نشریه علوم دامی
(پژوهش و سازندگی)

شماره ۱۲۱، زمستان ۱۳۹۷
ص‌ص: ۲۰۵~۲۱۸

بررسی غلظت اسید پروسیک و نیترات در ۱۸ رقم سورگوم علوفه‌ای

- **مهدی امیرصادقی** (نویسنده مسئول)
استادیار پژوهشی موسسه تحقیقات علوم دامی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران
- **حسین غلامی**
استادیار پژوهشی موسسه تحقیقات علوم دامی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران
- **حسن فضائلی**
استاد پژوهشی موسسه تحقیقات علوم دامی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران
- **علیرضا کوچکی**
کارشناس ارشد موسسه تحقیقات علوم دامی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران

تاریخ دریافت : آبان ۱۳۹۶ تاریخ پذیرش : اسفند ۱۳۹۶

شماره تماس نویسنده مسئول: ۰۲۶۳۴۲۵۶۰۰۱
Email: m.amirsadeghi@areeo.ac.ir

شناسه دیجیتال (DOI): 10.22092/asj.2018.116159.1564

چکیده

هدف از این تحقیق، تعیین غلظت مواد ضدتغذیه‌ای اسید پروسیک و نیترات در ۱۸ رقم سورگوم علوفه‌ای و پیش‌بینی خطرات احتمالی در صورت مصرف آن‌ها در جیره دام می‌باشد. ارقام سورگوم شامل چهار رقم داخلی: پگاه، اسپید فید و سورگوم کرج با کدهای KFS-2 و KFS-18 و ١٤ رقم وارداتی با کدهای: CSSH.1، FGCSI09، FS 1 BMR، JS BMR SSH.1، JS BMR SSH.2، T، SK، PHFS-27، PFS-21، FGCSI10، SP BMR، HFS1، FGCSI12 و JS 2 بودند. تمام این ارقام در مزرعه مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، در شرایط یکسان از نظر برنامه آبیاری، کوددهی، میزان نور و دما کشت شدند و در مرحله گل‌دهی از آن‌ها نمونه‌برداری شد و غلظت اسید پروسیک و نیترات آن‌ها تعیین گردید. غلظت اسید پروسیک به صورت غیر مستقیم با اندازه‌گیری پارا هیدروکسی بنزآلدهید آزاد شده، تعیین شد. غلظت نیترات نیز به روش رنگ سنجی تعیین گردید. نتایج به دست آمده برای ارقام مختلف سورگوم با یکدیگر مقایسه گردید و تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با روش تجزیه واریانس یک طرفه انجام شد. بیش‌ترین غلظت اسید پروسیک در ارقام FS 1 BMR (٤٨١ میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک)، PHFS-27(٤٠٨ میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک) و FGCSI10 (٣٨١ میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک) و بیش‌ترین غلظت نیترات نیز به ترتیب در ارقام JS 2 (٢٤١٦ میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک)، JS BMR SSH.1 (٢٠٨٨ میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک) مشاهده شد. در مقایسه بین غلظت مواد ضد تغذیه‌ای به دست آمده در این ۱۸ رقم سورگوم علوفه‌ای با جداول تعیین سطح خطر مواد ضد تغذیه‌ای، مشخص شد که غلظت مواد ضد تغذیه‌ای در تمامی این ارقام از سطح خطرناک برای مصرف دام پایین‌تر است و در شرایط موجود مصرف هیچ یک از این ارقام برای نشخوارکنندگان، حتی اگر به عنوان تنها ماده خوراکی در جیره باشد، مسمومیّتی ایجاد نخواهدکرد.

واژه‌های کلیدی: اسید پروسیک، رقم، سورگوم علوفه‌ای، مواد ضد تغذیه‌ای، نیترات

Animal Science Journal (Pajouhesh & Sazandegi) No 121 pp: 205-218

Investigation of prussic acid and nitrate concentration in eighteen varieties of forage sorghum

By: Mehdi Amirsadeghi[1]*, Hossein Gholami [1], Hassan fazaeli [2], Alireza Kochaki[3]
1- Assistant professor, Animal Science Research Institute of Iran, Agricultural research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran
2 - Professor, Animal Science Research Institute of Iran, Agricultural research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran
3 - Master of Science, Animal Science Research Institute of Iran, Agricultural research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran
* Corresponding Author: m.amirsadeghi@areeo.ac.ir tell: +982634256207

Received: November 2017 **Accepted: March 2018**

The aim of this study was to investigate the concentration of Prussic acid and Nitrate as main anti-nutrients in 18 varieties of sorghum forages. The sorghum varieties include four domestic Iranian sorghums named: Pegah, Speed-feed, KFS-2 and KFS-18 and 14 imported varieties named: CSSH.1, FGCSI09, FS 1 BMR, JS BMR SSH.1, JS BMR SSH.2, S, T, PHFS-27, PFS-21, FGCSI10, FGCSI12, SP BMR, HFS1 and JS 2. All sorghum varieties were cultivated in the farm of Seed and Plant Improvement Institute. General condition such as irrigating, fertilizing, light and temperature were the same for all varieties. Samples were harvested at blooming stage and concentration of prussic acid and nitrate was determined. Concentration of prussic acid was determined indirectly by measuring the liberated para-hydroxybenzaldehyde and nitrate concentration was determined by spectrophotometeric method. Statistical analysis was performed using one-way ANOVA. The highest concentration of prussic acid detected in FS 1 BMR (481 ppm) PHFS-27(408 ppm) and FGCSI10(381 ppm). and the highest concentration of nitrate was detected in JS 2 (2416ppm) and JS BMR SSH.1(2088 ppm). By comparing the concentrations of prussic acid and nitrate in these 18 varieties of forage sorghum with the tables of anti-nutrition hazard level, it was found that the concentration of anti-nutritional substances in all of these varieties was lower than the level of dangerous for livestock and under this condition, none of these varieties is toxic for ruminants even it is the only feedstuff in the diet.

Key words: anti nutrition; forage sorghum; nitrate; prussic acid; variety.

مقدمه

در کشورهای با اقلیم خشک و نیمه‌خشک برنامه‌های مختلفی برای بهبود و استفاده بهینه از منابع آبی در بخش کشاورزی و دامپروری در حال برنامه‌ریزی و اجرا می‌باشد. یکی از مهم‌ترین این اقدامات استفاده از گیاهان و علوفه‌هایی با نیاز آبی کم و سازگار با اقلیم می‌باشد (Gerber و همکاران، 2013؛ Schrotter and Schittenhelm، 2014).

سورگوم یکی از علوفه‌هایی است که ظرفیت جایگزین شدن با ذرت را دارد (Jahanzad و همکاران، 2013 ؛ Hadebe و همکاران، 2017). سورگوم پنجمین گیاه مهم زراعی در سطح دنیا است و برای تهیه علوفه، دانه و یا سوخت زیستی مورد استفاده قرار می‌گیرد. در مقایسه با ذرت، سورگوم دارای نیاز آبی کم‌تر و میزان ماده خشک بیش‌تری است و قابلیت برداشت چند چین در

طول سال را دارد (Getachew و همکاران، 2016؛ Dann وهمکاران، 2007).

