13 (1) 93-102, Spring 2021

Journal of Animal Environment
(AEJ)
Journal homepage: http://www.aejournal.ir

Original Research Paper

Effects of seed priming with some plant growth regulators and fertilization with organic manure on the chemical composition, *in vitro* gas production parameters and digestibility of lentils

Javad Bayatkouhsar *[1], Fereshteh Maghsoudloo [1], Mohsen Azarnia [2], Farzad Ghanbari [1], Farkhondeh Rezaii [3]

[1] *Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Gonbad kavoos, Gonbad kavoos, Iran*
[2] *Department of Agronomy and plant Breeding, Faculty of Agriculture, University of Gonbad kavoos, Gonbad kavoos, Iran*
[3] *Department of Agriculture, Payame Noor University, Iran*

Key Words:
Seeds
Legumes
Mycorrhizal Inoculation
Chemical Composition
Gas Production

Abstract

Introduction: A study was conducted to evaluate the effect priming and inoculation with bio-fertilizers on the chemical composition and *in vitro* fermentation parameters of lentil.
Materials & Methods: The lentil seeds to priming treatments, with two percent sodium hypochlorite disinfection solution, and cultured for 8 hours before the desired solutions (hormone gibberellic acid, and salicylic acid and distilled water) were kept. Treatments were: The first factor is the use of mycorrhizae in three levels [Non-inoculated (control), inoculation with mycorrhizal fungi species *Glomus intraradices* and *G. mosseae*]. The second factor involves priming treatments in 5 levels [Hydro-priming (using water), priming with gibberellic acid 100 ppm, priming with salicylic acid 100 ppm, priming with gibberellic acid 100 ppm × priming with salicylic acid 100 ppm and control (no treatment)]. The chemical composition of the samples was determined using the standard methods. *In vitro* digestibility of samples was determined by the batch culture method.
Result: Results showed that there was significant difference among treatments on chemical composition. In the absence of fungus, treatment combination of two hormones had most and salicylic acid and gibberellic acid had lowest crude protein content. In this study, the lowest neutral detergent fiber and acid detergent fiber content was related to treatment Glomus intraradices Glomus intraradices × salicylic acid. Results showed that pre-treatment of lentil seed with salicylic acid and combination of two hormones in drought conditions, compared with Glomus intraradices and Glomus mosseae, increased crude protein, neutral detergent fiber and nutrients digestibility. The highest apgas production potential (294.9 ml) and metabolizable energy (13.48 Mj/kg) were related to treatments Glomus mosseae and Glomus mosseae × gibberellic acid, respectively.
Conclusion: Totally, the obtained results of this study showed that any treatment of crop seeds for resistance to diseases, pests and stresses such as salinity and drought, making ability of roots in the absorption of water and nutrients can affect nutritive values of their forages and other by- products.

* Corresponding Author's email: javad_bayat@yahoo.com
Received: 8 February 2020; Reviewed: 2 May 2020; Revised: 25 May 2020; Accepted: 6 June 2020
(DOI): 10.22034/aej.2020.132890

مقاله پژوهشی

تأثیر پرایمینگ و تلقیح با قارچ گلوموس اینترارادیسز و گلوموس موسه بر ترکیب شیمیایی، فراسنجه‌های تولید گاز و قابلیت هضم برون‌تنی علوفه عدس

جواد بیات‌کوهسار[1*]، فرشته مقصودلو[1]، محسن آذرنیا[2]، فرزاد قنبری[1]، فرخنده رضایی[3]

[1] گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گنبدکاووس، گنبدکاووس، ایران
[2] گروه علوم زراعی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گنبدکاووس، گنبدکاووس، ایران
[3] بخش کشاورزی، دانشگاه پیام نور، ایران

کلمات کلیدی

بذر
حبوبات
تلقیح میکوریزی
ترکیب شیمیایی
تولید گاز

چکیده

مقدمه: مطالعه‌ای به‌منظور تأثیر هورمون‌های گیاهی به‌صورت پرایمینگ و تلقیح با کودهای زیستی بر ترکیب شیمیایی و فراسنجه های تخمیری علوفه عدس در شرایط برون‌تنی انجام شد.

مواد و روش‌ها: در ابتدا بذور عدس قبل از اعمال تیمارهای پرایمینگ، با محلول دو درصد هیپوکلریت سدیم ضدعفونی و قبل از کشت به مدت ۸ ساعت در محلول‌های مورد نظر (هورمون سالیسیلیک اسید و جیبرلیک اسید و آب مقطر) نگه‌داری شدند. تیمارهای آزمایشی شامل: عامل اول استفاده ازقارچ‌های میکوریزی در سه سطح [عدم تلقیح (شاهد)، تلقیح خاک با گونه‌های قارچ میکوریزای *Glomus intraradices* و *G. mosseae*]. عامل دوم شامل تیمارهای پرایمینگ در ۵ سطح [هیدروپرایم (با استفاده از آب مقطر)، پرایمینگ با اسید جیبرلیک ۱۰۰ پی‌پی‌ام، پرایمینگ با اسید سالیسیلیک ۱۰۰ پی‌پی‌ام، پرایمینگ با اسید جیبرلیک۱۰۰ پی‌پی‌ام × پرایمینگ با اسید سالیسیلیک ۱۰۰ پی‌پی‌ام و شاهد (بدون تیمار)] بود. ترکیب شیمیایی نمونه‌ها با استفاده از روش‌های استاندارد تعیین شد. به‌منظور برآورد فراسنجه‌های تولید گاز، از آزمون تولید گاز استفاده شد. قابلیت هضم برون‌تنی نمونه‌ها با استفاده از روش کشت بسته تعیین شد.

نتایج: نتایج نشان داد که بین تیمارهای آزمایشی از نظر ماده خشک، پروتئین خام، الیاف نامحلول در شوینده خنثی، الیاف نامحلول در شوینده اسیدی و خاکستر خام اختلاف معنی‌داری وجود داشت ($P<0/05$). در شرایط عدم کاربرد قارچ، تیمار تلفیق دو هورمون بیش‌ترین و تیمار اسیدسالیسیلیک و اسیدجیبرلینگ کم‌ترین پروتئین خام را داشتند. در این مطالعه تیمار گلوموس اینترارادیسز تیمار قارچ گلوموس اینترارادیسیز× اسید سالیسیلیک کم‌ترین میزان الیاف نامحلول در شوینده خنثی و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی را داشتند. پیش تیمار کردن بذر عدس با اسیدسالیسیلیک و تلفیق دو هورمون در شرایط دیم، موجب افزایش پروتئین، الیاف نامحلول در شوینده خنثی و مواد مغذی قابل هضم در مقایسه با کاربرد قارچ گلوموس اینترارادیسیز و گلوموس موسه شد. تیمار قارچ گلوموس موسه بالاترین میزان پتانسیل تولید گاز (۲۹۴/۹ میلی‌لیتر) و قارچ گلوموس موسه × اسید جیبرلیک بالاترین انرژی قابل متابولیسم (۱۳/۴۸ مگا ژول در کیلوگرم) را در مقایسه با سایر تیمارها داشتند.

نتیجه‌گیری و بحث: به‌طورکلی نتایج این مطالعه نشان داد که تیمار کردن بذر محصولات زراعی با اهداف مقاوم کردن در برابر بیماری‌ها و آفات و تنش‌هایی از قبیل شوری و خشکی، توانا ساختن ریشه‌ها در جذب آب و مواد مغذی می‌تواند بر ارزش تغذیه‌ای علوفه حاصل از آن‌ها تاثیر داشته باشد.

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: javad_bayat@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۹ بهمن ۱۳۹۸؛ تاریخ داوری: ۱۳ اردیبهشت ۱۳۹۹؛ تاریخ اصلاح: ۵ خرداد ۱۳۹۹؛ تاریخ پذیرش: ۱۷ خرداد ۱۳۹۹
(DOI): 10.22034/aej.2021.132890

