نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد ۷، شماره ۴، زمستان ۱۳۹۴، ص. ۴۳۶-۴۲۸

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 7, No. 4, Winter 2016, p. 428-436

ارزیابی ترکیب شیمیایی، گوارش پذیری وکیفیت پروتئین علوفه تاج خروس در دو مرحله برداشت

پوریا احسانی[1*]- حسن فضایلی[2]- کیوان کرکودی[3]- اردلان مهرانی[4]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۰۴/۲۷
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۰۸/۱۱

چکیده

در این پژوهش ترکیبات شیمیایی ، قابلیت هضم، اجزای پروتئین بر اساس CNCPS و مواد ضد مغذی علوفه حاصل از دو رقم گیاه تاج خروس که در شرایط یکسان کشت وطی دو مرحله متوالی برداشت گردید، در قالب طرح کاملاً تصادفی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که میانگین خاکستر خام، الیاف نامحلول در شوینده خنثی، الیاف نامحلول در شوینده اسیدی، لیگنین، کلسیم، فسفر، منیزیم و پتاسیم به ترتیب؛ ۱۵/۴۴، ۴۰/۸۵، ۲۷/۹۰، ۵/۰۶، ۱/۵۵، ۰/۲۵، ۰/۲۸ و ۱/۴۸ درصد در ماده خشک بود. همچنین میانگین ماده خشک گوارش پذیر، ماده آلی گوارش پذیر و ماده آلی گوارش پذیر در ماده خشک، با روش برون تنی (آزمایشگاهی) به ترتیب ۶۰/۱۹، ۵۸/۱۶ و ۴۹/۰۹ درصد محاسبه گردید. از نظر گوارش پذیری تفاوت بین ارقام مرحله برداشت و نیز اثر متقابل رقم در مرحله برداشت معنی‌دار نبود. میزان پروتئین خام در دو رقم علوفه تاج خروس ۱۴/۷۲ درصد ماده خشک و مقادیر پروتئین حقیقی، پروتئین محلول و بخش‌های A، B1، B2، B3 و C به ترتیب برابر ۵۹/۵۲، ۴۲/۷۱، ۴۰/۴۸، ۲/۲۴، ۳۴/۱۹، ۱۶/۰۹ و ۷/۰۱ درصد از پروتئین خام و نیتروژن غیر پروتئینی ۹۴/۵۵ درصد از کل پروتئین محلول محاسبه گردید. انرژی قابل متابولیسم ۲/۵۶ مگاکالری در کیلوگرم ماده خشک برآورد شد. همچنین مقادیر نیترات و اگزالات، به طور میانگین در دو رقم علوفه مزبور به ترتیب ۰/۳۴ و ۵/۳۷ درصد در ماده خشک اندازه‌گیری شد. به طور کلی نتیجه گرفته شد که با توجه به ارزش تغذیه ای و ضرایب هضمی بالای تاج خروس و همچنین مواد ضد مغذی پایین تر از حد خطرناک برای دام در آزمایش حاضر، می توان از آن به عنوان علوفه ای با کیفیت در تغذیه نشخوار کنندگان استفاده نمود.

واژه‌های کلیدی: علوفه تاج خروس، گوارش پذیری، مرحله برداشت، CNCPS.

مقدمه

تاج خروس گیاهی شبه غله از خانوادهٔ *Amaranthacea* است. این گیاه عموماً پرطاقت، علفی، با رشد سریع بوده، و اغلب به صورت علف هرز می روید (۳۱). جنس *Amaranthus* حدود ۶۰ گونه را شامل می شود که تا کنون تعداد محدودی از آن ها اهلی شده و به صورت زراعی مورد کشت قرار گرفته اند(28-). ساختار فیزیولوژیکی و آناتومیکی و متابولیسم C_4 در این گیاه موجب افزایش کارایی مصرف دی اکسیدکربن تحت دامنه وسیعی از شرایط حرارتی و رطوبتی شده است (۲۸ و ۳۰). بعضی از گونه های تاج خروس دارای استعداد بالایی در تولید علوفه هستند. در عین حال، مانند سایر گیاهان علوفه ای، میزان تولید علوفه آن بسته به گونه و شرایط زراعی متغیر است (۲۴ و ۲۹). سرعت رشد و محتوای بالای پروتئین خام و سلولز پایین، این گیاه را به علوفه ای با کیفیت تبدیل می کند (۲۷). نتایج تحقیقات انجام شده در مورد تعیین ارزش تغذیه ای گیاه تاج خروس و کاربرد آن در تغذیه دام در بعضی کشورها، انگیزه گسترش پژوهش هایی در زمینه اصلاح نژاد و توسعه این گیاه را به منظور تولید علوفه فراهم نموده است به صورتی که در بعضی از کشور ها موسسهٔ ویژه ای در این رابطه ایجاد شده است. اخیراً در ایران نیز چند رقم از گیاه مزبور مورد کشت قرار گرفته است که در این راستا، پژوهش های اساسی بر روی کیفیت ارقام علوفه ای آن ضروری به نظر می‌رسد. بدین منظور، پژوهش حاضر با هدف ارزیابی گوارش پذیری، ترکیبات شیمیایی وکیفیت پروتئین علوفه تاج خروس، در دو مرحله برداشت، با روش های برون تنی انجام گرفت.

۱- دانشجوی دکترای تغذیه دام، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری،
۲- استاد موسسه تحقیقات علوم دامی کشور،کرج،
۳- دانشیار دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ساوه،
۴- مربی موسسه تحقیقات اصلاح بذر و نهال،کرج.
(* نویسنده مسئول: (p.ehsani@gmail.com

Archive of SID
www.SID.ir

مواد و روش ها

در این پژوهش دو رقم گیاه تاج‌خروس با نام های خارکوف[1] و بی نام که از این پس به ترتیب به نام رقم‌های ۱و ۲ آورده می‌شوند (ارقام از گونه *هایپوکوندریاکوس*[2] می‌باشند) در مزرعه مؤسسهٔ تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر واقع در کرج کشت گردید. از علوفه تولیدی، طی دو مرحله برداشت یکی قبل از گلدهی و دیگری بعد از تشکیل بذر در سطح ۳/۵ متر مربع در هر کرت آزمایشی برداشت شد. علوفه برداشت شده توزین و در آفتاب خشک گردید. جهت تعیین ارزش تغذیه ای، از هر کرت نمونه های جداگانه تهیه شد و پس از خشک و آسیاب نمودن، مورد بررسی های آزمایشگاهی قرار گرفت. مقدار ماده خشک در آون با دمای ۷۵ درجه به مدت ۴۸ ساعت تعیین گردید. ترکیبات شیمیایی با روش تجزیه تقریبی تعیین شد. مقدار ماده خشک نمونه‌ها با استفاده از آون، در حرارت ۶۵ درجه سانتیگراد، برای مدت ۴۸ ساعت، تعیین شد. خاکستر خام با سوزاندن در کوره الکتریکی، پروتئین خام با استفاده از دستگاه کلدال[3] طبق روشهای استاندارد (۶) تعیین شد.