با وجود مزیّت‌های گفته شده، سورگوم دارای نقاط ضعفی نیز می‌باشد که از آن جمله احتمال حضور مواد ضد تغذیه‌ای مانند اسید پروسیک و نیترات در آن است که غلظت زیاد آن‌ها در بعضی از ارقام ممکن است سبب مشکل برای دام‌ها گردد (Al-sultan،2003؛ Fjell و همکاران، 1991).

سیانوژنوسیس واکنشی است که طی آن گیاهان از ترکیبات سیانیددار در حضور آنزیم خاص اسید پروسیک (HCN) آزاد می‌کنند که به شدت سمّی است. در گیاه سورگوم گلیکوزید سیانوژنی با نام دورین [i] از اسید آمینه تیروزین طی چند مرحله و با وجود آنزیم‌های P450s و UGT ترانسفراز در اپیدرم تشکیل می‌شود. هنگامی که دورین در تماس با آنزیم β- گلوکوزیداز که در سلول‌های مزوفیل قرار دارند قرار گیرد، شکسته شده و یک مولکول قند، پاراهیدروکسی بنزآلدئید و HCN آزاد می‌کند (Francisco and Pinotti، 2000 ؛ Gleadow Møller and ، 2014 ؛ Hayes و همکاران،2016).

سیانید در بدن دام مستقیماً وارد جریان خون می‌شود و با آنزیم‌های داخل سلولی پیوند برقرار می‌کند. این پیوند ایجاد شده از نقل و انتقال اکسیژن به سلول ممانعت به عمل می‌آورد و در نتیجه حیوان در اثر کمبود اکسیژن تلف می‌شود (Nielsen و همکاران 2008).

در صورت رشد گیاه در شرایط تنش‌زا مانند بی‌آبی طولانی، سرمازدگی، آفت زدگی، استفاده زیاد از کودهای نیتروژنی و برداشت زود هنگام، غلظت اسید پروسیک در سورگوم افزایش می‌یابد (Swathi و همکاران، 2016 ؛ Sher و همکاران، 2014). نقش عوامل دیگری مانند ژنوتیپ گیاه، مرحله بلوغ، میزان مصرف نیتروژن، فسفر، گوگرد، دما، نور و نقش تنش‌های محیطی بر روی میزان تولید اسید پروسیک به اثبات رسیده است(Wheeler و همکاران، 1990 ؛ Busk and Moller ، 2002 ؛ Neilson و همکاران، 2015). ادعا شده در ارقام جدیدتر سورگوم مانند رقم میدریب، اسید پروسیک حذف شده است یا مقادیر آن بسیار ناچیز می‌باشد (Kilcer و همکاران، 2005).

غلظت‌های مختلف اسید پروسیک درعلوفه بر روی دام اثرات مختلفی دارند و به طور عادی با افزایش غلظت اسید پروسیک، اثرات مسمومیّت‌زایی آن نیز افزایش می‌یابد. مطابق با جدول شماره یک، غلظت اسید پروسیک در سه سطح مختلف طبقه‌بندی می‌شود(Smitha Patel و همکاران، 2013).

جدول ۱: اثر سطوح مختلف اسید پروسیک در علوفه بر سلامتی دام

میزان اسید پروسیک (میلی‌گرم در کیلوگرم)			سطح خطر و اثر بر دام
در علوفه تازه	در ماده خشک		
۰ – ۱۰۰	۰ – ۵۰۰	بی‌خطر	علوفه به طور عمومی بی‌خطر است و ایجاد مسمومیّت نخواهد کرد.
۱۰۰ – ۲۰۰	۵۰۰ – ۱۰۰۰	خطرناک	بالقوه سمّی محسوب می‌شود و علوفه باید به صورت محدود در جیره استفاده شود.
> ۲۰۰	>۱۰۰۰	سمّی	برای دام بسیار خطرناک است و معمولاً منجر به مرگ می‌شود. خشک کردن، سیلو کردن یا زمان دادن به علوفه تا رسیدن به بلوغ کامل می‌تواند غلظت اسید پروسیک را کاهش دهد. قبل از استفاده در جیره باید مورد آزمایش مجدد قرار گیرد.

تعداد مطالعاتی که غلظت اسید پروسیک را روی تعداد زیاد ارقام سورگوم اندازه‌گیری شده باشد محدود است. در این مورد می‌توان به مقاله سرفراز و همکاران اشاره کرد که میزان اسید پروسیک و پروتئین خام را در ۱۰ رقم مختلف سورگوم در طی سه سال (از ۲۰۰۶ تا ۲۰۰۸) در فیصل آباد پاکستان بررسی کردند (Sarfraz و همکاران 2012). در این گزارش میزان اسید پروسیک از مقدار ۲۵۵ تا ۳۴۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم گزارش شده است و اختلاف در مقادیر اسید پروسیک در سه سال‌های مختلف، در بازه ۲۲۹ تا ۳۷۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم گزارش شده است (جدول ۲).

جدول ۲ – تغییرات غلظت اسید پروسیک در ده رقم مختلف سورگوم در سه سال متوالی

رقم	میزان اسید پروسیک (میلی‌گرم در کیلوگرم ماده تر)			
	سال ۲۰۰۶	سال ۲۰۰۷	سال ۲۰۰۸	میانگین
JS-2001	۲۸۸	۲۹۴	۲۸۱	۲۸۸
JS-263	۳۰۸	۳۱۷	۲۹۴	۳۰۶
Hegari	۳۲۳	۳۷۰	۳۴۵	۳۴۶
F-9601	۳۰۴	۲۳۲	۲۲۹	۲۵۵
F-9603	۲۹۹	۲۷۱	۲۷۸	۲۸۳
F-9706	۳۰۶	۲۵۴	۲۵۰	۲۷۰
BS-1	۲۹۵	۲۸۱	۲۸۴	۲۸۷
SS-1	۳۲۰	۲۸۳	۲۹۸	۳۰۰
SS-2	۳۱۴	۳۴۱	۳۴۲	۳۳۲
Jowar-86	۲۷۳	۳۲۷	۳۲۹	۳۱۰

تجمع نیترات نیز از جمله دیگر عواملی است که می‌تواند سبب مسمومیّت دام‌ها شود که بسته به سن و شرایط دام و عوامل مربوط به علوفه نظیر مرحله رشد، رقم گیاه، تنش‌های محیطی و مدیریت زراعی متغیر می‌باشد (Harada و همکاران 2000).

