Iranian Journal of Animal Science Research
Homepage: http://ijasr.um.ac.ir

Research Paper
Vol. 14, No. 3, Fall 2022, p. 345-357

Investigating Nutritional Value of *Bassia scoparia* Seed *in vitro* for Ruminants Nutrition in Arid and Semi-Arid Regions

Mohsen Sari[*1], Yaser Monjezi[2], Jafar Nabati[3]

Received: 10-05-2021
Revised: 24-08-2021
Accepted: 13-11-2021
Available Online: 13-11-2022

How to cite this article:
Sari, M., Monjezi, Y., & Nabati, J. (2022) Investigating nutritional value of *Bassia scoparia* seed *in vitro* for ruminants nutrition in arid and semi-arid regions. *Iranian Journal of Animal Science Research*, *14*(3), 345-357.
DOI: 10.22067/ijasr.2021.70411.1025

Introduction: Halophytes are plants with ability to survive in saline and alkaline soils and are drought resistant. In many areas of the world, native and introduced halophytes are forage resources, especially for sustaining grazing livestock when other feeds are scarce. Iran is a typical country of wide deserts and saline ecosystems and halophytes plays a major role in the halophytic and xerophytic vegetation of Iran. kochia is a drought-resistant annual plant that its cultivation is increasing in Iran. Due to the possibility of irrigating this plant with saline water, it can play an important role in providing the required feed to livestock in areas with saline soil and water by producing significant grains with high protein content. The aim of this study was to investigate effect of different levels of kochia seed in high concentrate diets on rumen fermentation.

Materials and Methods: Dietary treatments included control diet (no kochia seed) and three diets levels containing 10, 20 and 30 % of ration DM kochia seed. In all treatments, soybean meal and wheat bran in the diet were substituted with kochia seed. Gas production and dual-flow continuous culture system were used in this study. In the gas production test, treatments arranged as complete randomized design. The amount of gas produced in the samples was recorded at different hours after incubation and the parameters of gas production, organic matter digestibility and metabolic energy were calculated. In the second experiment, eight dual-flow continuous culture fermenters (1320 ml) were used in two periods (7 days adaptation, 3 days sampling). In each period, fermenters were randomly assigned to treatments. Temperature (38.5°C) and liquid and (10%/h) solid (5%/h) dilution rates were kept constant in the fermenters. Anaerobic conditions were maintained by the infusion of N2 at a rate of 40ml/min. Treatments were randomly assigned to fermenters. Fermenters were fed daily with 97 g dry matter. During sampling days, collection vessels were maintained at 4ºC to impede microbial action. Solid and liquid effluents were mixed and homogenized for 1 min, and a 500ml sample was removed via aspiration. Upon completion of each period, effluent from the 3 days of sampling was composited and mixed within fermenter and homogenized for 1 min. Subsamples were taken for total N, ammonia-N, and VFA analyses. Data were analyzed using the GLM procedure of SAS. Fermenter and period were considered random effects. Comparisons between treatments were completed with Tukey's test. Effects were considered significant at $P<0.05$.

Results and Discussion: Inclusion of kochia seed in the diet increased gas production potential and amount of produced gas compared to the control diet. Increasing levels of kochia seed in the diet linearly increased metabolizable energy, organic matter digestibility and short chain fatty acid production. Low lignin content and high hemicellulose digestibility could be the main reasons behind higher metabolizable energy and organic matter digestibility observed in kochia containing diets. The observed increase in gas production potential as well as the volume of produced gas in kochia seed containing diets also supports that this feedstuff does not

1- Associate Professor, Department of Animal Science, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Ahvaz, Iran.
2- Graduated M.Sc. of Animal Nutrition, Department of Animal Science, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Ahvaz, Iran.
3- Assistant Professor, Legume Department, Research Center for Plant Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.
*Corresponding Author Email: m.sari@asnrukh.ac.ir

contain antinutritional factors with antimicrobial properties or the amount of these compounds in the grain is not significant. In the dual flow continuous culture study, dry matter digestibility linearly increased with increasing levels of kochia seed in the diet. Organic matter digestibility tended to increase using kochia seed in the diet (P =0.08). An increase in protein digestibility observed in treatments containing 20 and 30 % kochia seed compared to other treatments. Total VFA concentration increased linearly in diets containing kochia seed (P = 0.01). This finding could be the result of higher organic matter digestibility in kochia seed containing diets. Also, it has been suggested that higher rumen fiber digestibility or partial replacement of starch with a digestible cell wall can increase the total VFA concentration by increasing the population of fiber-degrading bacteria, a mechanism that is especially important in high-concentrate diets. Average ammonia nitrogen concentration, the concentration before feeding and 2 hours after feeding decreased in kochia containing diets compared to control diet. Despite the increase in crude protein digestibility in diets containing 20 and 30% kochia seed, the average ammonia nitrogen concentration in these treatments was lower compared to the control treatment. This finding can be the result of higher use of ammonia nitrogen in these treatments. The higher digestibility of dry matter and the tendency to increase the digestibility of organic matter by increasing level of kochia seed in the diet could support this idea.

Conclusion: The results of this study showed that using kochia seed in the diet up to 30% of ration dry matter could support optimal rumen fermentation. Due to the low water requirement and the ability of kochia plant to grow in saline soils on the one hand and the desirable energy and protein content of kochia seeds on the other hand, this grain can be used as a suitable option to meet part of the feed needed for ruminants in saline areas. Limited information is available and more in vivo research is needed in this area.

Keywords: Fermentation Characteristics, Halophytes, High concentrate diet, Kochia seed, Nutritional value.

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
Homepage: https://ijasr.um.ac.ir/

مقاله پژوهشی

بررسی ارزش تغذیه‌ای دانه گیاه شورزیست کوشیا (*Bassia scoparia*) به‌روش برون تنی جهت استفاده در تغذیه نشخوارکنندگان در مناطق خشک و نیمه خشک

محسن ساری[1*]، یاسر منجزی[2]، جعفر نباتی[3]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۲/۲۵
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۰/۰۶/۰۲
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۸/۲۲

ساری، م.، منجزی، ی.، و نباتی، ج. (۱۴۰۱). بررسی ارزش تغذیه‌ای دانه گیاه شورزیست کوشیا (*Bassia scoparia*) به‌روش برون تنی جهت استفاده در تغذیه نشخوارکنندگان در مناطق خشک و نیمه خشک. *پژوهش‌های علوم دامی ایران*، ۱۴(۳)، ۳۵۷-۳۴۵.

چکیده

تأثیر استفاده از دانه کوشیا بر تخمیر شکمبه‌ای با استفاده از جیره‌های آزمایشی شامل شاهد (بدون دانه کوشیا) و سه جیره حاوی سطوح ۱۰، ۲۰ و ۳۰ درصد دانه کوشیا در ماده خشک جیره، مورد بررسی قرار گرفت. از روش‌های تولید گاز و کشت پیوسته دوجریانه استفاده شد. هشت فرمانتور کشت پیوسته دوجریانه (۱۳۲۰ میلی‌لیتر) در دو دوره مورد استفاده قرار گرفت. با استفاده از دانه کوشیا در جیره، پتانسیل تولید گاز و حجم گاز تولیدی افزایش یافت. انرژی قابل متابولیسم، قابلیت هضم ماده آلی و اسیدهای چرب کوتاه زنجیر با افزایش سطح دانه کوشیا به‌صورت خطی افزایش یافت. با افزایش سطح دانه کوشیا، قابلیت هضم ماده خشک به‌صورت خطی افزایش یافت. قابلیت هضم ماده آلی در جیره‌های حاوی دانه کوشیا تمایل به افزایش داشت. قابلیت هضم پروتئین خام در تیمارهای حاوی ۲۰ و ۳۰ درصد دانه کوشیا در مقایسه با دیگر تیمارها بالاتر بود. غلظت کل اسیدهای چرب فرار با افزایش سطح دانه کوشیا در جیره، به‌صورت خطی افزایش یافت. غلظت نیتروژن آمونیاکی در قبل از خوراک‌دهی، دو ساعت پس از خوراک‌دهی و میانگین غلظت نیتروژن آمونیاکی در زمان‌های مختلف با افزایش دانه کوشیا کاهش یافت. نتایج این آزمایش نشان داد که استفاده از دانه کوشیا تا ۳۰ درصد ماده خشک جیره می‌تواند با تخمیر طبیعی در شکمبه، مورد استفاده حیوان میزبان قرار گیرد و به‌دلیل نیاز آبی کم و قابلیت کشت گیاه در خاک‌های شور، می‌تواند گزینه‌ای مناسب جهت تأمین بخشی از خوراک دام‌های نشخوارکننده در این مناطق باشد. برای جمع‌بندی، مطالعات بیشتری در دام زنده موردنیاز می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: ارزش تغذیه‌ای، جیره‌های پر کنسانتره، خصوصیات تخمیر، دانه کوشیا، گیاهان شورزیست.

