
The effect of harvesting stage and different levels of nitrogen fertilizer on chemical compounds, *in vitro* fermentation parameters, and CH₄ production of quinoa forage in ruminant

Mohammad Javad Abarghuei^{1*}, Abdolhamid Karimi¹, Mohammad Javad Agah¹

¹Animal Science Research Department, Fars Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Shiraz, Iran,
Email: mj.abarghuei@areeo.ac.ir

Article Info

Article type:
Research Full Paper

ABSTRACT

Background and Objectives: With the warming of the earth, drought conditions and reduction of water resources, it is necessary to use plants such as quinoa in animal feed, which are low water-absorbing, compatible with soil salinity conditions (pH between 6 and 5.8) and unusual weather conditions. This research was carried out with the aim of the effect of harvest time (budding and flowering stages) and different amounts of nitrogen fertilizer (150, 200 and 250 kg/ha) on chemical composition, fermentation parameters and methane gas production of whole quinoa plant (Sjama variety).

Materials and Methods: Quinoa plant was cultivated in the field with three levels of nitrogen fertilizer (150, 200 and 250 kg/ha). For each treatment, six plots were considered as replicates. The experimental treatments included alfalfa, 150 budding quinoa, 200 budding quinoa, 250 budding quinoa, 150 flowering quinoa, 200 flowering quinoa and 250 flowering quinoa. After drying, the samples were ground using mill and to determine the chemical compounds and fermentation parameters were used. The obtained data were tested and analyzed using SAS software and the averages obtained were statistically compared using Duncan's multi-range test.

Article history:

Received: 07/13/2024
Revised: 08/18/2024
Accepted: 08/20/2024

Keywords:

Alfalfa forage
CH₄ gas
Digestibility
in vitro fermentation
Quinoa forage

Results: The amounts of dry matter (DM, 161.23-177.50 g/kg fresh weight) and ADF (173.00-303.00 g/kg DM) of quinoa forage at different stages of harvest were lower than the amount of DM of alfalfa (337.50 g/kg fresh weight and 333.67 g/kg DM) and this amount increased with the age of the plant ($P < 0.0001$). Crude ash (211.30-247.80 g/kg DM), CP (165.37-200.83 g/kg DM), and EE (22.27-28.72 g/kg DM) contents of quinoa forage were higher than alfalfa forage (97.67, 144.50 and 16.10 g/kg DM respectively), and these values decreased with increasing age of the plant. With the increase in the level of nitrogen fertilizer, the amounts of CP and EE in budding stage and flowering stage in quinoa forage increased. The effect of harvesting stage and fertilization amount on, asymptotic gas production, ADS and GP₂₄ were different compared to alfalfa forage. The amounts of IVOMD and ME in alfalfa forage were lower than that of quinoa forage at budding stage, and but was

almost equal to quinoa forage at flowering stage. The PF_{24} (2.59-2.87) and MP (95.85-147.20) in quinoa forage increased compared to alfalfa forage (2.41 and 54.75) and also with increasing fertilization in quinoa forage ($P<0.0001$). Only the amount of VFAs of the quinoa forage harvested at the budding stage and the amount of 150 and 200 kg of nitrogen fertilizer were higher than alfalfa forage (80.72 and 80.39 compared to 78.93 mmol/l). The amount of acetate, the ratio of acetate to propionate, NH_3-N , CO_2 and CH_4 in quinoa forages, were lower than alfalfa forage, but the amount of propionate in quinoa forages were lower than that of alfalfa forage ($P<0.0001$). The total population of protozoa (5.93-6.19 and 6.28) and the subfamilies *Entodiniinae* (5.83-5.93 and 5.97), *Diplodiniinae* (4.70-5.42 and 5.45) and *Ophrioscolecinae* (4.80-5.33 and 5.36) in quinoa forages decreased compared to alfalfa forage ($P<0.0001$).

Conclusions: Based on the results of this research, quinoa forages in both harvest stages (especially fodder harvested in budding stage with amounts of 150 and 200 kg of nitrogen fertilizer) in terms of chemical composition, especially CP and improvement of parameters fermentation (reduction of NH_3-N and CH_4 production) was superior to alfalfa forage. Considering the issue of water crisis in the country and less water consumption for the growth of quinoa plant due to its inherent characteristics, this plant has the potential to be used in livestock feed, but it is necessary to conduct *in vivo* research.

Cite this article: Abarghuei, M.J., Karimi, A.H., Agah, M.J. (2025). The effect of harvesting stage and different levels of nitrogen fertilizer on chemical compounds, *in vitro* fermentation parameters and CH_4 production of quinoa forage in ruminant. *Journal of Ruminant Research*, 13(2), 49-76.



© The Author(s)

DOI: 10.22069/ejrr.2024.22618.1967

Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

تأثیر مرحله برداشت و سطوح مختلف کود نیتروژنی بر ترکیبات شیمیایی، فراسنجه‌های تخمیر آزمایشگاهی و تولید گاز متان علوفه کینوا در تغذیه نشخوارکنندگان

محمدجواد ابرقوئی^{۱*}، عبدالحمید کریمی^۱، محمدجواد آگاه^۱

^۱ بخش تحقیقات علوم دامی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی فارس، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، ایران، رایانامه: mj.abarghuei@areeo.ac.ir

چکیده	اطلاعات مقاله
سابقه و هدف: با گرم شدن زمین، شرایط خشک‌سالی و کاهش منابع آبی، استفاده از گیاهانی مانند کینوا که کم آب‌بر، سازگار با شرایط شوری خاک (pH بین ۶ تا ۸/۵) و شرایط دشوار آب‌وهوایی هستند، در تغذیه دام و انسان ضروری به نظر می‌رسد. این پژوهش باهدف تأثیر زمان برداشت (مراحل غنچه‌دهی و گلدهی) و مقادیر مختلف کود نیتروژن (۱۵۰، ۲۰۰ و ۲۵۰ کیلوگرم در هکتار) بر ترکیبات شیمیایی، فراسنجه‌های تخمیر و تولید گاز متان گیاه کامل کینوا (رقم سجاما) انجام شد. مواد و روش‌ها: گیاه کینوا با سه سطح کود نیتروژنی (۱۵۰، ۲۰۰ و ۲۵۰ کیلوگرم در هکتار) در مزرعه کشت شد. برای هر تیمار، شش کرت به عنوان تکرار در نظر گرفته شد. تیمارهای آزمایشی شامل یونجه، کینوا غنچه‌دهی ۱۵۰، کینوا غنچه‌دهی ۲۰۰، کینوا غنچه‌دهی ۲۵۰، کینوا گلدهی ۱۵۰، کینوا گلدهی ۲۰۰ و کینوا گلدهی ۲۵۰ بودند. نمونه‌های گرفته‌شده پس از خشک شدن، آسیاب گردیده و برای تعیین ترکیبات شیمیایی و فراسنجه‌های تخمیر آزمایشگاهی استفاده شدند. داده‌های حاصل با استفاده از نرم‌افزار SAS تجزیه و تحلیل شد و میانگین‌های به‌دست‌آمده با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن مورد مقایسه آماری قرار گرفت.	نوع مقاله: مقاله کامل علمی-پژوهشی تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۴/۲۳ تاریخ ویرایش: ۱۴۰۳/۵/۲۸ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۵/۳۰
یافته‌ها: مقادیر ماده خشک (۱۶۱/۲۳-۱۷۷/۵۰) گرم در کیلوگرم وزن تر) و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی (۳۰۳/۰۰-۱۷۳/۰۰) گرم در کیلوگرم ماده خشک) علوفه کینوا در مراحل مختلف برداشت، از مقادیر این ترکیبات در علوفه یونجه (۳۳۷/۵) گرم در کیلوگرم وزن تر و ۳۳۳/۶۷ گرم در کیلوگرم ماده خشک) کمتر بود و با افزایش سن گیاه، این مقدار افزایش یافت ($P<0/001$). مقادیر خاکستر خام (۲۱۱/۳۰-۲۴۷/۸۰) گرم در کیلوگرم ماده خشک)، پروتئین خام (۱۶۵/۳۷-۲۰۰/۸۳) گرم در کیلوگرم ماده خشک) و عصاره اتری (۲۲-۲۷-۲۸/۷۲) گرم در کیلوگرم ماده خشک) علوفه‌های کینوا از علوفه یونجه (به ترتیب ۹۷/۶۷، ۱۴۴/۵۰ و ۱۶/۱۰ گرم در کیلوگرم ماده خشک) بیشتر بود که با افزایش سن گیاه، این مقادیر کاهش یافتند. با افزایش سطح کود نیتروژن، مقادیر پروتئین خام و مقدار چربی خام در علوفه کینوا در مراحل غنچه‌دهی و گلدهی بیشتر شد. تأثیر مرحله برداشت و مقدار کود دهی بر تولید گاز متان، سوپسترای	واژه‌های کلیدی: تخمیر آزمایشگاهی، علوفه کینوا، علوفه یونجه، گاز متان، گوارش پذیری

تجزیه شده واقعی و تولید گاز در ساعت ۲۴ تخمیر در مقایسه با علوفه یونجه متفاوت بود. مقادیر گوارش پذیری ماده آلی و انرژی قابل سوخت و ساز در علوفه یونجه کمتر از علوفه کینوا مرحله غنچه دهی بود. ولی با علوفه کینوا مرحله گلدهی تقریباً برابر بود. مقادیر ضریب تفکیک (۲/۸۷-۲/۵۹) و تولید پروتئین میکروبی (۱۴۷/۲۰-۹۵/۸۵) در علوفه های کینوا در مقایسه با یونجه (۲/۴۱ و ۵۴/۷۵) و همچنین با افزایش کوددهی در علوفه کینوا افزایش یافت ($P < 0/0001$). فقط مقدار اسیدهای چرب فرار کل علوفه کینوا غنچه دهی ۱۵۰ و ۲۰۰ از علوفه یونجه بیشتر (به ترتیب ۸۰/۷۲ و ۸۰/۳۹ در مقایسه با ۷۸/۹۳ میلی مول در لیتر) بود. مقدار استات، نسبت استات به پروپیونات، نیتروژن آمونیاکی، گاز دی اکسید کربن و متان علوفه های کینوا از علوفه یونجه کمتر ولی مقدار پروپیونات علوفه های کینوا کمتر از علوفه یونجه بود ($P < 0/0001$). استفاده از علوفه های کینوا در مقایسه با یونجه، جمعیت کل پروتوزوا (۶/۱۹-۵/۹۳ و ۶/۲۸) و زیرخانواده های انتودینیوینه^۱ (۵/۸۳-۵/۹۷ و ۵/۹۷)، دیپلودینیوینه^۲ (۴/۷۰-۵/۴۲) و افریوسکالسینه^۳ (۴/۸۰-۵/۳۳) را کاهش داد ($P < 0/0001$).

نتیجه گیری: بر اساس نتایج تحقیق حاضر، علوفه های کینوا در هر دو مرحله برداشت (به ویژه علوفه برداشت شده در مرحله غنچه دهی و ۱۵۰ و ۲۰۰ کیلوگرم کود نیتروژنی) از نظر ترکیبات شیمیایی به ویژه پروتئین خام و بهبود فراسنجه های تخمیر (کاهش تولید نیتروژن آمونیاکی و گاز متان) نسبت به علوفه یونجه برتری داشتند. با توجه به مسئله بحران آب در کشور و مصرف آب کمتر برای رشد گیاه کینوا به دلیل ویژگی های ذاتی، این گیاه دارای پتانسیل استفاده در جیره دام است ولی انجام تحقیقات بر روی دام زنده ضروری می باشد.

استناد: ابرقوئی، محمدجواد؛ کریمی، عبدالحمید؛ آگاه، محمدجواد. (۱۴۰۴). تأثیر مرحله برداشت و سطوح مختلف کود نیتروژنی بر ترکیبات شیمیایی، فراسنجه های تخمیر آزمایشگاهی و تولید گاز متان علوفه کینوا در تغذیه نشخوارکنندگان. پژوهش در نشخوارکنندگان، ۱۳(۲)، ۷۶-۴۹.



© نویسندگان.

DOI: 10.22069/ejrr.2024.22618.1967

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

1. Entodiniinae
2. Diplodiniinae
3. Ophrioscolecinae

مقدمه

اخیراً گرمایش جهانی و تغییرات محیطی (خشکسالی و کاهش منابع آب) باعث کاهش تأمین خوراک مورد نیاز دام و افزایش هزینه‌های محصولات دامی شده است (Adegbeye و همکاران، ۲۰۲۰؛ Abarghuei و Salem، ۲۰۲۱). یونجه، ذرت و کاه غلات از علوفه‌های معمول تغذیه نشخوارکنندگان هستند که با شرایط خاک مناسب و آب کافی رشد می‌کنند. تغییرات آب و هوایی اخیر ممکن است کشت این گیاهان را با مشکل مواجه کند. از طرفی امروزه نقش حیوانات نشخوارکننده در آلودگی (اتلاف نیتروژن آمونیاکی از شکمبه) و افزایش دمای محیط (تولید گازهای گلخانه‌ای مانند متان و دی‌اکسید کربن) نیز مشکل‌زا شده است. به‌علاوه این اتلاف‌ها عملکرد دام را نیز کاهش می‌دهد (Króliczewska و همکاران، ۲۰۲۳). راهکارهای مختلفی برای کاهش این مشکلات و در نتیجه بهبود عملکرد دام پیشنهاد شده است. از جمله این راهکارها، مدیریت علوفه است. برای مثال استفاده از علوفه‌های با گوارش‌پذیری بیشتر و دست‌کاری‌های ژنتیکی برای تولید علوفه‌های حاوی ترکیبات ثانویه گیاهی و استفاده از علوفه گیاهان کم‌آب‌بر، مقاوم به شرایط خشکی پیشنهاد شده است (Króliczewska و همکاران، ۲۰۲۳). یکی از این گیاهان با چنین توانایی‌هایی، گیاه کینوا (*Chenopodium quinoa*) است. از ویژگی‌های این گیاه می‌توان به نیاز به آب کم، سازگاری با شرایط شوری خاک (pH بین ۶ تا ۸/۵) و شرایط دشوار آب‌وهوایی (سازگار در محدوده دمایی ۴- تا ۳۸ درجه سلسیوس و پتانسیل رشد در مقدار بارش‌های ۲۰۰-۱۰۰ میلی‌متر در سال) اشاره کرد که باعث شده تا کشت این محصول به لحاظ اقتصادی بسیار به‌صرفه باشد (۴ مرتبه آبیاری در دوره رشد و مصرف مقدار کمتر کود) (Salama و