مقادیر کم نیترات در شکمبه به وسیله باکتری‌های شکمبه‌ای به نیتریت و سپس به آمونیاک تبدیل می‌شود که در تهیه اسیدهای آمینه مورد استفاده قرار می‌گیرد و مقادیر اضافی آمونیاک نیز به صورت اوره از طریق ادرار دفع می‌شود (Cowley and Colling، 1977). در صورت مصرف مقادیر زیاد نیترات توسط دام، ظرفیت تبدیل نیترات اشباع شده و نیتریت تولید شده جذب جریان خون می‌شود و با اکسید کردن یون‌های آهن موجود در هموگلوبین و تبدیل آن به مت-هموگلوبین ظرفیت جابجایی اکسیژن را محدود می‌کند و سبب بروز مشکلاتی مانند کاهش اشتهاء، کاهش سرعت رشد و کاهش تولید شیر می‌شود و در شرایط حاد، دام تلف می‌شود (Osweile، 1985؛ Undersander، 1999). با اندازه‌گیری نیترات موجود در خوراک دام، می‌توان از خطر دریافت مقادیر اضافی نیترات ممانعت کرد (MacKown and Weik ، 2004 ؛ Finnie و همکاران، 2011). میزان غلظت نیترات و اثرات آن بر روی دام در چهار گروه مختلف، دسته‌بندی می‌شود (Rasby و همکاران، 2014) که افزایش هر ۳۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم نیترات از سطح پایه صفر در یک گروه قرار می‌گیرد (جدول سه).

جدول ۳: اثر سطوح مختلف غلظت نیترات در علوفه بر سلامتی دام

میزان نیترات (میلی‌گرم در کیلوگرم)	اثر بر دام
۰ - ۳۰۰۰	تقریباً بی‌خطر
۳۰۰۰ - ۶۰۰۰	در بیش‌تر موارد تا حدی بی‌خطر، استفاده محدود برای حیوانات در معرض تنش (تا حد ۵۰٪ در جیره)
۶۰۰۰ - ۹۰۰۰	بالقوه خطرناک برای دام، نباید به عنوان منبع اصلی جیره غذایی استفاده شود
۹۰۰۰ و بیش‌تر	خطرناک برای دام، سبب مرگ دام می‌شود

با توجه به قرارگرفتن ایران در اقلیم گرم و خشک از طرفی و تغییرات اقلیمی در سطح جهان و کم شدن میزان بارش‌های سالانه در کشور از طرف دیگر، جایگزین کردن علوفه‌های کم آب‌بر مانند سورگوم برای ادامه فعالیت‌های کشاورزی و دامداری ضروری است اما بین دامداران جهت استفاده از سورگوم در تغذیه دام نگرانی‌هایی وجود دارد و استفاده از این علوفه با احتیاط زیادی انجام می‌شود.

در این پژوهش غلظت اسید پروسیک و نیترات به عنوان مهم‌ترین مواد ضد تغذیه‌ای موجود در سورگوم برای ۱۸ رقم مختلف سورگوم علوفه‌ای شامل چهار رقم موجود در ایران و ۱۴ رقم سورگوم وارداتی، با روش‌های آزمایشگاهی تعیین شده است. غلظت‌های به دست آمده برای ۱۸ رقم سورگوم با مقادیر حد مجاز گزارش شده برای اسید پروسیک ونیترات مقایسه شده است و به صورت علمی میزان خطر این علوفه ها و مجاز بودن استفاده از آن‌ها در تغذیه دام بررسی شده است.

مواد و روش‌ها

نمونه‌های آزمایشی شامل ۱۸ رقم سورگوم علوفه‌ای بودند که از این مجموعه چهار رقم داخلی با نام‌های اسپیدفید، پگاه و سورگوم کرج با کدهای KFS-2 و KFS-18 و ۱۴ رقم وارداتی با کدهای: CSSH.1، FGCSI09، FS one BMR، Juicy Sweet2 بودند. کاشت این ارقام در مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر انجام شد. جهت کاشت، بر اساس آزمون خاک، نیاز کودی تعیین شد و تمام فسفر و پتاس مورد نیاز در زمان شخم توزیع شد. میزان کود فسفات آمونیوم ۲۵۰ کیلوگرم در هکتار و ۱۰۰ کیلوگرم کود اوره در زمان کاشت و زمانی که ارتفاع بوته‌ها به ۴۰-۳۵ سانتی‌متر رسید نیز ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار کود اوره استفاده شد. آزمایش عملکرد زراعی بر اساس طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۳ تکرار در مزرعه پژوهشی مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر انجام شد. هر کرت شامل ۴ خط ۵ متری با فواصل ردیف ۶۰ سانتی‌متر و فواصل بوته‌ها ۸ سانتی‌متر بود. بذور ۱۸ رقم، لاین و هیبرید بر اساس نقشه آزمایشی در کرت‌های مربوط کشت شدند. پس از سبز شدن بذور و استقرار گیاه فواصل بین بوته‌ها بر اساس ۸ سانتی‌متر تنک شد. نمونه‌برداری از ارقام سورگوم کشت شده، در زمان گل‌دهی ارقام انجام شد. برای تعیین اسید پروسیک، نمونه‌ها بیش‌تر از قسمت برگ‌های بالایی و جوان‌تر گیاه انتخاب شد. از هر رقم سه نمونه برداشت شد. نمونه‌ها در ظروف پلاستیکی مناسب قرار داده شد و به آزمایشگاه منتقل گردید.

جهت تعیین ماده خشک، مقداری از هر نمونه در ظروف آلومینیومی قرار داده شد و در آون با دمای ۶۰°C به مدت ۲۴ ساعت خشک شد و سپس اختلاف وزن به دست آمده محاسبه گردید (Faithfull، 2002).

برای اندازه‌گیری نیترات از نمونه کامل گیاه شامل برگ و ساقه به

استثناء ریشه استفاده شد. از هر رقم سورگوم علوفه‌ای سه نمونه برداشت و به آزمایشگاه منتقل گردید. ماده خشک نمونه‌های کامل نیز شبیه به نمونه‌های برگ اندازه‌گیری شد و بعد نمونه‌های خشک شده با استفاده از آسیاب مجهز به الک یک میلی‌متری آسیاب شد.

اندازه گیری اسید پروسیک

اندازه‌گیری اسید پروسیک با روش هاسکینز و با اعمال اصلاحاتی انجام شد (Haskins وهمکاران، 1984). از هر نمونه مقدار دو گرم توزین شد و همراه با ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر به مدت یک ساعت در دمای $^{\circ}C$ ۱۲۰ اتوکلاو شد. سپس محلول درون هر ظرف صاف شد و میزان ۱۰ میلی لیتر از محلول زیر صافی برداشته شد و با استفاده از ۲۵ میلی لیتر محلول دی اتیل اتر در سه مرحله استخراج و در لوله آزمایش بلند جمع‌آوری شد. به محلول استخراج شده، یک میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد. با استفاده از حمام آبی در دمای $35^{\circ}C$ لایه اتری تا وقتی که تنها لایه بسیار نازکی از لایه اتری بر روی لایه آبی باقی بماند، تبخیر شد. ماده باقی‌مانده با استفاده از محلول سود ۰/۱ مولار در بالن حجمی ۵۰ میلی لیتری، به حجم رسانده شد. میزان جذب هر نمونه با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۳۳۰ نانومتر خوانده شد. برای هر نمونه آزمایش سه بار تکرار گردید و از جواب‌های به دست آمده، میانگین گرفته شد. جهت تهیه منحنی استاندارد، از ماده خالص پارا هیدروکسی بنزآلدهید با استفاده از محلول سود ۰/۱ مولار غلظت های مختلف در محدوده صفر تا ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر تهیه شد و میزان جذب هر محلول در طول موج ۳۳۰ نانومتر خوانده شد و منحنی جذب استاندارد به دست آمد. با استفاده از منحنی رسم شده و فرمول خط به دست آمده برای محلول استاندارد، میزان غلظت اسید پروسیک در هر آزمایش محاسبه شد.