مقدمه

حدود ۳۳ درصد از زمین‌های تحت آبیاری در جهان و ۵۰ درصد از زمین‌های تحت آبیاری در ایران با مشکل شوری مواجه هستند (Qureshi et al., 2007). این در حالی است که فراهم کردن شرایط برای جلوگیری از گسترش خاک‌های شور و یا اصلاح آن‌ها به‌دلیل هزینه‌های قابل‌توجه، دشوار و گاه غیرممکن است (Basra and Basra, 1997). در مناطق خشک و نیمه خشک عمده‌ترین محدودیت کشاورزان، کمبود باران و منابع آب شیرین است و در بسیاری از این مناطق با افزایش استفاده از آب‌های نامتعارف و شور، مشکل شوری خاک تشدید شده و چالش‌های جدی برای تولید محصولات زراعی و دامی ایجاد شده است. یکی از پایدارترین روش‌های حفاظت از زیست‌بوم‌های خشک، نیمه بیابانی و بیابانی، استفاده از گیاهان شورزیست برای تغذیه دام‌های اهلی در جهت تولید

۱- دانشیار، گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، اهواز، ایران.
۲- دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان. ملاثانی، اهواز، ایران.
۳- استادیار گروه بقولات، پژوهشکده علوم گیاهی، دانشگاه فردوسی مشهد، ایران.
(*- نویسنده مسئول: (Email: m.sari@asnrukh.ac.ir
DOI: 10.22067/ijasr.2021.70411.1025

غذا برای ساکنین این مناطق است (Kafi et al., 201015. https://doi.org/10.1016/j.agwat.2009.08.022). این گیاهان در خشک‌سالی‌های طولانی‌مدت، نقش خوراک مکمل را در تغذیه دام بازی می‌کنند و به‌دلیل منطبق بودن بر زیست‌بوم خشک و نیمه‌خشک، می‌توانند به‌صورت پایدار، در تأمین خوراک دام در این مناطق سهیم باشند (Rezvani Moghaddam et al., 2004). کوشیا (*Bassia scoparia*) گیاهی از خانواده کنوپودیاسه است که با داشتن ۱۰ تا ۱۵ گونه، ازجمله مهم‌ترین گیاهان شورزیست ایران به‌شمار می‌آید (Rankins et al., 1991a). این گیاه به‌عنوان یک محصول علوفه‌ای در مناطق خشک و نیمه خشک و دارای چندین ویژگی قابل توجه از جمله تحمل به خشکی و شوری، عملکرد رویشی بالا و تولید دانه‌ای با محتوای قابل‌توجه پروتئین و کربوهیدرات است (Friesen et al., 2009). دامنه گسترش این گیاه وسیع است و سازگاری بالایی با دماها و اقلیم‌های متفاوت دارد (Jami Al Ahmadi and Kafi, 2008). در آزمایشی افزایش شوری خاک تا ۲۰ دسی‌زیمنس بر متر پس از ۱۱ هفته آبیاری با آب شور، هیچ تأثیر منفی بر رشد این گیاه ایجاد نکرد (Danesh Mesgaran et al., 2008). علوفه کوشیا دارای ترکیبات ضد تغذیه‌ای مانند نیترات، اگزالات، ساپونین و آلکالوئیدها نیز می‌باشد (Dickie and Galitzer and Oehme, 1978James1983,) و استفاده از آن به‌عنوان تنها منبع علوفه‌ای در جیره نشخوارکنندگان می‌تواند موجب کاهش رشد، آسیب‌های کبدی، تغییرات متابولیکی و هورمونی در خون شود (Qureshi et al, 2007; Rankins et al.,1991b; Thilsted and Hibbs, 1989; Kirkpatrick et al, 1999).

آن‌چه در مورد گیاه کوشیا جالب توجه است، قابلیت بالای آن برای تولید دانه در هکتار می‌باشد. متوسط عملکرد دانه کوشیا از سه توده بیرجند، بروجرد و سبزوار ۲۱۴۷ کیلوگرم در هکتار گزارش شده است (Nabati et al., 2011). از سوی دیگر، محتوای پروتئین دانه حدود ۲۹ درصد بوده است (Coxworth et al., 1969). ترکیب اسیدهای چرب غیراشباع حدود پنج درصد کل اسیدهای چرب دانه کوشیا را تشکیل می‌دهد (Whitney et al., 2004). محتوای بالای پروتئینی دانه کوشیا باعث شده است تا در تغذیه طیور نیز امکان استفاده داشته باشد (Friesen et al., 2009). با این حال، در نشخوارکنندگان، قابلیت این گیاه تنها برای استفاده به‌عنوان منبع علوفه‌ای جیره مورد توجه قرار گرفته (Danesh Mesgaran and Stern, 2005; Jami Al Ahmadi and Kafi, 2008; Rezvani Moghaddam and Koocheki, 2004; Riasi et al., 2012) و در مورد تخمیر شکمبه‌ای دانه کوشیا اطلاعاتی در دست نیست. هدف از انجام این آزمایش، بررسی ارزش تغذیه‌ای و تخمیر شکمبه‌ای دانه کوشیا با استفاده از تولید گاز و کشت پیوسته دوجریانه می‌باشد.

مواد و روش‌ها

در این آزمایش، از چهار جیره آزمایشی حاوی سطوح صفر (شاهد)، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ درصد دانه کوشیا در ماده خشک جیره استفاده شد. اجزای جیره‌ها و ترکیب شیمیایی جیره‌ها و دانه کوشیا در جدول ۱ آمده است. دانه کوشیا از مزرعه آموزشی تحقیقاتی دانشگاه فردوسی مشهد واقع در استان خراسان رضوی (مشهد) تهیه شد.

آزمایش تولید گاز

مایع شکمبه از کل محتویات شکمبه سه رأس گاو نر هلشتاین در کشتارگاهی واقع در شهر ملاثانی (خوزستان، شهرستان باوی) جمع‌آوری شد. محتویات شکمبه به‌وسیله چهار لایه پارچه متقال صاف شده و سپس درون بطری در داخل فلاکس عایق‌دار آب گرم (۳۹ °C) قرار داده شد و بلافاصله به آزمایشگاه انتقال یافت. جهت اطمینان از شرایط بی‌هوازی مایع شکمبه صاف شده گاز دی‌اکسید کربن به آن تزریق می‌شد و قبل از استفاده جهت انکوباسیون در حمام آب گرم (۳۹ °C) قرار داشت.

