and safety of animal feeds. FAO, 160:55-86.
- Makkar H. P. S. 2005. *In vitro* gas methods for evaluation of feeds containing phytochemicals. Animal Feed Science and Technology, 123: 291-302.
- Malick C. P. and Singh M. B. 1980. In plant enzymology and histo enzymology, Kalyani Publishers, New Dehli.
- Menke K. H. and Staingass H. 1988. Estimation of energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. Animal Research Development, 28: 7-55.
- Oberhuber W. and Kofler W. 2000. Topographic influences on radial growth of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) at small spatial scales. Plant Ecology, 146: 231-240.
- Olivera R. M. P. 1998. Use of *in vitro* gas production technique to assess the contribution of both soluble and insoluble fraction on the nutritive value of forages. A thesis to the University of Aberdeen, Scotland, in partial fulfillment of the degree of Master of Science in animal nutrition.
- Randy G. and Kaol G. L. 2000. Minimizing hay losses and waste. North Dakota state University.
- Sommart K., Parker D. S., Rowlinson P. and Wanapat M. 2000. Fermentation characteristics and microbial protein synthesis in an *in vitro* system using cassava, rice straw and dried ruzi grass as substrates. Asian-Australasian Journal of Animal Science, 13: 1084-1093.
- Tefera S. 2008. Chemical composition and *in vitro* ruminal fermentation of common tree forages in the semi-arid rangelands of Swaziland. Animal Feed Science and Technology, 142: 99-110.
- Theodorou M. K., Williams B. A., Dhanoa M. S., McAllan A. B. and France J. 1994. A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. Animal Feed Science and Technology, 48: 185-197.
- Van Soest P. J., Robertson J. B. and Lewis B. A. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and non-starch carbohydrates in relation to animal nutrition, Journal of Dairy Science, 74: 3583-3597.
- Van Soest P. J. 1994. Nutritional Ecology of the Ruminant. third ed. Cornell University Press, Ithaca, NY, USA.
- Yari M., Valizadeh R., Naserian A. A., Ghorbani G. R., Rezvani Moghadam P., Jonker A. and Yu P. 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. Animal Feed Science and Technology, 172: 162-170.



## Assessing effect of climate conditions on nutritive value, gas production and degradability parameters of cultivated alfalfa in two regions of mountainous and low land at different growth levels

E. Vali<sup>1</sup>, Y. Mostafaloo<sup>2</sup>, J. Bayatkouhsar<sup>2\*</sup>, M. Moslemipoor<sup>2</sup>

1. Former MSc. Student of Animal Science Department, Faculty of Agriculture Science and Natural Resources, Gonbad Kavous University, Gonbad, Iran

2. Assistant Professor of Animal Science Department, Faculty of Agriculture Science and Natural Resources, Gonbad Kavous University, Gonbad, Iran

(Received: 01-07-2015 – Accepted: 27-12-2017)

### Abstract

A study was conducted in order to compare the nutritive value, fermentation and degradability parameters of mountainous and plain alfalfa areas at different growth stages (before flowering, flowering and after flowering) at secondary harvest in four experiments. Alfalfa samples were randomly taken from a second species of the mountainous region (Mountain alfalfa meadows of Barfchal in Minoodasht) and plain (alfalfa plain around the Gonbad Kavous) collected and then transferred to the laboratory. The samples were dried for 48 h at 65°C and with a two-millimeter sieve were milled. Results showed that mountainous alfalfa compared with plain alfalfa had higher ether extract, organic matter and crude protein. Extent and rate of gas production were highest at before flowering stage in both mountainous and plain Alfalfa ( $P < 0.05$ ). Mountainous alfalfa at flowering stage and plain alfalfa at after flowering stage had highest and lowest quickly degradable fraction of dry matter ( $P < 0.05$ ). Results from this experiment showed crude protein and ether extract were higher and ash, ADF and NDF were lower in mountainous alfalfa than plain alfalfa. Generally, it was concluded that climatic conditions could be improved positively nutritive value of mountainous alfalfa compared with plain alfalfa.

**Keywords:** Nutritive value, Climatic conditions, Growth stages, Alfalfa

\*Corresponding author: javad\_bayat@yahoo.com