اندازه گیری نیترات

تعیین غلظت نیترات موجود در ۱۸ رقم سورگوم علوفه‌ای با روش میر انجام شد (Mir، 2009). در یک ارلن مایر ۱۰۰ میلی‌لیتری، مقدار ۰/۱ الی ۰/۵ گرم از نمونه (بسته به مقدار نیترات) قرار داده شد و به آن ۵۰ میلی‌لیتر محلول ۲ درصد اسید استیک اضافه شد. ارلن به مدت ۳۰ دقیقه هم زده و سپس صاف شد. ۱۰ میلی‌لیتر از عصاره به دست آمده درون لوله آزمایش ۲۰ میلی‌لیتری منتقل شد و ۰/۵ گرم از پودر مخلوط (شامل ۳۷ گرم اسید سیتریک، پنج گرم سولفات منگنز یک آبه، دو گرم سولفانیل آمید، یک گرم ان(۱- نفتیل)- اتیلن دی‌آمین دی هیدروکلرید و یک گرم پودر روی) به آن اضافه شد و به مدت ۳۰ ثانیه به شدت هم زده شد تا محلول رنگی ایجاد شود. محلول بلافاصله صاف شد و جذب آن در طول موج ۵۴۰ نانومتر ثبت گردید. برای رسم منحنی استاندارد از محلول های استاندارد تهیه شده از محلول سدیم نیتریت استاندارد در غلظت‌های ۱، ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ میلی‌گرم در لیتر استفاده شد و طبق روش آزمایش برای نمونه‌های اصلی، محلول‌های رنگی تشکیل و جذب آنها در طول موج ۵۴۰ نانومتر ثبت گردید و منحنی استاندارد و رابطه خطی آن به دست آمد. با استفاده از منحنی استاندارد و روابط به دست آمده، غلظت نیترات در هر نمونه مشخص گردید. اندازه‌گیری نیترات، برای هر نمونه سه بار تکرار شد و از نتایج به دست آمده میانگین گرفته شد.

برای تجزیه آماری داده‌های به دست آمده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۱ با روش تجزیه واریانس یک‌طرفه استفاده شد و میانگین‌ها با روش دانکن مقایسه گردید. همچنین با استفاده از هر دو متغیر تجزیه خوشه‌ای (کلاستر آنالیزیز) انجام گرفت و دندروگرام مربوطه رسم گردید.

نتایج و بحث

طبق داده‌های به دست آمده از این تحقیق مشخص شد که بیش‌ترین غلظت اسید پروسیک به ترتیب در ارقام FS one BMR (۴۸۱میلی‌گرم بر کیلوگرم)، PHFS-27 (۴۰۸میلی‌گرم بر کیلوگرم) و FGCSI10 (۳۸۱میلی‌گرم بر کیلوگرم) وجود داشت و ارقام Titan (۱۶۳میلی‌گرم بر کیلوگرم)، KFS-18 (۱۶۴میلی‌گرم بر کیلوگرم) و Juicy sweet2 (۱۶۷میلی‌گرم بر کیلوگرم) نیز به ترتیب کم‌ترین غلظت اسید پروسیک را دارا بودند (جدول ۴).

جدول ٤- مقادیر اسید پروسیک در ۱۸ رقم سورگوم مورد مطالعه

ردیف	نام رقم	مقدار HCN (میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک)	ردیف	نام رقم	مقدار HCN (میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک)
۱	CSSH.1	۳۲۸ ±۱۱/۳۱ c	۱۰	PFS-21	۱۸۸ ± ۱۱/۳۱ ef
۲	اسپید فید	۲۷۵ ±۷/۰۷ d	۱۱	FGCSI10	۳۸۱ ± ۸/۴۸ b
۳	FGCSI09	۲۷۱ ±۵/۶۶ d	۱۲	FGCSI12	۲۰۵ ± ۷/۰۷ e
۴	FS one BMR	۴۸۱ ± ۸/۴۸ a	۱۳	Sucrose photo BMR	۱۷۷ ± ۹/۹۰ ef
۵	Juicy Sweet BMR SSH.1	۱۹۷ ±۱۱/۳۱ ef	۱۴	KFS-2	۱۸۱ ± ۲۶/۸۷ ef
۶	Juicy Sweet BMR SSH.2	۲۱۳ ± ۹/۹۰ e	۱۵	KFS-18	۱۶۴ ± ۸/۴۸ f
۷	Titan	۱۶۳ ± ۳/۲۴ f	۱۶	پگاه	۲۷۱ ± ۲۹/۷۰ d
۸	Silo King	۲۷۶ ± ۳۵/۳۵ d	۱۷	HFS1	۲۱۴ ± ۱۸/۳۸ e
۹	PHFS-27	۴۰۸ ± ۱۶/۹۷ b	۱۸	Juicy sweet2	۱۶۷ ± ۸/۴۸ f
		SEM = ۱۱/۱۷۸			

* -در هر ستون اعداد دارای حروف غیر مشابه اختلاف معنی دار دارند(مقایسه میانگین تیمارها با سطح خطای ۵درصد انجام شده است).

در مقایسه رقم‌های داخلی با یکدیگر، برای سورگوم پگاه و اسپیدفید میزان اسید پروسیک به ترتیب ۲۷۱ و ۲۷۵ میلی‌گرم در کیلوگرم و برای رقم‌های جدیدتر سورگوم با کدهای KFS-2 و KFS-18 غلظت اسید پروسیک به ترتیب ۱۸۱ و ۱۶۴ میلی‌گرم در کیلوگرم بود که حتی از رقم‌های پگاه و اسپیدفید نیز پایین‌تر است.

دورین با نام شیمیایی [(s)-پاراهیدروکسی مندلونیتریل-β-D-گلوکوپیرانوزید] یک گلیکوزید سیانوژنی است که در گیاه سورگوم و هم‌خانواده‌های آن مانند هالپنز[ii] و آلموم[iii] یافت می‌شود. دورین عمدتاً در برگ‌های گیاه سورگوم با غلظت‌های مختلف وجود دارد و میزان آن در ساقه گیاه ناچیز است (Rhykerd and Johnson ، 2007). برخلاف نیترات که تقریباً در تمام نمونه‌های گیاهی یافت می‌شود، اسید پروسیک تنها در تعدادی از گیاهان علوفه‌ای و از جمله سورگوم وجود دارد (Vatter، 2000). از مدت‌ها پیش گیاه سورگوم به عنوان گیاهی که در آن امکان تجمع اسید پروسیک تا میزان خطرناک وجود دارد، شناخته شده است. میزان اسید پروسیک در گیاه تحت تاثیر شرایط محیطی مانند تنش های کم‌آبی، گرما، یخزدگی، وجود آفات گیاهی و ژنوتیپ گیاه می‌باشد (Hayes و همکاران 2015).