مقدمه

با توجه به رشد جمعیت که عمدتاً در کشورهای در حال توسعه رخ می‌دهد، نیاز به آب و زمین حاصلخیز برای پاسخگویی به تأمین غذای مورد نیاز نیز روز به روز افزایش می‌یابد. هم‌چنین طی دهه‌های اخیر در بسیاری از کشورهای در حال توسعه، تقاضا برای فرآوردهای دامی در نتیجه افزایش جمعیت و پیشرفت اقتصادی اجتماعی رشد روز افزونی را در پی داشته است، این در حالی است که منابع پایه نه تنها افزایش نمی‌یابد، بلکه در اثر بهره‌برداری بی‌رویه کاهش یافته و در بسیاری از نقاط جهان در روند تخریبی قرار گرفته است. با افزایش بهره‌برداری از منابع طبیعی به طرق مختلف، تولید علوفه نیز محدودتر شده و نظام دامداری وابسته به منابع طبیعی با محدودیت و تنگناهای جدی مواجه گردیده است (باژیان، ۱۳۸۶). لذا، امروزه استفاده از منابع خوراکی دارای کم‌ترین هزینه و کارایی زیاد از اولویت‌های تحقیقات است. از مهم‌ترین این منابع محصولات فرعی کشاورزی بوده که شامل حجم انبوهی از این مواد می‌باشند. حبوبات، پس از غلات دومین منبع مهم غذایی بشر به‌شمار می‌روند. عدس (*Lens culinaris*) ازجمله مهم‌ترین حبوبات در سطح دنیاست و به‌عنوان یک محصول زراعی مهم در مناطق نیمه‌خشک مدیترانه‌ای، جنوب آسیا، شبه قاره هند و آمریکای جنوبی و ایران کشت می‌گردد. این گیاه نقش مهمی در بهبود سلامت انسان، حیوانات و خاک دارد (Grusak، ۲۰۰۹). دانه‌های عدس غنی از منابع پروتئینی تقریباً ۲۸ درصد، مواد مغذی (پتاسیم، فسفر، آهن و روی)، ویتامین‌ها و هم‌چنین اسیدآمینه‌های لوسین و تریپتوفان برای تغذیه انسان می‌باشد (Bamdad و همکاران، ۲۰۰۹)؛ بنابراین مصرف عدس با گندم یا برنج، باعث متعادل شدن اسیدآمینه‌های ضروری برای تغذیه انسان می‌شود. این گیاه به سبب توانایی تثبیت نیتروژن، موجب افزایش حاصل‌خیزی خاک شده و در تناوب با برخی گیاهان زراعی خصوصاً غلاتی نظیر گندم و جو بهبود و پایداری عملکرد را به‌دنبال خواهد داشت (پارسا و باقری، ۱۳۸۷؛ Raskin، ۱۹۹۲). این گیاه انواع خاک‌ها ازجمله خاک‌هایی با حاصل‌خیزی کم را تحمل می‌کند. عوامل محدودکننده رشد، باعث عدم جوانه‌زنی، توسعه آهسته برگ، ماده خشک خیلی کم، شاخص برداشت پایین و قرار گرفتن در معرض تنش‌های زیستی و غیرزیستی این گیاه می‌شود. مهم‌ترین فاکتور غیرزیستی تهدیدکننده عدس، تنش رطوبتی است (Grusak، ۲۰۰۹). طبق آمار FAO (۲۰۱۳)، سطح زیرکشت بقولات دانه‌ای ۱۸ میلیون هکتار (۱۳ درصد زیرکشت کل غلات بوده) و محصول آن‌ها بین ۴۳ تا ۴۴ میلیون تن است. در بین حبوبات از نظر سطح زیر کشت و ارزش اقتصادی، مقام اول متعلق به لوبیاست و عدس و نخود در مقام‌های دوم و سوم قرار دارند. به گزارش FAO (۲۰۱۳) متوسط عملکرد عدس (۵۶۰ کیلوگرم در هکتار) در ایران از متوسط جهانی (۱۰۷۷ کیلوگرم در هکتار) پایین‌تر است، اما سطح زیر کشت (۱۶۴۹ هکتار) و میزان تولید در شرایط آبی (۸۲۰ کیلوگرم در هکتار) و در شرایط دیم (۷۰۳ کیلوگرم در هکتار) عدس در استان گلستان بیش‌تر از متوسط عملکرد کشور است. پرایمینگ بذر به اعمال تیمارهای رطوبتی (که گاهی مواد دیگری نیز با آب همراه است) قبل از کاشت روی بذر به‌منظور ارتقاء جوانه‌زنی، استقرار اولیه و غیره اطلاق می‌شود. به‌طورکلی این موارد را می‌توان در چگونگی جوانه‌زنی، استقرار اولیه گیاهچه، بهره‌برداری از نهاده‌های محیطی، زودرسی، افزایش کمی و کیفی محصول مشاهده کرد. میکوریز نوعی هم‌زیستی متقابل مفید است که بین اندام‌های جذب کننده گیاهان (معمولاً ریشه) و ریسه‌های قارچ‌های خاصی ایجاد می‌گردد. مشخصه این همکاری، از یک‌سو انتقال کربن تولیدشده توسط گیاه به قارچ و از سوی دیگر انتقال مواد مغذی جذب شده توسط قارچ به گیاه بوده که منجر به رشد بهتر گیاه میزبان می‌گردد. در نتیجه این همکاری، سیستم ریشه‌ای قوی‌تر و میسیلیوم گسترده، گیاه را قادر می‌سازد که آب و مواد غذایی کافی را جذب کرده، در مقابل استرس‌های محیطی از قبیل خشکی، شوری، آلودگی و بیماری‌های ریشه از گیاه محافظت نماید. نهایتاً، رشد اندام‌های هوایی و ریشه افزایش یافته و توانایی گیاه نیز افزوده خواهد شد و نتایج از قبیل تولید گیاهان قوی و سالم، افزایش راندمان مصرف آب، استفاده بهینه از مواد معدنی خاک، افزایش احتمال بقاء نشاء، افزایش راندمان محصول و افزایش زیست توده حاصل می‌گردد. بنابراین با توجه به تاثیرات مثبت هورمون‌های گیاهی به‌صورت پرایمینگ و تلقیح با باکتری یا قارچ بر عملکرد بیولوژیکی گیاه فرض بر این است ارزش تغذیه‌ای بقایای علوفه‌ای گیاه نیز تحت تاثیر قرار گیرد. با این حال، هنوز مطالعه‌ای در ارتباط با تأثیر هورمون‌های گیاهی پرایمینگ و تلقیح با قارچ بر ترکیب شیمیایی و ارزش تغذیه‌ای علوفه عدس صورت نگرفته است. لذا، هدف از این مطالعه تأثیر هورمون‌های گیاهی به‌صورت پرایمینگ و تلقیح با قارچ گلوموس اینترارادیسز و گلوموس موسه بر برخی ترکیبات شیمیایی، فراسنجه‌های تولید گاز و قابلیت هضم علوفه عدس در شرایط برون‌تنی بود.

مواد و روش‌ها

کشت گیاه عدس و تعیین ترکیب شیمیایی: به‌منظور ارزیابی تأثیر تلقیح میکوریزی و پرایمینگ بذر عدس با اسیدجیبرلیک و اسیدسالیسیلیک بر ارزش تغذیه‌ای علوفه عدس در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه گنبدکاووس با مختصات جغرافیایی ۵۵ درجه و ۱۲ دقیقه طول شرقی و ۳۷ درجه و ۱۶ دقیقه عرض شمالی و ارتفاع ۴۵ متر از سطح دریا، آزمایشی در آذرماه ۱۳۹۲ الی ۱۳۹۳ اجرا شد. عامل اول استفاده از قارچ‌های میکوریزی در سه سطح [عدم تلقیح (شاهد)، تلقیح خاک با گونه‌های قارچ میکوریزای

Glomus intraradices و *G. mosseae*]. عامل دوم شامل تیمارهای پرایمینگ در ۵ سطح [هیدروپرایم (با استفاده از آب مقطر)، پرایمینگ با اسیدجیبرلیک ۱۰۰ پی‌پی‌ام، پرایمینگ با اسیدسالیسیلیک ۱۰۰ پی‌پی‌ام، پرایمینگ با اسیدجیبرلیک ۱۰۰ پی‌پی‌ام × پرایمینگ با اسید سالیسیلیک ۱۰۰ پی‌پی‌ام و شاهد (بدون تیمار)]. بود. برای تلقیح خاک از پروپاگول (که شامل مخلوط اسپور قارچ، میسیلیوم‌های خارجی و قطعات ریشه کلونیزه شده بود) استفاده شد و بذر مورد استفاده، از رقم کیمیا بود. ابتدا بذور عدس قبل از اعمال تیمارهای پرایمینگ، با محلول دو درصد هیپوکلریت سدیم ضدعفونی، سپس کاملاً با آب مقطر شسته شدند و قبل از کشت به‌مدت ۸ ساعت در محلول‌های مورد نظر (هورمون سالیسیلیک اسید و جیبرلیک اسید و آب مقطر) نگه‌داری و جهت اعمال هرچه بهتر پرایمینگ و جذب رطوبت و تنفس بهتر بذور، از پمپ آکواریوم و سنگ هوا استفاده شد. سپس از محلول خارج و در دمای ۲۴ درجه سانتی‌گراد خشک شدند، که به این بذور، بذور پرایم شده می‌گویند (Kaur و همکاران، ۲۰۰۵). ابتدا تیمارهای پرایمینگ در آزمایشگاه اعمال و سپس در زمان کاشت تیمارهای تلقیح میکوریز به‌مقدار ۵ گرم (۴۰ اسپور در گرم) به‌ازای هر گرم بذر در خاک در نزدیکی بذور قرار گرفت. فاصله روی ردیف ۴ سانتی‌متر، فاصله بین ردیف‌های کاشت ۲۵ سانتی‌متر، طول هر کرت ۷ متر، عرض هر کرت ۱/۲۵ متر و فاصله بین دو کرت نیم متر درنظر گرفته شد. پس از برداشت محصول در زمان غلاف‌دهی نمونه‌گیری از تیمارها جهت تعیین ترکیب شیمیایی در آون (دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد) به‌مدت ۴۸ ساعت قرار داده شدند. ترکیبات شیمیایی شامل مقدار پروتئین خام، ماده آلی و خاکستر به‌روش AOAC (۲۰۰۳)، الیاف نامحلول در شوینده خنثی و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی طبق روش Van Soest و همکاران (۱۹۹۱) و مقدار فنل کل براساس روش فولین سیوکالته (Malick و Singh، ۱۹۸۰) انجام شد. با توجه به این‌که این طرح در مزرعه به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی انجام شد، با این‌حال، با توجه به اهداف مورد نظر در زمینه تعیین ارزش تغذیه‌ای، تیمارهای ۴ تکرار مزرعه با هم مخلوط و یک نمونه برای آزمایشگاه به‌صورت طرح کاملاً تصادفی تجزیه و تحلیل و مقایسه میانگین‌ها با آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح ۵٪ انجام شد.