عناصر معدنی اندازه گیری شده ، شامل عناصر پرمصرف کلسیم، منیزیم، پتاسیم بود. به منظور تعیین عناصر معدنی مذکور، ابتدا عصاره هضمی تهیه شد و سپس عناصر مختلف، در این عصاره تعیین گشت (۶). عناصرکلسیم، پتاسیم، منیزیم، مس، آهن، منگنز، با دستگاه جذب اتمی[4] و به ترتیب با طول موج‌های ۴۲۲/۷ ، ۷۶۹/۹ ، ۲۸۵/۲، نانومتر قرائت شد. و عنصر فسفر نیز با دستگاه اسپکتروفتومتر[5] در طول موج ۴۴۰ نانومتر قرائت شد.

الیاف نامحلول در شوینده خنثی و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی نیز به ترتیب مطابق روش استاندارد (۳۳) و (۱۲) اندازه‌گیری شد. گوارش پذیری برای ماده خشک، ماده آلی و گوارش پذیری ماده آلی در ماده خشک به روش هضم دو مرحله‌ای (32-۳۲) اندازه‌گیری شد.

انرژی قابل سوخت و ساز علوفه تاج خروس از رابطه زیر به دست آمد (۴):

ME (MJ/kg DM) = OMD (g/kg DM) × 0.0157×0.2391

بخشهای مختلف پروتئین بر اساس سیستم کربوهیدرات و پروتئین خالص کورنل[6]

در این مدل پروتئین خام خوراک به ۵ قسمت (A، B_1، B_2، B_3 و C) تقسیم می شود که این ۵ بخش سرعت های تجزیه‌ای متفاوتی در شکمبه دارند. در این روش برای تعیین مقدار پروتئین A که همان نیتروژن غیر پروتئینی می باشد از روش تانگستیک اسید[7] استفاده شد بخش A درصدی از پروتئین خام است که در زمان صفر به شکل محلول در می آید و فرض می شود که سریعاً تجزیه می‌گردد (۱۶). برای تعیین نیتروژن نامحلول در شوینده اسیدی[8] یا بخش C پروتئین ابتدا روش تعیین ADF انجام شد (۱۲)، باقیمانده ADF برای تعیین میزان نیتروژن، به دستگاه کلدال منتقل شد. مقدار نیتروژن نامحلول در شوینده اسیدی، به صورت درصدی از کل نیتروژن یا پروتئین خام، بیان می گردد که همان بخش C است و کاملاً غیر قابل تجزیه در نظر گرفته می شود (۷). بخش B بقیه پروتئین خام است و شامل پروتئین هایی است که بالقوه قابل تجزیه است. جهت برآورد پروتئین حقیقی محلول یا بخش B1 پروتئین ابتدا کل پروتئین نامحلول، با استفاده از روش بافر بورات – فسفات (۱۵)، اندازه گیری شد و سپس با کم کردن این مقدار از کل پروتئین خام، پروتئین محلول که شامل بخشهای A و B1 است محاسبه گردید. پروتئین حقیقی محلول (بخش B_1)، با کم کردن بخش نیتروژن غیر پروتئینی از کل پروتئین محلول، به دست آمد (۷). همچنین جهت تعیین نیتروژن نامحلول در شوینده خنثی[9] یا پروتئین B_3 تمام مراحل آزمایش مانند بخش (فوق) می باشد، با این تفاوت که از محلول شوینده خنثی بجای محلول شوینده اسیدی استفاده می‌شود (۳۴) به عبارت دیگر بخش B_3 یا پروتئین با سرعت تجزیه پذیری پائین از طریق کسر کردن مقدار نامحلول در شوینده اسیدی از مقدار پروتئین نامحلول در شوینده خنثی به دست می آید. مقدار پروتئین بخش B2 نیز با کم کردن سایر بخشها از کل پروتئین خام محاسبه شد:

$$\text{پروتئین بخش } B_2 = CP - (A + B_1 + B_3 + C)$$

دامنه های سرعت تجزیه که برای ۳ بخش B گزارش شده اند عبارتند از: B_1 (۱۲۰ تا ۴۰۰ درصد در ساعت)، B_2 (۳ تا ۱۶ درصد در ساعت) و B_3 (۰/۰۶ تا ۰/۵۵ درصد در ساعت).

ارزیابی مواد ضد مغذی

دو ماده ضد مغذی نیترات و اگزالات نیز اندازه گیری شد. نیترات به روش کالریمتری بعد از احیاء (روش دی آزو) اندازه‌گیری شد (۸). یونهای نیترات در مجاورت پودر روی، به فرم نیتریت احیاء می شوند. وجود یون هیدروژن در این واکنش، ضروری است. جهت جلوگیری از احیاء بیشتر، از ترکیبات بافری استفاده شد. یونهای نیتریت، با نمک

1- *Kharkof*
2- *A. hypochondriacus*
3- Kjeltec Auto Analyzer 1030
4- Atomic Absorption Spectrometer GBC 932plus AB
5- Spectrophotometer JENWAY 6300
6- Cornell Net Carbohydrate & protein System
7- Tungestic Acid
8- Acid Detergent Insoluble Nitrogen « ADIN »
9- Neutral Detergent Insoluble Nitrogen « NDIN»

Archive of SID

www.SID.ir

سولفانیل آمید، تولید ترکیب دیازنوم می‌کند که در مجاورت ان« ۱- نفتیل» اتیلن دی آمین، کمپلکس آمینو آزو ایجاد می شود. شدت رنگ کمپلکس رنگی، در طول موج ۵۴۰ نانومتر اندازه گیری شد.