به دلیل اینکه غلظت اسید پروسیک در برگ گیاه بسیار بیش‌تر از سایر اجزاء است و اگر مقدار آن در برگ گیاه در محدوده بی‌خطر باشد، در جمع با اجزاء دیگر مانند ساقه گیاه، غلظت کلی اسید پروسیک کم‌تر نیز خواهد شد، در این پژوهش میزان اسید پروسیک در برگ گیاه سورگوم اندازه‌گیری شد. همچنین در بسیاری از مقالات علمی، میزان اسید پروسیک تنها در برگ گیاه اندازه‌گیری و گزارش شده است (Haskins و همکاران، 1988؛ Rhykerd and Johnson، 2007).

با توجه به اینکه میزان اسید پروسیک اغلب در مقادیر بسیار کم می‌باشد نیاز است تا از روش‌هایی استفاده شود که علاوه بر داشتن دقت بالا، قابلیت تشخیص غلظت‌های اندک را نیز داشته باشند. اغلب روش‌هایی که برای تعیین میزان اسید پروسیک مورد استفاده قرار می‌گیرند، بر اساس اندازه‌گیری مستقیم میزان HCN در نمونه انجام می‌شوند که روش‌هایی مانند استفاده از الکترودهای حساس به یون سیانید، (Blaedel، 1971) استفاده از نوارهای جاذب سیانید و یا جمع‌آوری سیانید در محلول بازی و اندازه‌گیری

آن به روش رنگ سنجی از این جمله‌اند (Haskins و همکاران، 1988). مشکل اساسی که در این روش‌ها وجود دارد این است که HCN بسیار فرار است بنابراین روش‌های مستقیم اندازه‌گیری، اغلب مقادیر کمتر یا نامطمئن را گزارش می‌کنند.

در اثر شکسته شدن دورین، پاراهیدروکسی بنزآلدهید و HCN به میزان مولی برابر ایجاد می‌شود و بنابراین می‌توان به جای اندازه‌گیری مستقیم HCN آزاد شده، مقدار پاراهیدروکسی بنزآلدهید تشکیل شده را اندازه‌گیری کرد (Haskins و همکاران، 1984). پاراهیدروکسی بنزآلدهید یک آلدهید آروماتیک است که مقادیر کم آن نیز در دستگاه اسپکتروفوتومتر جذب شاخصی را در طول موج ۳۳۰ نانومتر نشان می‌دهد.

برای اندازه‌گیری میزان اسید پروسیک در رقم‌های سورگوم لازم است که ابتدا مولکول‌های دورین موجود در بافت‌های سلولی شکسته شود. برای شکستن مولکول‌های دورین از روش‌های آنزیمی، فیزیکی و شیمیایی استفاده می‌شود. در این تحقیق برای شکستن مولکول‌های دورین از دستگاه اتوکلاو استفاده شد که در آن تحت اثر وجود دما و فشار موجود در دستگاه، دورین به صورت فیزیکی شکسته شد. در مرحله بعد پارا هیدروکسی بنزآلدئید ایجاد شده، استخراج گردید و با حل شدن در محلول سود ۰/۱ مولار در طول موج ۳۳۰ نانومتر جذب مخصوص به خود را نشان داد.

به طور کلی غلظت اسید پروسیک در علوفه ۱۸ رقم سورگوم مورد بررسی در این پژوهش در محدوده بین ۱۶۳ تا ۴۸۱ میلی‌گرم در کیلوگرم بود که برای ارقام داخلی این محدوده بین ۱۶۴ تا ۲۷۵ میلی‌گرم در کیلوگرم قرار داشت و در مقایسه با جدول سطوح خطر اسید پروسیک موجود در علوفه‌ها (جدول ۱) تمام رقم‌های مورد بررسی در محدوده کاملاً بی‌خطر قرار دارند و تعلیف دام با این ارقام سورگوم حتی به صورت تنها منبع خوراک، مسمومیّتی ایجاد نخواهد کرد.

در تحقیق انجام شده، به دلیل اینکه تمام ۱۸ رقم سورگوم در یک مزرعه و با شرایط یکسان رشد کرده‌اند، نقش شرایط محیطی برای همه ۱۸ رقم تقریباً یکسان است و بنابراین می‌توان میزان تولید اسید پروسیک را بیش‌تر به نوع و ژنوتیپ گیاه مربوط دانست.

در مقایسه با گزارش‌های انجام شده در مورد اندازه‌گیری اسید پروسیک در رقم‌های سورگوم می‌توان به گزاش مربوط به اثر تراکم بوته و مقادیر مختلف کود نیتروژنه سرک بر عملکرد علوفه، پروتئین و اسید پروسیک سورگوم علوفه‌ای در کشت تابستانه اشاره کرد (Bahrami and Deghani ghenateghestani، 2004). در آزمایشی که در دو ایستگاه تحقیقاتی کوشکک (ایستگاه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز) و ایستگاه زرقان (ایستگاه تحقیقات کشاورزی استان فارس) انجام شد، مقدار کود نیتروژنه سرک شامل صفر، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ کیلوگرم نیتروژن خالص در هکتار به صورت اوره استفاده شد و مشخص گردید که کود نیتروژنه ارتفاع ساقه اصلی، سطح برگ، تعداد کل پنجه‌ها، کل عملکرد علوفه تر، ماده خشک علوفه و برگ، درصد پروتئین خام و اسید پروسیک علوفه را افزایش داد.

در تحقیقی اثرات تنش خشکی بر بازده علوفه خشک، ارتفاع گیاه، اندیس سطح برگ[iv] و میزان اسید پروسیک بر روی چهار رقم سورگوم در حومه شهر قدس (استان البرز) بررسی شد و نتایج نشان داد که تنش کم‌آبی سبب افزایش میزان اسید پروسیک از مقدار متوسط ۲۲۷ میلی‌گرم در کیلوگرم به مقدار متوسط ۲۴۵ میلی‌گرم در کیلوگرم شد (Moaveni، 2010).

ماده ضد تغذیه بعدی که مورد آزمایش قرار گرفت نیترات بود. اندازه‌گیری میزان نیترات در سه تکرار در نمونه خشک و آسیاب شده گیاه کامل سورگوم انجام شد. نتایج مربوط به غلظت نیترات در ۱۸ رقم سورگوم علوفه‌ای در جدول پنج نشان داده شده است:

جدول۵ - غلظت نیترات در ۱۸ رقم سورگوم مورد مطالعه

ردیف	نام رقم	مقدار نیترات (میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک)	ردیف	نام رقم	مقدار نیترات (میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک)
۱	CSSH.1	۵۸۴ ± ۷۹/۹۸ f	۱۰	PFS-21	۶۲۰ ± ۸۹/۵۹ f
۲	اسپید فید	۵۷۴ ± ۱۴/۳۹ f	۱۱	FGCSI10	۱۰۵۵ ± ۱۵/۹۹ e
۳	FGCSI09	۱۴۳ ± ۰/۰۰ g	۱۲	FGCSI12	۱۰۵۵ ± ۵۶/۵۹ e
۴	FS one BMR	۱۶۰۱ ± ۲۳/۹۹ d	۱۳	Sucrose photo BMR	۲۰۳۸ ± ۱۱۶/۷۸ b c
۵	Juicy Sweet BMR SSH.1	۲۰۸۹ ± ۶۳/۹۹ b	۱۴	KFS-2	۱۲۷ ± ۰/۰۰ g
۶	Juicy Sweet BMR SSH.2	۳۲۶ ± ۱۵۳/۵۷ g	۱۵	KFS-18	۱۰۴۹ ± ۶۵/۵۹ e
۷	Titan	۲۸۷ ± ۷۱/۹۹ g	۱۶	پگاه	۱۸۵۳ ± ۱۵۹/۹۸ c
۸	Silo King	۱۸۳۶ ± ۵۹/۱۹ c	۱۷	HFS1	۱۰۵۶ ± ۱۸۷/۱۷ e
۹	PHFS-27	۱۹۱۷ ± ۶۷/۱۹ b c	۱۸	Juicy sweet2	۲۴۱۷ ± ۴۷/۹۹ a

SEM =۶۳/۳۹۵

* -در هر ستون اعداد دارای حروف غیر مشابه اختلاف معنی دار دارند (مقایسه میانگین تیمارها با سطح خطای ۵درصد انجام شده است)..