همکاران، ۲۰۲۱؛ Shitikova و همکاران، ۲۰۲۲). این گیاه ارزش تغذیه‌ای بالایی داشته و گیاه کامل، دانه و بقایای برداشت به دلیل داشتن مقدار پروتئین و تعادل اسید آمینه‌ای مناسب و دامنه وسیعی از مواد معدنی و ویتامین‌ها، می‌توانند در تغذیه دام استفاده شود (Ebeid و همکاران، ۲۰۲۲). در سال‌های اخیر، کینوا به‌عنوان محصولی ارزشمند در بسیاری کشورها کشت موفقیت‌آمیزی داشته و در ایران نیز در برنامه وزارت جهاد کشاورزی مورد توجه قرار گرفته است. در پژوهش‌های مختلف، عملکرد تولید علوفه خشک کینوا ۵-۱۰/۲ تن ماده خشک در هکتار برآورد گردیده است (Tavosi و همکاران، ۲۰۱۸؛ Ebeid و همکاران، ۲۰۲۲) که نشان می‌دهد این گیاه می‌تواند به‌عنوان یک ماده خوراکی مناسب در صنعت دام‌پروری مطرح باشد. کیفیت علوفه به تاریخ برداشت و میزان کوددهی نیتروژن بستگی دارد. بلوغ گیاه بر مقادیر الیاف نامحلول در شوینده خشتی و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی، لیگنین، پروتئین خام و ترکیبات ثانویه گیاهی تأثیر می‌گذارد (Afzal و همکاران، ۲۰۲۲). کود نیتروژن بر رشد گیاه کینوا تأثیر دارد. اگر نیتروژن به مقدار کافی در دسترس گیاه قرار گیرد، باعث افزایش سرعت رشد گیاه و ذخیره مواد پروتئینی دانه می‌شود. از طرفی دیگر مقدار نیتروژن زیاد سبب کاهش عملکرد می‌شود (Saeidi و همکاران، ۲۰۲۰؛ Nabipour و همکاران، ۲۰۲۲). پژوهش‌ها برای کینوا به‌عنوان علوفه عمدتاً بر عملکرد دانه انجام شده است و تحقیقات اندکی در مورد واکنش ارقام مختلف نسبت به زمان برداشت و تأثیر کوددهی بر ارزش غذایی آن به‌عنوان علوفه در تغذیه دام انجام شده است. در تحقیقی، پتانسیل کاربرد سه رقم کینوا (گیزا یک^۱، روزادا^۲ و کیو ۱۰۲^۳) با استفاده

1. Giza1
2. Rosada
3. Q102

مواد و روش‌ها

کاشت، داشت و برداشت گیاه: مراحل کاشت، داشت و برداشت گیاه کینوا رقم سجاما این پروژه، در مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان فارس انجام شد. برای هر تیمار، شش کرت به‌عنوان تکرار در نظر گرفته شد. تیمارهای آزمایشی شامل یونجه: برداشت‌شده در مرحله گلدهی، کینوا غنچه‌دهی ۱۵۰: علوفه کینوا برداشت‌شده در زمان غنچه‌دهی و مقدار ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار کود نیتروژن مصرفی، کینوا غنچه‌دهی ۲۰۰: علوفه کینوا برداشت‌شده در زمان غنچه‌دهی و مقدار ۲۰۰ کیلوگرم در هکتار کود نیتروژن مصرفی، کینوا غنچه‌دهی ۲۵۰: علوفه کینوا برداشت‌شده در زمان غنچه‌دهی و مقدار ۲۵۰ کیلوگرم در هکتار کود نیتروژن مصرفی، کینوا گلدهی ۱۵۰: علوفه کینوا برداشت‌شده در زمان گلدهی و مقدار ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار کود نیتروژن مصرفی، کینوا گلدهی ۲۰۰: علوفه کینوا برداشت‌شده در زمان گلدهی و مقدار ۲۰۰ کیلوگرم در هکتار کود نیتروژن مصرفی، کینوا گلدهی ۲۵۰: علوفه کینوا برداشت‌شده در زمان گلدهی و مقدار ۲۵۰ کیلوگرم در هکتار کود نیتروژن مصرفی بودند. نمونه‌گیری از کینوا در مزرعه در مراحل مذکور (مراحل غنچه‌دهی و گلدهی)، به شکل دستی انجام شد و نمونه‌های برداشت‌شده نیز به‌روش دستی خرد شدند. از هر نمونه، مقدار ۱۰۰ گرم برداشت شد و برای تعیین ماده خشک، نمونه‌ها در آون در دمای ۶۰ درجه سلسیوس به مدت ۴۸ ساعت خشک شدند. نمونه‌های خشک‌شده، با استفاده از آسیاب و الک ۱ پودر و غربال گردیده و برای انجام آزمایش‌های بعدی نگهداری شدند.

تجزیه شیمیایی: تجزیه شیمیایی در آزمایشگاه تحقیقات علوم دامی مرکز تحقیقات و آموزش

از روش برون‌تنی مطالعه شد و طبق نتایج به‌دست‌آمده، علوفه‌های سه ژنوتیپ کینوا در سه مرحله برداشت (شروع دانه‌بندی، شیری شدن دانه و رسیدگی کامل دانه)، از نظر انرژی قابل سوخت‌وساز کیفیت خوبی داشته و با توجه به ترکیب شیمیایی و ارزش، کاشت ژنوتیپ‌های گیزا یک و روزادا برای تولید علوفه در فصل پاییز در استان خوزستان توصیه می‌شود (Kardooni و همکاران، ۲۰۱۹). در پژوهشی Ebeid و همکاران (۲۰۲۲) تأثیر جایگزینی علوفه کینوا در سطوح ۱۵، ۳۰ و ۴۵ درصد ماده خشک به‌جای علوفه شبدر را در جیره با استفاده از آزمون تولید گاز بررسی کرده و نشان دادند که تولید گاز آزمایشگاهی تحت تأثیر قرار نگرفت و پیشنهاد شد که تا مقدار ۴۵ درصد جیره نشخوارکنندگان می‌توان از علوفه کینوا استفاده کرد. با توجه به ادامه شرایط خشک‌سالی و کمبود منابع آبی کشور، گیاه کینوا می‌تواند برای تولید علوفه موردتوجه قرار گیرد؛ اما پیش از تولید گسترده آن، لازم است اطلاعات کافی در رابطه با ارزش غذایی ارقام مختلف، میزان مناسب مصرف، روش‌های نگهداری و عمل‌آوری، تأثیر آن بر عملکرد و ویژگی‌های فیزیولوژیک حیوانات مصرف‌کننده تهیه گردد. برای انجام پژوهش این فرض وجود دارد که مراحل برداشت (غنچه‌دهی و گلدهی) و همچنین استفاده از سطوح مختلف کود نیتروژنی، می‌تواند اثرات متفاوتی بر ارزش غذایی و گوارش‌پذیری این گیاه در دام داشته باشد؛ بنابراین این پژوهش باهدف بررسی تأثیر زمان برداشت (مراحل غنچه‌دهی و گلدهی) و مقادیر مختلف کود نیتروژن (۱۵۰، ۲۰۰ و ۲۵۰ کیلوگرم در هکتار) بر ترکیبات شیمیایی، گوارش‌پذیری و تجزیه‌پذیری علوفه گیاه کامل کینوا رقم سجاما انجام شد.

فرمول زیر مقدار سوبسترای تجزیه شده واقعی محاسبه گردید.

Undegradable DM= UDM

Undegradable DM: ماده خشک تجزیه نشده (وزن

خشک جیره پایه بعد از آون)

Apparent degraded substrate, ADS (mg/g DM)
=BDM – UDM

BDM: مقدار جیره پایه ریخته شده درون سرنگ قبل

از تخمیر بر اساس ماده خشک

اندازه گیری نیتروژن آمونیاکی: در زمان ۲۴ ساعت

بعد از تخمیر و پس از سانتریفیوژ محتوای سرنگ، از

محلول بالایی نمونه ای گرفته و با نسبت ۵ به ۱ با

اسیدکلریدریک ۰/۲ نرمال رقیق گردید و در دمای

۲۰- درجه سلسیوس نگهداری شد. مقدار نیتروژن

آمونیاکی نمونه ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر

U2000 (Hitachi, Ltd., Tokyo, Japan) در طول موج

۵۵۰ نانومتر تعیین گردید (Kang و Broderick،

۱۹۸۰).

اندازه گیری اسیدهای چرب فرار: در پایان ساعت ۲۴

تخمیر، بعد از سانتریفیوژ محتوای سرنگ، یک

میلی لیتر از محلول بالایی سانتریفیوژ شده درون

میکروتیوب ریخته شد و ۰/۲۰ میلی لیتر اسید

متافسفریک ۲۵ درصد به آن اضافه گردید. محلول ۲

ساعت در دمای آزمایشگاه نگهداری شد و در دور

۱۴۰۰۰g برای ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سلسیوس

سانتریفیوژ گردید. محلول بالایی در دمای ۲۰- درجه

سلسیوس ذخیره گردید. برای تخمین اسیدهای چرب

فرار از دستگاه گاز کروماتوگراف (شیماتزو ژاپن)

مجهز به ستون مویرگی (TM 1000, 45/60, 2m×1/8)

Supelco, St, Loud, MO, USA)، آشکارساز

یونیزاسیون شعله ای و ستون شیشه ای کروموزورب (۴

فوت طول و ۱/۸ میلی متر قطر) استفاده گردید. مقدار

۰/۲ میکرولیتر از محلول تهیه شده به دستگاه تزریق

شد. ۲- اتیل بوتیریک اسید به عنوان استاندارد داخلی

کشاورزی و منابع طبیعی فارس انجام شد. میزان ماده

خشک، ماده آلی، پروتئین خام و عصاره اتری نمونه-

های برداشت شده، به روش AOAC (۱۹۹۰) تعیین

شد. الیاف نامحلول در شوینده خنثی و الیاف نامحلول

در شوینده اسیدی به روش Van Soest و همکاران

(۱۹۹۱) و لیگنین به روش Robertson و Van Soest

(۱۹۸۱) تعیین گردید. کل ترکیبات فنولیک و تانن کل

طبق روش Makkar (۲۰۰۰) برآورد شد.

آزمون تولید گاز: این آزمایش برای تعیین

فراسنجه های تخمیرپذیری آزمایشگاهی مانند تعیین

گوارش پذیری ماده آلی و انرژی قابل سوخت و ساز

نمونه های مورد نظر و با استفاده از سرنگ های تولید

گاز انجام شد (Makkar و همکاران، ۲۰۱۰). نمونه

شیرابه شکمبه، از ۴ رأس گوسفند فیستولدار قبل از

خوراک دادن صبح گرفته شد و درون آب گرم، به

آزمایشگاه انتقال داده شد. گوسفندان برای سازگاری

با جیره ای شامل مخلوط علوفه (یونجه و کاه جو) و

کنسنتانتره با نسبت ۶۰:۴۰ و مخلوط مواد

معدنی/ویتامینی با تغذیه در سطح ۱/۱۵ نگهداری به

مدت دو هفته تغذیه شدند. نمونه شیرابه شکمبه

به وسیله ۴ لایه پارچه نظیف صاف گردید و برای

آزمایش تولید گاز استفاده شد. درون هر سرنگ

(تعداد ۴ سرنگ به عنوان تکرار)، مقدار ۵۰۰ میلی گرم

از هر نمونه آزمایشی (علوفه یونجه، علوفه کینوا

برداشت شده در مراحل قابل برداشت) و ۴۰ میلی لیتر

از محلول بزاق مصنوعی ریخته شد. سرنگ ها در

دمای ۳۹ درجه سلسیوس قرار داده شده و گاز تولیدی

در زمان های ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۲، ۱۶، ۲۴، ۳۶، ۴۸، ۷۲ و

۹۶ ساعت اندازه گیری شد. محتوای سرنگ ها، به

مدت ۲۰ دقیقه و در دمای ۴ درجه سلسیوس با دور g

۲۰۰۰ سانتریفیوژ گردید و پلت تشکیل شده، در آون با

دمای ۶۰ درجه سلسیوس خشک گردید و از طریق

$$ME \text{ (MJ/kg DM)} = 14/88 + 8/89 GP + 4/5 XP + 0/651 XA$$

GP: حجم گاز تولیدی تصحیح شده برای ۲۴ ساعت (میلی لیتر به ازای ۲۰۰ میلی گرم ماده خشک)

XP: پروتئین خام (گرم به ازای ۱۰۰ گرم ماده خشک)، XA: خاکستر خام (گرم به ازای ۱۰۰ گرم ماده خشک)

محصول گاز (GY₂₄) از رابطه زیر محاسبه گردید (Makkar, ۲۰۱۰):

$$\text{Gas yields (GY}_{24}\text{)} = \text{ml GP per g DM / g ADS}$$

GP: تولید گاز در ۲۴ ساعت (میلی لیتر گاز به ازای ۲۰۰ میلی گرم ماده خشک)

پروتئین میکروبی (MP) بر اساس روش (Makkar, ۲۰۱۰) تعیین گردید.

$$MP \text{ (mg/g DM)} = \text{mg ADS} - (\text{ml gas} \times 2/2 \text{ mg/ml})$$

ADS: مقدار سوبسترای تجزیه شده واقعی، ۲/۲ فاکتور استوکیومتریکی می باشد (Blümmel و همکاران، ۱۹۹۷).

عامل تفکیک (PF₂₄) بر اساس روش (Makkar, ۲۰۱۰) تعیین شد.

Partitioning factor = ADS (mg)/GP₂₄ (ml)
ارزش نسبی علوفه (RFV): این شاخص از معادله زیر محاسبه شد (Atis و همکاران، ۲۰۱۲؛ Shah و همکاران، ۲۰۲۰).

$$RFV = DDM\% \times DMI\% \times 0/775$$

$$DDM = 88/9 - (0/77 \times ADF\%)$$

$$DMI = 120/NDF\%$$

DDM: ماده خشک گوارش پذیر، DMI: ماده خشک مصرفی

گاز متان و دی اکسید کربن با استفاده از مقادیر اسیدهای چرب فرار و معادلات زیر محاسبه گردید (Makkar, ۲۰۱۰):

$$CO_2 \text{ (mmol)} = (\text{Acetate (mmol)/2}) + (\text{Propionate (mmol)/4}) + (1.5 \text{ Butyrate (mmol)})$$

استفاده گردید. جریان گاز نیتروژن، هیدروژن و هوا به ترتیب ۳۰، ۳۰ و ۳۲۰ میلی لیتر بر دقیقه بود. دمای آون تزریق، ستون و آشکارساز به ترتیب ۲۷۰، ۱۷۲ و ۲۷۰ درجه سلیسیوس بود (Boucque و Cottyn, ۱۹۶۸).