اسید اگزالیک در اسید هیدروکلریک استخراج می شود. با اضافه کردن کلرید کلسیم، به صورت اگزالات کلسیم ته نشین می‌شود. که این هم سپس شسته می‌شود و با پرمنگنات پتاسیم ۲۰ نرمال، در حضور اسید سولفوریک رقیق، در ۷۰ درجه سانتی گراد، تیتر می‌گردد. یک میلی لیتر از پرمنگنات پتاسیم ۲۰ نرمال، معادل ۰/۰۰۲۲۵ گرم اگزالات می‌باشد. میزان اگزالات با و مطابق فرمول زیر محاسبه شد (۲):

اگزالات (g/100g DM) = پرمنگنات پتاسیم ۲۰ نرمال مصرفی (ml) × 0/00225 × (250÷50) × (100÷2)

طرح آزمایشی و تجزیه آماری

آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی ساده به روش فاکتوریل (۲×۲)، که در آن فاکتور اول گونه و فاکتور دوم زمان برداشت بود، انجام شد و مقایسه میانگین‌ها از طریق آزمون چند دامنه‌ای دانکن صورت پذیرفت. (زمان برداشت اول اوایل گلدهی و زمان برداشت دوم بعد از تشکیل بذر بود). تیمارها شامل تیمار ۱: رقم خارکوف در مرحله برداشت اول، تیمار ۲: رقم خارکوف در مرحله برداشت دوم، تیمار ۳ رقم بی نام در مرحله برداشت اول و تیمار ۴ : رقم بی نام در مرحله برداشت دوم می باشد. تمامی ارقام مربوط به گونه آمارانت[1] می باشد. باشد.

مدل آماری طرح:

$$Y_{ijk} = \mu + V_i + D_j + V_i D_j + e_{ijk}$$

که در آن :

Y_{ijk}: میانگین n امین مشاهده تیمار ، μ: میانگین کل، V_i: اثر گونه، D_j: اثر مرحله برداشت، V_iD_j: اثر متقابل گونه و مرحله برداشت، e_{ijk}:اثر عوامل کنترل‌نشده آزمایش. تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم افزا SAS (۲۶) انجام شد و میانگین‌ها نیز به روش دانکن مورد مقایسه قرار گرفت.

نتایج وبحث

ترکیبات شیمیایی و مواد معدنی علوفه تاج خروس در جدول (۱) گزارش شده است. با افزایش سن گیاه تاج خروس مقدار پروتئین خام و خاکستر خام در مرحله برداشت دوم ارقام ۱ و ۲ کاهش و افزایش معنی‌داری را نسبت به مرحله برداشت اول، نشان دادند. همچنین مقدار الیاف نامحلول در شوینده خنثی و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی در مرحله برداشت دوم رقم۱ افزایش و در رقم ۲ کاهش یافت (P<۰/۰۵). از طرف دیگر اثر متقابل رقم و مرحله برداشت نشان داد که مقدار مواد معدنی در مرحله برداشت دوم ارقام ۱ و ۲ تفاوت معنی داری نداشتند (P>۰/۰۵). محققین مقدار پروتئین خام علوفه تاج خروس را از ۱۲ تا ۲۷ درصد در گیاه کامل، گزارش کردند (۱۸ و ۲۹). برخی دیگر از محققین کاهش معنی‌دار مقدار پروتئین خام علوفه تاج خروس را با افزایش سن گیاه گزارش دادند (۲۹).

با توجه به جدول (۱)، همبستگی منفی بین پروتئین خام با الیاف نامحلول در شوینده خنثی و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی مشاهده شد. با افزایش پروتئین خام و به دنبال آن، کاهش میزان دیواره سلولی و دیواره سلولی فاقد همی‌سلولز، سطوح برگ گیاه افزایش یافته و در نتیجه با توجه به متابولیسم (c_4) در گیاه مذکور، افزایش فتوسنتز، باعث جذب بیشتر کربن، در واحد سطح و افزایش خاکستر خام می‌شود. با بلوغ گیاه، کاهش در کیفیت علف تاج‌خروس، همراه با افزایش در غلظت الیاف نامحلول در شوینده خنثی و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی در ساقه مشاهده می‌شود (۲۹).

در عین حال با افزایش سن گیاهان میزان الیاف نامحلول در شوینده خنثی و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی افزایش و مقدار پروتئین، کاهش می‌یابد، اما با به کار بردن کودهای نیتروژنی می‌توان این رابطه را معکوس کرد (۱۷) .

محتویات لیگنین در تحقیق حاضر پایین تر از مقادیر گزارش شده توسط سایر محققین (۲۷) می‌باشد. همچنین مقادیر الیاف نامحلول در شوینده خنثی بالاتر (۲۷) و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی (۲۳، ۲۴) پایین تر از گزارش سایر محققین می‌باشد.

غلظت پتاسیم، منیزیم و کلسیم در علوفه تاج‌خروس گونه هایپوکوندریاکوس نسبتاً بالا گزارش شده است (۳۱). برخی دیگر از محققین میانگین عناصر کلسیم، فسفر و منیزیم را در علوفه تاج‌خروس ، به ترتیب: ۱/۹ ، ۰/۲۶ و ۰/۶ درصد، گزارش کردند (۲۲، ۲۳و ۲۴). اطلاعات مربوط به گوارش پذیری برون تنی تیمارها، در جدول (۲) ارائه شده است. همان طوری که در جدول مشاهده می‌شود، از نظر گوارش پذیری ماده خشک، ماده آلی و ماده آلی در ماده خشک، تفاوت های معنی داری بین تیمار ها وجود نداشت (P<۰/۰۵). بر اساس اطلاعات جدول ۲، اثر متقابل رقم و مرحله برداشت همچنین اثر رقم و اثر مرحله برداشت بر گوارش پذیری برون تنی ماده‌خشک، ماده‌آلی و ماده‌آلی در ماده خشک و انرژی قابل متابولیسم معنی‌دار نبود (P>۰/۰۵).