تولید گاز در شرایط آزمایشگاهی: اندازه‌گیری مقدار تولید گاز با استفاده تکنیک پیشنهادی روش Menke و Steingass (۱۹۸۸) با استفاده از فشارسنج و بطری‌های شیشه‌ای حاوی بزاق و مایع شکمبه صاف شده به نسبت ۲:۱ (حدود ۳۰ میلی‌لیتر) و ۲۰۰ میلی‌گرم ماده خشک از تیمارهای آزمایشی (۳ تکرار) انجام شد. خوراک با استفاده از الک ۱ میلی‌متری آسیاب شده و داخل شیشه‌های ۱۲۵ میلی‌لیتری ریخته شد. مایع شکمبه از سه رأس گوسفند نژاد دالاق دارای فیستولای شکمبه‌ای تغذیه شده با جیره آزمایشی و قبل از خوراک وعده صبح تهیه شد. درب بطری‌های شیشه‌ای با استفاده از درپوش لاستیکی و پوشش آلومینیومی به‌طور کامل بسته و سپس در دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد حمام بن‌ماری قرار داده شد. فشار گاز تولید شده در زمان‌های ۲،۴، ۶، ۸، ۱۲، ۲۴، ۳۶، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت انکوباسیون ثبت شده و حجم گاز تولید شده در هر زمان براساس فشار اندازه‌گیری شده محاسبه گردید حجم خالص گاز با کاستن میانگین گاز تولیدی ویال‌های بلانک از ویال‌های دارای نمونه حاصل شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با کمک معادله Ørskov و McDonald (۱۹۷۹) انجام شد.

معادله ۱: $P= b\ (1-e^{-ct})$

که در آن، P: حجم تولید گاز در زمان t به صورت تجمعی، c: ثابت نرخ تولید گاز، b: گاز تولید شده از بخش قابل تخمیر، t: مدت زمان انکوباسیون است.

تخمین انرژی قابل متابولیسم طبق روش Menke و همکاران (۱۹۷۹) و قابلیت هضم ماده آلی به‌وسیله Menke و Steingass (۱۹۸۸) و میزان اسیدهای چرب کوتاه زنجیر نیز به‌وسیله معادله Makkar (۲۰۰۵) صورت گرفت.

$OMD, (\text{درصد}) = ۱۴/۸۸ + ۰/۸۹۹GP + ۰/۴۵CP_1 + ۰/۰۶۵A$

$ME, (\text{مگاژول در کیلوگرم ماده خشک}) = ۲/۲ + ۰/۱۳۶GP + ۰/۰۵۷۴CP_2$

$SCFA, (\text{میلی‌مول}) = -۰/۰۰۴۲۵ + ۰/۰۲۲۲GP$

که GP: تولید خالص گاز در ۲۴ ساعت (میلی‌لیتر به‌ازاء ۲۰۰ میلی‌گرم ماده خشک)، CP_1: پروتئین خام (برحسب درصد)، A : مقدار خاکستر و CP_2: پروتئین خام (گرم در کیلوگرم ماده خشک) می‌باشد.

داده‌های جمع‌آوری شده در قالب طرح کاملاً تصادفی و با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS (۲۰۰۰) ویرایش ۹/۱ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

اندازه‌گیری قابلیت هضم در شرایط برون‌تنی: اندازه‌گیری قابلیت هضم تیمارهای مختلف براساس روش کشت بسته انجام شد (Theodorou و همکاران، ۱۹۹۴). محلول‌های مورد نیاز بزاق مصنوعی مانند روش تولید گاز تهیه و با نسبت ۲:۱ با مایع شکمبه مخلوط شد. pH مخلوط بافر و مایع شکمبه توسط دستگاه pH متر الکترونیکی (مدل ۶۹۱، شرکت Metrohm) کنترل و به ۶/۸ رسانده شد. برای هر نمونه ۴ تکرار قرار داده و بعد از تزریق گاز کربنیک به مخلوط بزاق مصنوعی جهت ایجاد شرایط بی‌هوازی، مقدار ۵۰ میلی‌لیتر از مخلوط را به ویال‌های شیشه‌ای که حاوی ۵۰۰ میلی‌گرم ماده خشک نمونه‌ها بود ریخته و در بن‌ماری در دمای ۳۹ درجه سلسیوس قرار داده شد. جهت کاهش خطای کار گاز تولیدی ویال‌ها به‌طور مداوم خالی می‌شد تا گاز تولیدی بر میزان قابلیت هضم تأثیر نگذارد. بعد از گذشت ۲۴ ساعت تمامی شیشه‌ها از بن‌ماری خارج و نمونه‌های موجود در هر

ویال، با استفاده از پارچه مخصوص صاف شده و محتویات هضم نشده از فاز مایع جدا شد. سپس pH فاز مایع نمونه‌ها اندازه‌گیری شد. محتویات هضم نشده هر ویال جمع‌آوری شده و درون کروزه‌های با وزن مشخص انتقال یافت. کروزه‌ها به‌مدت ۴۸ ساعت در آون با درجه حرارت ۶۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده‌شدند و درصدقابلیت هضم ماده خشک آن‌ها محاسبه شد. برای محاسبه قابلیت هضم ماده آلی، ماده خشک‌حاصل در کوره الکتریکی در دمای ۵۵۰ درجه‌سلسیوس به‌مدت ۳ ساعت قرار گرفت و خاکستر و قابلیت هضم ماده آلی محاسبه شد. بازده تولید گاز (GP_{24}) به‌صورت حجم گاز تولیدشده پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون تقسیم برمقدار ماده تجزیه شده واقعی (گرم) محاسبه شد (Getachewوهمکاران، ۲۰۰۲).جهت‌محاسبه توده‌میکروبی تولید شده از معادله پیشنهاد شده Blummel و همکاران (۱۹۹۷) استفاده گردید:

MCP = GP × (PF -۲/۲) تولید توده میکروبی (میلی‌گرم)

PF: عامل تفکیک، GP: میلی‌لیتر گاز تولید شده در زمان ۲۴ ساعت. عامل تفکیک بنا به تعریف برابر با نسبت میلی‌گرم ماده آلی حقیقی هضم شده بر میلی‌لیتر حجم گاز خالص تولیدی می‌باشد. حداکثر مقدار توده میکروبی تولید شده با درنظر گرفتن زمانی از انکوباسیون که نرخ تولید گاز در آن زمان حداکثر بوده و با در نظر گرفتن میلی‌گرم ماده آلی حقیقی هضم شده در آن زمان محاسبه گردید. بازده تولید توده پروتئین میکروبی از تقسیم توده پروتئین میکروبی تولید شده بر مقدارماده‌آلی‌حقیقی قابل تخمیر در پایان‌زمان‌انکوباسیون محاسبه شد. آنالیز داده‌های حاصل با رویه GLM نرم‌افزار آماری SAS نسخه (۹/۱) و در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد.

نتایج

تأثیر هورمون‌های گیاهی به‌صورت پرایمینگ و تلقیح میکوریزی بر ترکیب شیمیایی علوفه گیاه عدس: تأثیر هورمون‌های گیاهی به‌صورت پرایمینگ و تلقیح میکوریزی بر ترکیب شیمیایی گیاه عدس در شرایط برون‌تنی در جدول ۱ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که بین تیمارهای آزمایشی از نظر ترکیب شیمیایی اختلاف معنی‌داری وجود داشت($P<۰/۰۵$).نتایج به‌دست آمده تفاوت معنی‌دار ($P<۰/۰۵$) در مقدار پروتئین خام، الیاف نامحلول در شوینده خنثی، الیاف نامحلول در شوینده اسیدی، خاکستر و ماده خشک در تیمارهای آزمایشی‌مختلف را نشان‌داد. در این مطالعه در شرایط کاربرد گلوموس اینترارادیسز تیمار قارچ گلوموس اینترارادیسز × اسیدسالیسیلیک کم‌ترین میزان الیاف نامحلول در شوینده خنثی و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی را داشت. نتایج نشان داد که همه تیمارهای هیدروپرایمینگ نسبت به شاهد میزان پروتئین خام را افزایش دادند. در شرایط عدم کاربرد قارچ تیمار تلفیق دو هورمون بیش‌ترین و تیمار اسیدسالسیلیک و اسیدجیبرلینگ کم‌ترین پروتئین خام را داشتند. در شرایط کاربرد گلوموس اینترارادیسز بیش‌ترین و کم‌ترین پروتئین خام به‌ترتیب از تیمار قارچ گلوموس اینترارادیسیز × تلفیق دو هورمون و قارچ گلوموس اینترارادیسیز × اسیدسالیسیلیک حاصل شد. اثر همه تیمارهای آزمایشی بر فنل‌کل علوفه عدس معنی‌دار بود (جدول ۱). در شرایط عدم تلقیح قارچ میکوریزی، تیمار اسیدجیبرلیک (۲۰/۰۱ میلی‌گرم بر گرم) و تیمار تلفیقی اسیدجیبرلیک و اسیدسالیسیلیک (۲/۱۴ میلی‌گرم بر گرم) به‌ترتیب بیش‌ترین و کم‌ترین میزان فنل کل را داشتند. در شرایط تلقیح هر دو قارچ، تیمار اسیدسالیسیلیک اثر مثبت معنی‌دار و تیمار تلفیقی هر دو هورمون اثر بازدارنده معنی‌داری بر میزان فنل‌کل داشتند.درمجموع تیمار اسیدسالیسیلیک در مقایسه با تیمار شاهد ۴۷۸/۹۸ درصد فنل‌کل گیاهچه عدس را افزایش داد. البته در برخی از تیمارها عدم تلقیح در سطوح‌های مختلف پرایمینگ اثر کاهشی بر این صفت مورد بررسی داشتند (جدول ۱).

