

کاشت شد. در زمان کاشت و داشت از کود برای حاصل خیزی خاک استفاده نشد و آبیاری در ۲ نوبت در هفته با روش بارانی انجام شد. در تاریخ ۲۷ تیر ماه سال ۱۳۹۲ در زمان چین دوم و قبل از گل‌دهی، نمونه‌های یونجه در ساعت ۶ و ۱۸ از قسمت‌های مختلف زمین به شکل کاملاً تصادفی و به روش دستی از ارتفاع ۵ سانتی‌متر بالاتر از سطح خاک برداشت شد. نمونه‌های یونجه برداشت شده در صبح یا عصر بلافاصله به آزمایشگاه منتقل و به طور کاملاً تصادفی به ۴ بخش تقریباً مساوی تقسیم شدند.

خشک کردن

نمونه‌های جمع‌آوری شده در صبح یا عصر با روش‌های مختلف خشک شدند. این روش‌ها شامل خشک کردن در آفتاب به مدت ۴۸ ساعت، خشک کردن در سایه به مدت ۴۸ ساعت، خشک کردن در آون در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت و خشک کردن در مایکروویو به مدت ۵ دقیقه با قدرت ۶۰۰ وات بودند. لازم به ذکر است که در زمان خشک کردن در آفتاب و سایه از دماسنج جیوه‌ای در کنار نمونه‌ها استفاده شد که میانگین دمای هوا در محل خشک کردن آن‌ها به ترتیب ۳۵ و ۲۶ درجه سانتی‌گراد بود. تیمارهای آزمایشی این موارد را شامل بود: یونجه برداشت شده در صبح و خشک شده در آفتاب، یونجه برداشت شده در عصر و خشک شده در سایه، یونجه برداشت شده در صبح و خشک شده در سایه، یونجه برداشت شده در صبح و خشک شده در آون، یونجه برداشت شده در عصر و خشک شده در آون، یونجه برداشت شده در صبح و خشک شده در مایکروویو و سپس نمونه‌های یونجه با آسیاب الکتریکی (آسیاب IKA مدل MF 10 Basic, Germany) به قطعات یک میلی‌متری تبدیل و تا زمان آنالیز در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

تجزیه شیمیایی، تعیین بخش‌های نیتروژن و پروتئین غیرقابل تجزیه در شکمبه

از هر نمونه ۳ تکرار برای تعیین ماده خشک، ماده آلی، خاکستر، پروتئین خام، عصاره اتری و الیاف شوینده اسیدی مطابق با روش AOAC (۵)، و الیاف شوینده خنثی^{۱۴} (تصحیح شده برای خاکستر) با روش ون‌سوست و همکاران (۳۹) و بخش‌های مختلف نیتروژن شامل بخش‌های نیتروژن غیرپروتئینی (بخش A)، پروتئین قابل حل در بافر (بخش B₁)، پروتئین قابل حل در شوینده خنثی (بخش B₂)، پروتئین غیرقابل حل در شوینده خنثی (بخش B₃) و پروتئین غیرقابل حل در شوینده اسیدی (بخش C) با روش لیستترا و همکاران (۲۵) اندازه‌گیری شد. محتوای پروتئین غیرقابل تجزیه در شکمبه برای نرخ عبور ۲، ۵ و ۸ درصد در ساعت مواد هضمی از شکمبه با استفاده از معادلات کیرچوف (۲۳) محاسبه شد:

$$\begin{aligned} RUP_2 &= 204.3207 + (1.0753 \times C) + (-0.0014 \times (CP \times (A + B_1))) \\ RUP_3 &= 321.9023 + (0.1676 \times ADF) + (-0.0022 \times (CP \times (A + B_1))) + (0.0001 \times (CP \times C_2)) \\ RUP_8 &= 285.5459 + (1.2143 \times C) + (0.0005 \times (NDF \times B_2)) + (-110.1740 \times ((A + B_1) / NDF)) \end{aligned}$$

ارزیابی قابلیت هضم علوفه‌ها با روش‌های درون‌تنی^۱ در مقایسه با روش‌های برون‌تنی^۲ هزینه‌بر، وقت‌گیر و به جراحی و نگهداری حیوان نیاز دارد. با روش‌های برون‌تنی می‌توان داده‌های مناسب و معتبر با صرف هزینه و زمان کمتر به دست آورد. از روش‌های برون‌تنی مانند روش‌های شیمیایی و بیولوژیکی مختلفی برای ارزیابی ارزش تغذیه مواد خوراکی استفاده می‌شود (۲۷). روش تولید گاز^۳، روشی برون‌تنی ساده، ارزان، دقیق، با قابلیت تکرارپذیری بالا و قابل انجام برای تعداد زیادی نمونه برای اندازه‌گیری نرخ و میزان تخمیر در زمان‌های مختلف انکوباسیون، پیش‌بینی مصرف ماده خشک، قابلیت هضم و انرژی قابل متابولیسم^۴ محسوب می‌شود (۳۸، ۲۷).