تفاوت های مربوط به ریخت شناسی و اندام های گیاهی، به ویژه از نظر نسبت برگ به ساقه، که سبب تغییر در نسبت دیواره سلولی به کربوهیدرات های غیر ساختمانی در مراحل مختلف رشد و بلوغ گیاه می شود، می تواند بر ارزش تغذیه ای ارقام مختلف یک گونه گیاه علوفه ای موثر باشد (۲۷) .

1- *amaranthus hypochonderyacus*

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۱- میانگین مربعات اثرات متقابل گونه و مرحله برداشت بر ترکیبات شیمیایی و مواد معدنی دو گونه علوفه ای تاج خروس (بر اساس درصد در ماده خشک)[۱]

Table1- Mean of squares of the interaction between species and harvest on chemical compositions and minerals of two varieties of amaranths forages (DM %)[1]

فراسنجه‌ها Parameters	رقم خارکوف Kharkof Varieties		رقم بی نام No name Varieties		SEM	معنی داری Significance		
	مرحله برداشت ۱ Harvest stage 1	مرحله برداشت۲ Harvest stage 2	مرحله برداشت۱ Harvest stage 1	مرحله برداشت۲ Harvest stage 2		رقم Variety	مرحله برداشت Harvest stage	رقم × مرحله برداشت Variety × Harvest stage
پروتئین خام CP[2]	17.98[a]	14.63[b]	12.93[c]	12.67[c]	0.23	*	*	*
خاکستر خام Ash[3]	19.02[a]	13.73[b]	14.29[b]	14.72 [b]	1.2	*	ns	*
الیاف نامحلول در شوینده خنثی NDF[4]	34.47[c]	42.27[b]	45.53[a]	41.13[b]	0.85	*	*	*
الیاف نامحلول در شوینده اسیدی ADF[5]	23.33[c]	28.53[b]	32[a]	27.73[b]	0.86	*	ns	*
لیگنین نامحلول در شوینده اسیدی ADL[6]	4.33[b]	5.4[ab]	5.86[a]	4.67[ab]	0.38	*	ns	*
کلسیم Ca[7]	1.47[a]	1.53[a]	1.57[a]	1.63[a]	0.96	Ns	Ns	Ns
فسفر P[8]	0.38[a]	0.25[ab]	0.2[b]	0.15[b]	0.04	Ns	*	Ns
منیزیم Mg[9]	0.29[a]	0.26[a]	0.29[a]	0.29[a]	0.03	Ns	Ns	Ns
پتاسیم K[10]	1.6[a]	1.48[a]	1.41[a]	1.45[a]	0.22	Ns	Ns	Ns

[۱] میانگین‌های هر ردیف با حروف غیر مشابه دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند ($P<0.05$).

[1]Means within same row with different superscripts differ ($P<0.05$).
[2]Crude Protein ,[3]Crude ash, [4] Neutral Detergent Fiber, [5]Acid Detergent Fiber, [6]Acid detergent lignin, [7]calcium, [8]phosphoros, [9]magnesium, [10]kalium.
*shows the significant of factors effect ($P<0.05$).
ns: shows the non-significant of factors effect

گوارش پذیری

صرف نظر از مرحله برداشت، مقایسه میانگین های بین ارقام نشان داد که ماده خشک گوارش پذیر ، ماده آلی گوارش پذیر و ماده آلی گوارش پذیر در ماده خشک بین ارقام تفاوت معنی‌داری را نداشتند. به نحوی که در تمامی موارد، رقم ۱ در محله برداشت اول، بالاترین مقدار (به ترتیب ۶۸/۹۲، ۶۵/۱۳ و ۵۲/۷۶ درصد) را دارا بود. همچنین اطلاعات مربوط به مقایسه میانگین ها بین برداشت ها، صرف نظر از رقم، نشان داد که میانگین کل ارقام از نظر گوارش پذیری ماده خشک، ماده آلی و ماده آلی در ماده خشک بین دو برداشت تفاوت معنی‌داری نداشتند که دلیل آن را می‌توان به هم پوشانی تفاوت ها از طریق ارقام مربوط دانست که منتج به اشتباه در نتیجه گیری خواهد شد. بنابراین تفاوت ارزش تغذیه ای بین مراحل برداشت می بایستی برای هر رقم به صورت جداگانه مورد توجه قرار بگیرد. هر چند گزارشی مبنی بر کاهش گوارش پذیری علوفه تاج خروس با افزایش سن گیاه منتشر شده است (۲۷)، اما این پدیده بسته به نوع و رقم، شرایط اقلیمی و مدیریت زراعی، به ویژه مقدار و نحوه استفاده از کود های آلی و شیمیایی قابل تغییر است. همان طوری که در پژوهش حاضر مشاهده شد، هضم پذیری بعضی از ارقام در

www.SID.ir

برداشت دوم کاهش و بعضی دیگر افزایش نشان داد.

جدول ۲- میانگین مربعات گوارش پذیری (درصد در ماده خشک) و انرژی قابل متابولیسم (مگاکالری در کیلو گرم) نمونه های موردمطالعه[1]

Table 2- Mean of squares of digestibility (DM %) and metabolism energy (Mcal/Kg) of studied Samples[1]

فراسنجه‌ها Parameters	رقم خارکوف Kharkof Varieties		رقم بی نام No name Varieties		SEM	معنی داری Significance		
	مرحله برداشت ۱ Harvest stage 1	مرحله برداشت۲ Harvest stage 2	مرحله برداشت۱ Harvest stage 1	مرحله برداشت۲ Harvest stage 2		رقم Variety	مرحله برداشت Harvest stage	رقم × مرحله برداشت Variety × Harvest stage
قابلیت هضم ماده خشک DMD (% of DM)[2]	68.92	56.64	56.96	61.41	3.59	ns	ns	Ns
قابلیت هضم ماده آلی OMD (% of DM)[3]	65.13	54.32	54.08	59.12	3.97	ns	ns	Ns
ماده آلی قابل هضم در ماده خشک OMD (% of DM)[4]	52.76	46.83	46.34	50.42	3.31	ns	ns	Ns
انرژی قابل متابولیسم ME (Mcal/Kg)[5]	2.82	2.41	2.4	2.59	0.62	ns	ns	Ns

[1] میانگین‌های هر ردیف با حروف غیر مشابه دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند ($P<0.05$).