با بررسی نتایج ذکر شده در جدول ۵ مشخص شد که بیش‌ترین میزان نیترات به ترتیب مربوط به ارقام Juicy Sweet2 (۲۴۱۶ میلی‌گرم در کیلوگرم)، Juicy Sweet BMR SSH.1 (۲۰۸۸ میلی‌گرم در کیلوگرم) و Sucrose photo BMR (۲۰۳۷ میلی‌گرم در کیلوگرم) بود. کم‌ترین میزان نیترات نیز به ترتیب در ارقام KFS-2 (۱۲۷ میلی‌گرم در کیلوگرم)، FGCSI09 (۱۴۳ میلی‌گرم در کیلوگرم) و رقم Titan (۲۸۶ میلی‌گرم در کیلوگرم) مشاهده گردید.

در مورد غلظت نیترات در ارقام داخلی، برای دو رقم پگاه و اسپیدفید که سال‌ها در ایران کشت شده‌اند، اسپیدفید دارای غلظت نیترات به مراتب کم‌تری بود (به ترتیب ۵۷۴ و ۱۸۵۳ میلی‌گرم در کیلوگرم برای اسپیدفید و پگاه). برای رقم‌های جدیدتر با کدهای KFS-2 و KFS-18 غلظت نیترات به ترتیب ۱۲۷ و ۱۰۴۹ میلی‌گرم در کیلوگرم به دست آمد که به صورت مشخص برای رقمKFS-2 غلظت کم‌تری از نیترات مشاهده شد.

در مقایسه با جداول توصیه شده برای محدودیت‌های مصرف نیترات (جدول ۳) مشخص گردید که میزان نیترات در همه رقم‌ها داخلی و وارداتی در سطح مجاز قرار دارد و مصرف هیچ‌یک از ارقام معرفی شده در شرایط موجود، خطری را متوجه دام نخواهد کرد.

نیترات به عنوان یکی دیگر از مواد ضد تغذیه‌ای در بسیاری از گیاهان علوفه‌ای وجود دارد که سطوح پایین آن مشکلی برای دام ایجاد نمی‌کند (Rasby و همکاران، 2014). در حیوانات نشخوارکننده، بخشی از نیترات وارد شده همراه با علوفه به شکمبه ابتدا به نیتریت تبدیل شده و سپس میکروارگانیسم‌های موجود در شکمبه آن را به آمونیاک تبدیل می‌کنند که آمونیاک تولید شده در تهیه اسیدهای آمینه مختلف مصرف می‌گردد. در شکمبه دام تعادلات زیر همیشه برقرار است:

$$NO_3^- \rightleftharpoons NO_2^- \rightleftharpoons NH_3$$

در صورتی که میزان نیترات دریافت شده توسط دام بیش از حد مجاز باشد، مقدار نیتریت تشکیل شده نیز افزایش می‌یابد و این نیتریت اضافی از دیواره شکمبه جذب و وارد جریان خون شده و با اتصال به هموگلوبین درگلبول‌های

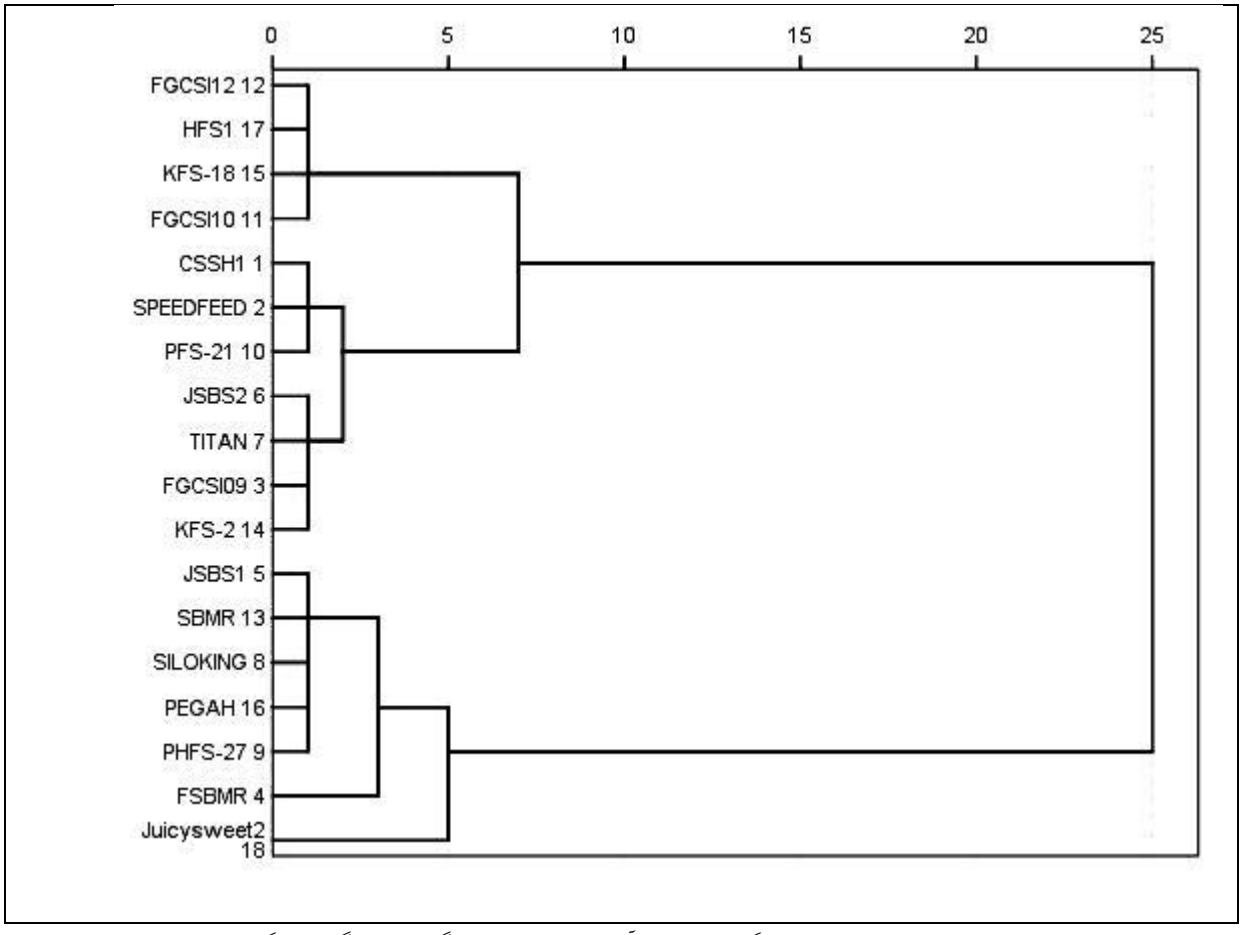
قرمز ، تشکیل مت هموگلوبین می‌دهد. مت هموگلوبین تشکیل شده، دیگر قادر به جذب و انتقال اکسیژن نیست و دام در اثر خفگی متابولیسمی تلف خواهد شد (Marais، 2001).