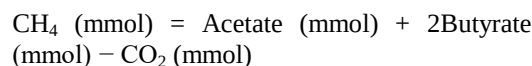
تعیین جمعیت پروتوزوا: برای تعیین جمعیت پروتوزوا، نمونه ای از محتوای سرنگ گرفته و با محلول فرمال سالین (۲۰ میلی لیتر فرمالدهید در ۱۰۰ میلی لیتر محلول سالین شامل ۰/۸۵ گرم نمک طعام در ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر) به نسبت ۴ به ۱ مخلوط گردید و در دمای ۴ درجه سلیسیوس تا زمان شمارش نگهداری گردید. دو میلی لیتر از محتوای شیرابه شکمبه درون لوله آزمایش ریخته شد. سپس دو قطره محلول رنگ آمیزی لوگول به لوله اضافه گردید و مخلوط شد و به مدت یک شبانه روز در دمای آزمایشگاه قرار داده شد. به وسیله میکروسکوپ با بزرگنمایی ۱۰ x و لام هماسیتومتر تعداد پروتوزوا (کل پروتوزوا، جنس ایزوتریچا، جنس داسی تریچا، زیرخانواده های انتودینینه، دیپلودینینه و افریوسکالسینه) تعیین گردید (Dehority, ۲۰۰۳).

محاسبات: برای تخمین تولید گاز از معادله غیرخطی France و همکاران (۲۰۰۰) استفاده گردید.

$$A = b \times (1 - e^{-c(t-L)})$$

A: حجم گاز تولیدی در زمان t، b: تولید گاز بالقوه (میلی لیتر به گرم ماده خشک)، c: سرعت تولید گاز (به ازای ساعت) از بخش خوراکی آهسته تخمیر و b و L زمان تأخیر تولید گاز می باشند. گوارش پذیری ماده ای آلی (IVOMD) و انرژی سوخت و ساز (ME) با استفاده از حجم گاز حاصل از تخمیر ۲۰۰ میلی گرم ماده خشک در طول ۲۴ ساعت و روابط زیر محاسبه شد (Menke و همکاران، ۱۹۷۹).

$$IVOMD = 2/20 + 0/136 GP + 0/57 XP$$



تجزیه و تحلیل آماری

برای داده‌های مربوط به ترکیبات شیمیایی و تخمیر شکمبه با استفاده از نرم‌افزار SAS (۲۰۰۲) بر اساس مدل آماری ذیل تجزیه واریانس داده‌ها در مرکز تحقیقات فارس صورت گرفت و مقایسه آماری میانگین‌های به دست آمده با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام شد. برای شمارش پروتوزوآ، نرمال بودن داده‌ها با استفاده از روش مقایسات تک متغیره و تست Kolmogorov-Smirnov انجام شد.

$$Y_{ij} = \mu + x_i + x_j + \varepsilon_{ij}$$

Y_{ij} : میانگین کل؛ μ : میانگین نمونه؛ x_i : اثر نمونه؛ x_j : اثر تکرار؛ ε_{ij} : خطای آزمایشی

نتایج و بحث

مقادیر ترکیبات شیمیایی علوفه‌های یونجه و کینوا در جدول ۱ آورده شده است. مقدار ماده خشک (کیلوگرم به ازای وزن تر) علوفه کینوا در مراحل مختلف برداشت، از مقدار ماده خشک یونجه کمتر بود و با افزایش سن گیاه، این مقدار افزایش یافت ($P < 0/0001$). ترکیبات شیمیایی گیاه وابسته به عواملی مانند رقم گیاه، شرایط آب‌وهوایی در طول کاشت، داشت و برداشت گیاه، زمان برداشت، شرایط تغذیه گیاه (مقدار و زمان کوددهی) و شرایط ذخیره گیاه است (Uke و همکاران، ۲۰۱۷؛ Ayaşan، ۲۰۲۰). مطابق با تحقیق حاضر، Yilmaz و همکاران (۲۰۲۱) و Yolcu و Temel (۲۰۲۰) نیز نشان دادند که مقدار ماده خشک علوفه کینوا با افزایش سن برداشت، بیشتر شد. مقدار خاکستر خام علوفه کینوا، بین ۲۱۱/۳۰ تا ۲۴۷/۸۰ گرم در کیلوگرم ماده خشک بود و در دو مرحله برداشت، از مقدار خاکستر خام علوفه یونجه بیشتر بود ($P < 0/0001$). مقدار زیاد خاکستر خام در علوفه کینوا، احتمالاً به دلیل متابولیسم ۴ کربنه و

مقدار جذب خیلی زیاد کربن به ازای واحد سطح (Abbasi و همکاران، ۲۰۱۲) و همچنین جذب کاتیون‌ها و تجمع آن‌ها در گیاه می‌باشد (Shakeri و همکاران، ۲۰۱۹). Liu و همکاران (۲۰۲۱) گزارش کردند که مقدار خاکستر خام علوفه کینوا بر اساس مراحل فنولوژیک متغیر می‌باشد. با افزایش سن گیاه، مقدار خاکستر خام کاهش یافت که با نتایج تحقیق Kardooni و همکاران (۲۰۱۹) مطابقت دارد. دلیل کاهش میزان خاکستر با افزایش سن را می‌توان در فرآیند رقیق‌سازی غلظت عناصر معدنی موجود در اندام‌های گیاهی دانست که خود تحت تأثیر افزایش عملکرد ماده خشک گیاه می‌باشد (Thomas و Hargrove، ۱۹۸۴). به هر حال در تحقیقی دیگر نشان داده شد که تأثیر مرحله برداشت بر مقدار خاکستر خام گیاه کینوا متفاوت بود و روند کاهشی نداشت (Peiretti و همکاران، ۲۰۱۳). در علوفه کینوا با افزایش سن گیاه، مقدار پروتئین خام و مقدار عصاره اتری کاهش یافت، اما مقدار این مواد مغذی در هر دو مرحله برداشت از علوفه یونجه بیشتر بود ($P < 0/0001$). کاهش مقدار پروتئین خام، به دلیل کاهش سهم برگ‌ها در بیوماس علوفه است که مقدار پروتئین بیشتری در گیاه دارند (Abbasi و همکاران، ۲۰۱۲) و همچنین در نتیجه واکنش به افزایش سن گیاه و تشکیل لیگنین است (Nielsen و همکاران، ۲۰۲۱). کاهش مقدار عصاره اتری با بیشتر شدن سن گیاه با نتایج تحقیق Peiretti و همکاران (۲۰۱۳) و Uke و همکاران (۲۰۱۷) مطابقت دارد. بر خلاف نتایج حاضر، Yilmaz و همکاران (۲۰۲۱) گزارش کردند که با افزایش سن گیاه، مقدار عصاره اتری نیز روند افزایشی نشان داد. گزارش شده است که مقدار عصاره اتری به عواملی مانند گونه گیاهی (و تا حدی رقم)، مرحله رویشی گیاه، مقادیر نسبی اندام‌های گیاه در زمان برداشت، شرایط کاشت، داشت و کود

یونجه بود که نشان‌دهنده این است که گیاه کینوا علوفه با کیفیت خوبی تولید می‌کند (Shah و همکاران، ۲۰۲۰). در یک تحقیق، Kardooni و همکاران (۱۳۹۹) ارزش کمی و کیفی سه رقم گیاه کینوا (گیزا یک، روزادا و کیو ۱۰۲) را در سه مرحله برداشت (شروع دانه‌بندی، شیری شدن دانه و رسیدگی کامل دانه) بررسی کرده و نشان دادند که به‌استثناء رقم روزادا، مقدار پروتئین خام این ارقام در سه مرحله برداشت، تفاوتی با یکدیگر نداشت و مقدار این ماده مغذی بیشتر تحت تأثیر ژنوتیپ بود. مقدار الیاف نامحلول در شوینده خنثی با افزایش سن گیاه بیشتر شد، ولی مقدار الیاف نامحلول در شوینده اسیدی، تحت تأثیر مرحله برداشت قرار نگرفت. برخلاف نتایج این تحقیق، در یک پژوهش دیگر نشان داده شد که مقدار الیاف نامحلول در شوینده خنثی تحت تأثیر مرحله برداشت قرار نگرفت و دلیل آن، افزایش نسبت دانه در ترکیب گیاه بیان شد (Yilmaz و همکاران، ۲۰۲۱). افزایش سطح کود نیتروژن، مقدار پروتئین خام را در علوفه کینوا بیشتر کرد. کمبود عنصر نیتروژن به دلیل وظایف متعدد و با اهمیتی که در فرآیندهای حیاتی گیاه انجام می‌دهد، بیش از سایر عناصر، تولید گیاهان زراعی را محدود می‌کند. نیتروژن علاوه بر تأثیر بر عملکرد سبب افزایش سطح برگ و نسبت برگ به ساقه و درصد پروتئین می‌شود (Vos و همکاران، ۲۰۰۵). مشابه با تحقیق حاضر، در پژوهش‌های دیگر نشان داده شد که مقدار نیتروژن در گیاه کینوا با افزایش مقدار کود نیتروژن بیشتر شد (Nabipour و همکاران، ۲۰۲۲). سطوح مختلف کوددهی تأثیری بر مقادیر مقدار الیاف نامحلول در شوینده خنثی و مقدار الیاف نامحلول در شوینده اسیدی نداشت. تحقیقی در مورد بررسی تأثیر سطوح مختلف کود نیتروژن بر مقادیر این شاخص‌ها در کینوا در منابع وجود ندارد. تأثیر کوددهی بر مقادیر

نیتروژن بستگی دارد (Glasser و همکاران، ۲۰۱۳؛ Liu و همکاران، ۲۰۲۱). مقادیر الیاف نامحلول در شوینده خنثی و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی در علوفه کینوا، با افزایش سن گیاه بیشتر شد ($P < 0.0001$). این افزایش می‌تواند در نتیجه کاهش نسبت برگ به ساقه با بیشتر شدن بلوغ گیاه باشد. گزارش شده است گیاهانی که زود کاشت و دیر برداشت می‌شوند، دوره رویشی طولانی‌تری دارند و از عوامل محیطی مانند آب، نور و عناصر غذایی، بهره بیشتری می‌برند. در نتیجه، ساقه‌ها ضخیم‌تر هستند و مقدار سلولز و لیگنین در دیواره‌های سلولی آن‌ها بیشتر خواهند بود (Yolcu و Temel، ۲۰۲۰). به‌هرحال مقادیر الیاف نامحلول در شوینده خنثی در علوفه کینوا برداشت‌شده در مرحله غنچه‌دهی کمتر از علوفه یونجه و در مرحله گلدهی، بیشتر از یونجه برآورد گردید ($P < 0.0001$). مقدار الیاف نامحلول در شوینده اسیدی کینوا برداشت‌شده در مراحل غنچه-دهی و گلدهی، کمتر از یونجه بود ($P < 0.0001$). کمتر بودن مقدار این ترکیب در کینوا برداشت‌شده در مرحله غنچه‌دهی احتمالاً در نتیجه زمان برداشت زودتر کینوا در مقایسه با یونجه است. ولی به‌هرحال عوامل دیگری نیز از جمله نوع گیاه، سن برداشت گیاه، شرایط آب‌وهوایی و تغذیه گیاه می‌تواند مؤثر باشد. مقدار الیاف نامحلول در شوینده خنثی ترکیبی از کربوهیدرات‌های ساختاری مانند سلولز، همی‌سلولز و لیگنین است و همچنین مقدار الیاف نامحلول در شوینده اسیدی ترکیبی از کربوهیدرات‌های ساختاری مانند سلولز و لیگنین است و رابطه مهمی با نسبت ساقه به برگ در گیاهان دارند (Temel و همکاران، ۲۰۲۲). در تحقیقی در کشور چین نشان داده شد که مقدار پروتئین خام علوفه کینوا بیشتر از علوفه یونجه و مقادیر الیاف نامحلول در شوینده خنثی و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی علوفه کینوا کمتر از علوفه

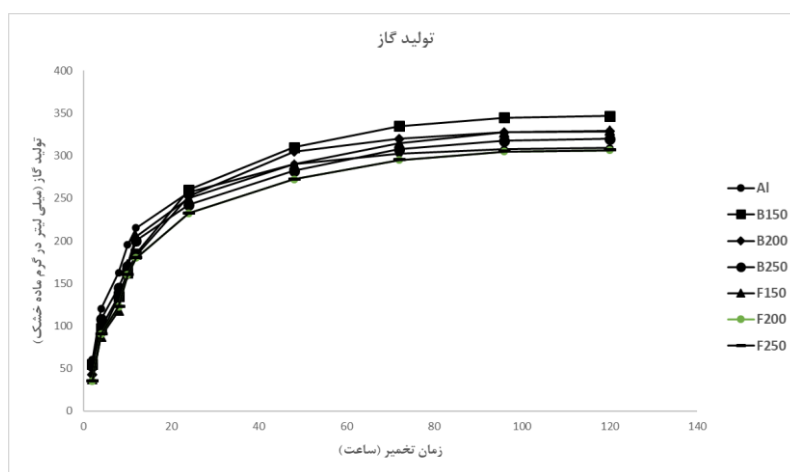
مقدار الیاف نامحلول در شوینده خنثی و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی در گونه‌های مختلف گیاهی متفاوت بوده است. در تحقیقی گزارش گردید که کاربرد سطوح مختلف کود نیتروژن بر مقادیر الیاف نامحلول در شوینده خنثی و مقدار الیاف نامحلول در شوینده اسیدی در گیاه تاج‌خروس معنی‌دار نبوده است (Abbasi و همکاران، ۲۰۱۲؛ Ansari Ardali و AghaAlikhani، ۲۰۱۵). بیشتر مطالعات در مورد ترکیبات ثانویه گیاهی کینوا، بر روی دانه‌های کینوا انجام شده است. در تحقیقی، مقادیر ترکیبات فنولیک کل و تانن کل در علوفه یونجه و بقایای گیاه کینوا به ترتیب ۲۱/۷، ۶/۷ و ۴۴/۴، ۲۲/۱ گرم بر کیلوگرم ماده خشک تعیین شد (Ghavipanjeh و همکاران ۲۰۲۱) که بیشتر از نتایج ما بود. تفاوت در غلظت ترکیبات ثانویه ممکن است به دلیل دوره رویشی، روش نگهداری، شرایط خشک کردن، گونه‌ها (Makkar و Singh، ۱۹۹۳)، محل رشد گیاه و روش‌های مختلف استخراج باشد همچنین، این ترکیبات با ثبات متابولیکی در بین بیوسنتز گیاهی، کاتابولیسم و اختلالات محیطی مرتبط هستند (Li و همکاران، ۲۰۲۱).