[1]Means within same row with different superscripts differ ($P<0.05$).
[2] Dry matter digestibility, [3] Organic matter digestibility, [4] Digestible organic matter in dry matter, [5] Metabolism energy.
*shows the significant of factors effect ($P<0.05$).
ns: shows the non-significant of factors effect

میزان انرژی قابل متابولیسم برآورد شده نیز بین بعضی از تیمار ها متفاوت بود ($P>۰/۰۵$) به نحوی که تفاوت های بین تیمار ها روندی مشابه با روند تغییرات در قابلیت هضم را نشان داد (جدول ۲). این روند منطقی به نظر می رسد چرا که مقدار انرژی زایی با قابلیت هضم رابطه مثبتی دارند. در عین حال قابلیت انرژی زایی سایر تیمار ها بین ۲/۴ تا ۲/۸۲ مگا کالری در کیلو گرم ماده خشک متغیر بود که نشان دهنده ارزش تغذیه ای نسبتاً بالای این علوفه می‌باشد.

اجزاء پروتئین با روش CNCPS

بخش‌های مختلف پروتئین علوفه تاج خروس در جدول ۳ گزارش شده است. میانگین بخش‌های B1، B2،B3 وC از پروتئین‌خام در مرحله برداشت اول و دوم دو رقم علوفه تاج‌خروس تفاوت معنی‌داری نشان نداد ($P>۰/۰۵$). برآورد اثر متقابل رقم و مرحله برداشت نیز نشان داد که مقادیر بخش A تحت تأثیر رقم و مرحله برداشت قرار گرفت ($P<۰/۰۵$). با توجه به جدول (۳) با روند صعودی درصد پروتئین خام، بخشهای پروتئین حقیقی B_1 و B_3، افزایش و در نتیجه به علت رابطه معکوس این بخش‌ها با بخش B_2، در بخش B_2، کاهش مشاهده شد. همچنین با افزایش درصد پروتئین خام، مقادیر پروتئین خام نامحلول در شوینده خنثی و بخش A و C از پروتئین خام، به ترتیب افزایش و کاهش مشاهده شد. محققین (۲۲) میانگین قسمت‌های مختلف پروتئین خام علوفه تاج‌خروس گونه «هایپوکوندریاکوس» را به این ترتیب گزارش کردند که پروتئین نامحلول در شوینده خنثی و پروتئین نامحلول در شوینده اسیدی، به ترتیب ۲/۸ و ۰/۹۴ درصد؛ نیتروژن غیر پروتئینی، ۹۴/۴ درصد از پروتئین محلول؛ پروتئین محلول و بخشهای B_1، B_2، B_3 و C از پروتئین خام، به ترتیب، ۴۱ ، ۱/۶، ۳۴/۹، ۱۵/۸ و ۸/۱۲ درصد از پروتئین خام. پایین بودن پروتئین خام نامحلول در شوینده اسیدی در تاج‌خروس نسبت به یونجه، امتیازی مثبت در جهت ارتقاء کیفیت تاج‌خروس می‌باشد، زیرا این بخش به دلیل اتصال به الیاف نامحلول در شوینده اسیدی، برای دام غیر قابل دسترس و غیر قابل استفاده می‌باشد (۲۰). پیوند شدن پروتئین با اجزای دیواره سلولی در تاج‌خروس، پیشنهاد می کند که شاید تاج‌خروس، پروتئین عبوری بیشتری نسبت به یونجه داشته باشد. پروتئین عبوری یا پروتئین مصرفی غیر قابل تجزیه در شکمبه، اگر در قسمتهای پایینی روده، قابل دسترس باشد، می‌تواند ارزش بیشتری را در تولیدات دامی، داشته باشد، زیرا میکروب‌های شکمبه ممکن است پروتئین با کیفیت بالا را تجزیه کنند و پروتئین فراری از شکمبه، در هضم پس از شکمبه‌ای (به خاطر داشتن آمینو اسیدهای ضروری)، می‌تواند خیلی مؤثرتر، مورد استفاده قرار گیرد (۹). با رشد گیاه، نیاز به بافتهای الیافی افزایش یافته و بنابراین، کربوهیدراتهای ساختمانی اصلی (سلولز و همی‌سلولزها) و لیگنین افزایش پیدا می‌کنند. با مسن شدن گیاه، غلظت پروتئین کاهش یافته و از این رو رابطه‌ای عکس، بین مقادیر

Archive of SID

www.SID.ir

پروتئین و الیاف، در یک گونه خاص وجود دارد (۱۷).

همگام با فرا رسیدن بلوغ گیاه، مقدار دیواره سلولی ولیگنین افزایش می‌یابد و به دنبال آن از قابلیت هضم گیاه کاسته می‌شود. تشکیل فیبر و قابلیت هضم گیاهان علوفه ای تحت تأثیر چهار عامل درجه حرارت، سن گیاه، شدت نور و میزان کود ازته قرار دارد. بالا رفتن درجه حرارت و سن گیاه، تشکیل دیواره سلولی را افزایش و پروتئین خام گیاه را کاهش می‌دهد. در مقابل با افزایش شدت نور و میزان کود ازته و همچنین، کاهش دمای محیط، پروتئین خام افزایش و مقدار دیواره سلولی کاهش می‌یابد (۱۴).

جدول ۳- بخش‌های مختلف علوفه تاج خروس بر اساس سیستم کربوهیدرات و پروتئین خالص کرنل (CNCPS)[1]

Table 3- Different parts of Amaranth forage according to Cornell net carbohydrate and protein system (CNCPS)[1]