عوامل مختلفی از جمله استفاده بیش از حد از کودهای نیتروژنه، مصرف زیاد آفت‌کش‌ها وتنش‌های کم‌آبی، دمای بالا و نور کم می‌تواند میزان نیترات را در علوفه افزایش دهد (Rasby و همکاران، 2014).

در مقایسه همزمان نیترات و اسید پروسیک برای ارقام داخلی مشخص شد که در مورد اسید پروسیک رقم‌های سورگوم کرج با کدهای KFS-18 و KFS-2 دارای مقدار پایین‌تری از این ماده ضدتغذیه‌ای هستند (به ترتیب با مقادیر ۱۶۴ و ۱۸۱ میلی‌گرم در کیلوگرم) و در مورد عامل نیترات رقم کرج با کد KFS-2 و در رتبه بعدی رقم اسپیدفید قرار دارد(به ترتیب با مقادیر ۱۲۷ و ۵۷۴ میلی‌گرم در کیلوگرم). بنابراین در مقام مقایسه می‌توان رقم سورگوم کرج با کد KFS-2 را به عنوان رقم برتر داخلی از نظر پایین بودن شاخص مواد ضدتغذیه‌ای معرفی کرد.

در مورد رقم‌های وارداتی نیز از نظر کم‌ترین میزان غلظت هم‌زمان اسید پروسیک و نیترات، رقم سورگوم با کد FGCSI09 با داشتن مقدار اسید پروسیک ۲۷۱(میلی‌گرم در کیلوگرم) و مقدار نیترات ۱۴۳ (میلی‌گرم در کیلوگرم) و رقم Titan با داشتن مقدار اسید پروسیک ۱۶۳ (میلی‌گرم در کیلوگرم) و مقدار نیترات ۲۸۷ (میلی‌گرم در کیلوگرم) و رقم با کد PFS-21 با داشتن مقدار اسید پروسیک ۱۸۸ (میلی‌گرم در کیلوگرم) و مقدار نیترات ۶۲۰ (میلی‌گرم در کیلوگرم) به ترتیب در جایگاه اول تا سوم قرار دارند و برای سایر رقم‌ها یکی از این مواد ضدتغذیه‌ای یا هر دوی آن‌ها دارای مقدار زیادتری می‌باشد.

برای بررسی بیش‌تر در خصوص غلظت نیترات و اسید پروسیک و روابط بین این دو عامل در علوفه رقم‌های سورگوم، دندروگرام مربوط به هر دو عامل در علوفه رقم‌های سورگوم بررسی شد. نمودار شماره یک دندروگرام رسم شده این ارقام را نشان می‌دهد که در آن ۱۸ رقم سورگوم در دو زیرمجموعه کلی و چند زیرمجموعه جزئی تقسیم بندی شده‌اند و رقم‌های که بیش‌ترین شباهت را با یکدیگر دارند در یک زیر مجموعه قرار گرفته‌اند.



نمودار ۱- دندروگرام به دست آمده با استفاده از میانگین همبستگی بین گروه ها

نتیجه گیری

نتایج به دست آمده از این تحقیق نشان داد که در صورت رعایت مدیریت صحیح کاشت، داشت و برداشت ارقام مختلف سورگوم، غلظت اسید پروسیک از حد مجاز برای مصرف دام فراتر نخواهد رفت و در اغلب رقم‌ها فاصله زیادی تا حد مسمومیّت سیانیدی وجود دارد. برای ارقام داخلی غلظت اسید پروسیک در ناحیه کاملاً بی‌خطر می‌باشد.

بررسی انجام شده در مورد غلظت نیترات نیز نشان داد که برای هیچ یک از ۱۸ رقم سورگوم، مقدار نیترات به سطح خطرناک نرسیده بود. برای ارقام داخلی نیز غلظت نیترات برای هر چهار رقم در ناحیه بی‌خطر قرار داشت.

برترین رقم داخلی سورگوم از نظر پایین بودن غلظت همزمان اسید پروسیک و نیترات رقم سورگوم کرج با کد KFS-2 بود و برای رقم‌های وارداتی نیز سورگوم‌های با کد FGCSI09، Titan و PFS-21 به ترتیب کم‌ترین غلظت اسید پروسیک و نیترات را دارا بودند.

تقدیر و تشکر

از بخش تحقیقات گیاهان علوفه‌ای و مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر به ویژه آقایان دکتر خزایی و دکتر بهشتی که در تامین رقم‌های ۱۸ رقم سورگوم علوفه‌ای کشت شده در آن مؤسسه همکاری نمودند، و نیز از زحمات مهندس محمد بابائی که در تجزیه و تحلیل آماری نتایج همکاری نمودند، تشکر و قدردانی می‌شود.

[1] Dhurrin
[2] *S.halepense*
[3] *S.almum*
[4] Leaf Area Index (LAI)

منابع

AL-Sultan, S.L. (2003). Sorghum Halepenses and its Cyanide Content. *Pakistan Journal of Nutrition.* 2(3):123-124.

Bahrani, M.J, and Deghani ghenateghestani, A. (2004). Summer Forage Sorghum Yield, Protein and Prussic Acid Contents as Affected by Plant Density and Nitrogen Topdressing. *Journal of Agricultural Science and Technology*. 6:73-83.

Blaedel, W.J., Eastv, D.B., Anderson, L. and Farrell, T.R. (1971). Potentiometric determination of cyanide with an ionselective electrode. Application to cyanogenic glycosides in sudangrasses. *Analytical. Chemistry*. 43:890-894.

Busk, P.K. and Møller, B.L. (2002). Dhurrin synthesis in sorghum is regulated at the transcriptional level and induced by nitrogen fertilization in older plants. *Plant Physiology.* 129:1222–1231.

Cowley, G.D. and Collings, D.F. (1977). Nitrate poisoning. *Veterinary Record.* 101:305–306

Dann, H.M., Grant, R.J., Cotanch, K.W., Thomas, E.D., Ballard, C.S. and Rice, Y.R. (2007). Comparison of brown midrib sorghum-sudangrass with corn silage on lactational performance and nutrient digestibility of Holstein dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 91:663-672.

Faithfull, N.T., *Methods In Agricultural Chemical Analysis A Practical Handbook* .(2002). CABI Publishing. London, UK. pp: 19-22.