تأثیر هورمون‌های گیاهی به‌صورت پرایمینگ و تلقیح با قارچ گلوموس اینترارادیسز و گلوموس موسه بر تولید گاز و فراسنجه‌های تخمینی علوفه عدس: مقدار و نرخ تولید گاز و پارامترهای تخمینی عدس در نتیجه استفاده از هورمون‌های گیاهی به‌صورت پرایمینگ و تلقیح با قارچ گلوموس اینترارادیسز و گلوموس موسه در جدول ۲ نشان داده شده است. نتایج نشان داد بین تیمارها از نظر پتانسیل و حجم گاز تولیدی اختلاف معنی‌داری وجود داشت ($P<۰/۰۵$). از این نظر، تیمار قارچ گلوموس موسه بالاترین میزان پتانسیل‌تولید گاز و قارچ گلوموس موسه × هیدروپرایمینگ پایین‌ترین نرخ تولید گاز را در مقایسه با سایر تیمارها داشتند. بین تیمارهای آزمایشی از نظر پارامترهای تخمینی اختلافات معنی‌داری وجود داشت ($P<۰/۰۵$) به طوری‌که قارچ گلوموس موسه × هیدروپرایمینگ از نظر مقدار اسیدهای چرب کوتاه زنجیر، قابلیت هضم ماده آلی و ماده آلی قابل‌هضم در ماده‌خشک‌پایین‌ترین مقدار را داشت.مقدار عددی انرژی قابل متابولیسم قارچ گلوموس موسه × اسیدجیبرلیک از همه بالاتر بوده‌و قارچ گلوموس موسه× اسیدسالیسیلیک کم‌ترین مقدار را داشت.

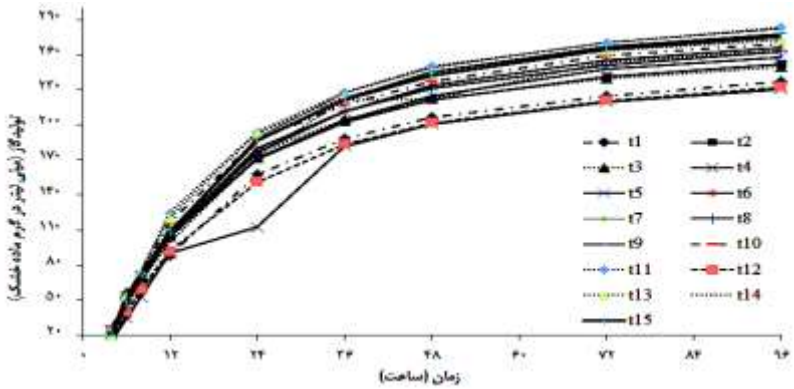
تأثیر هورمون‌های گیاهی به‌صورت پرایمینگ و تلقیح با قارچ گلوموس اینترارادیسز و گلوموس موسه بر قابلیت هضم و فراسنجه‌های تخمیری شکمبه‌ای عدس در شرایط برون‌تنی: تأثیر هورمون‌های گیاهی به‌صورت پرایمینگ و تلقیح با قارچ گلوموس اینترارادیسز و گلوموس موسه بر قابلیت هضم ماده خشک، ماده آلی و فراسنجه‌های تخمیری عدس در جدول ۳ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که بین تیمارها از نظر قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی در ۲۴ ساعت انکوباسیون اختلاف معنی‌داری وجود داشت

(P<۰/۰۵). تلفیق دو هورمون در مقایسه با سایر تیمارها دارای بالاترین قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی بود. آنالیز واریانس داده‌های حاصل از تأثیر هورمون‌های گیاهی به‌صورت پرایمینگ و تلقیح با قارچ بر پارامترهای تخمیری نشان داد که اختلاف معنی‌داری در pH مایع شکمبه وجود دارد (P<۰/۰۵). از این نظر تیمار تلفیق دو هورمون بالاترین مقدار و تیمار قارچ گلوموس اینترارادیسیز پایین‌ترین مقدار pH را به‌خود اختصاص دادند. از نظر فراسنجه‌های تخمیری نیز بین تیمارها اختلافات معنی‌داری وجود داشت (P<۰/۰۵). تیمار تلفیق دو هورمون بالاترین میزان عامل تفکیک و توده میکروبی تولید شده و پایین‌ترین مقدار بازده تولید گاز را در مقایسه با سایر تیمارها داشت. تیمار هیدروپرایمینگ به‌ترتیب دارای بالاترین و پایین‌ترین مقدار بازده تولید گاز و توده میکروبی تولید شده بود.

جدول ۱: تأثیر هورمون‌های گیاهی به‌صورت پرایمینگ و تلقیح با قارچ گلوموس اینترارادیسز و گلوموس موسه بر ترکیب شیمیایی (درصد) عدس در شرایط برون‌تنی

	تیمارها	خاکستر	ماده آلی	پروتئین خام	الیاف نامحلول درشوینده خنثی	الیاف نامحلول درشوینده اسیدی	کل ماده مغذی قابل هضم	بخش محلول در شوینده خنثی	کل کربوهیدرات محلول در بخش شوینده خنثی	همی سلولز	فنل کل (میلی‌گرم در گرم)
عدم تلقیح میکوریزی	شاهد	۶/۳۳^{a}	۹۳/۶۶^{e}	۸/۸۰^{e}	۴۴^{e}	۳۲^{c}	۵۹/۹۱^{m}	۵۶^{e}	۳۹/۳۶^{g}	۱۲^{e}	۱۰/۵۶^{e}
	اسید جیبرلیک	۵/۸۳^{dc}	۹۴/۱۶^{bc}	۹/۰۰^{d}	۴۶^{d}	۲۸^{e}	۶۳/۰۶^{h}	۵۴^{f}	۳۷/۶۶^{i}	۱۸^{b}	۲۰/۰۱^{c}
	اسید سالیسیلیک	۶/۱۱^{ab}	۹۳/۸۸^{de}	۹/۰۰^{d}	۵۸^{a}	۳۰^{d}	۶۱/۵۲^{k}	۴۵^{i}	۲۵/۳۸^{m}	۲۸^{a}	۱۶/۶۹^{d}
	هیدروپرایمینگ	۶/۳۳^{a}	۹۳/۶۶^{e}	۹/۵۰^{c}	۴۲^{f}	۲۸^{e}	۶۳/۲۴^{g}	۵۸^{d}	۴۰/۶۶^{f}	۱۴^{d}	۶/۰۹^{fg}
	تلفیق دو هورمون	۶/۳۳^{a}	۹۳/۶۶^{e}	۱۰/۵۰^{a}	۳۸^{h}	۳۰^{d}	۶۲/۰۶^{k}	۶۲^{b}	۴۳/۶۶^{c}	۸^{g}	۲/۱۴^{i}
قارچ گلوموس اینترارادیسز	عدم پرایمینگ	۵/۳۳^{e}	۹۴/۶۶^{a}	۸/۵^{g}	۴۸^{c}	۳۸^{a}	۵۵/۱۸^{o}	۵۲^{g}	۳۶/۶۶^{j}	۱۰^{f}	۷/۷۱^{f}
	اسید جیبرلیک	۶/۳۳^{a}	۹۳/۶۶^{e}	۸/۶۰^{f}	۴۴^{e}	۲۸^{e}	۶۲/۹۲^{i}	۵۶^{e}	۳۹/۵۶^{g}	۱۶^{c}	۳/۹۸^{ghi}
	اسید سالیسیلیک	۶^{bc}	۹۴^{cd}	۸^{h}	۳۶^{i}	۲۲^{h}	۶۷/۳۲^{a}	۶۴^{a}	۴۸/۵۰^{a}	۱۴^{d}	۲۶/۲۹^{b}
	هیدروپرایمینگ	۶^{bc}	۹۴^{cd}	۹^{d}	۵۴^{b}	۲۶^{f}	۶۴/۶۰^{e}	۴۶^{h}	۲۹/۵۰^{l}	۲۸^{a}	۳/۴۹^{ghi}
	تلفیق دو هورمون	۶/۳۳^{a}	۹۳/۶۶^{e}	۱۰^{b}	۴۶^{d}	۳۴^{b}	۵۵/۸۰^{n}	۵۴^{f}	۳۶/۱۶^{k}	۱۲^{e}	۲/۹۰^{hi}
قارچ گلوموس موسه	عدم پرایمینگ	۶/۱۱^{ab}	۹۳/۸۸^{de}	۱۰^{b}	۳۸^{h}	۲۶^{f}	۶۴/۹۶^{d}	۶۲^{b}	۴۴/۳۸^{b}	۱۲^{e}	۴/۲۰^{gh}
	اسید جیبرلیک	۶/۱۱^{ab}	۹۳/۸۸^{de}	۸^{h}	۴۲^{f}	۲۶^{f}	۶۴/۲۴^{g}	۵۸^{d}	۴۲/۳۸^{e}	۱۶^{c}	۶/۰۷^{fg}
	اسید سالیسیلیک	۵/۶۶^{d}	۹۴/۳۳^{b}	۸^{h}	۴۲^{f}	۳۰^{d}	۶۱/۱۶^{l}	۵۸^{d}	۴۲/۸۳^{d}	۱۲^{e}	۶۱/۱۴^{a}
	هیدروپرایمینگ	۶^{bc}	۹۴^{cd}	۱۰/۵۰^{a}	۴۴^{e}	۲۶^{f}	۶۵/۱۴^{c}	۵۶^{e}	۳۸^{h}	۱۸^{b}	۲/۸۷^{hi}
	تلفیق دو هورمون	۵/۸۳^{dc}	۹۴/۱۶^{bc}	۱۰^{b}	۴۰^{g}	۲۴^{g}	۶۶/۵۰^{b}	۶۰^{c}	۴۲/۶۶^{d}	۱۶^{c}	۲/۶۱^{hi}
	انحراف معیار میانگین	۰/۰۷۸۶	۰/۰۷۸۶	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۲/۸۹
	P-value	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱

در هر ستون، اعداد با حروف غیرمشابه از لحاظ آماری با یکدیگر اختلاف معنی‌دار دارند (p<۰/۰۵)



شکل ۱: منحنی تولید گاز در زمان‌های مختلف انکوباسیون

تیمارها شامل:۱) شاهد، ۲) قارچ گلوموس اینترارادیسیز، ۳) قارچ گلوموس اینترارادیسیز×اسید سالیسیلیک، ۴) قارچ گلوموس اینترارادیسیز × اسید جیبرلیک، ۵) قارچ گلوموس اینترارادیسیز × هیدروپرایمینگ، ۶) قارچ گلوموس اینترارادیسیز × تلفیق دو هورمون، ۷) قارچ گلوموس موسه، ۸) قارچ گلوموس موسه × اسید سالیسیلیک، ۹) قارچ گلوموس موسه × اسید جیبرلیک، ۱۰) قارچ گلوموس موسه × هیدروپرایمینگ، ۱۱) قارچ گلوموس موسه × تلفیق دو هورمون، ۱۲) اسید جیبرلیک، ۱۳) تلفیق دو هورمون، ۱۴) اسید سالیسیلیک، ۱۵) هیدروپرایمینگ.

جدول ۲: تأثیر هورمون‌های گیاهی به‌صورت پرایمینگ و تلقیح با قارچ گلوموس اینترارادیسز و گلوموس موسه بر فراسنجه‌های تولید گاز علوفه عدس در شرایط برون‌تنی

	تیمارها	پتانسیل تولید گاز(میلی لیتر بر گرم ماده خشک)	نرخ تولید گاز (میلی لیتر بر گرم ماده خشک)	اسیدهای چرب کوتاه زنجیر (میلی مول)	انرژی قابل متابولیسم (مگا ژول در کیلوگرم)	قابلیت هضم ماده آلی (درصد)	ماده آلی قابل هضم در ماده خشک (درصد)
عدم تلقیح میکوریزی	شاهد	۲۸۸/۹±۵/۲۹۸	۰/۰۳۸۷±۰/۰۰۱۸	۰/۸۲۸^{abc}	۱۱/۸۹^{de}	۴۸/۲۲^{abc}	۴۵۳۰/۷۹^{abc}
	اسید جیبرلیک	۲۵۹/۱±۴/۵۷۸	۰/۰۴۰۵±۰/۰۰۱۸	۰/۷۵۴^{d}	۱۱/۷۲^{def}	۴۵/۲۹^{d}	۴۲۸۸/۰۶^{d}
	اسید سالیسیلیک	۲۷۶/۶±۸/۰۹۳	۰/۰۳۷۰±۰/۰۰۲۷	۰/۷۶۵^{d}	۱۲/۶۵^{c}	۴۵/۷۴^{d}	۴۲۹۵/۲۱^{d}
	هیدروپرایمینگ	۲۸۵/۳±۶/۱۷۰	۰/۰۳۹۳±۰/۰۰۲۱	۰/۸۳۴^{abc}	۱۲/۷۳^{c}	۴۸/۱۱^{abc}	۴۵۰۷/۱۸^{abc}
	تلفیق دو هورمون	۲۷۶/۵±۵/۹۴۱	۰/۰۳۸۳±۰/۰۰۲۱	۰/۷۸۰^{dc}	۱۱/۸۸^{de}	۴۶/۳۳^{dc}	۴۳۳۹/۹۸^{dc}
قارچ گلوموس اینترارادیسز	عدم پرایمینگ	۲۷۳/۴±۵/۹۳۸	۰/۰۳۹۱±۰/۰۰۲۲	۰/۷۹۴^{bcd}	۱۱/۶۸^{ef}	۴۶/۹۲^{bcd}	۴۴۲۶/۵۷^{bcd}
	اسید جیبرلیک	۲۵۴/۲±۴/۸۹۴	۰/۰۴۴۱±۰/۰۰۲۳	۰/۷۷۶^{dc}	۱۱/۵۷^{efg}	۴۶/۱۸^{dc}	۴۳۴۱/۲۱^{dc}
	اسید سالیسیلیک	۲۴۷/۲±۵/۸۹۴	۰/۰۳۶۸±۰/۰۰۲۲	۰/۶۹۵^{e}	۱۱/۵۳^{gf}	۴۲/۹۲^{e}	۴۰۲۰/۹۰e
	هیدروپرایمینگ	۲۶۶/۵±۴/۷۸۰	۰/۰۳۹۰±۰/۰۰۱۸	۰/۷۵۷^{d}	۱۲/۰۳^{d}	۴۵/۴۴^{d}	۴۲۷۱/۹۹^{d}
	تلفیق دو هورمون	۲۷۵/۶±۴/۷۰۷	۰/۰۴۲۳±۰/۰۰۱۹	۰/۸۲۸^{abc}	۱۳/۳۲^{ab}	۴۸/۲۶^{abc}	۴۵۳۷/۲۵^{abc}
قارچ گلوموس موسه	عدم پرایمینگ	۲۹۴/۹±۸/۵۵۶	۰/۰۳۷۸±۰/۰۰۲۷	۰/۸۳۵^{ab}	۱۳/۰۸^{b}	۴۸/۵۶^{ab}	۴۵۵۹/۲۴^{ab}
	اسید جیبرلیک	۲۸۰/۷±۷/۹۵۴	۰/۰۴۲۵±۰/۰۰۳۲	۰/۸۵۴^{a}	۱۳/۴۸^{a}	۴۹/۳۰^{a}	۴۶۱۸/۳۹^{a}
	اسید سالیسیلیک	۲۴۰/۶±۶/۰۰۸	۰/۰۳۶۷±۰/۰۰۲۳	۰/۶۷۲^{e}	۱۱/۲۸^{g}	۴۲/۰۳^{e}	۳۹۳۷/۵۴^{e}
	هیدروپرایمینگ	۲۴۰/۳±۴/۶۰۰	۰/۰۲۷۷±۰/۰۰۱۸	۰/۶۶۵^{e}	۱۱/۴۶^{gf}	۴۱/۷۴^{e}	۳۹۳۰/۷۴^{e}
	تلفیق دو هورمون	۲۱۰/۹±۵/۶۰۳	۰/۰۴۱۱±۰/۰۰۲۰	۰/۸۵۷^{a}	۱۳/۲۲^{ab}	۴۹/۴۵^{a}	۴۶۵۶/۸۲^{a}
انحراف معیار میانگین				۰/۰۱۸۲	۰/۱۱۲۱	۰/۷۳۳۳	۶۸/۹۷۴۷
P-value				<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱

در هر ستون، اعداد با حروف غیرمشابه از لحاظ آماری با یکدیگر اختلاف معنی‌دار دارند (p<۰/۰۵)

جدول ۳: تأثیر هورمون‌های گیاهی به‌صورت پرایمینگ و تلقیح با قارچ گلوموس اینترارادیسز و گلوموس موسه بر قابلیت هضم، فراسنجه‌های تخمیری و تولید توده میکروبی عدس در شرایط برون‌تنی