آزمایش تولید گاز با استفاده از روش منک و استینگس (۱۹۸۸) انجام شد (Menke and Steingass, 1988). بدین منظور، به ویال‌های شیشه‌ای ۱۰۰ میلی‌لیتری که حاوی ۳۰۰ میلی‌گرم نمونه آسیاب شده با غربال یک میلی‌متری بود، ۲۰ میلی‌لیتر بزاق مصنوعی و ۱۰ میلی‌لیتر مایع شکمبه اضافه شد و از دی‌اکسید کربن برای حداقل‌سازی ورود اکسیژن استفاده شد. تعداد پنج تکرار به‌ازای هر تیمار (جیره آزمایشی) مورد استفاده قرار گرفت. روزانه در دو نوبت ویال‌های آزمایشی تکان داده شد. میزان گاز تولید شده در زمان‌های ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۲، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت پس از شروع انکوباسیون، به‌وسیله دستگاه فشارسنج دیجیتال ثبت شد. داده‌های گاز تولیدی با استفاده از مدل نمایی ارسکوف و مکدونالد (۱۹۷۹) تجزیه و محاسبه شد (Ørskov and McDonald, 1979).

معادله (۱)
$$P= b\ (1 - e^{-ct})$$

در این معادله، P: پتانسیل تولید گاز، b: تولید گاز از بخش قابل تخمیر (میلی‌لیتر)، c: نرخ تولید گاز (میلی‌لیتر بر ساعت)، t: زمان و e: عدد نپری می‌باشد.

انرژی قابل متابولیسم (مگاژول در کیلوگرم ماده خشک) و قابلیت هضم ماده آلی (درصد) با استفاده از معادله منک و همکاران (Menke et al., 1979) محاسبه شد.

معادله (۲)

$$ME\ (MJ/Kg\ DM) = 2.2 + 0.136\ GP + 0.057\ CP + 0.0029\ CP^2$$

$$IVOMD\ (\%) = 14.88 + 0.889\ GP + 0.45\ CP + 0.0651\ XA$$

در این معادله، DM: ماده خشک، CP: درصد پروتئین خام، XA:

درصد خاکستر و GP: میلی‌لیتر گاز خالص تولیدی از ۳۰۰ میلی‌گرم نمونه خشک پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون.

پارتیشینگ فاکتور پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون (PF_{24}؛ مقیاسی از بازده تخمیر) به‌صورت نسبت ماده تجزیه‌شده واقعی (TDS) به حجم گاز (میلی‌لیتر) تولید شده پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون (یعنی ماده آلی تجزیه‌شده واقعی/کل تولید گاز (GP_{24})) محاسبه شد (Blummel et al., 1997).

جدول ۱- اجزای خوراک و ترکیب شیمیایی جیره‌های آزمایشی (درصد از ماده خشک)

Table 1- Ingredients and chemical composition of the experimental diets (% of DM)

اقلام Items	درصد دانه کوشیا در ماده خشک جیره % of kochia seed in DM of diet				دانه کوشیا Kochia seed
	0	10	20	30	
یونجه Alfalfa	15	15	15	15	-
دانه ذرت Corn grain	22	22	22	22	-
دانه جو Barley grain	22	22	22	22	-
دانه کوشیا آسیاب شده Kochia seed	0	10	20	30	-
کنجاله سویا Soybean meal	15	12	9	6	-
سبوس گندم Wheat bran	25	18	11	4	-
کربنات کلسیم Calcium carbonate	0.3	0.3	0.3	0.3	-
مکمل ویتامین و مواد معدنی[1] Vitamin–mineral premix	0.4	0.4	0.4	0.4	-
نمک Salt	0.3	0.3	0.3	0.3	-
جمع Sum	100	100	100	100	-
ترکیب شیمیایی اندازه‌گیری شده (درصد) Measured chemical composition (%)					
پروتئین خام Crude protein	17.9	17.9	17.9	17.9	25.0
عصاره اتری Ether extract	3.0	3.8	4.5	5.3	11.0
ماده آلی Organic matter	87.5	88.2	88.2	88.5	95.8
الیاف نامحلول در شوینده خنثی NDF	27.2	28.9	29.4	31.1	50.3
الیاف نامحلول در شوینده اسیدی ADF	13.8	16.2	18.0	19.7	40.1
کربوهیدرات‌های غیر الیافی[2] NFC	49.0	46.9	44.8	42.7	9.2

[1] هر کیلوگرم مکمل حاوی ۶۰۰ هزار واحد بین‌المللی ویتامین A، ۲۰۰ هزار واحد بین‌المللی ویتامین D، ۲ هزار واحد بین‌المللی و یتامین E، ۲۵۰۰ میلی‌گرم آنتی‌اکسیدان، ۱۹۵ گرم کلسیم، ۸۰ گرم فسفر، ۲۱۰۰۰ میلی‌گرم منیزیم، ۲۲۰۰ میلی‌گرم منگنز، ۳۰۰۰ میلی‌گرم آهن، ۳۰۰ میلی‌گرم مس، ۳۰۰ میلی‌گرم روی، ۱۰۰ میلی‌گرم کبالت، ۱۲ میلی‌گرم ید و ۱/۱ میلی‌گرم سلنیوم.

[1] Contained per kilogram of supplement: 600,000 IU of vitamin A, 200,000 IU of vitamin D, 2000 IU of vitamin E, 2500 mg of antioxidant, 195 g of Ca, 80 g of P, 21000 mg of Mg, 2200 mg of Mn, 3000 mg of Fe, 300 mg of Cu, 300 mg of Zn, 100 mg of Co, 12 mg of I, and 1.1 mg of Se.

[2] NFC = 100 − (CP + EE + Ash + NDF)

تولید پروتئین میکروبی (MP) با استفاده از معادله ۳ زیر محاسبه شد (Blummel et al., 1997):

معادله (۳)

MP (mg / g DM) = mgTDS-(ml gas × 2.2mg / ml)

که در این معادله، ۲/۲: عامل استوکیومتری برحسب میلی‌گرم کربن، هیدروژن و اکسیژن موردنیاز برای ساخت اسیدهای چرب کوتاه زنجیر (SCFA) همراه با تولید یک میلی‌لیتر گاز است (Blummel et al., 1997).

اسیدهای چرب کوتاه زنجیر با استفاده از معادله گتاچیو و همکاران (۲۰۰۰) به‌صورت زیر محاسبه شد (Getachew et al., 2000):

معادله (۴)

SCFA (mmol/300 mg DM) = 0.0222 GP-0.00425

که در این معادله، GP: گاز خالص تولیدی پس از ۲۴ ساعت (میلی‌لیتر/۳۰۰ میلی‌گرم ماده خشک) است.

نتایج در قالب طرح کاملاً تصادفی با استفاده از رویه GLM نرم‌افزار آماری SAS 9.2 (۲۰۰۸) آنالیز شدند. اختلاف تیمارها در سطح احتمال پنج درصد با استفاده از روش دانکن مورد بررسی قرار گرفت (SAS, 2008).

آزمایش کشت پیوسته دو جریانه

این آزمایش در آزمایشگاه کشت پیوسته دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان صورت پذیرفت. هشت فرمانتور کشت پیوسته دو جریانه با حجم ۱۳۲۰ میلی‌لیتر در دو دوره ۱۰ روزه (هفت روز عادت‌پذیری و سه روز نمونه‌گیری) مورد استفاده قرار گرفت. فرمانتورها با مایع شکمبه به‌دست آمده به روشی که شرح آن در بخش تولید گاز آمده است، تلقیح شدند. دما ۳۸/۵ درجه سانتی‌گراد و نرخ رقت فاز مایع (۱۰ درصد بر ساعت) و فاز جامد (پنج درصد بر ساعت) ثابت نگه داشته شد. شرایط بی‌هوازی با تزریق مداوم نیتروژن با سرعت ۴۰ میلی‌لیتر بر دقیقه حفظ شد. بزاق مصنوعی به‌طور مداوم به فلاکس‌های تخمیر تزریق شده و برای شبیه‌سازی باز چرخ نیتروژن ۰/۴ گرم بر لیتر اوره به آن افزوده شد (Van Soest, 1994). فرمانتورها روزانه با ۹۷ گرم ماده خشک در سه وعده در ساعت‌های ۸ ، ۱۶ و ۲۴ تغذیه شدند. کنترل pH با تزریق اسیدکلریدریک یک مولار یا سود پنج مولار (Hoover and Stokes, 1991) توسط pH متر (مدل ۸۲۷، شرکت Metrohm کشور سوئیس) صورت گرفت.