ارزش نسبی علوفه، تخمینی از کیفیت کلی علوفه است و از میزان جذب و گوارش پذیری ماده خشک محاسبه می‌شود و مقدار مرجع آن ۱۰۰ است که مربوط به یونجه در مرحله گلدهی کامل است (Atis و همکاران، ۲۰۱۲؛ Shah و همکاران، ۲۰۲۰). Horrocks و Vallentine (۱۹۹۹) گزارش کردند که علوفه‌های با ارزش نسبی بین ۱۵۱-۱۲۵ به عنوان علوفه عالی در نظر گرفته می‌شوند. در علوفه یونجه (با پروتئین خام ۱۵ و الیاف نامحلول در شوینده خنثی ۵۱ درصد ماده خشک)، مقدار ارزش نسبی علوفه به طور متوسط ۱۵۰ واحد گزارش شده است که کمی بیشتر از ارزش نسبی محاسبه شده (۱۴۳/۲۸) در این

تحقیق بود. ارزش نسبی علوفه کینوا برداشت شده در مرحله غنچه‌دهی بیشتر از علوفه یونجه و در مرحله گلدهی کمتر از یونجه بود. با افزایش سن گیاه کینوا، مقدار این شاخص کاهش یافت ($P < 0.0001$). این شاخص با مقادیر الیاف نامحلول در شوینده خنثی و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی رابطه منفی دارد و بنابراین افزایش مقادیر این ترکیبات در علوفه، سبب کاهش این شاخص خواهد شد. مقدار این شاخص برای علوفه کینوا در تحقیق حاضر بین ۲۴۱/۱۲-۱۳۱/۶۴ برآورد گردید و تقریباً معادل نتایج کینوا برداشت شده در مرحله گلدهی (۱۶۲/۲-۲۲۵/۷) و کمتر از کینوا برداشت شده در مرحله رسیدگی دانه (۱۴۹/۹-۲۷۳/۳) در تحقیق انجام شده توسط Shah و همکاران (۲۰۲۰) بود. در پژوهشی دیگر، ارزش نسبی علوفه ارقام مختلف کینوا برداشت شده در مرحله رسیدگی دانه، بین ۱۴۷/۶۰-۱۳۴/۳۶ محاسبه شد (Aydemir و Kaya، ۲۰۲۰). اختلافات در بین این مطالعات می‌تواند به دلیل رقم استفاده شده، مرحله بلوغ، شرایط آب و هوایی، شرایط کاشت و داشت و مرحله برداشت باشد (Sahoo و همکاران، ۲۰۱۰). مقدار ارزش نسبی علوفه تحت تأثیر کوددهی قرار نگرفت که می‌تواند به دلیل یکسان بودن مقادیر الیاف نامحلول در شوینده خنثی و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی باشد. روند تولید گاز برای علوفه یونجه و کینوا با گذشت زمان افزایشی بود. مقادیر گاز تا پیش از زمان ۲۴ ساعت تخمیر برای علوفه کینوا در مراحل غنچه‌دهی و گلدهی، کمتر از علوفه یونجه بود. در زمان ۲۴ ساعت تخمیر روند تولید گاز برای علوفه کینوا مرحله غنچه‌دهی تقریباً مشابه با علوفه یونجه تعیین گردید؛ و از زمان ۴۸ ساعت به بعد تولید گاز علوفه کینوا مرحله غنچه‌دهی بیشتر از یونجه بود ($P < 0.0001$). کوددهی سبب کاهش تولید گاز در ساعات تخمیر گردید. این کاهش احتمالاً به دلیل

سویسترای تخمیرشده، مقدار و گونه‌های میکروبی موجود در محیط تلقیح است. عوامل ضدتغذیه‌ای مانند ترکیبات فنولیک، تانن‌ها و ساپونین‌ها نیز ممکن است با مهار باکتری‌های شکمبه و کند کردن اتصال آن‌ها به ذرات خوراک، زمان تأخیر را افزایش دهند (Dehority, ۲۰۰۳؛ Noordar و همکاران، ۲۰۱۷). در ساعات اولیه تخمیر (پیش از ساعت ۲۴)، زمان تأخیر در علوفه کینوا بیشتر از علوفه یونجه بود که در تولید گاز قابل مشاهده می‌باشد که احتمالاً به دلیل عوامل ذکر شده است. تأثیر مرحله برداشت و مقدار کوددهی بر تولید گاز مجانب و سویسترای تجزیه شده واقعی در مقایسه با علوفه یونجه متفاوت بود. ($P < 0.0001$). بیشترین مقدار تولید گاز در ساعت ۲۴ تخمیر، در کینوا غنچه‌دهی ۱۵۰ و کمترین در کینوا گلدهی ۲۵۰ تعیین شد.

افزایش ترکیبات ثانویه گیاهی و تأثیر منفی این ترکیبات بر میکروارگانیسم‌های شکمبه و گوارش‌پذیری مواد مغذی است (Abarghuei و Salem, ۲۰۲۱). میزان سرعت تخمیر در بین علوفه‌های آزمایشی تفاوتی نداشت. در مطالعات پیشنهاد شده است که سرعت تخمیر علاوه بر ترکیب شیمیایی علوفه، تحت تأثیر عوامل دیگری مانند ساختار و ترکیب دیواره سلولی و اکوسیستم میکروبی شکمبه نیز قرار می‌گیرد (Sahoo و همکاران، ۲۰۱۰). زمان تأخیر تولید گاز در علوفه یونجه، از علوفه‌های کینوا کمتر (به‌استثنا کینوا غنچه‌دهی ۲۵۰ و کینوا گلدهی ۱۵۰) بود. زمان تأخیر نشان‌دهنده دوره‌ای است که ذرات خوراک هیدراته شده و توسط میکروارگانیسم‌های شکمبه کلونیزه می‌شوند. زمان تأخیر، تحت تأثیر عوامل مختلفی از جمله ماهیت



شکل ۱- تولید گاز در زمان‌های مختلف تخمیر (میلی‌لیتر گاز در گرم ماده خشک) علوفه‌های یونجه و کینوا

Figure 1- Gas production at different times of fermentation (ml/g DM) of alfalfa and quinoa forages

Al: برداشت شده در مرحله گلدهی، B150: علوفه کینوا برداشت شده در زمان غنچه‌دهی و مقدار ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار کود نیتروژن مصرفی، B200: علوفه کینوا برداشت شده در زمان غنچه‌دهی و مقدار ۲۰۰ کیلوگرم در هکتار کود نیتروژن مصرفی، B250: علوفه کینوا برداشت شده در زمان غنچه‌دهی و مقدار ۲۵۰ کیلوگرم در هکتار کود نیتروژن مصرفی، F150: علوفه کینوا برداشت شده در زمان گلدهی و مقدار ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار کود نیتروژن مصرفی، F200: علوفه کینوا برداشت شده در زمان گلدهی و مقدار ۲۰۰ کیلوگرم در هکتار کود نیتروژن مصرفی، F250: علوفه کینوا برداشت شده در زمان گلدهی و مقدار ۲۵۰ کیلوگرم در هکتار کود نیتروژن مصرفی.

Al: harvested alfalfa at the flowering stage, B150: quinoa forage harvested at the time of budding and the amount of 150 kg/ha of nitrogen fertilizer used, B200: quinoa forage harvested at the time of budding and the amount 200 kg/ha of nitrogen fertilizer used, B250: quinoa forage harvested at the time of budding and the amount of 250 kg/ha of nitrogen fertilizer used, F150: quinoa forage harvested at the time of flowering and the amount of 150 kg/ha nitrogen fertilizer used, F200: quinoa forage harvested at the time of flowering and the amount of 200 kg/ha of nitrogen fertilizer used, F250: quinoa forage harvested at the time of flowering and the amount of 250 kg/ha of nitrogen fertilizer used.

Table 1-Chemical composition (g/kg DM) of alfalfa and quinoa forages

Alfalfa: harvested at the flowering stage, quinoa budding 150: quinoa forage harvested at the time of budding and the amount of 150 kg/ha of nitrogen fertilizer used, quinoa budding 200: quinoa forage harvested at the time of budding and the amount 200 kg/ha of nitrogen fertilizer used, budding quinoa 250: quinoa forage harvested at the time of budding and the amount of 250 kg/ha of nitrogen fertilizer used, quinoa flowering 150: quinoa forage harvested at the time of flowering and the amount of 150 kg/ha nitrogen fertilizer used, quinoa flowering 200: quinoa forage harvested at the time of flowering and the amount of 200 kg/ha of nitrogen fertilizer used, quinoa flowering 250: quinoa forage harvested at the time of flowering and the amount of 250 kg/ha of nitrogen fertilizer used, non-similar latin letters in each rows represents a significant difference between treatments ($P < 0.05$).

با افزایش سطح کوددهی مقدار تولید گاز کاهش یافت ($P=0/0001$). مقادیر گوارش پذیری ماده آلی و انرژی قابل سوخت و ساز در علوفه یونجه کمتر از علوفه کینوا مرحله غنچه دهی بود ولی با علوفه کینوا مرحله گلدهی تقریباً برابری داشت ($P<0/0001$). عواملی که بر فراسنجه های تخمیر مؤثر هستند، شامل نسبت برگ به ساقه در علوفه، ترکیبات مغذی مانند پروتئین خام، الیاف نامحلول در شوینده خنثی و لیگنین و وجود ترکیبات ثانویه گیاهی می باشند. بیشتر بودن مقادیر گوارش پذیری و انرژی قابل سوخت و ساز در علوفه کینوا برداشت شده در مرحله غنچه دهی در مقایسه با یونجه و همچنین کاهش این فراسنجه ها با افزایش زمان برداشت، می تواند به دلیل تفاوت در مقادیر پروتئین، الیاف نامحلول در شوینده خنثی و لیگنین باشد (McDonald, VanSoest, 1994؛ همکاران، 1995). رابطه مثبت بین تولید گاز پروتئین خام و رابطه منفی بین پروتئین و الیاف نامحلول در شوینده خنثی و لیگنین در اثر تخمیر مواد اثبات شده است. تجزیه پروتئین خام در شکمبه، باعث آزادسازی نیتروژن آمونیاکی شده و با تأمین نیتروژن مورد نیاز برای رشد و تکثیر میکروب های تخمیرکننده دیواره سلولی و مواد مغذی، زمینه مناسبی برای تخمیر و تولید بیشتر گاز را فراهم می آورد (Poppi و Norton, 1995). تفاوت در گوارش پذیری در طول بلوغ گیاه در درجه اول با تغییرات در ترکیب شیمیایی نمونه ها، به ویژه محتوای دیواره سلولی و بخش های آن مرتبط است. با افزایش بلوغ، مانند همه گیاهان، کینوا بافت آوند چوبی برای انتقال آب ایجاد می کند و سلولز و سایر کربوهیدرات های پیچیده را انباشته می کند. این بافت ها به وسیله فرآیند تشکیل لیگنین به یکدیگر متصل می شوند که مانعی برای هضم پلی ساکارید دیواره سلولی در شکمبه ایجاد می کند (Peiretti و همکاران، 2013). با افزایش سطح کوددهی تا 200

کیلوگرم در هکتار، مقدار پروتئین خام گیاه نیز بیشتر شد و شاید این افزایش پروتئین خام دلیلی برای بیشتر بودن این دو فراسنجه در مقایسه با یونجه باشد. کمتر بودن این فراسنجه ها در علوفه کینوا گلدهی 250 باوجود افزایش پروتئین خام، احتمالاً به دلیل بیشتر بودن ترکیبات ثانویه به ویژه ترکیبات فنولیک کل و تانن کل است. بیشتر بودن یا عدم تفاوت مقادیر تولید گاز مجانب، تولید گاز در زمان 24 تخمیر، گوارش-پذیری ماده آلی و انرژی قابل سوخت و ساز بین علوفه یونجه و کل علوفه های کینوا (به ویژه برداشت شده در مرحله غنچه دهی و سه سطح کوددهی) نشان دهنده این است کیفیت این علوفه ها قابل مقایسه با یونجه بوده و پتانسیل جایگزینی با یونجه در جیره نشخوارکنندگان را دارند. نتایج این تحقیق، مطابق با چندین گزارش است که نشان از کیفیت بالای علوفه کینوا بوده، زیرا دارای مقادیر زیادی پروتئین است و بسیار قابل هضم می باشد (Asher و همکاران، 2020؛ Peiretti و همکاران، 2013). در تحقیقی توسط Barros-Rodríguez و همکاران (2018) مقادیر گوارش پذیری ماده خشک و تولید گاز مجانب علوفه کینوا برداشت شده در مرحله رسیدگی دانه به ترتیب 583/2 و 309/9 گرم در کیلوگرم ماده خشک برآورد گردید که کمتر از نتایج تحقیق حاضر بود. در پژوهشی دیگر، Peiretti و همکاران (2013) مقادیر گوارش پذیری ماده خشک علوفه کینوا برداشت شده در مراحل مختلف رشد را بین 71-92 درصد ماده خشک برآورد و گزارش کردند که گوارش پذیری، با افزایش بلوغ گیاه کینوا کاهش یافت. Ebid و همکاران (2022) تأثیر جایگزینی علوفه کینوا در سطوح 15، 30 و 45 درصد ماده خشک به جای علوفه شبدر را در جیره با استفاده از آزمون تولید گاز بررسی کردند و نشان دادند که تولید گاز تحت تأثیر قرار نگرفت و پیشنهاد دادند که تا مقدار 45 درصد جیره

نشخوارکنندگان می‌توان از علوفه کینوا استفاده کرد. Kardooni و همکاران (۲۰۱۹) ارزش کمی و کیفی سه رقم گیاه کینوا (گیزا یک، روزادا و کیو ۱۰۲) را در سه مرحله برداشت (شروع دانه‌بندی، شیری شدن دانه و رسیدگی کامل دانه) بررسی کردند و نشان دادند که در ارقام روزادا و کیو ۱۰۲ با افزایش زمان برداشت، مقدار گوارش‌پذیری ماده آلی کاهش یافت ولی مقدار انرژی قابل سوخت‌وساز تحت تأثیر قرار نگرفت. برخلاف نتایج این تحقیق، Salama و همکاران (۲۰۲۱) مصرف علوفه و سیلاژ کینوا برداشت‌شده در ۹۰ روزگی (پیش از دانه بستن)، علوفه شبدر و سیلاژ ذرت علوفه‌ای را بر روی میش‌های شیرده بررسی کردند و نشان دادند که مقدار گوارش‌پذیری ماده خشک، ماده آلی و پروتئین خام در میش‌های تغذیه‌شده با علوفه و سیلاژ کینوا در مقایسه با میش‌های مصرف‌کننده علوفه شبدر و سیلاژ ذرت کمتر ولی مقدار گوارش‌پذیری الیاف خام بیشتر بود. این اختلافات بین نتایج تحقیقات، احتمالاً به دلیل ژنوتیپ‌های متفاوت استفاده‌شده، فصل، شرایط آب‌وهوایی، بلوغ گیاه (به دلیل اعمال تغییرات بر اجزای دیواره سلولی و پروتئین)، مرحله برداشت و وجود ترکیبات فعال گیاهی (که بر مقدار تجزیه‌پذیری و گوارش‌پذیری خوراک مؤثر هستند) می‌باشد (Mezabone و همکاران، ۲۰۲۲).