	تیمارها	قابلیت هضم ماده خشک (درصد)	قابلیت هضم ماده آلی (درصد)	pH	نیتروژن آمونیاکی (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	بازده تولید گاز (میلی‌لیتر)	عامل تفکیک (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)	توده میکروبی تولید شده (میلی‌گرم)	بازده تولید پروتین میکروبی (میلی-گرم)
عدم تلقیح میکوریزی	شاهد	۰/۶۸۰^{ab}	۰/۶۷۳^{ab}	۶/۸۱^{abc}	۴/۱۸^{cde}	۲۰۹/۷۷^{bcd}	۴/۴۵^{cde}	۱۵۹/۹۱^{bcdef}	۰/۵۰۴^{dc}
	اسید جیبرلیک	۰/۶۰۰^{abcd}	۰/۶۴۰^{ab}	۶/۷۷^{bc}	۴/۴۲^{cde}	۲۰۰/۴۶^{cde}	۵/۰۶^{bc}	۱۷۱/۳۴^{abcde}	۰/۵۶۴^{abc}
	اسید سالیسیلیک	۰/۶۸۰^{abcd}	۰/۶۳۰^{b}	۶/۸۷^{abc}	۴/۸۱^{abcd}	۲۲۳/۰۲^{abc}	۴/۴۳^{cde}	۱۴۹/۰۸^{bcdef}	۰/۵۰۲^{dc}
	هیدروپرایمینگ	۰/۵۳۲^{d}	۰/۵۹۴^{b}	۶/۷۲^{dc}	۴/۲۸^{cde}	۲۵۷/۶۵^{a}	۴/۰۶^{e}	۱۲۷/۶۳^{e}	۰/۴۵۶^{d}
	تلفیق دو هورمون	۰/۷۰۰^{a}	۰/۷۲۲^{a}	۶/۸۹^{ab}	۴/۵۵^{cde}	۱۶۶/۱۲^{e}	۵/۸۳^{a}	۲۱۰/۷۴^{a}	۰/۶۲۲^{a}
قارچ گلوموس اینترارادیسز	عدم پرایمینگ	۰/۵۶۶^{dc}	۰/۶۱۱^{b}	۶/۶۱^{d}	۵/۶۷^{a}	۲۰۳/۸۶^{a}	۴/۰۶^{e}	۱۳۲/۱۴^{def}	۰/۴۵۴^{d}
	اسید جیبرلیک	۰/۶۴۰^{abc}	۰/۶۶۶^{ab}	۶/۷۷^{bc}	۴/۴۵^{cde}	۲۰۵/۳۰^{cde}	۴/۷۸^{bcd}	۱۶۹/۲۳^{abcdef}	۰/۵۳۸^{bc}
	اسید سالیسیلیک	۰/۶۳۳^{abcd}	۰/۶۵۸^{ab}	۶/۷۸^{abc}	۳/۷۹^{e}	۱۸۴/۷۶^{cde}	۵/۳۰^{ab}	۱۸۰/۳۷^{abc}	۰/۵۸۲^{ab}
	هیدروپرایمینگ	۰/۶۴۶^{abc}	۰/۶۶۶^{ab}	۶/۹۳^{a}	۲/۷۰^{f}	۲۱۹/۸۱^{abc}	۴/۴۱^{cde}	۱۵۷/۱۳^{bcdef}	۰/۴۹۹^{dc}
	تلفیق دو هورمون	۰/۵۸۰^{bcd}	۰/۶۱۷^{b}	۶/۷۴^{bcd}	۴/۴۰^{cde}	۲۴۴/۴۳^{ab}	۴/۱۱^{de}	۱۳۴/۵۳^{def}	۰/۴۵۶^{d}
قارچ گلوموس موسه	عدم پرایمینگ	۰/۵۹۳^{bcd}	۰/۶۴۵^{ab}	۶/۸۵^{abc}	۳/۹۱^{de}	۲۵۰/۵۸^{a}	۴/۱۲^{de}	۱۴۱/۰۸^{cdef}	۰/۴۶۳^{d}
	اسید جیبرلیک	۰/۶۸۰^{ab}	۰/۶۷۹^{ab}	۶/۸۵^{abc}	۴/۳۹^{cde}	۱۷۷/۵۸^{de}	۵/۲۸^{ab}	۱۸۵/۹۷^{ab}	۰/۵۸۲^{ab}
	اسید سالیسیلیک	۰/۶۲۰^{abcd}	۰/۶۳۷^{ab}	۶/۷۸^{abc}	۵/۵۶^{ab}	۱۹۱/۵۳^{cde}	۵/۵۰^{bc}	۱۶۸/۵۴^{abcdef}	۰/۵۶۴^{abc}
	هیدروپرایمینگ	۰/۶۲۶^{abcd}	۰/۶۵۳^{ab}	۶/۷۷^{bc}	۵/۱۸^{abc}	۱۹۴/۳۸^{cde}	۵/۰۷^{bc}	۱۷۴/۰۴^{abcd}	۰/۵۶۴^{abc}
	تلفیق دو هورمون	۰/۵۸۰^{bcd}	۰/۶۱۰^{b}	۶/۸۶^{abc}	۴/۶۸^{bcde}	۲۵۰/۴۵^{a}	۴/۰۱^{e}	۱۲۹/۴۷^{ef}	۰/۴۴۷^{d}
انحراف معیار میانگین		۰/۰۳۰۲	۰/۰۲۵۵	۰/۰۴۵۷	۰/۲۹۵	۱۲/۱۹۹	۰/۲۰۶	۱۲/۵۹۳	۰/۰۲۱۹
P-value		<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱

در هر ستون، اعداد با حروف غیرمشابه از لحاظ آماری با یکدیگر اختلاف معنی‌دار دارند (p<۰/۰۵)

بحث

اسیدسالیسیلیک یکی از ترکیبات فنولی است که در گیاهان تولید می‌شود. ترکیبات این گروه می‌توانند به‌عنوان تنظیم‌کننده رشد عمل کنند (Aberg، ۱۹۸۱). این ماده در گیاهان در مقادیر کم (میلی‌گرم بر گرم وزن تر یا کم‌تر) وجود دارد (Raskin، ۱۹۹۲) که به فرم آزاد و گلیکوزیل نیز است (Lee و همکاران، ۱۹۹۵). اسیدسالیسیلیک، بسته به غلظت به‌کار رفته بر روی گیاه، گونه، دوره رشدی و شرایط محیطی، تأثیرات متفاوتی را از نظر فرآیندهای مختلف فیزیولوژیک نظیر شروع برخی فرآیندها و ممانعت برخی دیگر می‌گذارد (Iqbal و همکاران، ۲۰۰۶). Anandhi و Ramanujam (۱۹۹۷) بیان کردند که سطح قندها، نشاسته و فنول‌ها در ارقام ماش (*Vigna mungo*) در پاسخ به تیمار اسیدسالیسیلیک (۵۰-۱۰ میکرومول) کاهش می‌یابند. وقتی گیاهان در شرایط تنش قرار می‌گیرند در جهت سازگاری با این شرایط تغییرات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی متفاوت در آن‌ها به‌وجود می‌آید. از تغییرات عمده بیوشیمیایی که در اثر کمبود آب در گیاه رخ می‌دهد، تغییر پروتئین‌های گیاهی و اسیدهای آمینه است. در این مورد مطالعاتی برروی نخود به‌عمل آمده و کاهش پروتئین‌های محلول و تجمع اسیدهای آمینه آسپاراتیک، اسید گلوتامیک، پرولین، لوسین و آرژنین در اثر تنش خشکی نشان داده شده است (Singh و همکاران، ۱۹۹۵). میزان پروتئین گیاه صفتی است که تحت تأثیر ژنوتیپ رقم، غذاسازی گیاه، فراهمی عناصر غذایی و شرایط اقلیمی قرار می‌گیرد. هر عامل غذایی و اقلیمی که سبب شود دوره رشد گیاه و خصوصا دوره پر شدن دانه‌ها کاهش یابد میزان پروتئین را افزایش می‌دهد. به‌طورکلی در شرایط تنش مانند گرما و خشکی برای افزایش مقاومت پروتئین و اسیدهای آمینه گیاه افزایش می‌یابد که پرولین معروف‌ترین اسید آمینه و پروتئین‌های Hsps (پروتئین‌های شوک گرمایی) می‌باشند. خنک شدن هوا و وفور آب با افزایش دوره دانه‌بندی نسبت تولید نشاسته به پروتئین را افزایش می‌دهد. اما خشکی و گرما نسبت پروتئین به نشاسته را افزایش می‌دهد. Hamid و همکاران (۲۰۱۰) گزارش نمودند که پیش تیمار (پرایم کردن) بذور گندم با اسیدسالیسیلیک در شرایط تنش شوری، موجب گیاهچه‌های قوی‌تر و بزرگ‌تری شده و میزان کلروفیل، محتوای قندهای محلول و پروتئین‌های گیاه را افزایش داد. در تنش آبی افزایش غلظت پرولین در اثر تجزیه پروتئین و افزایش سنتز پرولین صورت می‌گیرد. Johari-Pireivatlou (۲۰۱۰) گزارش کردند تجمع بیش از حد میزان پرولین نشان از تجزیه گسترده پروتئین‌ها دارد. نتایج نشان داد که در شرایط عدم‌کاربرد قارچ تیمار اسیدسالیسیلیک بیش‌ترین مقدار الیاف نامحلول در شوینده خنثی و همی سلولز را دارا بود.