طی روزهای نمونه‌گیری (سه روز آخر هر دوره) مخازن جمع‌آوری خروجی‌های فلاکس‌های تخمیر[1] (فاز جامد و مایع) با قرار دادن در آب سرد با دمای چهار درجه سانتی‌گراد خنک نگه‌داشته شدند تا از فعالیت میکروبی ممانعت به عمل آید. خروجی‌های فاز جامد و مایع با یکدیگر مخلوط شده و پس از هم زده شدن به‌مدت یک دقیقه با استفاده از مخلوط‌کن، نمونه‌ای ۵۰۰ میلی‌لیتری از کل مخلوط گرفته شد. در انتهای هر دوره نمونه‌های گرفته شده طی سه روز گذشته، یکی شده و پس از مخلوط کردن به‌مدت دو دقیقه، نمونه‌هایی برای اندازه‌گیری کل نیتروژن و نیتروژن آمونیاکی گرفته شد. مابقی نمونه خشک شده و برای ماده خشک، خاکستر، NDF و ADF آنالیز شدند (۳۶).

تجزیه شیمیایی ماده خشک خروجی‌های فلاکس‌های تخمیر با خشک کردن سه تکرار ۳۰۰ میلی‌لیتری از آن در ۶۵ درجه سانتی‌گراد صورت گرفت. در هر دوره آزمایشی به‌منظور برآورد تغییرات نیتروژن آمونیاکی نمونه‌گیری تا هشت ساعت پس از ورود خوراک‌دهی به فرمانتورها انجام شد. برای تعیین نیتروژن کل از روش کجلدال استفاده شد (AOAC., 1990). غلظت نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه با استفاده از دستگاه اسپکتوفوتومتر (Biochrom مدل Libra S22 ساخت کشور انگلیس) تعیین شد (Broderik and Kang, 1980).

داده‌ها در قالب طرح بلوک کاملاً تصادفی با استفاده از رویه GLM نرم‌افزار آماری SAS (SAS, 2008) آنالیز شدند. تفاوت در تیمارها در سطح احتمال پنج درصد با استفاده از آزمون مقایسات چندگانه توکی (Tukey, 1953) برای قابلیت هضم و دانکن برای نیتروژن آمونیاکی مورد بررسی قرار گرفتند. مدل آماری مورد استفاده به‌صورت $Yij = \mu + Bi + Cj + eij$ بود که در این مدل، Yij: متغیر وابسته، μ: میانگین، Bi: اثر دوره به‌عنوان بلوک، Cj: اثر تیمار و eij: خطای باقیمانده است.

نتایج و بحث

تولید گاز

پتانسیل و نرخ تولید گاز در شرایط استفاده از سطوح مختلف دانه کوشیا در جیره با ۸۵ درصد مواد متراکم طی ۹۶ ساعت انکوباسیون در جدول ۲ و نمودار ۱ آورده شده‌اند. پتانسیل تولید گاز در جیره شاهد نسبت به جیره‌های حاوی دانه کوشیا کمتر بود ($P\leq$۰/۰۵) و بین جیره‌های حاوی دانه کوشیا تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. نرخ تولید گاز جیره‌های آزمایشی تفاوت معنی‌داری نداشت. حجم گاز تجمعی در زمان‌های ۷۲ و ۹۶ ساعت انکوباسیون به‌طور معنی‌داری در جیره‌های حاوی دانه کوشیا در مقایسه با شاهد بالاتر بود. جیره‌های حاوی دانه کوشیا، انرژی قابل متابولیسم (P=۰/۰۰۸) و قابلیت هضم ماده آلی (P=۰/۰۰۴) بالاتری در مقایسه با جیره شاهد داشتند. با افزایش دانه کوشیا در جیره، غلظت اسیدهای چرب کوتاه زنجیر به‌صورت خطی افزایش یافت (P=۰/۰۰۱).

1- Effluent

در جیره‌های مورد استفاده در مطالعه حاضر، کوشیا با داشتن ۲۵ درصد پروتئین خام و ۵۰/۳ درصد NDF، جایگزین بخشی از کنجاله سویا و بخشی از سبوس جیره شد تا جیره‌ها به لحاظ پروتئین خام با یکدیگر مشابه باشند و نیز اختلاف در محتوای NDF جیره‌ها، به حداقل برسد. بالا بودن غیر معمول مقدار ADF در دانه کوشیا (۴۰ درصد ماده خشک) در مقایسه با دیگر اقلام موجود در جیره ازجمله سبوس (۱۵/۴ درصد ماده خشک)، افزایش در محتوای ADF جیره‌های حاوی دانه کوشیا را در پی داشت. بر اساس بررسی‌های صورت گرفته، مطالعه‌ای که تخمیر شکمبه‌ای دانه کوشیا را مورد بررسی قرار داده باشد در دست نیست، در عین حال بالاتر بودن غلظت کل اسیدهای چرب فرار در آزمایش دوم پژوهش حاضر (جدول ۴) با استفاده از کشت پیوسته، از تولید بالاتر گاز و غلظت بالاتر اسیدهای چرب کوتاه زنجیر در آزمایش اول حمایت می‌کند. بالاتر بودن حجم گاز تجمعی در زمان‌های انتهایی انکوباسیون یعنی ۷۲ و ۹۶ ساعت پس از شروع تخمیر نشان می‌دهد که این افزایش به‌دلیل کربوهیدرات‌های محلول در آب یا نشاسته سریع‌تجزیه نبوده و احتمالاً دیواره سلولی قابل تخمیر و کم بودن لیگنین در دانه این تفاوت را موجب شده باشد (He et al., 2020). به‌دلیل عدم اندازه‌گیری لیگنین در آزمایش حاضر، این ساز و کار باید با احتیاط مورد توجه قرار گیرد.

نشان داده شده است که گاز تولید شده در شرایط آزمایشگاهی تا ۴۰ درصد از تخمیر سوبسترای عرضه شده از خوراک بوده و باقیمانده آن از بافرها تولید می‌شود (Satter and Slyter, 1974). بافر بی‌کربنات، برای هر مول VFA تولید شده، حدود یک مول دی‌اکسید کربن آزاد می‌کند (Makkar, 2005). هی و همکاران (۲۰۲۰) نشان دادند که تولید گاز در سه تا ۲۰ ساعت و ۷۲ ساعت انکوباسیون با محتوای پروتئین سوبسترا رابطه منفی دارد (He et al., 2020). طی تخمیر پروتئین، آمونیاک تولید می‌شود که با H^+ در محلول‌های بافر متصل می‌شود و درنتیجه تعادل در بافر به‌سمت HCO_3 تغییر می‌کند تا CO_2 کمتری آزاد شود (He et al., 2020). اگرچه محتوای پروتئین خام جیره‌های آزمایش حاضر یکسان در نظر گرفته شده، ولی یافته‌های آزمایش دوم مطالعه حاضر (جدول ۵) نشان می‌دهد که میانگین غلظت نیتروژن آمونیاکی در جیره شاهد بالاتر از جیره‌های حاوی دانه کوشیا می‌باشد. آمونیاک تولید شده در محیط تخمیر و نیز شکمبه، قابلیت خنثی‌کنندگی اسیدها را دارد (Tripathi et al., 2007)؛ بنابراین، با افزایش غلظت آمونیاک، اسیدهای بیشتری در محیط تخمیر خنثی‌شده و این موضوع با کاهش دی‌اکسید کربن آزاد شده از خنثی‌سازی بافر، تولید گاز را کاهش می‌دهد (Satter and Slyter, 1974).