فراسنجه‌ها Parameters	رقم خارکوف Kharkof Varieties		رقم بی نام No name varieties		SEM	معنی داری Significance		
	مرحله برداشت ۱ Harvest stage 1	مرحله برداشت۲ Harvest stage 2	مرحله برداشت۱ Harvest stage 1	مرحله برداشت۲ Harvest stage 2		رقم Variety	مرحله برداشت Harvest stage	رقم × مرحله برداشت Variety × Harvest stage
پروتئین خام CP(% of DM)[2]	17.98[a]	14.63[b]	12.93[c]	12.67[c]	0.23	*	*	*
نیتروژن نامحلول در شوینده خنثی NDIN(% of DM)[3]	27.5[a]	16.95[d]	19.96[c]	22.63[b]	0.66	ns	Ns	ns
نیتروژن نامحلول در شوینده اسیدی ADIN(% of DM)[4]	4.36[d]	5.55[c]	7.33[b]	9.17[a]	0.3	ns	Ns	ns
پروتئین حقیقی TP(% of CP)[5]	58.12	56.84	61.56	61.56	1.65	ns	Ns	ns
پروتئین محلول SP(% of CP)[6]	44.65	45.39	40.55	40.26	1.68	ns	Ns	ns
نیتروژن غیر پروتئینی A(% of CP)[7]	41.88	43.16	38.44	38.44	1.65	*	Ns	ns
پروتئین حقیقی با نرخ تجزیه سریع B1(% of CP)[8]	2.77[a]	2.23[b]	2.11[b]	1.82[c]	0.05	ns	Ns	ns
پروتئین حقیقی با نرخ تجزیه متوسط B2(% of CP)[9]	26.26[b]	36.55[a]	38.17[a]	35.87[a]	1.24	ns	Ns	ns
پروتئین حقیقی با نرخ تجزیه کند B3(% of CP)[10]	24.48[a]	12.15[c]	13.47[bc]	14.25[b]	0.45	ns	Ns	ns
نیتروژن نامحلول در شوینده اسیدی C(% of CP)[11]	4.61[d]	5.91[c]	7.81[b]	9.71[a]	0.32	ns	Ns	ns
نیتروژن غیر پروتئینی NPN(% of TP)[12]	93.75[b]	95.09[a]	94.79[a]	95.47[a]	0.2	*	*	*

[1] میانگین‌های هر ردیف با حروف غیر مشابه دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند (P<0.05).

[1]Means within same row with different superscripts differ (P<0.05).
[2]crude protein, [3]neutral detergent insoluble nitrogen, [4]acid detergent insoluble nitrogen, [5]True protein, [6]soluble protein, [7]non-protein nitrogen; [8]true protein rapidly degraded in the rumen; [9]true protein degraded in the rumen at a moderate rate; [10]true protein associated with the cell wall and slowly degraded in the rumen, [11]acid detergent insoluble nitrogen, [12]non protein nitrogen.
*shows the significant of factors effect (P<0.05).
ns: shows the non-significant of factors effect

با فرا رسیدن بلوغ گیاه بخش B1 کاهش یافته که این به دلیل باند شدن نیتروژن گیاه با دیواره سلولی می باشد (۱۷). در تحقیق حاضر همبستگی منفی بین الیاف نامحلول در شوینده خنثی و بخش B1 مشاهده شد. همچنین مشابه با گزارش برخی محققین (۲۲)، با افزایش سن گیاه کاهش نسبی در بخش B2 مشاهده شد همچنین در برداشت دوم، مقادیر بخش B3 بیشتر از برداشت اول بود.

تغییرات متفاوت در غلظت NDF علوفه می تواند توجیه کننده نسبتهای بخش B3 باشد (۱).

مقادیر بخش C در تحقیق حاضر پایین تر از گزارشات محققین دیگر (۱) بود. با توجه به لیگنینی شدن گیاه، مقادیر بخش C در

www.SID.ir

مرحله برداشت دوم کاهش می یابد. قابل ذکر است کـه ایـن بخـش برای حیوانات قابل دسترس نیست (۱).

مواد ضد مغذی

مقادیر نیترات و اگزالات رقم ۱ در مرحله برداشت دوم، بـه طـور معنی‌داری، پایین تر از مرحله برداشت اول بود (P<۰/۰۵)، اما در رقم ۱ تغییر معنی‌دار این مواد ضد مغذی، مشاهده نشد. با توجه به جدول ۴ ، اثر متقابل رقم در مرحله برداشـت بـر مقـدار نیتـرات و اگـزالات معنی‌دار نبود. همچنین بالاترین غلظت نیترات در مرحله برداشت دوم رقم ۲ مشاهده شد (P<۰/۰۵). محققین مقدار نیترات موجود در علوفه تاج‌خروس گونه «هایپوکوندریاکوس» را ۰/۵۵ درصد گزارش کردنـد (۲۲). غلظت نیترات از متوسط ۶/۲ درصـد در ۴۲ روزگـی، تـا ۰/۹۴ درصد در ۱۱۲ روزگی پس از کاشت، کاهش یافته است. سطوح بالای نیترات در تاج‌خروس بالغ و تحت شرایط تنش خشـکی رخ مـی‌دهـد (۲۷). با این تفاسیر، افزایش در سطوح نیترات با افزایش سن، می‌تواند به دلیل مصرف کودهای ازته باشد (17-۱۷). ،محققین گزارش کردند که کاربرد کودهای ازته، بخش برگ گیاه و همچنین میزان فتوسنتز را افزایش می‌دهد و در نتیجه، میزان پروتئین خـام و در بیشـتر مواقـع، آمین و نیترات افزایش می‌یابد. مسـمومیت حـاد نیتراتـی، وقتـی رخ می‌دهد که دام نشخوارکننده، مقادیر زیادی علوفه حاوی ۱/۷۶ درصد یا بیشتر نیترات بر اساس ماده خشک، مصرف کنـد (3-۳)، در عـین حال می‌توان به وسیله دوره عادت پذیری، به دلیل احیای نیترات بـه آمونیاک، توسط میکروارگانیسمهای شکمبه خطر مسمومیت نیتراتی را تا حدودی کاهش داد (۱۰).

همچنین سطوح مسمومیت زای نیترات برای نشـخوار کننـدگان بیشتر از ۱۷/۶ گرم بر کیلوگرم در مـاده خشـک (۳۵) گـزارش شـد. عباسی و همکاران (۱) گزارش کردند که علف تازه تاج خروس گونـه هایپوکوندریاکوس مقادیر کمتر از ۱۰ گرم بر کیلوگرم در ماده خشک نیترات داشته و این مقدار پایین تر از حد مسمومیت زای گزارش شده توسط آدامز و همکاران (۳) می‌باشد.