عامل تفکیک، نسبت میلی گرم ماده آلی حقیقی هضم‌شده بر میلی لیتر حجم گاز خالص تولیدی است و بیان‌کننده نسبت تجزیه واقعی سوبسترا به حجم گاز تولیدشده در دوره‌های زمانی تخمیر بوده و شاخصی برای تفکیک ماده آلی هضم‌شده بین مسیرهای تخمیر (تولید گاز و اسیدهای چرب فرار یا راندمان سنتز پروتئین میکروبی) در شرایط

آزمایشگاهی است (Blümmel و همکاران، ۱۹۹۷)، عامل تفکیک بیشتر، بیان‌گر چندین ویژگی است که می‌توان به موارد ذیل اشاره داشت: ۱- جیره مستعد تولید نسبت مولی بیشتر اسید پروپیونیک است، ۲- بیشترین بخش ماده تجزیه‌شده وارد ساختار میکروبی و تولید پروتئین میکروبی شده است و به عبارتی بازده سنتز پروتئین میکروبی بیشتر است (که در تحقیق حاضر در جدول ۳ قابل مشاهده است)، ۳- علوفه‌های با عامل تفکیک بیشتر گوارش‌پذیری بیشتر داشته و دارای ماده خشک مصرفی بالاتر توسط دام می‌باشند و ۴- مقدار گاز تولیدی مانند متان کمتر بوده و در نتیجه اتلاف انرژی در آن‌ها نیز پایین‌تر است (Makkar، ۲۰۱۰). مقدار عامل تفکیک، در این تحقیق در محدوده پیشنهادی (۴۰/۴-۲/۷۰) سوبسترای هضم‌شده به میلی لیتر گاز تولیدی) در مطالعات پیشین در مورد خوراک‌های مختلف بود (Blümmel و همکاران، ۱۹۹۷؛ Al-Sagheer و همکاران، ۲۰۱۸؛ Abarghuei و Salem، ۲۰۲۱). افزایش مقدار این شاخص در علوفه‌های کینوا در مقایسه با یونجه و همچنین با افزایش کوددهی، به دلیل مصرف مواد مغذی برای تولید پروتئین میکروبی است (جدول ۳)؛ بنابراین عامل تفکیک بیشتر به همراه تولید گاز کمتر، معمولاً نشان‌دهنده بازده بیشتر تولید پروتئین میکروبی می‌باشد (Bhatt و همکاران، ۲۰۱۹). افزایش تولید پروتئین میکروبی در علوفه‌های کینوا در مقایسه با علوفه یونجه می‌تواند به دلیل هم‌زمانی بیشتر در دسترس‌پذیری منابع کربوهیدرات و نیتروژن باشد (Abarghuei و Salem، ۲۰۲۱). در تحقیق حاضر افزایش مقادیر تولید پروتئین میکروبی و عامل تفکیک احتمالاً به دلیل مقادیر کم ترکیبات ثانویه گیاهی مانند فنولیک و تانن است (جدول ۱).

جدول ۳: فراسنجه‌های تخمیر آزمایشگاهی علوفه‌های یونجه و کینو

Parameters											
GY ₂₄	MP	PF ₂₄	ME	IVOMD	GP ₂₄	ADS	L	C	A	Forage	علوفه
368.85 ^a	54.75 ^c	2.41 ^e	10.63 ^d	678.17 ^{cd}	257.50 ^{ab}	696.25 ^e	0.10 ^b	0.10	300.00 ^b	Alfalfa	یونجه
285.25 ^{cd}	116.45 ^{cd}	2.65 ^{cd}	11.26 ^{ab}	706.24 ^a	260.00 ^a	913.00 ^a	1.10 ^a	0.10	313.33 ^a	Quinoa budding 150	کینوا غنچه‌دهی ۱۵۰
285.07 ^{cd}	108.10 ^{cd}	2.63 ^{cd}	11.36 ^a	703.46 ^a	252.50 ^{bc}	885.75 ^{ab}	1.10 ^a	0.10	303.33 ^b	Quinoa budding 200	کینوا غنچه‌دهی ۲۰۰
268.26 ^{bc}	161.75 ^a	2.87 ^a	11.11 ^{bc}	686.31 ^{bc}	242.50 ^e	904.00 ^a	0.10 ^b	0.10	290.00 ^c	Quinoa budding 250	کینوا غنچه‌دهی ۲۵۰
305.45 ^b	95.85 ^d	2.59 ^d	10.60 ^d	672.95 ^d	245.00 ^{de}	802.25 ^d	0.10 ^b	0.10	286.68 ^e	Quinoa flowering 150	کینوا گلدهی ۱۵۰
289.67 ^c	132.55 ^{bc}	2.73 ^{bc}	11.01 ^c	689.73 ^b	250.00 ^{cd}	863.00 ^{bc}	1.10 ^a	0.10	300.00 ^b	Quinoa flowering 200	کینوا گلدهی ۲۰۰
275.14 ^{de}	۱۴۷.۲ ^{ab}	2.83 ^{ab}	10.63 ^d	660.86 ^e	232.50 ^f	845.00 ^c	1.10 ^a	0.10	280.00 ^d	Quinoa flowering 250	کینوا گلدهی ۲۵۰
4.070	8.430	0.035	0.053	3.497	1.809	10.243	0.001	-	2.182	SEM	انحراف استاندارد میانگین ها
<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	>0.05	<0.0001	P-value	سطح معنی داری

[illegible]

Alfalfa: harvested at the flowering stage, quinoa budding 150: quinoa forage harvested at the time of budding and the amount of 150 kg/ha of nitrogen fertilizer used, quinoa budding 200: quinoa forage harvested at the time of budding and the amount of 200 kg/ha of nitrogen fertilizer used, budding quinoa 250: quinoa forage harvested at the time of budding and the amount of 250 kg/ha of nitrogen fertilizer used, quinoa flowering 150: quinoa forage harvested at the time of flowering and the amount of 150 kg/ha of nitrogen fertilizer used, quinoa flowering 200: quinoa forage harvested at the time of flowering and the amount of 200 kg/ha of nitrogen fertilizer used, quinoa flowering 250: quinoa forage harvested at the time of flowering and the amount of 250 kg/ha of nitrogen fertilizer used, A: asymptotic gas production (ml), C: fermentation rate (h), L: lag phase (h), ADS: Apparent degraded substrate (mg/g DM), GP₂₄: gas production at 24 h (ml), IVOMD: *in vitro* organic matter disappearance (g/kg), ME: metabolizable energy (MJ/kg DM), PE₂₄: partitioning factor at 24 h of fermentation (mg ADS/ml gas), MP: microbial protein synthesis (mg/g

به طور مشابه در تحقیقات گزارش شده است که مقادیر تولید پروتئین میکروبی و عامل تفکیک به واسطه استفاده از علوفه های حاوی مقدار کمتر از ۵ درصد ماده خشک ترکیبات فنولیک و تانن می توانند افزایش یابد. البته گزارش شده است که علاوه بر مقدار، ساختار شیمیایی این ترکیبات نیز می تواند مؤثر باشد (Vasta و همکاران، ۲۰۱۹؛ Abarghuei و Salem، ۲۰۲۱). بر خلاف نتایج این تحقیق، در پژوهشی Yacoat و همکاران (۲۰۲۱) مصرف علوفه و سیلاژ کینوا برداشت شده در ۹۰ روزگی (پیش از دانه بستن)، علوفه شیدر و سیلاژ ذرت را بر روی میش های Barki بررسی کردند و نشان دادند که مقدار تولید پروتئین میکروبی در میش های تغذیه شده با علوفه و سیلاژ کینوا در مقایسه با میش های مصرف کننده علوفه شیدر و سیلاژ ذرت، کمتر بود.

اسیدهای چرب فرار، محصول نهایی میکروارگانیسم های شکمبه بوده و غلظت آن ها، الگوهای تجزیه کربوهیدرات ها توسط میکروارگانیسم ها را نشان می دهد. این اسیدهای چرب منبع اصلی انرژی قابل سوخت و ساز برای نشخوارکنندگان هستند و کاهش این اسیدهای چرب، احتمالاً تأثیر منفی بر تغذیه دام دارد (VanSoest، ۱۹۹۴). افزایش اسیدهای چرب فرار کل علوفه کینوا برداشت شده در مرحله غنچه دهی در مقایسه با یونجه به دلیل افزایش در گوارش پذیری می باشد (جدول ۳). عدم تفاوت در کل اسیدهای چرب فرار با استفاده از علوفه کینوا برداشت شده در مرحله غنچه دهی با تیمار کودی ۲۵۰ و علوفه ای کینوا برداشت شده در مرحله گلدهی با تیمار کودی ۱۵۰ و ۲۰۰ در مقایسه با یونجه می تواند احتمالاً به دلیل تأمین نیاز میکروارگانیسم های شکمبه در نتیجه تجزیه مواد مغذی به ویژه کربوهیدرات ها در محیط تخمیر و همچنین عدم تفاوت در گوارش پذیری باشد (Rong-zhen و

همکاران، ۲۰۱۶). ترکیب اسیدهای چرب فرار می تواند باکیفیت تغذیه ای علوفه (تخمیر کربوهیدرات و پروتئین خوراک)، وجود ترکیبات ثانویه گیاهی، ترکیب جمعیت میکروبی شکمبه و شکل بستر تخمیر شده تغییر یابد (Brutti و همکاران، ۲۰۲۳). با رشد فیزیولوژیکی گیاه، مقدار کربوهیدرات در گیاه افزایش یافته که بر ترکیب اسیدهای چرب فرار مؤثر است (Meza-Bone و همکاران، ۲۰۲۲). استات یک اسید چرب کلیدی است که در طی تجزیه مواد الیافی در شکمبه تولید می شود. وظیفه اصلی این اسید تأمین انرژی برای نشخوارکنندگان است (Cheong و همکاران، ۲۰۲۳). استات در شکمبه عمدتاً توسط باکتری ها و پروتوزوا تولید می شود و این اسید چرب بزرگ ترین محصول نهایی تخمیر پروتوزوا است (Dehority، ۲۰۰۳). کاهش تولید این اسید در علوفه های کینوا در مقایسه با علوفه یونجه، احتمالاً در نتیجه تأثیر منفی ترکیبات فنولیک و سایر ترکیبات ثانویه موجود در علوفه کینوا بر این میکروارگانیسم ها (جدول ۶) است. تأثیر کوددهی بر غلظت استات معنی دار نبود. افزایش غلظت پروپیونات به دلیل اثر مهارکنندگی ترکیبات ثانویه بر باکتری های گرم مثبت تولیدکننده استات و در نتیجه تأثیر کمتر بر باکتری های گرم منفی تولیدکننده پروپیونات است (Abarghuei و همکاران، ۲۰۱۴؛ Kholif و همکاران، ۲۰۲۳). بیشترین مقدار این اسید در تیمار کینوا غنچه دهی ۱۵۰ و کمترین در تیمار گلدهی ۲۵۰ مشاهده شد. استفاده از گیاهان حاوی ترکیبات ثانویه اثرات متفاوتی بر غلظت بوتیرات داشته است. گزارش شده است که ترکیبات ثانویه با تأثیر بر جمعیت میکروبی شکمبه، به ویژه پروتوزوا، می توانند غلظت بوتیرات را کاهش دهند. البته این اثرات وابسته به مقدار و ساختار این ترکیبات می باشد (Abarghuei و Salem، ۲۰۲۱؛ Foggi و همکاران، ۲۰۲۳).

جدول ۴: غلظت اسیدهای چرب فرار حاصل از تخمیر *in vitro* VFAs profile of alfalfa and quinoa forages

Volatile fatty acids (mmol/l)									
اسیفات/پروپیونات	ایزوالرات	والرات	ایزوبوتیرات	بوتیرات	پروپیونات	اسیفات	کل	Forage	علوفه
Acetate/Propionate	Isovalerate	Valerate	Isobutyrate	Butyrate	Propionate	Acetate	Total		
3.83 ^a	1.04	0.29 ^a	2.85 ^{ab}	7.74 ^a	14.47 ^c	55.39 ^a	78.93 ^b	Alfalfa	یونجه
3.25 ^d	1.06	0.31 ^a	2.92 ^a	7.65 ^a	16.88 ^a	54.81 ^b	80.72 ^a	Quinoa budding 150	کی‌نوا غنچه‌دهی ۱۵۰
3.28 ^d	1.05	0.31 ^a	2.91 ^a	7.51 ^a	16.71 ^a	54.79 ^b	80.39 ^a	Quinoa budding 200	کی‌نوا غنچه‌دهی ۲۰۰
3.48 ^c	1.04	0.30 ^a	2.87 ^a	7.61 ^a	15.60 ^b	54.32 ^{bc}	78.89 ^b	Quinoa budding 250	کی‌نوا غنچه‌دهی ۲۵۰
3.50 ^c	1.02	0.29 ^{ab}	2.84 ^{ab}	7.65 ^a	15.47 ^b	54.18 ^c	78.61 ^b	Quinoa flowering 150	کی‌نوا گلدهی ۱۵۰
3.46 ^c	1.07	0.29 ^{ab}	2.93 ^a	7.24 ^b	15.72 ^b	54.29 ^{bc}	78.63 ^b	Quinoa flowering 200	کی‌نوا گلدهی ۲۰۰
3.66 ^b	1.00	0.26 ^b	2.70 ^b	7.02 ^b	14.29 ^c	52.38 ^d	74.96 ^c	Quinoa flowering 250	کی‌نوا گلدهی ۲۵۰
0.036	0.021	0.009	0.050	0.074	0.133	0.168	0.189	Quinoa flowering 250	انحراف استاندارد میانگین‌ها
<0.0001	0.337	0.024	0.079	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	SEM	سطح معنی داری
								P-value	

یونجه: برداشت شده در مرحله گلدهی، کی‌نوا غنچه‌دهی ۱۵۰: علوفه کی‌نوا برداشت شده در زمان غنچه‌دهی و مقدار ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار کود نیتروژن مصرفی، کی‌نوا غنچه‌دهی ۲۰۰: علوفه کی‌نوا برداشت شده در زمان غنچه‌دهی و مقدار ۲۰۰ کیلوگرم در هکتار کود نیتروژن مصرفی، کی‌نوا گلدهی ۱۵۰: علوفه کی‌نوا برداشت شده در زمان گلدهی و مقدار ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار کود نیتروژن مصرفی، کی‌نوا گلدهی ۲۰۰: علوفه کی‌نوا برداشت شده در زمان گلدهی و مقدار ۲۰۰ کیلوگرم در هکتار کود نیتروژن مصرفی، کی‌نوا گلدهی ۲۵۰: علوفه کی‌نوا برداشت شده در زمان گلدهی و مقدار ۲۵۰ کیلوگرم در هکتار کود نیتروژن مصرفی، کی‌نوا گلدهی ۲۵۰: علوفه کی‌نوا برداشت شده در زمان گلدهی و مقدار ۲۵۰ کیلوگرم در هکتار کود نیتروژن مصرفی، حروف لاتین غیرمشابه در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی دار بین تیمارها است (P<0.05).