جدول ۲- فراسنجه‌های تولید گاز جیره‌های حاوی سطوح مختلف دانه کوشیا

Table 2- Gas production parameters of diets containing different levels of kochia seed

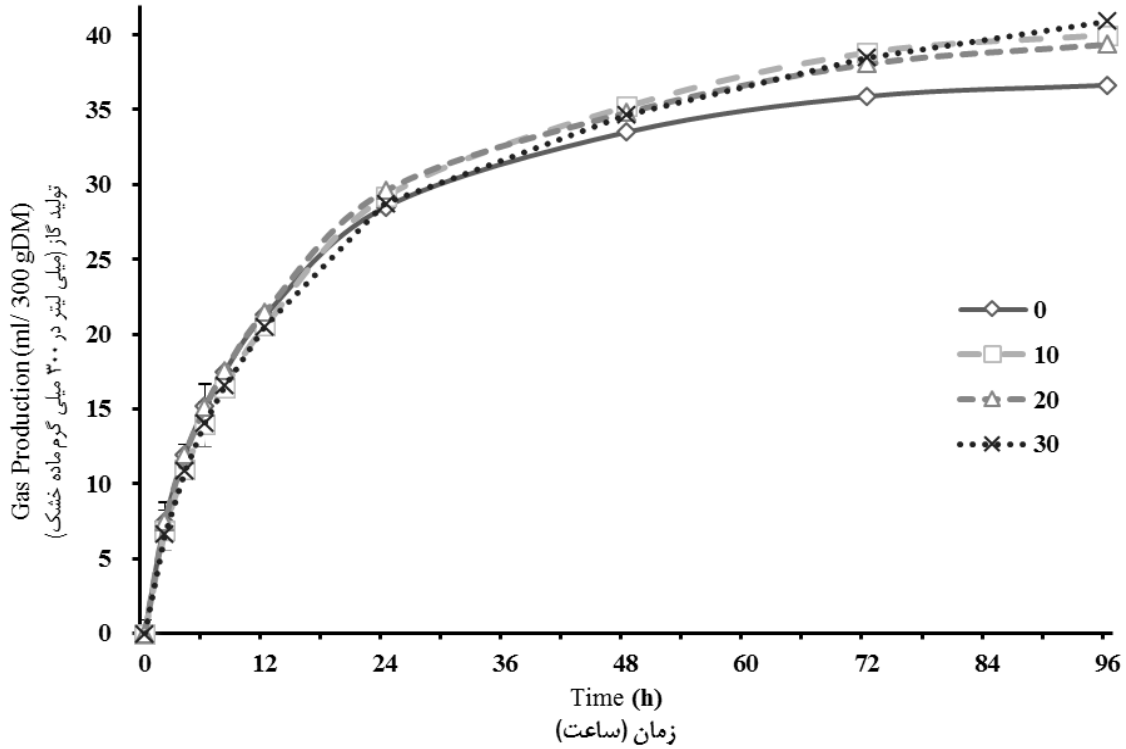
مؤلفه Parameters	درصد دانه کوشیا در ماده خشک جیره % of kochia seed in DM of diet				SEM [1]	*P*-value	خطی Linear	درجه دو Quadratic
	0	10	20	30				
پتانسیل تولید گاز از بخش قابل تخمیر B (ml)	35.01 [b]	38.45 [a]	37.24 [a]	38.57 [a]	0.51	<0.001	0.10	0.05
نرخ تولید گاز C (ml/h)	0.086	0.069	0.080	0.067	0.003	0.20	0.50	0.54
ماده آلی هضم شده واقعی (OMTD)	185.9 [b]	184.1 [b]	191.8 [a]	194.5 [a]	2.50	0.02	0.06	0.30
انرژی قابل متابولیسم ME (MJ/kg DM)	8.23 [b]	8.45 [a]	8.46 [a]	8.62 [a]	0.07	0.008	0.001	0.73
قابلیت هضم ظاهری ماده آلی IVOMD (%)	56.39 [b]	57.85 [a]	57.81 [a]	59.19 [a]	0.44	0.004	0.007	0.92
اسیدهای چرب کوتاه زنجیر SCFA (mmol)	0.82 [b]	0.85 [ab]	0.85 [ab]	0.88 [a]	0.01	0.009	0.001	0.93
فاکتور تفکیک‌کننده PF (mg/ml)	10.15	9.21	9.41	9.17	0.36	0.29	0.91	0.47

[1] SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها،

[a,b] در هر ردیف اعداد دارای حروف غیر مشابه ازنظر آماری اختلاف معنی‌دار دارند (P<۰/۰۵).

[1] SEM: Standaed error of means,

[a,b] Means within a row with different superscripts are significantly different (P < 0.05).



شکل ۱- اثر جیره‌های حاوی سطح مختلف دانه کوشیا بر روند تولید گاز

Figure 1- The effect of diets containing different levels of kochia seed on gas production process

اگرچه وجود برخی ترکیب‌های ضد تغذیه‌ای در علوفه کوشیا نشان داده شده است (Dickie and James, 1983; Galitzer and Oehme, 1978)، امّا گزارشی در مورد ترکیب‌های ضد تغذیه‌ای در دانه کوشیا در دست نیست. افزایش مشاهده شده در پتانسیل تولید گاز و نیز حجم گاز تولیدی با استفاده از دانه کوشیا در جیره نیز از این دیدگاه حمایت می‌کند که این ماده خوراکی حاوی ترکیب‌های با خاصیت ضد میکروبی نبوده یا مقدار این ترکیب‌ها در دانه قابل‌توجه نمی‌باشند.

کشت پیوسته دو جریانه

قابلیت هضم جیره‌های حاوی سطوح مختلف دانه کوشیا در فرمانتورهای کشت پیوسته دو جریانه در جدول ۳ آورده شده است. با افزایش سطح دانه کوشیا در جیره، قابلیت هضم ماده خشک به‌صورت خطی افزایش یافت (P=۰/۰۳) و تمایل به افزایش خطی قابلیت هضم ماده آلی در جیره‌های حاوی دانه کوشیا مشاهده شد (P=۰/۰۸). جیره‌های حاوی ۲۰ و ۳۰ درصد دانه کوشیا، بالاترین قابلیت هضم پروتئین خام را داشتند (P=۰/۰۱). تیمارها اختلاف معنی‌داری در قابلیت هضم NDF و ADF نداشتند.

کمتر بودن خاکستر در جیره‌های حاوی دانه کوشیا به افزایش ماده آلی و محتوای انرژی این جیره‌ها منتهی می‌شود. از سوی دیگر، با افزایش دانه کوشیا در جیره غلظت کربوهیدرات‌های غیر فیبری کاهش و غلظت NDF و ADF افزایش یافته است. این تغییرات در ترکیب شیمیایی جیره‌ها به همراه افزایش مشاهده شده در قابلیت هضم جیره‌ها نشان می‌دهد که احتمالاً میزان لیگنینی شدن دانه کوشیا کم بوده و اجزای دیواره سلولی به‌خوبی تخمیر شده و توسط ریزجانداران شکمبه مورد استفاده قرار گرفته‌اند.