مطالعات متعددی نشان دادند که اسیدسالیسیلیک باعث افزایش میزان برخی از متابولیت‌های ثانویه به‌ویژه آن‌هایی که در ساز و کارهای دفاعی گیاه نقش دارند، می‌شود (Kung و همکاران، ۲۰۰۴). گیاهان ترکیبات فنلی را در پاسخ به یک‌سری از ترکیبات پیام‌رسان آزاد می‌سازند، که نقش دفاعی مهمی دارند. گزارش شده است که الیسیتورهایی مانند اسیدسالیسیلیک و جاسمونات از موثرترین محرک‌های شیمیایی برای تحریک تولید متابولیت‌های ثانویه در گیاهان مختلف بوده است که از طریق فعال کردن بیان ژن‌های مسیر بیوسنتزی متابولیت‌های ثانویه باعث افزایش تولید آن‌ها می‌شود (Kovacik و همکاران، ۲۰۰۹). تأثیرگذاری و القای بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه توسط اسیدسالیسیلیک خارجی ممکن است با نقش آن به عنوان یک علامت‌رسان مرتبط باشد. در این رابطه اسمعیل‌زاده بهابادی و رضایی‌نودهی (۱۳۹۳) گزارش نمودند که میزان فنل کل در شنبلیله با کاربرد اسیدسالیسیلیک نسبت به تیمار شاهد افزایش یافت. پرایمینگ بذر با اسید سالیسیلیک میزان فنل برگ گندم را در شرایط تنش و عدم تنش افزایش داد (Hassanein و همکاران، ۲۰۱۲). هم‌چنین برخی محققان گزارش نمودند که تیمار اسید سالیسیلیک و متیل جاسمونات، میزان فنل‌کل و آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز (PAL) که این آنزیم به‌عنوان اولین و مهم‌ترین آنزیم دخیل در تولید ترکیبات پلی‌فنلی است، را افزایش داد (صمدی و همکاران، ۱۳۹۳). در برخی موارد در تیمار تلقیح و عدم تلقیح قارچ‌ها، میزان فنل‌کل نسبت به شاهد کاهش نشان داد این احتمالاً به‌خاطر اثر آنتاگونیستی قارچ‌ها با پرایمینگ مورد بررسی باشد که منجر به کاهش میزان صفت میزان فنل‌کل شد.

فراسنجه‌های تولیدگاز: ارزش تغذیه‌ای بسیاری از منابع غذایی گیاهی نظیر حبوبات و غلات به‌واسطه حضور انواع مختلفی از ترکیبات ضدتغذیه‌ای محدود می‌گردد. ترکیبات ضدتغذیه‌ای دسته بزرگی از متابولیت‌های ثانویه هستند که توزیع گسترده‌ای در گیاهان دارند (Deshpande، ۲۰۰۲). یکی از مهم‌ترین و شناخته‌شده‌ترین ویژگی‌های ترکیبات فنولی، توانایی اتصال آن‌ها به گروه‌های دارای بار مثبت موجود در ساختار پروتئین‌ها، اسیدهای آمینه، کاتیون‌های چندظرفیتی و موادمعدنی از قبیل آهن، روی و کلسیم و بنابراین کاهش ارزش تغذیه‌ای این ترکیبات می‌باشد (Khandelwal و همکاران، ۲۰۰۹) علاوه بر این، فنول‌ها می‌توانند به پروتئین‌های داخلی بدن نظیر آنزیم‌های دستگاه گوارش متصل گردند و از فعالیت آن‌ها جلوگیری کنند. این عمل نیز قابلیت هضم پروتئین‌ها و سایر ماکرومولکول‌ها را کاهش می‌دهد (Rawel و همکاران، ۲۰۰۳). تفاوت در مقدار فراسنجه‌های تولید گاز در بین انواع تیمارها به تفاوت در ترکیب شیمیایی آن‌ها بر می‌گردد. کاهش در مقدار قابلیت هضم ماده آلی و انرژی قابل متابولیسم می‌تواند به

دلیل افزایش میزان فیبر نامحلول در شوینده خنثی و اسیدی و کاهش میزان پروتئین خام باشد. یکی دیگر از علل کاهش میزان انرژی قابل متابولسیم و قابلیت هضم ماده آلی در اثر پیشرفت مرحله رشد گیاه می‌تواند فعالیت ضدتغذیه‌ای ترکیبات فنولی باشد که احتمالاً با پیوند شدن با برخی مواد مغذی مانند پروتئین، فیبر و کربوهیدرات‌های محلول و هم‌چنین اثرات سمی آن‌ها بر میکروب‌های شکمبه منجر به کاهش قابلیت هضم ماده آلی و انرژی قابل متابولیسم شده‌اند (McSweeney و همکاران، ۲۰۰۱). از نظر روند تولید گاز در زمان‌های مختلف پس از انکوباسیون (شکل۱) نیز بین انواع هورمون‌های گیاهی به‌صورت پرایمینگ و تلقیح با قارچ گلوموس اینترارادیسز و گلوموس موسه اختلاف معنی‌داری وجود داشت ($P<0/05$). روند تولید گاز در ۲۴ ساعت‌اول انکوباسیون برای همه انواع هورمون‌های گیاهی به‌صورت پرایمینگ و تلقیح با قارچ گلوموس اینترارادیسز و گلوموس موسه از سرعت بالاتری برخوردار بود. به‌طورکلی در بین انواع تیمارها بیش‌ترین گاز تولیدی مربوط به قارچ گلوموس موسه × تلفیق دو هورمون و کم‌ترین تولید گاز مربوط به قارچ گلوموس اینترارادیسیز × اسید جیبرلیک می‌باشد.

اندازه‌گیری گاز تولید شده در شرایط برون‌تنی اطلاعات مفیدی را درباره سرعت و میزان هضم خوراک فراهم می‌کند. به‌کارگیری این تکنیک به‌منظور تجزیه‌پذیری خوراک‌های الیافی به اثبات رسیده است (Menke و Steingass، ۱۹۸۸). Norton (۱۹۹۸) گزارش نمود که موادخوراکی باید حداقل حاوی ۱۰ درصد پروتئین خام باشد تا فعالیت میکروبی در شکمبه مطلوب باشد. بنابراین مواد خوراکی با کم‌تر از ۱۰ درصد پروتئین خام می‌تواند سبب کاهش فعالیت میکروبی در شکمبه گردد و در نتیجه منجر به تولید گاز کم‌تر شود. تا به‌حال مطالعه‌ای در خصوص استفاده از هورمون‌های گیاهی بر فرآیند تولید گاز صورت نگرفته شاید یکی دیگر از دلایل کاهش تولید گاز باند شدن ترکیبات فنولی موجود در این تیمارها با پروتین‌ها و کربوهیدرات‌ها به‌وسیله پیوندهای هیدروژنی و هیدروفوبی (McSweeney و همکاران، ۲۰۰۱) و هم‌چنین تاثیر بر میکروارگانیسم‌های شکمبه (Scalbert، ۱۹۹۱) و هضم آن‌ها باشد.

قابلیت هضم، فراسنجه‌های تخمیری و تولید توده میکروبی: هر اندازه مقدار عامل تفکیک بالا باشد نشان‌دهنده این است که ماده آلی تجزیه شده بیش‌تر به سمت تولید توده میکروبی رفته تا تولید اسیدهای چرب فرار (Blummel و همکاران، ۱۹۹۷). بالا بودن ضریب تفکیک و کم بودن توده میکروبی احتمالاً به این دلیل است که سوبسترای تخمیری تا حدی حل شده است، بدون این‌که مورد استفاده میکروارگانیسم‌ها قرار گرفته و تبدیل به اسید چرب بشود. گاز تولید شده از تخمیر بی‌هوازی یک محصول فرعی فرآیند تخمیر بوده و در واقع اتلاف انرژی است و باعث کاهش بازده تخمیر می‌شود. در واقع با کاهش تولید گاز متان بازده تخمیر خوراک نیز افزایش پیدا می‌کند. عامل تفکیک که به‌عنوان شاخصی از راندمان ساخت توده میکروبی در شرایط برون‌تنی می‌باشد (Blummel و همکاران، ۱۹۹۷)، به‌صورت نسبتی از سوبسترای تجزیه شده به‌صورت حقیقی برحسب میلی‌گرم به حجم گاز تولید شده در طول مدت انکوباسیون (۲۴ یا ۴۸ ساعت) تعریف می‌شود (Olivera، ۱۹۹۸). خوراک‌های با عامل تفکیک بالا به این معنی است که نسبت بیش‌تری از ماده تجزیه شده به‌داخل توده میکروبی وارد شده است. گازها، اسیدهای چرب فرار و توده میکروبی محصولات نهایی هضم شکمبه‌ای هستند. در این مطالعه، تیمارهای پرایمینینگ شده با اسیدسالیسیلیک و تلقیح شده با هر دو قارچ دارای بالاترین عامل تفکیک بودند. هر محصول نهایی که در پایان تخمیر اندازه‌گیری شده مستقیما به توده مواد هضم شده بستگی دارد (Menke و همکاران، ۱۹۷۹). تولید گاز با تولید خالص اسیدهای چرب فرار (O’Hara و همکاران، ۱۹۷۳) و سنتز توده میکروبی (Theodorou و همکاران، ۱۹۹۴) رابطه خطی دارد. هر چند حجم خالص گاز تولید شده به‌ازاء هر واحد سوبسترا هضم شده نشان‌دهنده متابولیسم میکروبی است، اما نمی‌توان به تولید تجمعی‌گاز به‌عنوان یک شاخص برای پتانسیل رشد میکروبی یک خوراک اتکاء کرد. تفاوت بین آزمایش‌های مختلف می‌تواند به عواملی از قبیل روش کار، مواد و نوع حیوانات، تکرارها و مدل ریاضی مورد استفاده مربوط باشد (Valentin و همکاران، ۱۹۹۹).