Alfalfa: harvested at the flowering stage, quinoa budding 150: quinoa forage harvested at the time of budding and the amount of 150 kg/ha of nitrogen fertilizer used, quinoa budding 200: quinoa forage harvested at the time of budding and the amount of 200 kg/ha of nitrogen fertilizer used, quinoa budding 250: quinoa forage harvested at the time of budding and the amount of 250 kg/ha of nitrogen fertilizer used, quinoa flowering 150: quinoa forage harvested at the time of flowering and the amount of 150 kg/ha of nitrogen fertilizer used, quinoa flowering 200: quinoa forage harvested at the time of flowering and the amount of 200 kg/ha of nitrogen fertilizer used, quinoa flowering 250: quinoa forage harvested at the time of flowering and the amount of 250 kg/ha of nitrogen fertilizer used, non-similar latin letters in each column represents a significant difference between treatments (P<0.05).

Ugbogu و همکاران، ۲۰۱۹؛ Brutti و همکاران، ۲۰۲۳). حداقل غلظت نیتروژن آمونیاکی مورد نیاز برای رشد میکروارگانیسم‌های شکمبه ۵۰ میلی گرم در لیتر مایع شکمبه است. کاهش این فراسنجه در شکمبه سبب کمبود نیتروژن موجود برای باکتری‌ها و در نتیجه کاهش گوارش پذیری خوراک می‌شود (Harun و Sali، ۲۰۱۹). در تحقیق حاضر، غلظت این ترکیب در علوفه‌های یونجه و کینوا در مراحل مختلف برداشت در محدوده مناسب در شکمبه (۸۵ تا ۳۰۰ میلی گرم در لیتر مایع شکمبه) بود (McDonald و همکاران، ۱۹۹۵). تولید نیتروژن آمونیاکی در شکمبه با مقدار پروتئین قابل تجزیه و در دسترس بودن انرژی، ترکیب جیره غذایی به ویژه مقدار و ساختار ترکیبات ثانویه گیاهی، عوامل حیوانی (سن، گونه، وضعیت فیزیولوژیکی و جنس) مرتبط است (Harun و Sali، ۲۰۱۹؛ Kapp-Bitter و همکاران، ۲۰۲۱). در تحقیقات گزارش شده است افزایش گوارش پذیری می‌تواند مقدار تولید نیتروژن آمونیاکی را کاهش دهد (Somanjaya و همکاران، ۲۰۲۲). کاهش مقدار نیتروژن آمونیاکی با کاربرد علوفه‌های کینوا در مراحل غنچه دهی و گلدهی و همچنین استفاده از کود نیتروژنی احتمالاً در نتیجه افزایش گوارش پذیری و وجود ترکیبات فنولیک و تانن در گیاه کینوا است. تحقیقات مختلف نشان داده است که ترکیبات ثانویه، مقدار این فراسنجه را در شکمبه به دلیل مهار فعالیت پروتئولیتیکی میکروارگانیسم‌های شکمبه از طریق کاهش نفوذپذیری، فعالیت و تجزیه غشای سلولی میکروبی کاهش می‌دهند (McIntosh و همکاران، ۲۰۰۳). همچنین کاهش نیتروژن آمونیاکی می‌تواند در نتیجه مهار پروتوزوای شکمبه (جدول ۶) (Williams و Coleman، ۱۹۹۱) و مصرف آن برای تولید پروتئین میکروبی باشد (جدول ۳).

به هر حال در تحقیق حاضر، غلظت بوتیرات در علوفه‌های کینوا در مقایسه با یونجه تفاوتی نداشت. احتمالاً مقدار ترکیبات ثانویه در این تحقیقی به اندازه‌ای نبود که بتواند بر مقدار بوتیرات مؤثر باشد. باکتری‌های گرم مثبت شکمبه معمولاً استات و بوتیرات تولید می‌کنند و در مقایسه با باکتری‌های گرم منفی تولیدکننده پروپیونات نسبت به ترکیبات ثانویه حساس‌تر هستند (Vasta و همکاران، ۲۰۱۹). در تحقیق حاضر، کاهش نسبت استات به پروپیونات ممکن است به دلیل تأثیر ترکیبات ثانویه در علوفه کینوا بر تولید استات و پروپیونات باشد (Kinley و همکاران، ۲۰۲۰).

تحقیقات بسیار اندکی در مورد تأثیر استفاده از علوفه کینوا بر ترکیب اسیدهای چرب شکمبه انجام شده است. در تحقیقی، تغذیه آلپاکا با علوفه گراس و کینوا مورد مطالعه قرار گرفت و گزارش شد که مقادیر کل اسیدهای چرب فرار، استات و پروپیونات تفاوتی نداشتند، ولی مقدار بوتیرات در حیوانات تغذیه شده با کینوا در مقایسه با گراس کاهش یافت (Nilsen و همکاران، ۲۰۱۵). در تحقیقی سطوح ۱۵ و ۳۰ درصد ماده خشک برگ شیرین بیان (حاوی ۵/۷۷ و ۹/۸۶ گرم در کیلوگرم ماده خشک ترکیبات فنولیک) در جیره بره پرواری با استفاده از آزمون تولید گاز بررسی و بیان گردید که مقدار کل اسیدهای چرب فرار و بوتیرات در هر دو سطح جایگزینی کاهش یافتند، ولی فقط سطح کمتر برگ شیرین بیان مقدار پروپیونات را افزایش داد. همچنین نسبت استات به پروپیونات به واسطه کاربرد سطح بیشتر، کاهش یافت (Abarghuei و Salem، ۲۰۲۱). تفاوت در ترکیب اسیدهای چرب فرار در مطالعات را احتمالاً به دلیل سوسترای مورد استفاده، مقدار و ساختار ترکیبات ثانویه گیاهی، ترکیب جیره غذایی مانند نیتروژن موجود و سازگاری میکروبی می‌باشد.

جدول ۵- مقادیر نیتروژن آمونیاکی و گازهای دی اکسید کربن و متان حاصل از تخمیر آزمایشگاهی علوفه‌های یونجه و کنبو

متان (میلی لیتر در گرم ماده، آلی هضم شده) CH ₄ (ml/g OMD)	متان (میلی مول) CH ₄ (mmol)	دی اکسید کربن (میلی لیتر در گرم ماده، آلی هضم شده) CO ₂ (ml/g OMD)	دی اکسید کربن (میلی مول) CO ₂ (mmol)	نیترژن آمونیاکی (میلی گرم در دسی لیتر) NH ₃ -N (mg/dL)	علوفه
88.23 ^a	3.44 ^a	155.35 ^a	6.06 ^a	60.00 ^a	برونجه
83.98 ^{bc}	3.28 ^{bc}	150.62 ^{bc}	5.88 ^{bc}	55.00 ^b	Alfalfa
85.02 ^b	3.32 ^b	152.07 ^b	5.94 ^b	42.50 ^c	Quinoa budding 150
83.71 ^c	3.27 ^c	149.42 ^c	5.83 ^c	52.50 ^b	Quinoa budding 200
87.49 ^a	3.41 ^a	155.34 ^a	6.06 ^a	35.00 ^d	Quinoa budding 250
84.00 ^{bc}	3.28 ^{bc}	149.67 ^c	5.84 ^c	37.50 ^a	Quinoa flowering 150
84.27 ^{bc}	3.29 ^{bc}	149.47 ^c	5.83 ^c	35.00 ^d	Quinoa flowering 200
					Quinoa flowering 250
0.352	0.014	0.585	0.023	1.443	انحراف استاندارد میانگین ها
					SEM
<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	سطح معنی داری
					P-value

پرتوج: پراشت شده در مرحله گلدھی، کینوا غنچه‌دهی ۱۵۰: علوفه کینوا پراشت شده در زمان غنچه‌دهی و مقدار ۱۵۰ کیلوگرم در هکار کود نیترژون مصرفی، کینوا غنچه‌دهی ۲۰۰: علوفه کینوا پراشت شده در زمان غنچه‌دهی و مقدار ۲۰۰ کیلوگرم در هکار کود نیترژون مصرفی، کینوا غنچه‌دهی ۷۵۰: علوفه کینوا پراشت شده در زمان غنچه‌دهی و مقدار ۲۵۰ کیلوگرم در هکار کود نیترژون مصرفی، کینوا گلدھی ۱۵۰: علوفه کینوا پراشت شده در زمان گلدھی و مقدار ۱۵۰ کیلوگرم در هکار کود نیترژون مصرفی، کینوا گلدھی ۲۵۰: علوفه کینوا پراشت شده در زمان گلدھی و مقدار ۲۵۰ کیلوگرم در هکار کود نیترژون مصرفی، کینوا لائین غیزمشابه در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین تیمارها است ($P<0.05$).

Alfalfa: harvested at the flowering stage, quinoa budding 150: quinoa forage harvested at the time of budding and the amount of 150 kg/ha of nitrogen fertilizer used, quinoa budding 200: quinoa forage harvested at the time of budding and the amount 200 kg/ha of nitrogen fertilizer used, budding quinoa 250: quinoa forage harvested at the time of budding and the amount of 250 kg/ha of nitrogen fertilizer used, quinoa flowering 150: quinoa forage harvested at the time of flowering and the amount of 150 kg/ha of nitrogen fertilizer used, quinoa flowering 200: quinoa forage harvested at the time of flowering and the amount of 200 kg/ha of nitrogen fertilizer used, quinoa flowering 250: quinoa forage harvested at the time of flowering and the amount of 250 kg/ha of nitrogen fertilizer used, non-similar latin letters in each column represents a significant difference between treatments ($P < 0.05$).

نشخوارکنندگان نقش مهمی در تولید گازهای گلخانه‌ای دارند. تولید این گازها در این دام‌ها، علاوه بر آلودگی محیط‌زیست، باعث از دست رفتن انرژی خوراک (اتلاف از طریق تولید گاز متان، دی‌اکسید کربن و هیدروژن به مقدار ۲ تا ۱۲ درصد انرژی ناخالص) می‌شود (Johnson و Johnson، ۱۹۹۵)؛ بنابراین یافتن راهکارهای مناسب برای کاهش این اتلاف بسیار ضروری است. کاهش تولید متان به واسطه استفاده از علوفه کینوا در مقایسه با یونجه می‌تواند در نتیجه وجود ترکیبات فنولیک و تانن موجود در کینوا باشد. این کاهش احتمالاً از طریق تأثیر مستقیم این ترکیبات بر باکتری‌های تولیدکننده متان و یا کاهش غیرمستقیم تولید این گاز با کاهش گوارش‌پذیری مواد غذایی به ویژه الیاف خام است (Abarghuei و Salem، ۲۰۲۱؛ Niu و همکاران، ۲۰۲۲). همچنین کاهش تولید متان می‌تواند به دلیل تأثیر منفی ترکیبات ثانویه بر فعالیت پروتوزوایی شکمبه باشد (جدول ۶) (Acosta-Lozano و همکاران، ۲۰۲۳). برخلاف مطالعه حاضر، Ebeid و همکاران (۲۰۲۲) نشان دادند که استفاده از ۱۵، ۳۰ و ۴۵ درصد ماده خشک جیره از علوفه کینوا تأثیری بر تولید گاز متان در شرایط تخمیر آزمایشگاهی نداشت. مشابه با پژوهش حاضر، در تحقیق دیگری گزارش گردید که کینوا حاوی ترکیبات تلخ ساپونین است که ممکن است تولید متان شکمبه را کاهش دهد زیرا گونه‌های قارچی و باکتریایی شکمبه را مهار می‌کند و دسترسی هیدروژن را برای تولید متان در شکمبه محدود می‌کند (Asher و همکاران، ۲۰۲۲).