سطوح نیترات در ارقام تاج خروس مورد آزمایش، بسیار پایین‌تر از حدود مسمومیت‌زا مشاهده شد، که این می‌تواند به دلیل شرایط عـدم تنش خشکی و شرایط اقلیمی و زراعی باشد. با توجه به ایـن، نتـایج، مصرف ارقام مذکور،هیچ گونه خطری از لحـاظ مسـمومیت نیتراتـی، برای دام نشخوارکننـده، دربـر نخواهـد داشـت. سـطوح اگـزالات در تاج‌خروس توسط برخی محققین (25-۲۵)، بین ۰/۲ تا ۱۱/۴ درصـد وزن خشک علوفه گـزارش کردنـد. اسـتفاده از کـود اوره، در زراعـت علوفه غلظت اگزالات را تحـت تـأثیر قـرار مـی دهـد. کـوددهی بـا اوره، $\{Co(NH_2)_2\}$ ، غلظت اگـزالات $\{(COOH)_2\}$ را در علوفـه افزایش می‌دهد (۱۳). آنان همچنین گـزارش دادنـد کـه اوره سـطوح اگزالات گیاه جوان را کاهش و با مسن‌تر شدن گیاه، تا ۶ درصد ماده خشک گیاه، افزایش می‌دهد.

این محققین افزایش اگزالات را در غلاف برگ و مخصوصاً ساقه گیاه، از تأثیرات اوره ذکر کردند. سمیت بحرانی و مرگ، بـا مصـرف اگزالات، زمانی اتفاق می‌افتد که نشخوارکنندگان، مقـادیر زیـادی از گیاهان خشک، حاوی بیش از ۱۰ درصد اسید اگزالیک را مصرف کنند (11-۱۱) محققین گزارش کردند در صورت وجود کل اسید اگزالیـک بیش از ۷۰ گرم در کیلـو گـرم مـاده خشـک در جیـره گـاو (۲۰) و اگزالات محلول بیش ۱۰ گـرم بـر کیلـوگرم مـاده خشـک در جیـره گوسفند (۱۹) مسمومیت مشاهده خواهد شد. نشخوارکنندگان عـادت داده شده به جیره های حاوی اگزالات بالا، می‌توانند مقادیر اگزالات را تا جایی که باعث مرگ حیوانات عادت داده نشده می‌شود، تحمـل کنند؛ زیرا میکروارگانیسمهای شکمبه، اگزالات را به اسـید فرمیـک (اسید متانوئیک) تبدیل می‌کنند (5-۵).

جدول ٤- مقایسه میانگین مواد ضد مغذی علوفه تاج خروس (درصد در ماده خشک)[۱]

Table 4- Compare the average of anti-nutrients of Amaranth forage (DM %)[1]

فراسنجه‌ها Parameters	رقم خارکوف Kharkof Varieties		رقم بی نام No name varieties		SEM	معنی داری Significance		
	مرحله برداشت ۱ Harvest stage 1	مرحله برداشت۲ Harvest stage 2	مرحله برداشت۱ Harvest stage 1	مرحله برداشت۲ Harvest stage 2		رقم Variety	مرحله برداشت Harvest stage	رقم × مرحله برداشت Variety × Harvest stage
نیترات Nitrate	0.68[a]	0.2[b]	0.17[b]	0.3[b]	0.09	ns	ns	Ns
اگزالات Oxalate	7.14[a]	4.91[b]	4.45[b]	4.97[b]	0.17	ns	ns	Ns

[۱] میانگین‌های هر ردیف با حروف غیر مشابه دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند (P<0.05).

[1]Means within same row with different superscripts differ (P<0.05).
*shows the significant of factors effect (P<0.05).
ns: shows the non-significant of factors effect.

Archive of SID

www.SID.ir

بنابر گزارش محققیق (۵) فقط اگزالات محلول به این دلیل که کمپلکس های نامحلول با کلسیم تشکیل می دهد برای گاو مضر است. محتوای اگزالات محلول علوفه تاج خروس در تحقیق عباسی و همکاران کمتر از ۲۰ گرم در کیلوگرم ماده خشک جیره بود که می تواند موجب مرگ نشخوارکنندگان شود (۱).

با توجه به اینکه متوسط مقادیر اگزالات ارقام تاج خروس در آزمایش حاضر، بسیار پایین‌تر از حدود مسمومیت‌زا می‌باشد (۵، ۱۱و ۱۹) بنابر این مصرف دو رقم علوفه تاج‌خروس مورد آزمایش، هیچ‌گونه خطری از لحاظ ایجاد مسمومیت در دام‌های نشخوارکننده، ایجاد نمی‌کند.

نتیجه‌گیری کلی

در پژوهش حاضر با افزایش پروتئین خام، در مقدار مواد ضد مغذی نیترات و اگزالات افزایش مشاهده شد که البته این افزایش پایین تر از حد خطرناک برای دام بود. با توجه به ارزش تغذیه ای و ضرایب هضمی بالای تاج خروس و همچنین مواد ضد مغذی پایین تر از حد خطرناک برای دام در آزمایش حاضر، می‌توان از آن به عنوان علوفه‌ای با کیفیت در تغذیه نشخوار کنندگان استفاده نمود.

سپاسگزاری

این پژوهش در مؤسسه‌های تحقیقات علوم دامی و اصلاح بذر کشور، انجام پذیرفت که در این جا از مسئولین و همکاران موسسه‌های مزبور تشکر می‌گردد.