نتایج نشان داد که استفاده از هورمون‌های گیاهی به‌صورت پرایمینگ و تلقیح میکوریزی بر ترکیب شیمیایی تاثیر معنی‌داری داشت. بالاترین مقدار فنل در تیمارهای عمل آوری شده با اسید سالیسیلیک و تلقیح‌شده با هردو قارچ مشاهده شد.از نظرفراسنجه‌های تولید گاز نیز بین تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی‌داری وجود داشت و تیمارهای عمل‌آوری شده با اسیدسالیسیلیک در همه شرایط از پایین‌ترین نرخ تولید گاز برخوردار بودند. به‌طورکلی، نتایج این مطالعه نشان داد که هر گونه تیمار کردن بذر محصولات زراعی با اهداف مقاوم کردن در برابر بیماری‌ها و آفات و تنش‌هایی از قبیل شوری و خشکی، توانایی ساختن ریشه‌ها در جذب آب و مواد غذایی، افزایش حلالیت عناصر غذایی و افزایش سنتز فیتوهورمون‌ها، افزایش رشد گیاهان را از طریق تثبیت نیتروژن می‌تواند بر ارزش تغذیه‌ای علوفه حاصل از آن‌ها تاثیر داشته باشد.

منابع

۱. **باژیان، غ.، ۱۳۸۶.** مروری بر مدیریت مراتع جامعه عشایری در گذشته و حال: تغییرات، چالش‌ها و راهکارها. فصلنامهٔ علمی-پژوهشی

تحقیقات مرتع و بیابان ایران. جلد ۱۴، شماره ۴، صفحات ۵۲۴ تا ۵۳۸.

۲. **پارسا، م. و باقری، ع.، ۱۳۹۲.** حبوبات. انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد. ۵۲۲ صفحه.

۳. **صمدی، ص.؛ قاسم‌نژاد، ع. و علی‌زاده، م.، ۱۳۹۳.** تغییرات فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز (PAL) کنگرفرنگی (*Cynara scolymus* L) تحت تأثیر متیل جاسمونات و اسید سالیسیلیک در شرایط درون شیشه‌ای. نشریه پژوهش‌های تولید گیاهی. جلد ۲۱، شماره ۴، صفحات ۱۳۵ تا ۱۴۸.

4. Aberg, B., 1981. Plant growth regulators XLI. Monosubstituted benzoic acid. Swed. Journal of Agriculture science. Vol. 11, pp: 93-105.

5. Anandhi, S. and Ramanujam, M.P., 1997. Effect of salicylic acid on black gram (*Vigna mungo*) cultivars. Indian Journal of Plant Physiology. Vol. 2, pp: 138-141.

6. AOAC. 2003. Official Methods of Analysis. 15th edn. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC. USA.

7. Bamdad, F.; Dokhani, S. and. Keramat, J., 2009. Functional assessment and subunit constitution of lentil (*Lens culinaris*) proteins during germination. International Journal of Agriculture and Biology. Vol. 11, No. 6, pp: 690-694.

8. Blummel, M.l.; Makkar, H.P.S. and Becker, K., 1997. *In vitro* gas production: a technique revisited. Journal of Animal, Physiology and Animal Nutrition. Vol. 77, pp: 34-24.

9. Deshpande, S.S., 2002. Handbook of food toxicology. Toxicants and antinutrient in plant foods. Marcel Dekkel, New York. Endogenous plant hormones in hexaploid wheat plant under salt stress? Journal of Integrative Plant Biology. Vol. 48, No.2, pp: 181-189.

10. FAO. 2013. FAO Year Book. FAO Publication, (http://faostat.fao.org/site/).

11. Getachew, G.; Depiters, E.J. and Robinson, P.H. 2002. *In vitro* gas production provides effective method for assessing ruminant feeds. California Agriculther. Vol. 58, pp: 54-58.

12. Grusak, M.A., 2009. Nutritional and health-benecial quality. In: Erskine, W.; Muehlbauer, F.J.; Sarker, A. and Sharma, B., (ed), The Lentil: Botany, Production and Uses. Wallingford: CABI, 368390.

13. Hamid, H.; Rehman, K. and Ashraf, Y., 2010. Salicylic acid–induced growth and biochemical changes in salt-stressed wheat. Communications in Soil Science and Plant Analysis. Vol. 41, pp: 373-389.

14. Hassanein, R.A.; Abdelkader, A.F.H.; El-Said Amin, A. and El-Sherbiny, M.R., 2012. Grain-priming and foliar pretreatment enhanced stress defense in wheat (Triticum aestivum var. Gimaza 9) plants cultivated in drought land. AJCS Search Results Web results. Australian Journal of Crop Science. Vol. 6, No. 1, pp: 121-129.

15. Iqbal, M.; Ashraf, M.; Jamil, A. Ur-Rehman, S., 2006. Does seed priming induce changes in the levels of some endogenous plant hormones in hexaploid wheat plants under salt stress? Journal of Integrative Plant Biology. Vol. 48, pp: 181-189.

16. Johari-Pireivatlou, M., 2010. Effect of Soil Water Stress on Yield and Proline Content of Four Wheat Lines. African journal of biotechnology. Vol. 9, No. 1, pp: 036-040.

17. Kaur, S.; Gupta, A.K. and Kaur, N., 2005. Seed priming Increases Crop yield possibly by Modulating enzymes of Sucrose metabolism in chickpea. Journal. Agronomy and Crop Science. Vol. 191, pp: 81-87.

18. Khandelwal, S.; Udipi, S.A. and Ghuger, P., 2009. Polyphenols and tannins in Indian pulses: Effect of soaking, germination and pressure cooking. Food Research International. Vol. 43, pp: 526-530.

19. Kovacik, J.; Backor, M.; Strnad, M. and Repcak, M., 2009. Salicylic acid-induced changes to growth and phenolic metabolism in *Matricaria chamomilla* plants. Plant Cell Reports. Vol. 28, pp:135-143.

20. Kung, L.; Stokes, M.R. and Lin, C.J., 2004. Silage additives. pp: 305-360 in Silage Science and Technology (Agronomy Series No. 42). Buxton, D.R.; Muck, R.E. and Harrison, H.J., ed. American Society of Agronomy, Madison, WI.

21. Lee, H.; León, J. and Raskin, I., 1995. Biosynthesis and metabolism of salicylic acid. Proceedings of the National Academy of Sciences. Vol. 92, pp: 4076-4079.

22. Makkar, H.P.S., 2005. *In vitro* gas methods for evaluation of feeds containing phytochemicals. Animal feed science and techmology. Vol. 123, pp: 291-302.

23. Malick, C.P. and Singh, M.B., 1980. In plant enzymology and histo enzymologhy Kalyani Publishers New Dehli 1980. 286 p.

24. McSweeney, C.S.; Palmer, B.D.; McNeill, M. and Krause, D.O., 2001. Microbial interactions with tannins: nutritional consequences for ruminants. Animal feed science and techmology. Vol. 91, pp: 83-93.

25. Menke, K.H. and Steingass, H.H., 1988. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. Journal of Animal Research Developent. Vol. 28, pp: 7-55.

26. Menke, K.H.; Raab, L.; Solewski, A.; Steingass, H.; Fritz, D. and Schneider, W., 1979. The estimation of the digestibility and metabolisable energy content of ruminant feeding stuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor *in vitro*. Journal of Agriculture science. Vol. 93, pp: 217-222.

27. Norton, B.W., 1998. The nutritive value of tree legumes. In: Gutteridge, R.C. and Shelton, H.M., (Eds.), Forage Tree Legumes in Tropical Agriculture. Tropical Grassland Society of Australia Inc., Queensland, Australia.

28. O'Hara, M. and Ohki, K., 1973. Studies of the mode of gas production in an artificial rumen and its application to the

evaluation of feedstuffs. III. The mode of volatile fatty acid production, and its relation to the gas production rate. Jpn. Journal of Zootech Science. Vol. 44, pp: 432-439.

29. **Olivera, 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 forage. A thesis submitted to the University of Aberdeen, Scotland, in partial fulfillment of the degree of Master of Science in Animal Nutrition.
30. **Ørskov, E.R. and McDonald, I., 1979.** The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. Journal of Agriculture Science. Vol. 92, pp: 499-503.
31. **Raskin, I., 1992.** Role of salicylic acid in plants. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology. Vol. 43, pp: 439-463.
32. **Rawel, H.M.; Rohn, S. and Kroll, J., 2003.** Influence of a sugar moiety (rhamnosyl glucoside) at 3-*O*- position on the reactivity of quercetin with whey proteins. International Journal of Biological Macromolecules. Vol. 32, pp: 109-120.
33. **SAS. 2000.** SAS User's Guide: Statistics, Version 9.1 Edition. SAS Institute, Cary, NC, USA.
34. **Scalbert, A., 1991.** Antimicrobial properties of tannins. Hytochemistry. Vol. 30, pp: 3875-3883.
35. **Singh, C.K.; Robinson, P.H. and McNiven, M.A., 1995.** Evaluation of raw and roasted lupin seeds as protein supplements for lactating cows. Animal feed science and techmology. Vol. 52, No. 1, pp: 73-76.
36. **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 techmology. Vol. 48, pp: 185-197.
37. **Valentin, S.F.; Williams, P.E.V.; Forbes, J.M. and Sauvant, D., 1999.** Comparison of the *in vitro* gas production technique and the nylon bag degradability technique to measure short and long term processes of degradation of maize silage in dairy cows. Animal feed science and techmology. Vol. 78, pp: 81-99.
38. **Van Soest, P.J., 1994.** Nutritional Ecology of the Ruminant, 2nd ed.; Cornell University Press: United States.
39. **Van Soest, P.J.; Robertson, J.B. and Lewis, B.A., 1991.** Methods for dietary fiber neutral detergent fiber and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. Journal of Dairy Science. Vol. 74, pp: 3583-3597.