پروتوزوا حدود ۵۰ درصد از جمعیت میکروبی شکمبه را تشکیل می‌دهند. آن‌ها یک رابطه همزیستی با باکتری‌های تولیدکننده متان دارند، ذرات ماده آلی و باکتری‌ها را می‌بلعند و نقش مهمی در هضم الیاف، کربوهیدرات، پروتئین و چربی دارند (Dehority،

۲۰۰۳؛ Vasta و همکاران، ۲۰۱۹). عوامل مختلفی بر روی جمعیت پروتوزوا شکمبه تأثیر می‌گذارند مانند ترکیب شیمیایی خوراک، آب، بزاق، سرعت عبور مواد گوارشی در شکمبه، فعالیت تخمیری، تولید اسید در شکمبه و برخی ترکیبات ثانویه گیاهی (Newbold و همکاران، ۲۰۱۵، Spanghero و همکاران، ۲۰۲۲). استفاده از علوفه‌های کینوا در مقایسه با یونجه جمعیت کل پروتوزوا ($P < 0.001$) و زیرخانواده انتودینیینه^۱ ($P < 0.001$) را کاهش داد. جنس ایزوتریچا^۲ ($P = 0.061$)، جنس داسی‌تریچا^۳ ($P = 0.240$) تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفتند. زیر خانواده دیپلودینیینه^۴ ($P < 0.001$) و زیرخانواده افریوسکالسینه^۵ ($P < 0.001$) با کاربرد علوفه کینوا در مقایسه با علوفه یونجه کاهش یافتند. ولی تفاوتی بین تیمارهای کینوا غنچه‌دهی ۱۵۰، کینوا گلدهی ۱۵۰ و یونجه برای این پروتوزوا مشاهده نشد. در تحقیق حاضر، کاهش پروتوزا احتمالاً به دلیل وجود تأثیر منفی ترکیبات ثانویه بر این میکروارگانیسم‌ها است. ترکیبات فنولیک و تانن-ها غشای پروتوزوا را مختل می‌کنند، آنزیم‌ها را غیرفعال کرده و مواد مغذی ضروری برای سوخت‌وساز این موجودات را کاهش می‌دهند (Patra و Saxena، ۲۰۱۱؛ Sahan، ۲۰۲۳). در تحقیق حاضر کاهش در جمعیت پروتوزوا به واسطه استفاده از علوفه کینوا برداشت‌شده در مرحله غنچه‌دهی بیشتر از علوفه کینوا برداشت‌شده در مرحله گلدهی بود. این کاهش بیشتر احتمالاً به دلیل وجود ترکیبات فنولیک و تانن بیشتر در علوفه کینوا برداشت‌شده در مرحله غنچه‌دهی است (جدول ۱). مقدار الیاف نامحلول در شوینده خنثی بر روی تعداد پروتوزوا تأثیر دارند. برای مثال در تحقیقی

1 - Entodiniinae

2 - Isotricha

3 - Dasytricha

4 - Diplodiniinae

5 - Ophrioscolecinae

کاهش پروتوزوا شده است. اثرات ترکیبات ثانویه بر جمعیت پروتوزوا در بین تحقیقات متفاوت بوده است و به سوبسترای استفاده شده، غلظت و ساختار ترکیبات ثانویه، تجزیه ترکیبات ثانویه توسط میکروارگانیسم های شکمبه، تفاوت های حیوانی و روش های نمونه گیری بستگی دارد (Benchaa, ۲۰۲۰؛ Hossieini و همکاران، ۲۰۲۲). در تحقیقات انجام شده توسط Benchaa (۲۰۲۰) و Jayanegara و Palupi (۲۰۱۰) هیچ تأثیری بر پروتوزوا مشاهده نشد، در حالی که Raghuvansi و همکاران (۲۰۰۷) افزایش را نشان دادند و Abarghuei و Salem (۲۰۲۱) و Acosta-Lozano و همکاران (۲۰۲۳) کاهش جمعیت این میکروارگانیسم ها را نشان دادند.

مشخص شد که کاهش مقدار الیاف نامحلول در شوینده خشتی، جمعیت پروتوزوای جنس ایزوتریچا و زیرخانواده انتودینیونینه را افزایش، ولی جمعیت زیرخانواده های دیپلودینیونینه و افریوسکالسینه را کاهش داد (Wang و همکاران، ۲۰۰۹). در تحقیق حاضر، عدم تفاوت زیرخانواده های دیپلودینیونینه و افریوسکالسینه در تیمار کینوا گلدهی ۱۵۰ با علوفه یونجه احتمالاً به دلیل افزایش محتوای الیاف نامحلول در شوینده خشتی در این علوفه در مقایسه با یونجه باشد. به هر حال استفاده از سطوح ۲۰۰ و ۲۵۰ کیلوگرم کود نیتروژن جمعیت این پروتوزوها را در مقایسه با یونجه کاهش داد که شاید به این دلیل باشد که تأثیر منفی بیشتر بودن ترکیبات ثانویه در سطوح بالاتر کوددهی، در مقایسه با مقدار الیاف نامحلول در شوینده خشتی بیشتر بوده و سبب

جدول ۶- جمعیت پروتوزوا ($\log_{10}/\text{ml media}$) حاصل از تخمیر آزمایشگاهی علوفه های یونجه و کینوا

Table 6- *In vitro* protozoa population of alfalfa and quinoa forages

پروتوزوا Protozoa						علوفه Forage
افریوسکالسینه <i>Ophrioscolecinae</i>	دیپلودینیونینه <i>Diplodiniinae</i>	انتودینیونینه <i>Entodiniinae</i>	داسی تریچا <i>Dasytricha</i>	ایزوتریچا <i>Isotricha</i>	کل total	
5.36 ^a	5.45 ^a	5.97 ^a	5.36 ^a	5.33 ^a	6.28 ^a	یونجه Alfalfa
5.33 ^a	5.42 ^{ab}	5.91 ^{bc}	5.06 ^{ab}	5.12 ^a	6.19 ^b	کینوا غنچه دهی ۱۵۰ Quinoa budding 150
5.06 ^{bc}	5.18 ^d	5.86 ^e	4.70 ^{ab}	4.80 ^a	6.05 ^d	کینوا غنچه دهی ۲۰۰ Quinoa budding 200
4.80 ^d	4.70 ^f	5.83 ^f	3.13 ^b	1.57 ^b	5.93 ^e	کینوا غنچه دهی ۲۵۰ Quinoa budding 250
5.30 ^a	5.36 ^b	5.93 ^b	5.12 ^{ab}	5.12 ^a	6.19 ^b	کینوا گلدهی ۱۵۰ Quinoa flowering 150
5.18 ^{ab}	5.26 ^c	5.90 ^{cd}	4.90 ^{ab}	4.96 ^a	6.11 ^c	کینوا گلدهی ۲۰۰ Quinoa flowering 200
4.90 ^{cd}	5.00 ^e	5.87 ^{de}	4.80 ^{ab}	3.23 ^{ab}	6.03 ^d	کینوا گلدهی ۲۵۰ Quinoa flowering 250
0.060	0.024	0.008	0.595	0.854	0.016	انحراف استاندارد میانگین ها SEM
<0.0001	<0.0001	<0.0001	0.240	0.061	<0.0001	سطح معنی داری P-value

یونجه: برداشت شده در مرحله گلدهی، کینوا غنچه دهی ۱۵۰: علوفه کینوا برداشت شده در زمان غنچه دهی و مقدار ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار کود نیتروژن مصرفی، کینوا غنچه دهی ۲۰۰: علوفه کینوا برداشت شده در زمان غنچه دهی و مقدار ۲۰۰ کیلوگرم در هکتار کود نیتروژن مصرفی، کینوا غنچه دهی ۲۵۰: علوفه کینوا برداشت شده در زمان غنچه دهی و مقدار ۲۵۰ کیلوگرم در هکتار کود نیتروژن مصرفی، کینوا گلدهی ۱۵۰: علوفه کینوا برداشت شده در زمان گلدهی و مقدار ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار کود نیتروژن مصرفی، کینوا گلدهی ۲۰۰: علوفه کینوا برداشت شده

در زمان گلدهی و مقدار ۲۰۰ کیلوگرم در هکتار کود نیتروژن مصرفی، کینوا گلدهی ۲۵۰: علوفه کینوا برداشت شده در زمان گلدهی و مقدار ۲۵۰ کیلوگرم در هکتار کود نیتروژن مصرفی، حروف لاتین غیرمشابه در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین تیمارها است ($P < 0.05$).

Alfalfa: harvested at the flowering stage, quinoa budding 150: quinoa forage harvested at the time of budding and the amount of 150 kg/ha of nitrogen fertilizer used, quinoa budding 200: quinoa forage harvested at the time of budding and the amount 200 kg/ha of nitrogen fertilizer used, budding quinoa 250: quinoa forage harvested at the time of budding and the amount of 250 kg/ha of nitrogen fertilizer used, quinoa flowering 150: quinoa forage harvested at the time of flowering and the amount of 150 kg/ha nitrogen fertilizer used, quinoa flowering 200: quinoa forage harvested at the time of flowering and the amount of 200 kg/ha of nitrogen fertilizer used, quinoa flowering 250: quinoa forage harvested at the time of flowering and the amount of 250 kg/ha of nitrogen fertilizer used, non-similar latin letters in each column represents a significant difference between treatments ($P < 0.05$).

نتیجه‌گیری کلی

رسد که چشم‌انداز مناسبی برای کشت کینوا در ایران به‌عنوان یک محصول جدید برای تولید خوراک دام وجود دارد و این گیاه این پتانسیل را دارد که در جیره نشخوارکنندگان در بخش علوفه‌ای جیره استفاده شود. با این حال انجام تحقیقات بیشتر بر روی ارقام دیگر در هر منطقه و همچنین انجام آزمایشات بر روی دام زنده برای حصول نتایج بیشتر ضروری می‌باشد.

بر اساس نتایج تحقیق حاضر، علوفه‌های کینوا در هر دو مرحله برداشت (به‌خصوص علوفه برداشت‌شده در مرحله غنچه‌دهی با مقادیر ۱۵۰ و ۲۰۰ کیلوگرم کود نیتروژن در هکتار) از نظر ترکیبات شیمیایی به‌ویژه پروتئین خام و بهبود فراسنجه‌های تخمیر (کاهش تولید نیتروژن آمونیاکی و گاز متان) نسبت به علوفه یونجه برتری داشت. از نتایج این پژوهش به نظر می‌-

References

- Abarghuei, M.J. & Salem, A.Z.M. (2021). Sustainable impact of pulp and leaves of *Glycyrrhiza glabra* to enhance ruminal biofermentability, protozoa population and biogases production in sheep. *Environmental Science and Pollution Research*, 28: 33371–33381.
- Abarghuei, M.J., Rouzbehan, Y. & Salem, A.Z.M. (2014). The influence of pomegranate-peel extracts on *in vitro* gas production kinetics of rumen inoculum of sheep. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 38: 212-219.
- Abbasi, D., Rouzbehan, Y. & Rezaei, J. (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.
- Acosta-Lozano, N., Barros-Rodríguez, M., Guishca-Cunuhay, C., Andrade-Yucailla, V., Contreras-Barros, K., Sandoval-Castro, C., Elghandour, M.M.M.Y. & Salem, A.Z.M. (2023). Potential effect of dietary supplementation of tannin-rich forage on mitigation of greenhouse gas production, defaunation and rumen function. *Veterinary Science*, 10: 467.
- Adegbeye, M.J., Ravi Kanth Reddy, P., Obaisi, A. I., Elghandour, M.M.M., Oyebamiji, K.J., Salem, A.Z.M., Morakinyo-Fasipe, O.T., Cipriano-Salazar, M. & Camacho-Díaz, L.M. (2020). Sustainable agriculture options for production, greenhouse gasses and pollution alleviation, and nutrient recycling in emerging and transitional nations - An overview. *Journal of Cleaner Production*, 242: 118319.
- Afzal, I., Basra, S.M.A., Rehman, H.U., Iqbal, S. & Bazile, D. (2022). Trends and limits for quinoa production and promotion in Pakistan. *Plants*, 11: 2-19.
- Al-Sagheer A.A, Elwakeel, E.A., Ahmed, M.G. & Sallam, S.M.A. (2018). Potential of guava leaves for mitigating methane emissions and modulating ruminal fermentation characteristics and nutrient degradability. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(31): 31450–31458.
- Ansari Ardali, S. & AghaAlikhani, M. (2015). Effect of plant density and nitrogen fertilizer rate on forage yield and quality of cultivated amaranth (*Amaranthus cruentus* L.). *Iranian Journal of Crop Sciences*, 17(1): 35-36. (In Persian).

- AOAC. (1990). 15th ed. Official Methods of Analysis, vol. I. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA, USA.
- Asher, A., Galili, S., Whitney, T. & Rubinovich, L. (2020). The potential of quinoa (*Chenopodium quinoa*) cultivation in Israel as a dualpurpose crop for grain production and livestock feed. *Scientia Horticulturae*, 272: 109534.
- Atis, I., Konuskan, O., Duru, M., Gozubenli, H. & Yilmaz, S. (2012). Effect of harvesting time on yield, composition and forage quality of some forage sorghum cultivars. *International Journal of Agriculture and Biology*, 14: 879–886.
- Ayaşan, T. (2020). Determination of nutritional value of some quinoa varieties. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, 44: 950-954.
- Barros-Rodríguez, M., Cajas-Naranjo, M., Núñez-Torres, O., Mera-Andrade, R., Artieda-Rojas, J., Sandoval-Castro, C. & Solorio-Sánchez, J. (2018). *In situ* rumen degradation kinetics and *in vitro* gas production of seed, whole plant and stover of *Chenopodium quinoa*. *Journal of Animal and Plant Sciences*, 28(1): 327-331.
- Benchaar, C. (2020). Feeding oregano oil and its main component caracole does not affect ruminal fermentation, nutrient utilization, methane emissions, milk production, or milk fatty acid composition of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 103: 1516–1527.
- Bhatt, R.S., Soni, L. & Sahoo, A. (2019). Methane production and microbial protein synthesis in adult sheep fed total mixed ration as mash and as complete feed block. *Carbon Management*, 10(3): 241-253.
- Blümmel, M., Steingass, H. & Becker, K. (1997). The relationship between *in vitro* gas production, *in vitro* microbial biomass yield and N-15 incorporation and its implications for the prediction of voluntary feed intake of roughages. *British Journal of Nutrition*, 77: 911–921.
- Broderick, G.A. & Kang, J.H. (1980). Automated simultaneous determination of ammonia and total amino acids in ruminal fluid and *in vitro* media. *Journal of Dairy Science*, 63: 64-75.
- Brutti, D.D., Canozzi, M.E., Sartori, A.E.D., Colombatto, D. & Barcellos, J.O.J. (2023). Effects of the use of tannins on the ruminal fermentation of cattle: a meta-analysis and meta-regression. *Animal Feed Science and Technology*, 306: 115806.
- Casini, P. (2019). Seed yield of two new quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) breeding lines as affected by sowing date in Central Italy. *Acta Agriculturae Slovenica*, 113: 51-62.
- Cheong, K., Zhang, Y., Li, Z., Li, T., Ou, Y., Shen, J., Zhong, S. & Tan Role, K.T. (2023). Role of polysaccharides from marine seaweed as feed additives for methane mitigation in ruminants: a critical review. *Polymers*, 15: 3153.
- Cottyn, B.G. & Boucque, C.V. (1968). Rapid method for the gaschromatographic in rumen fluid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 16: 105–107.
- Dehority, B.A. (2003). Rumen Microbiology. Nottingham University Press, Nottingham, UK.
- Ebeid, H.M., Kholif, A.E., El-Bordeny, N., Chrenkova, M., Mlynekova, Z. & Hansen, H.H. (2022). Nutritive value of quinoa (*Chenopodium quinoa*) as a feed for ruminants: *in sacco* degradability and *in vitro* gas production. *Environmental Science and Pollution Research*, 29: 35241–35252.
- Foggi, G., Terranova, M., Conte, G., Mantino, A., Amelchanka, S.L., Kreuzer, M. & Mele, M. (2023). *In vitro* screening of the ruminal methane and ammonia mitigating potential of mixtures of either chestnut or quebracho tannins with blends of essential oils as feed additives. *Italian Journal of Animal Science*, 21(2): 1520–1532.
- France, J., Dijkstra, J., Dhanoa, M.S., Lopez, S. & Bannink, A. (2000). Estimating the extent of degradation of ruminant feeds from a description of their gas production profile observed *in vitro*: derivation of models and other mathematical considerations. *British Journal of Nutrition*, 83: 143–150.
- Ghavipanjeh, N., Fathi Nasri, M.H., Bashtani, M. & Farhangfar, H. (2021). Determination of chemical composition and estimating nutritional value of quinoa crop residues using nylon bag and gas production techniques. *Animal Production*, 23(1): 35-45. (In Persian).