اگرچه مطالعه‌ای که تخمیر شکمبه‌ای و قابلیت هضم دانه کوشیا در نشخوارکنندگان را مورد بررسی قرار داده باشد در دست نیست، ولی در یکی از محدود پژوهش‌های صورت گرفته با استفاده از دانه گیاه شورزیست *Suaeda glauca*، افزایش در قابلیت هضم ماده خشک، ماده آلی و عصاره اتری با استفاده از سطوح افزایشی این ماده خوراکی مشاهده شد (Sun and Zhou, 2010). با توجه به افزایش مصرف پروتئین خام با استفاده از سطوح مختلف دانه *Suaeda glauca*، پژوهشگران افزایش مشاهده شده را به افزایش پروتئین خام مصرفی که محدودکننده تخمیر میکروبی بوده است، نسبت دادند.

جدول ۳- قابلیت هضم جیره‌های آزمایشی حاوی سطوح مختلف دانه کوشیا در شرایط کشت پیوسته دو جریانه

Table 3- Digestibility of experimental diets containing different levels of kochia seed in continuous culture

مؤلفه Parameters	درصد دانه کوشیا در ماده خشک جیره % of kochia seed in DM of diet				SEM [1]	*P*-value	خطی linear	درجه دو Quadratic
	0	10	20	30				
ماده خشک Dry matter	50.6 [b]	53.1 [ab]	54.4 [ab]	55.2 [a]	1.33	0.011	0.03	0.23
ماده آلی Organic matter	46.3 [b]	52.4 [a]	51.0 [ab]	51.4 [ab]	1.70	0.08	0.08	0.10
پروتئین Crude protein	52.3 [b]	51.7 [b]	56.3 [a]	57.4 [a]	1.85	0.01	0.20	0.63
الیاف نامحلول در شوینده خنثی NDF	41.9	40.6	42.3	42.2	1.72	0.87	0.73	0.71
الیاف نامحلول در شوینده اسیدی ADF	33.7	29.8	33.2	31.3	3.02	0.79	0.78	0.76

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها،

[a,b] در هر ردیف اعداد دارای حروف غیر مشابه ازنظر آماری اختلاف معنی‌دار دارند (P<۰/۰۵).

[1] SEM: Standaed error of means,

[a,b] Means within a row with different superscripts are significantly different (P < 0.05).

لازم به ذکر است که در پژوهش مذکور (Sun and Zhou, 2010) غلظت نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه گزارش نشده بود. اگرچه این یافته‌ها هماهنگ با افزایش مشاهده شده در قابلیت هضم پژوهش حاضر می‌باشد، ولی با توجه به مشابه بودن پروتئین خام جیره‌ها در پژوهش حاضر، ساز و کار مورد اشاره، توجیه‌کننده افزایش مشاهده شده در قابلیت هضم نمی‌باشد. در کل به‌دلیل محدودیت اطلاعات موجود، جمع‌بندی در این رابطه مستلزم انجام پژوهش‌های بیشتری است.

با افزایش سطح دانه کوشیا، غلظت کل اسیدهای چرب فرار به‌صورت خطی افزایش یافت (جدول ۴)، (P=۰/۰۱). تمایل به افزایش خطی (P=۰/۰۹) نسبت اسید بوتیریک با افزایش دانه کوشیا در جیره مشاهده شد. تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی‌داری در نسبت استات، پروپیونات و والرات نداشتند. بیشتر بودن غلظت کل اسیدهای چرب فرار در جیره‌های حاوی ۳۰ درصد دانه کوشیا در مقایسه با جیره شاهد می‌تواند نتیجه‌ای از بالاتر بودن قابلیت هضم ماده آلی در این جیره باشد (Yang, 2017) که با افزایش مشاهده شده در قابلیت هضم شکمبه‌ای ماده آلی در آزمایش حاضر تطابق داشت. همچنین بیان شده است که قابلیت بالاتر هضم بخش الیافی در شکمبه یا جایگزینی بخشی از نشاسته با دیواره سلولی قابل‌هضم می‌تواند با افزایش جمعیت باکتری‌های تجزیه‌کننده فیبر، به افزایش غلظت کل اسیدهای چرب فرار منتهی شود (Lechartier and Peyraud, 2011) که این ساز و کار به‌ویژه در جیره‌های با کنسانتره بالا دارای اهمیت است (Iraira et al., 2013).

بوتیرات یک اسید چرب کتوژنیک است که تولید آن تحت تأثیر عوامل مختلفی ازجمله غلظت قندها و الیاف جیره قرار می‌گیرد (Sun et al., 2020). در دیگر مطالعات، افزایش نسبت بوتیرات شکمبه‌ای با افزایش گلوکز، فروکتوز و گالاکتوز در جیره گزارش‌شده است (Nabati et al., 2011). همچنین در پژوهشی نشان داده شده است که تغذیه منابع فیبری با قابلیت هضم بالاتر موجب افزایش نسبت بوتیرات شکمبه‌ای می‌شود (Lopez et al., 2000) که می‌تواند تمایل مشاهده شده به افزایش در غلظت بوتیرات در آزمایش حاضر را توجیه نماید.

الگوی تغییرات نیتروژن آمونیاکی تا هشت ساعت پس از خوراک‌دهی صبح در جدول ۵ آورده شده است. با افزایش سطح دانه کوشیا در جیره، غلظت نیتروژن آمونیاکی در قبل از خوراک‌دهی (P=۰/۰۱) و میانگین غلظت همه زمان‌ها (P=۰/۰۰۵) به‌صورت خطی کاهش یافت (جدول ۵). تیمارهای حاوی دانه کوشیا غلظت نیتروژن آمونیاکی کمتری نسبت به جیره شاهد در ساعت دو پس از خوراک‌دهی داشتند (P=۰/۰۱). اختلاف معنی‌داری در غلظت نیتروژن آمونیاکی در زمان‌های چهار، شش و هشت ساعت پس از خوراک‌دهی بین جیره‌های آزمایشی، مشاهده نشد. حداقل غلظت نیتروژن آمونیاکی که برای دستیابی به حداکثر رشد میکروبی در شرایط آزمایشگاهی پیشنهاد شده است پنج میلی‌گرم در دسی‌لیتر می‌باشد (Salehi et al., 2009) که در آزمایش حاضر در همه زمان‌ها و همه تیمارها، غلظت نیتروژن آمونیاکی بالاتر از حداقل مورد اشاره بود؛ بنابراین، این عامل محدودکننده رشد ریزجانداران نمی‌باشد.

جدول ٤- تأثیر جیره‌های آزمایشی حاوی سطوح مختلف دانه کوشیا بر اسیدهای چرب فرار در کشت پیوسته دو جریانه

Table 4- Effects of experimental diets containing different levels of **k**ochia seed on total and individual volatile fatty acids (VFA) in continuous culture

مؤلفه‌ها Parameters	درصد دانه کوشیا در ماده خشک جیره % of kochia seed in DM of diet				SEM [1]	*P*-value	خطی Linear	درجه دو Quadratic
	0	10	20	30				
کل اسیدهای چرب فرار Total VFA (mM)	96.7 [b]	97.4 [b]	101.3 [ab]	105.0 [a]	1.54	0.05	0.01	0.38
	اسیدهای چرب فرار VFA (mol/100 mol)							
استیک Acetate	56.3	54.1	53.2	53.5	1.39	0.21	0.60	0.56
پروپیونیک Propionate	29.5	32.1	30.9	31.2	0.63	0.014	0.17	0.63
بوتیریک Butyrate	12.7	12.3	14.5	13.9	1.00	0.45	0.09	0.45
والریک Valerate	1.45	1.50	1.40	1.35	0.31	0.98	0.79	0.88
استیک/پروپیونیک Acetate/propionate	1.91	1.69	1.72	1.71	0.075	0.12	0.30	0.75

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها،

[a,b] در هر ردیف اعداد دارای حروف غیر مشابه ازنظر آماری اختلاف معنی‌دار دارند (P<۰/۰۵).