منابع

1- Abbasi, D., Y. Rouzbehan., and J. Rezaei. 2012. Effect of harvest date and nitrogen fertilization rate on the nutritive value of amaranth forage (Amaranthus hypochondriacus). Animal Feed Science and Technology, 171: 6-13.
2- Abaza, R. H., J. T. Blake., and E. J. Fisher. 1968. Determination of oxalic acid in plant materials. Journal of the Association of Official Agricultural Chemists, 51: 963-967
3- Adams, R.S., T. McCarty., and L. J. Hutchinson. 1992. Prevention and control of nitrate toxicity in cattle. Pennsylvania State University.
4- Alderman, G., and B. R. Cottrill. 1995. Energy and protein requirements of ruminants. An advisory manual prepared by the AFRC Technical Committee on Responses to Nutrients. United Kingdom: CAB International, Wallingford, Oxon.
5- Allison, M. J., K. A. Dawson., H. M. Cook., and W. R. Mayberry. 1985. Oxalobacter formigenes gen. nov., sp. nov: oxalate-degrading anaerobes that inhabit the gastrointestinal tract. Journal of Arch Microbial, 141: 1-7.
6- AOAC. 1990. Official Methods of Analysis. Association on Official Analytical Chemists, Arlington, VA, USA.
7- Armentano, L. E., T. A. Herrington., and C. E. Polan. 1983. Ruminal degradation of dried brewers grains, wet brewer's grains, and soybean meal in situ and in vitro. Journal of Dairy Science, 66(Suppl. 1):171(Abstr.).
8- Chapman, H. D., and P. F. Pratt. 1961. Methods of analysis for soils, plants and waters. University of California. Division of Agricultural Sciences.
9- Cheeke, P. R., and J. Bronson. 1979. Feeding trials with Amaranthus grain, forage and leaf protein concentrations. P, 5-11. In Proc. 2nd Amaranth conference, Rodale Research Center, Kutztown, PA. 13-14 September Rodale Press, Emmaus, PA.
10- Cone, J. W., A.H. Van Gelder., E.T. Weerman., and A. M. VanVuuren. 1994. In vitro estimation of rumen fermentable organic matter with rumen fluid and a cell free preparation of rumen fluid. Agriculture Science, 42:343-356.
11- Findlay, A. L. R. 1998. Microbiology of the rumen and small and large intestines. Physiological Laboratory. University of Cambridge.
12- Goering, M. K., and P. J. Van Soest. 1970. Forage fiber analysis (apparatus, reagents, procedures and some applications). Vol. 379. In Agriculture Handbook. USDA Agricultural Research Service. Washington, DC, USA.
13- Jones, R. J. and C. W. Ford. 2006. Some factors affecting the oxalate content of the tropical grass Setaria sphacelata. Australian Journal Expert. Agriculture Animal Husbandry, 12(57): 400-406
14- Kawas, J. R., N. A. Jorgensen., A. R. Hardie., and J. L. Danelon. 1983. Changing in feed value of alfalfa with stage of maturity and concentrate level. Dairy Science, 66 (Suppl. 1): 181.
15- Krishnamoorthy, U., T. V. Muscato., C. J. Sniffen., and P. J. Van Soest. 1982. Nitrogen fractions in selected feedstuffs. Dairy Science, 65: 217-225.
16- Licitra, G., T. M. Hernandez., and P. J. Van Soest. 1996. Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds. Animal Feed Science and Technology, 57:347-358.

Archive of SID

www.SID.ir

17- McDonald, P., R. A. Edwards., J. F. D. Greenhalgh., and C. A. Morgan. 1995. Animal Nutrition. Longmans, London.
18- Mugerwa, J. S., and R. Bwabye. 1974. Yield, composition and in vitro digestibility of amaranthus hybridus subspecies incurvatus. Tropical Grass, 8: 49-53.
19- McKenzie, R. A., A. M. Bell., G. J. Storie., F. J. Keenan., K. M.Cornack., and S. G. Grant. 1988. Acute oxalate poisoning of sheep by buffel grass (Cenchrus ciliaris). Australian Veterinary Journal, 65:1-26
20- O'Connor, J. D., C. J. Sniffen., D. G. Fox., and W. Chalupa. 1993. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: IV. Predicting amino acid adequacy. Animal Science, 71: 1298-1311.
21- Radostits, O. M., C. C. Gay., D. C. Blood., and K. W. Hinchcliff. 2000. Veterinary Medicine, 9th Ed. Saunders Company, London, UK
22- Rezaee J., Y. Rouzbehan., and H. Fazaeli. 2009. Nutritive value of fresh and ensiled amaranth (Amaranthus hypochondriacus) treated with different levels of molasses. Animal Feed Science and Technology, 151(1-2): 153-160.
23- Rezaei, J., Y. Rouzbehan., H. Fazaeli., and M. Zahedifar. 2014. Effects of substituting amaranth silage for corn silage on intake, growth performance, diet digestibility, microbial protein, and nitrogen retention and ruminal fermentation in fattening lambs. Journal of Animal Feed Science and Technology, 192: 29-38
24- Rezaei, J., Y. Rouzbehan., M. Zahedifar., and H. Fazaeli. 2015. Effects of dietary substitution of maize silage by amaranth silage on feed intake, digestibility, microbial nitrogen, blood parameters, milk production and nitrogen retention in lactating Holstein cows. Journal of Animal Feed Science and Technology, 202: 32-41
25- Rita, A. T., and D. Knorr. 1985. Amaranth Composition, Properties, and Applications of a Rediscovered Food Crop. Institute of Food Technologies.
26- SAS. 2001. Statistical Analysis System, User's Guide: Statistics, Version 8.2. SAS Institute, Cary, NC, USA.
27- Sleugh, B. B., K. J. Moore., E. C. Brummer., A. D. Knapp., J. Russell., and L. Gibson. 2001. Forage nutritive value of various amaranth species at different harvest dates. Crop Science, 41: 466-472.
28- Stallknecht, G. F., and J. R. Schulz-Schaeffer. 1993. Amaranth rediscovered. Pp. 211-218. In: J. Janick and J.E. Simon (eds). New Crops. Willey, New York
29- Stordahl, J. L., C. C. Sheaffer., and A. DiCostanzo. 1999. Variety and maturity affect amaranth forage yield and quality. Produce Agricalture, 12: 249-253.
30- Svirskis, A., 2003. Investigation of amaranth cultivation and utilization in Lithuania. Agronomy Research, 1: 253-264.
31- Teutonico, R. A., and D. Knorr. 1985. Amaranth: composition, properties, and applications of a rediscovered food crop. Food Technology, 39: 49-60.
32- Tilley, Y. M. A., and R. A. A. Terry. 1963. A two stage technique for the in vitro digestion of forage crops. British Grass Society, 18: 104-111.
33- Van soest, P. J., J. B. Robertson., and B. A. Lewis. 1991. Methods of dietary fiber, neutral detergent fiber and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. Dairy Science, 74:3583-3597.
34- Van Soest, P. J., and V. C. Mason. 1991b.The influence of the maillard reaction upon the nutritive value of fibrous feeds. Animal Feed Science and Technology, 32: 45-53
35- Vough, L. R., E. K. Cassel., and S. M. Barao. 1991. Nitrate poisoning in livestock. Animal Agriculture Update Newsletter, 6:7-11. Cooperative Extension Service, University of Maryland, College Park, MD, USA.

Archive of SID

www.SID.ir