- Glasser, F., Doreau, M., Maxin, G. & Baumont, R. (2013). Fat and fatty acid content and composition of forages: A meta-analysis. *Animal Feed Science and Technology*, 185: 19–34. (In Persian).
- Harun, A.K. & Sali, K. (2019). Factors affecting rumen microbial protein synthesis: A review. *Veterinary Medicine*, 4(1): 27-35.
- Horrocks, R.D. & Vallentine, J.F. (1999). Harvested forage. Academic Press, London, UK.
- Jayanegara, A. & Palupi, E. (2010). Condensed tannin effects on nitrogen digestion in ruminants: a meta-analysis from *in vitro* and *in vivo* studies. *Media Peternakan*, 33(3): 176-181.
- Kapp-Bitter, A.N., Dickhoefer, U., Kreuzer, B. & Leiber, F. (2021). Mature herbs as supplements to ruminant diets: effects on *in vitro* ruminal fermentation and ammonia production. *Animal Production Science*, 61: 470–479.
- Kardooni, A., Tavoosi, M., Mahdavi Majd, J., Taheri Dezfoli, B. & Anafjeh, Z. (2019). Determination of nutritional value of three cultivars of quinoa (Giza1, Rosada and Q102) at three harvesting stages. *Applied Animal Science Research Journal*, 36: 3-12. (In Persian).
- Kaya, E. & Aydemir, K. (2020). Determining the forage yield, quality and nutritional element contents of quinoa cultivars and correlation analysis on these parameters. *Pakistan Journal of Agricultural Sciences*, 57: 311-317.
- Kholif, A.E., Gouda, G.A., Morsy, T.A., Matloup, O.H., Sallam, S.M., Patra, A.K. (2023). Associative effects between *Chlorella vulgaris* microalgae and *Moringa oleifera* leaf silage used at different levels decreased *in vitro* ruminal greenhouse gas production and altered ruminal fermentation. *Environmental Science and Pollution Research*, 30: 6001–6020.
- Króliczewska, B., Pecka-Kielb, E. & Bujok, J. (2023). Strategies used to reduce methane emissions from ruminants: controversies and issues. *Agriculture*, 13: 2-26.
- Li, L., Lietz, G. & Seal, C.J. (2021). Phenolic, apparent antioxidant and nutritional composition of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) seeds. *International Journal of Food Science & Technology*, 56: 3245–3254.
- Liu, M., Yang, M. & Yang, H. (2021). Biomass production and nutritional characteristics of quinoa subjected to cutting and sowing date in the mid-western China. *Grass Science*, 63(3): 215-224.
- Makkar, H.P.S. & Singh, B. (1993). Effect of storage and urea addition on detannification and *in sacco* dry matter digestibility of mature oak (*Quercus incana*) leaves. *Animal Feed Science and Technology*, 41: 247–259.
- Makkar, H.P.S. (2000). Quantification of Tannins in Tree Foliage. A Laboratory Manual for the FAO/IAEA Co-Ordinated Research Project on Use of Nuclear and Related Techniques to Develop Simple Tannin Assays for Predicting and Improving the Safety and Efficiency of Feeding Ruminants on Tanniniferous Tree Foliage. Joint FAO/IAEA of Nuclear Techniques in Food and Agriculture. Animal Production and Health Sub-Programme, FAO/IAEA Working Document. IAEA, Vienna, Austria.
- Makkar, H.P.S. (2010). *In vitro* screening of feed resources for efficiency of microbial protein synthesis. In: Vercoe, P.E., Makkar, H.P.S., Schlink, A.C. (Eds.), *In vitro* screening of plant resources for extra-nutritional attributes in ruminants: Nuclear and Related Methodologies. IAEA, Dordrecht, the Netherlands, pp: 107–144.
- Menke, K.H., Raab, L., Salewski, A., Steingass, H., Fritz, D. & Schneider, W. (1979). The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feedstuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor *in vitro*. *Journal of Dairy Science*, 92: 217–222.
- Meza-Bone, G., Meza-Bone, C., Avellaneda-Cevallos, C., Cabezas-Congo, R., Villamar-Torres, R., Cabanilla-Campos, M., Vivas-Arturo, W., Intriago-Flor, F., Meza-Bone, F., Zapater-Santillan, A., Bastidas-Espinoza, R., Solís-Barros, T., Muñoz-Arboleda, L., Garcia-Cox, W. & Barros-Rodríguez, M. (2022). Rumen fermentation profile and greenhouse gas mitigation of three forage species from agroforestry systems in dry and rainy seasons. *Fermentation*, 8: 630.

- Nabipour, Z., Zamani, G.R. & Ghysari, Y. (2022). Effect of different levels of nitrogen application on yield and yield components of quinoa (*Chenopodium quinoa* L.) under different planting densities. *Applied Soil Research*, 4(4): 61-75. (In Persian).
- Newbold, C. J., De La Fuente, G., Belanche, G., Ramos-Morales, E. & McEwan, N.R. (2015). The role of ciliate protozoa in the rumen. *Frontiers in Microbiology*, 6: 1313.
- Nielsen, C.K., Stødtkilde, L., Jørgensen, U. & Lærke, P.E. (2021). Effects of harvest and fertilization frequency on protein yield and extractability from flood-tolerant perennial grasses cultivated on a fen peatland. *Frontiers in Environmental Science*, 9: 1-18.
- Niu, P., Kreuzer, M., Liesegang, A., Kunz, C., Schwarm, A. & Giller, K. (2022). Effects of graded levels of dietary pomegranate peel on methane and nitrogen losses, and metabolic and health indicators in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 106:8627–8641.
- Noordar, H., Malecky, M., Jahanian Najafabadi, H. & Navidshad, B. (2017). Evaluating nutritional value of processed potato vines by *in vitro* gas production. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 60(2): 189–204.
- Norton, B.V. & Poppi, D.P. (1995). Composition and nutritional attributes of pasture legumes. In: D'Mello, J.P.F., Devendra, C., (Eds.). *Tropical legumes in Animal Nutrition*. CABI Publishing, Wallingford, UK. Pp 23-47.
- Patra, A.K. & Saxena, J. (2011). Exploitation of dietary tannins to improve rumen metabolism and ruminant nutrition. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91: 24–37.
- Peiretti, P.G., Gai, F. & Tassone, S. (2013). Fatty acid profile and nutritive value of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) seeds and plants at different growth stages. *Animal Feed Science and Technology*, 183: 56-61.
- Raghuvansi, S.K.S., Tripathi, M.K., Mishr, A.S., Chaturvedi, O.H., Prasad, R., Saraswat, B.L. & Jakhmola, R.C. (2007). Feed digestion, rumen fermentation and blood biochemical constituents in Malpura rams fed a complete feed-block diet with the inclusion of tree leaves. *Animal Feed Science and Technology*, 71: 21–30.
- Robertson, J.B. & Van Soest, P.J. (1981). The detergent system of analysis. In: James, W.P.T., Theander, O. (Eds.), *The Analysis of Dietary Fiber in Food*, vol. 158, Marcel Dekker, New York, NY, USA, Basel, Switzerland, pp. 123. (Chapter 9).
- Rong-zhen, Z., Yi, F., Hai-xia, S., Min, W. & Dao-wei, Z. (2016). Rumen methane output and fermentation characteristics of gramineous forage and leguminous forage at differing harvest dates determined using an *in vitro* gas production technique. *Journal of Integrative Agriculture*, 15(2): 414–423.
- Saeidi, S.M., Siadat, S.A., Moshatati, A., Moradi-Telavat, m.R. & Sepahvand, N.A. (2020). Effect of sowing time and nitrogen fertilizer rates on growth, seed yield and nitrogen use efficiency of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) in Ahvaz, Iran. *Iranian Journal of Crop Science*, 4(21): 354-367. (In Persian).
- Şahan, Z. (2023). Bacteriolytic activity of ruminal protozoa is affected by rate and type of common essential oils: Effect of thyme oil. *South African Journal of Animal Science*, 53(4): 589-597.
- Sahoo, A., Ogra, R.K., Sood, A. & Ahuja, P.S. (2010). Nutritional evaluation of bamboo cultivars in sub-Himalayan region of India by chemical composition and *in vitro* ruminal fermentation. *Japanese Society of Grassland Science*, 56: 116–125.
- Salama, R., Yacout, M.H., Elgzar, M.I.T. & Awad, A.A. (2021). Nutritional evaluation of quinoa (*Chenopodium quinoa* willd) crop as unconventional forage resource in feeding ruminants. *Egyptian Journal of Nutrition and Feeds*, 24(1): 77-84.
- SAS (2002). *SAS User's Guide: Statistics*. Ver 9.0.SAS Institute, Cary, N.C. USA. 956 pp.
- Shah, S.S., Shi, L., Li, Z., Ren, G., Zhou, B. & Qin, P. (2020). Yield, Agronomic and forage quality traits of different quinoa (*Chenopodium quinoa* willd.) genotypes in northeast China. *Agronomy*, 10: 1908.
- Shah, S.S., Shi, L., Li, Z., Ren, G., Zhou, B. & Qin, P. (2020). Yield, Agronomic and forage quality traits of different quinoa (*Chenopodium quinoa* willd.) genotypes in northeast China. *Agronomy*, 10: 1908.

- Shakeri, P., Dayani, O., Asadi Korom, M., Najafi Neghad, H. & Aghashahi, A.R. (2019). Determination of nutritive value, fermentability and degradability in two genotypes of Quinoa crop residues. *Journal of Ruminant Research*, 7(2): 83-96. (In Persian)
- Shitikova, A.V., Kukharenskova, O.V. & Khaliluev, M.R. (2022). The crop production capacity of quinoa (*Chenopodium quinoa* willd.)—a new field crop for Russia in the non-chernozem zone of Moscow's urban environment. *Agronomy*, 12: 3040.
- Somanjaya, R., Imanudin, O., Turohman, S.M., Fuah, A.M., Rahayu, S., Abdullah, L. & Setiadi, M.A. (2022). *In vitro* gas production of sorghum-indigofera forage-based complete feed for ruminants. International conference on sustainable animal resource and environment, 1020: 012011.
- Spanghero, M., Braidot, M., Fabro, C. & Romanzin, A. (2022). A meta-analysis on the relationship between rumen fermentation parameters and protozoa counts in *in vitro* batch experiments. *Animal Feed Science and Technology*, 293: 115471.
- Tavoosi, M., Kordoni, A. & Mahdavi Majd J. (2018). Investigating the possibility of producing forage seeds from the quinoa plant in different seasons and determining its nutritional value. Khuzestan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center. 1-38. (In Persian).
- Temel, S. & Yolcu, S. (2020). The effect of different sowing time and harvesting stages on the herbage yield and quality of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). *Turkish Journal of Field Crops*, 25(1): 41-49.
- Temel, S., Keskin, B. & Guner, Z. (2022). Change in forage quality of whole plant, leaf and stem according to sowing and harvesting periods in *atriplex nitens* schkuhr grown without fertilizer. *Turkish Journal of Field Crops*, 27(2): 208-216.
- Thomas, G.W. & Hargrove, W.L. (1984). Soil Acidity and Liming, Volume 12, Second Edition. The Chemistry of Soil Acidity. American Society of Agronomy.
- Ugbogu, E.A., Elghandour, M.M.M.Y., Ikpeazu, V.O., Buendía, G.R., Molina, O.M., Arunsi, U.O., Emmanuel, O. & Salem, A.Z.M. (2019). The potential impacts of dietary plant natural products on the sustainable mitigation of methane emission from livestock farming. *Journal of Cleaner Production*, 213: 915-925.
- Uke, O., Kale, H., Kaplan, M. & Kamalak, A. (2017). Effects of maturity stages on hay yield and quality, gas and methane production of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). *KSU Journal of Natural Sciences*, 20(1): 42–46.
- Van Soest, P.J. (1994). *Nutritional Ecology of the Ruminant*, 2nd ed. Cornell Univ. Press, Itacha, NY, USA, 476 pp.
- Van Soest, P.J., Robertson, J.B. & Lewis, B.A. (1991). Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch poly-saccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, 74: 3583–3597.
- Vasta, V., Daghighi, M., Cappucci, A., Buccioni, A., Serra, A., Viti, C. & Mele, M. (2019). Invited review: Plant polyphenols and rumen microbiota responsible for fatty acid biohydrogenation, fiber digestion, and methane emission: Experimental evidence and methodological approaches. *Journal of Dairy Science*, 102: 1–24.
- Vos, J., Van der Putten, P.E.L. & Birch, C.J. (2005). Effect of nitrogen supply on leaf appearance, leaf growth, leaf nitrogen economy and photosynthetic capacity in maize (*Zea mays* L.). *Field Crops Research*, 93: 64–73.
- Wang, M.Z., Wang, H.R. & Yu, L.H. (2009). Effects of NDF content on protozoal community and grazing rate in rumen. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 8(9): 1746-1752.
- Williams, A.G. & Coleman, G.S. (1991). The Rumen Protozoa. Springer-Verlag New York Inc., New York.
- Yilmaz, S., Ertekin, I. & Atis, I. (2021). Forage yield and quality of quinoa (*Chenopodium quinoa* willd.) genotypes harvested at different cutting stages under mediterranean conditions. *Turkish Journal of Field Crops*, 26(2): 202-209.