[1] SEM: Standaed error of means,

[a,b] Means within a row with different superscripts are significantly different (P < 0.05).

جدول ٥- تأثیر جیره‌های آزمایشی بر نیتروژن آمونیاکی شکمبه در ساعت‌های مختلف پس از خوراک‌دهی (ساعت‌های ۰، ۲، ۴، ۶ و ۸) در کشت پیوسته دو جریانه

Table 5- Effects of experimental diets containing different levels of kochia seed on ruminal ammonia N concentration in continuous culture

ساعت Hour	درصد دانه کوشیا در ماده خشک جیره % of kochia seed in DM of diet				SEM [1]	*P*-value	خطی Linear	درجه دو Quadratic
	0	**10**	**20**	**30**				
0	8.13 [a]	7.14 [ab]	6.75 [ab]	5.76 [b]	0.61	0.01	0.01	0.99
2	14.5 [a]	12.1 [b]	10.6 [b]	11.5 [b]	0.98	0.01	0.06	0.04
4	17.0	14.6	13.9	12.9	1.28	0.19	0.04	0.60
6	12.9	14.4	11.4	12.1	1.69	0.64	0.49	0.81
8	11.1	10.9	10.1	11.9	1.16	0.34	0.43	0.11
میانگین Average	12.7 [a]	11.8 [ab]	10.6 [b]	10.8 [b]	0.57	0.03	0.005	0.16

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها،

[a,b] در هر ردیف اعداد دارای حروف غیر مشابه ازنظر آماری اختلاف معنی‌دار دارند (P<۰/۰۵).

[1] SEM: Standaed error of means,

[a,b] Means within a row with different superscripts are significantly different (P < 0.05).

مقدار و سرعت آزادسازی نیتروژن غیر پروتئینی و پروتئین قابل تجزیه در شکمبه، عرضه ماده آلی قابل تخمیر و فرآیندهایی مانند دآمیناسیون اسیدهای آمینه، تخمیر میکروبی و جذب آمونیاک از دیواره شکمبه، غلظت آمونیاک را در شکمبه را تحت تأثیر قرار می‌دهند (Oba, 2011) که در مطالعات آزمایشگاهی به‌دلیل فقدان جذب از دیواره شکمبه، آخرین مورد، ازجمله عوامل مؤثر محسوب نمی‌شود. با وجود افزایش قابلیت هضم پروتئین خام در جیره‌های حاوی ۲۰ و ۳۰ درصد کوشیا (جدول ۳)، میانگین غلظت نیتروژن آمونیاکی در این تیمارها کمتر از شاهد بوده است که این یافته می‌تواند نتیجه‌ای از بالاتر بودن استفاده از نیتروژن آمونیاکی در این تیمارها باشد. بالاتر بودن قابلیت هضم ماده خشک و تمایل به افزایش قابلیت هضم ماده آلی با افزایش سطح کوشیا در جیره از این دیدگاه حمایت می‌کند.

نتیجه‌گیری کلی

استفاده از دانه کوشیا در جیره حجم گاز تولیدی در انتهای انکوباسیون را افزایش داد و بهبود پتانسیل تولید گاز را موجب شد. در

آزمایش کشت پیوسته، افزایش قابلیت هضم ماده خشک، ماده آلی و پروتئین خام و نیز افزایش خطی غلظت کل اسیدهای چرب فرار با استفاده از دانه کوشیا در جیره، نشان‌دهنده ارزش تغذیه‌ای این ماده خوراکی برای استفاده در جیره نشخوارکنندگان است. با توجه به اقلیم خشک ایران، قابلیت رشد گیاه کوشیا در زمین‌های با خاک شور و قلیایی و نیز تحمل آن در برابر تنش شوری، به ارزش آن می‌افزاید. با توجه به یافته‌های آزمایش حاضر و محدودیت اطلاعات موجود از یک‌سو و اهمیت استفاده از مواد خوراکی در دسترس در شرایط خشک‌سالی از سوی دیگر، پیشنهاد می‌شود مطالعات بیشتری در خصوص استفاده از دانه کوشیا در جیره نشخوارکنندگان به‌ویژه در شرایط مزرعه‌ای صورت پذیرد.

تشکر و قدردانی

از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان جهت حمایت مالی از این پژوهش تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

References

1. AOAC. (1990). Official Methods of Analysis. 15th ed. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA.
2. Basra, A. S., & Basra, R. K. (1997). Mechanisms of environmental stress resistance in plants. *Harwood Academic Publishers*.
3. Blummel, M., Steingss, H., & Becker, K. (1997). The relationship between in vitro gas production, *in vitro* microbial biomass yield and 15N incorporation and its implications for the prediction of voluntary feed intake of roughages. *British Journal of Nutrition*, *77*, 911–921. https://doi.org/10.1016/S0377-8401(97)81628-8.
4. Broderik, 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. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(80)82888-8.
5. Coxworth, E., Bell, J., & Ashford, R. (1969). Preliminary evaluations of Russian thistle, kochia, and garden atriplex as potential high protein content seed crops for semiarid areas. *Canadian Journal of Plant Science*, *49*, 427-434. https://doi.org/10.4141/cjps69-071.
6. Danesh Mesgaran, M., & Stern, M. D. (2005). Ruminal and post-ruminal protein disappearance of various feeds originating from Iranian plant varieties determined by the *in situ* mobile bag technique and alternative methods. A*nimal Feed Science and Technology*, *118*, 31–46. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2004.10.009.
7. Dickie, C. W., & James, L. F. (1983). *Kochia scoparia* poisoning in cattle. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, *183*, 765-768.
8. Friesen, L. F., Beckie, H. J., Warwick, S. I., & Van Acker, R. C. (2009). The biology of Canadian weeds. 138. *Kochia scoparia* (L.) Schrad. *Canadian Journal of Plant Science*, 89, 141-167. https://doi.org/10.4141/CJPS08057.
9. Galitzer, S. J., & Oehme, F. W. (1978). *Kochia scoparia* (L.) Schrad. toxicity in cattle: A literature review. *Veterinary and Human Toxicology*, *20*, 421-423.
10. Getachew, G., Makkar, H. P., & Becker, K. (2000). Effect of polyethylene glycol on *in vitro* degradability of nitrogen and microbial protein synthesis from tannin-rich browse and herbaceous legumes. *British Journal of Nutrition*, *84*, 73–83. https://doi.org/10.1017/S0007114500001252.
11. He, Y., Cone, J. W., Hendriks, W. H., & Dijkstra, J. (2020). Relationships between chemical composition and *in vitro* gas production parameters of maize leaves and stems. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, *104*, 12–21. https://doi.org/10.1111/jpn.13221.
12. Hoover, W. H., & Stokes, S. R. (1991). Balancing carbohydrates and proteins for optimum rumen microbial yield. *Journal of Dairy Science*, *74*, 3630-3644. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78553-6.
13. Iraira, S. P., Ruiz De La Torre, J. L., Rodríguez-Prado, M., Calsamiglia, S., Manteca, X., & Ferret, A. (2013). Feed intake, ruminal fermentation, and animal behavior of beef heifers fed forage free diets containing nonforage fiber sources. *Journal of Animal Science*, *91*(8), 3827-3835. https://doi.org/10.2527/jas.2012-5803.
14. Jami Al Ahmadi, M., & Kafi, M. (2008). Kochia (*Kochia scoparia*): To be or not to be? In: Crop and Forage Production Using Saline Waters. M. Kafi and M.A. Khan, eds. NAM S & T Centre. Daya Publisher, New Delhi.
15. Kafi, M., Asadi, H., & Ganjeali, A. (2010). Possible utilization of high salinity waters and application of low amounts of water for production of the halophyte *Kochia scoparia* as alternative fodder in saline agroecosystems. *Agricultural Water Management*, *97*, 139-147. https://doi.org/10.1016/j.agwat.2009.08.022.
16. Kirkpatrick, J. G., Helman, R. G., Burrows, G. E., Von Tungeln, D., Lehenbauer, T., & Tyrl, R. J. (1999). Evaluation of hepatic changes and weight gains in sheep grazing *Kochia scoparia*. *Veterinary and Human Toxicology*, *41*, 67-70.
17. Lechartier, C., & Peyraud, J. L. (2011). The effects of starch and rapidly degradable dry matter from concentrate on ruminal digestion in dairy cows fed corn silage-based diets with fixed forage proportion. *Journal of Dairy Science*, *94*(5), 2440-2454. https://doi.org/10.3168/jds.2010-3285.
18. Lopez, S., Dijkstra, J., & France, J. (2000). Prediction of energy supply in ruminants, with emphasis on forages. In:

Forage Evaluation in Ruminant Nutrition. D.I. Given, E. Owen, R.F.E. Axford and H.M. Omed, eds. CABI Publishing. Oxon, UK. pp. 63-94. https://doi.org/10.1079/9780851993447.0063.
19. Makkar, H. P. S. (2005). *In vitro* gas methods for evaluation of feeds containing phytochemicals. *Animal Feed Science and Technology*, *123*, 291–302. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2005.06.003.
20. 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 Agricultural Science*, *92*, 217–222. https://doi.org/10.1017/S0021859600086305.
21. Menke, K.H., & Steingass, H. (1988). Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. *Animal Researsh Development*, *28*, 6-55.
22. Nabati, J., Kafi, M., Nezami, A., Rezvani Moghaddam, P., Masoumi, A., & Zare Mehrjerdi, M. (2011). Investigation of possible production of oil and biomass in biosaline agriculture. *Iranian Journal of Field Crops Research*, *9*(4), 615-622. (In Persian).
23. Oba, M. (2011). Effects of feeding sugars on productivity of lactating dairy cows. *Canadian Journal of Animal Science*, *91*(1), 37-46. https://doi.org/10.4141/CJAS10069.
24. O'Connor, A., McGee, M., Moloney, A., Boland, T., & O'Kiely, P. (2019). Digestion and nitrogen metabolism in beef cattle and *in vitro* rumen fermentation of autumn grass differing in fertilizer nitrogen application rate. *Grass and Forage Science*, *74*(3), 535-547. https://doi.org/10.1111/gfs.12420.
25. Ørskov, E. R., & McDonald, I. (1979). The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *The Journal of Agricultural Science. (Cambridge) 92*: 499–503. https://doi.org/10.1017/S0021859600063048.
26. Qureshi, A. S., Qadir, M., Heydari, N., Turral, H., & Javadi, A. (2007). A review of management strategies for salt-prone land and water resources in Iran. Colombo, Sri Lanka: International Water Management Institute. 30 p. (IWMI Working Paper 125).
27. Rankins, D. L., Smith, G. S., & Hallford, D. (1991b). Serum constituents and metabolic hormones in sheep and cattle fed *Kochia scoparia* hay. *Journal of Animal Science*, *69*, 2941-2946. https://doi.org/10.2527/1991.6972941x.
28. Rankins, D. L., Smith, G. S., & Hallford, D. (1991a). Altered metabolic hormones impaired nitrogen retention and hepatoxicosis in lambs fed *Kochia scoparia* hay. *Journal of Animal Science*, *69*, 2932-2940. https://doi.org/10.2527/1991.6972932x.
29. Rezvani Moghaddam, P., & Koocheki, A. (2004). History of research on salt-affected lands of Iran, Present status and future prospects: Halophytic ecosystems. 83-95. In: F.K. Taba, S. Ismail and A. Jaradat, eds.
30. Riasi, A., Danesh Mesgaran, M., Stern, M. D., & Ruiz Moreno, M.J. (2012). Effects of two halophytic plants (kochia and atriplex) on digestibility, fermentation and protein synthesis by Ruminal microbes maintained in continuous culture. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, *5*, 642–647. https://doi.org/10.5713/ajas.2011.11256.
31. Riasi, A., Danesh Mesgaran, M., Stern, M. D., & Ruiz Moreno, M. J. (2008). Chemical composition, in situ ruminal degradability and post-ruminal disappearance of dry matter and crude protein from the halophytic plants *Kochia scoparia*, *Atriplex dimorphostegia*, *Suaeda arcuata* and *Gamanthus gamacarpus*. *Animal Feed Science and Technology*, *141*, 209-219. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2007.06.014.
32. Salehi, M., Kafi, M., & Kiani, A. (2009). Growth analysis of kochia (*Kochia scoparia* L. Schrad) irrigated with saline water in summer cropping. *Pakistan Journal of Botany*, *41*, 1861-1870.
33. SAS Institute. (2009). SAS User's Guide: Statistics. SAS Institute Inc., Cary, NC .
34. Satter, L. D., & Slyter, L. L. (1974). Effect of ammonia concentration on rumen microbial protein production *in vitro*. *British Journal of Nutrition*, *32*, 199–208. https://doi.org/10.1079/bjn19740073.
35. Spanghero, M., Nikulina, A., & Mason, F. (2018). Use of an *in vitro* gas production procedure to evaluate rumen slow-release urea products. *Animal Feed Science and Technology*, *237*: 19-26. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2017.12.017.
36. Stern, M. D., & Hoover, H. W. (1990). The dual flow continuous culture system. pp. 17–32 in Proc. Continuous Culture Fermenters: Frustration or Fermentation. Northwest ADSA-ASAS Regional Meeting, Chazy, NY.
37. Sun, H. X., & Zhou, D.W. (2010). Effect of dietary supplement of seed of a halophyte (*Suaeda glauca*) on feed and water intake, diet digestibility, animal performance and serum biochemistry in lambs. *Livestock Science*, *128*(1-3): 133-139. https://doi.org/10.1016/j.livsci.2009.11.012.
38. Sun, X. Q., Wang, Y. P., Wei, R.Y., Chen, B., & Zhao, X. (2020). Effects of replacing starch with three sugars in a concentrate and forage diet on *in vitro* rumen fermentation, fatty acid composition and related bacteria. *Animal Production Science*, *60*(9), 1173-1182. https://doi.org/10.1071/AN18287.
39. Thilsted, J., & Hibbs, C. (1989). Kochia (*Kochia scoparia*) toxicosis in cattle: Results of four experimental grazing trials. *Veterinary and Human Toxicology*, *31*, 34-41.
40. Tripathi, M. K., Chaturvedi, O. H., Karim, S. A., Singh, V. K., & Sisodiya, S. L. (2007). Effect of different levels

of concentrate allowances on rumenfluid pH, nutrient digestion, nitrogen retention andgrowth performance of weaner lambs. *Small Ruminant Research*, *72*, 178–186. https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2006.10.008.

41. Tukey, J. W. (1953). The problem of multiple comparison. Unpublished notes, Princeton Univ., Princeton, NJ. https://www.jstor.org/stable/1558730.
42. Van Soest, P. J. (1994). Nutritional Ecology of the Ruminant. 2 ed. Comstock Publ. Assoc., Ithaca, NY .
43. Whitney, H. M., Sayanova, O., Pickett, J. A., & Napier, J. A. (2004). Isolation and expression pattern of two putative acylACP desaturase cDNAs from Bassia scoparia. *Journal of Experimental Botany*, *55*, 787-789. https://doi.org/10.1093/jxb/erh072.
44. YANG, W. (2017). Factors Affecting Rumen Fermentation Using Batch Culture Technique. Fermentation Processes. *InTech*, 77-92.