Finnie, J.W., Windsor, P.A. and Kessell, A.E. (2011). Neurological diseases of ruminant livestock in Australia. II. toxic disorders and nutritional deficiencies. *Australian Veterenary Journal*. 89:247–253.

Fjell, D., Blasi, D. and Towne, G. (1991). Nitrate and Prussic Acid Toxicity in Forage: Causes, Prevention and Feeding Management. Cooperative Extension Service, Kansas State University, Manhattan.In: http://www1.foragebeef.ca/$Foragebeef/frgebeef.nsf/all/ccf94/$FILE/toxinsnitratesandprussicacid.pdf , Accesses: ۲ March 2018.

Francisco, I.A. and Pinotti, M.H.P. (2000). Cyanogenic Glycosides in Plants, *Brazilian Archives of Biology and Technology*. 43(5):487-492.

Gerber, P.J., Steinfeld, H., Henderson, B., Mottet, A., Opio, C., Dijkman, J. et al. (2013). Tackling climate change through livestock – A global assessment of emissions and mitigation opportunities. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), Rome.

Getachew, G., Putnam, D.H., De Ben, C.M. and De Peters, E.J. (2016). Potential of Sorghum as an Alternative to Corn Forage. *American Journal of Plant Sciences.* 7:1106-1121.

Gleadow, R.M. and Møller, B.L. (2014). Cyanogenic glycosides: synthesis, physiology and phenotypic plasticity. *Annual Review of Plant Biology*. 65:155–185.

Hadebe, S.T., Modi, A.T and Mabhaudhi, T. (2017). Drought Tolerance and Water Use of Cereal Crops: A Focus on Sorghum as a Food Security Crop in Sub-Saharan Africa. *Journal of Agronomy and Crop Science.* 203(3):177-191.

Harada, H., Yoshimura, Y., Sunaga, Y. and Hatanaka, T. (2000). Variations in nitrogen uptake and nitrate-nitrogen concentration among sorghum groups. *Soil Science and Plant Nutrition*. 46:97–104.

Haskins, F.A., Gorz, H.J, and Hill, R.H. (1988). Colorimetric Determination of Cyanide in Enzyme-Hydrolyzed Extracts of Dried Sorghum Leaves. *Journal of Agriculture and Food Chemistry.* 36:775-778.

Haskins, F.A., Gorz, H.J., Hill, R.M. and Brakke Youngquist. J. (1984). Influence of sample treatment on apparent hydrocyanic acid potential of sorghum leaf tissue. *Crop Science.* 24:1158–1163.

Hayes, C.M., Burow, G.B., Brown, P.J., Thurber, C., Xin, Z and Burke, J.J. (2015). Natural Variation in Synthesis and Catabolism Genes Influences Dhurrin Content in Sorghum. *The Plant Genome.* 8(2):1-9.

Hayes, C.M., Weers, B.D., Thakran, M., Burow, G., Xin, Z., Emendack, Y., et al. (2016). Discovery of a dhurrin QTL in sorghum: co-localization of dhurrin biosynthesis and a novel staygreen QTL. *Crop Science.* 56:104–112.

Jahanzad, E., Jorat, M., Moghadam, H., Sadeghpoura, A., Chaichi, M.R. and Dashtaki, M. (2013). Response of a new and a commonly grown forage sorghum cultivar to limited irrigation and planting density. *Agricultural Water Management.* 117:62–69.

Kilcer, T.F., Ketterings, Q.M., Cherney, J.H., Cerosaletti, P. and Barney, P. (2005). Optimum Stand Height for Forage Brown Midrib Sorghum · Sudangrass in North-eastern USA. *Journal of Agronomy and Crop Science.*191:35-40.

MacKown, C.T and Weik, J.C. (2004). Comparison of Laboratory and Quick-Test Methods for Forage Nitrate. *Crop Science.* 44:218-226.

Marais, J.P. (2001). Factors Affecting the Nutritive Value of kikuyu Grass (Pennisetum Clandestinum) – a Review. *Tropical Grasslands*. 35:65-84.

Mir, S.A. (2009). Extraction of NO_x and Determination of Nitrate by Acid Reduction in Water, Soil, Excreta, Feed, Vegetables and Plant Materials. *Journal of Applied Science and Environmental Management.* 13(3):57 – 63.

Neilson, E.H., Edwards, A.M., Blomstedt, C.K., Berger, B., Møller, B.L. and Gleadow, R.M. (2015). Utilization of a high-throughput shoot imaging system to examine the dynamic phenotypic responses of a C4 cereal crop plant to nitrogen and water deficiency over time. *Journal of Experimental Botany*. 66:1817–1832.

Nielsen, K.A., Tattersall, D.B., Jones, P.K. and Møllera, B.L. (2008). Metabolon formation in dhurrin biosynthesis. *Phytochemistry.* 69:88–98.

Rasby, R.J., Anderson, B.E. and Kononoff, P.J. (2014). Nitrate in Livestock Feeding. University of Nebraska- Lincoln Extension, Institute of Agriculture and Natural Resources. In: http://extensionpublications.unl.edu/assets/pdf/g1779.pdf , Accesses: ۴ March 2018.

Rhykerd, C.L., and Johnson, K.D. (2007). Minimizing prussic acid poisoning hazard in forages. Agronomy Extention, Purdue University., West Lafayette, In: https://www.agry.purdue.edu/ext/forage/publications/ay196.htm , Accesses: 7 March 2018.

Sarfraz, M., Ahmad, N., Farooq, U., Ali, A. and Hussain, K. (2012). Evaluation of sorghum varieties/lines for hydrocyanic acid and crude protein contents. *Journal of Agricultural Research.* 50(1):39-47.

Schittenhelm, S., and Schroetter, S. (2014). Comparison of drought tolerance of maize, sweet sorghum and sorghum–sudangrass hybrids. *Journal of Agronomy and Crop Science.* 200:46–53.

Sher, A., Ansar, M., Manaf, A., Qayyum, A., Saeed, M.F., and Irfan, M. (2014). Hydrocyanic acid and sugar content dynamics under nitrogen and sulphur application to forage sorghum cultivars. *Turkish Journal of Field Crops.*19(1):46-52.

Smitha Patel, P.A., Alagundagi, C.S. and Salakinkop. S.R. (2013). The anti-nutritional factors in forages - A review. *Current Biotica.* 6(4):516-526.

Swathi, P., Nagavani, A.V., Bhargavi, B., Ramana, J.V. and Reddy, G.P. (2016). Effect of levels of nitrogen and time of harvesting on growth and quality parameters of fodder sorghum, *Current Biotica*. 10(1):59-63.

Undersander, D., Combs, D., Howard, T., Shaver, R., Siemens, M. and Thomas, D. (1999). Nitrate poisoning in cattle, sheep, and goats. University of Wisconsin-Extension.In: https://fyi.uwex.edu/forage/nitrate-poisoning-in-cattle-sheep-and-goats/, Accesses: 7 March 2018.

Vetter, J. (2000). Plant cyanogenic glycosides. *Toxicon.* 38:11–36.

Wheeler, J.L., Mulcahy, C., Walcott, J.J. and Rapp, G.G. (1990). Factors Affecting the Hydrogen Cyanide Potential of Forage Sorghum, *Australian Journal of Agricultural Research.* 41:1093-1100.