سیستم پروتئین و کربوهیدرات خالص کرنل^۵ نیز یک روش برون‌تنی است که سرعت تجزیه مواد غذایی و عبور مواد تجزیه نشده از شکمبه و نیز مقادیر انرژی و پروتئین قابل متابولیسم مورد استفاده برای نشخوارکنندگان را ارزیابی می‌کند. به‌طور کلی، در این مدل پروتئین خام به سه بخش A، B و C که به ترتیب شامل نیتروژن غیرپروتئینی، پروتئین حقیقی و پروتئین غیرقابل دسترس تقسیم‌بندی می‌شود. بخش B نیز با توجه به میزان تجزیه‌پذیری در شکمبه شامل سه بخش B₁ با تجزیه‌پذیری سریع در شکمبه، B₂ تجزیه‌پذیر در شکمبه و بخش‌های پایین‌تر دستگاه گوارش و B₃ غیرقابل تجزیه در شکمبه اما تجزیه‌پذیر در روده کوچک است (۳۸).

با توجه به مطالب ذکر شده نوع روش خشک کردن علوفه با تغییر در ترکیب شیمیایی یا تولید ترکیبات غیرقابل هضم می‌تواند سبب تغییر در پارامترهای شکمبه مانند تولید اسیدهای چرب فرار و تولید پروتئین میکروبی، قابلیت هضم و غیره شود. بنابراین یافتن روشی مناسب برای خشک کردن علوفه یونجه که کمترین اثر منفی بر کیفیت آن داشته باشد ضروری است. در این آزمایش ما فرض کردیم که با افزایش شدت حرارت برای خشک کردن علوفه برداشت شده در عصر، احتمال تشکیل فرآورده‌های واکنش میلارد افزایش می‌یابد که حتی می‌تواند بر بخش‌های مختلف پروتئین و کربوهیدرات و قابلیت هضم علوفه یونجه اثر منفی داشته باشد. بنابراین هدف این پژوهش بررسی اثر روش‌های مختلف خشک کردن یونجه برداشت شده در صبح یا عصر شامل موارد زیر بود: روش خشک کردن در آفتاب، سایه، آون و مایکروویو بر ترکیب شیمیایی، بخش‌های نیتروژن و محتوای پروتئین غیرقابل تجزیه در شکمبه^۶، قابلیت هضم ظاهری ماده خشک^۷ و قابلیت هضم حقیقی ماده آلی^۸، تولید گاز، ضریب تسهیم^۹، تولید توده میکروبی^{۱۰}، بازده تولید توده میکروبی^{۱۱}، فراسطح‌های تخمیر شکمبه (pH و غلظت آمونیاک و اسیدهای چرب فرار^{۱۲}) و انرژی قابل متابولیسم.

مواد و روش‌ها

تهیه یونجه

در تاریخ ۱۰ اردیبهشت ماه سال ۱۳۹۲ مقدار ۴۰۰ گرم بذر یونجه رقم یزدی در زمینی به مساحت ۸۰ متر مربع

1- *In vivo* 2- *In vivo* 3- Gas Production (GP)
4- Metabolizable Energy (ME)
5- Cornell Net Carbohydrate and Protein System (CNCPS)
6- Rumen Undegradable Protein (RUP)
7- Apparent Dry Matter Digestibility (ADMD)
8- True Organic Matter Digestibility (TOMD)
9- Partitioning Factor (PF)
10- Microbial Biomass Production (MBP)
11- Microbial Biomass Production Efficiency (MBPE)
12- Volatile Fatty Acids (VFA)
13- Acid Detergent Fibre (ADF)
14- Neutral Detergent Fibre (NDF)

4- Metabolizable Energy (ME)
6- Rumen Undegradable Protein (RUP)
8- True Organic Matter Digestibility (TOMD)
10- Microbial Biomass Production (MBP)
12- Volatile Fatty Acids (VFA)
14- Neutral Detergent Fibre (NDF)

در معادلات بالا، RUP_2 ، RUP_3 و RUP_8 به ترتیب پروتئین غیرقابل حل در شکمبه در سطح ۲، ۵ و ۸ درصد مواد هضمی در ساعت از شکمبه، A ، B_1 ، B_2 ، B_3 و C بخش‌های مختلف پروتئین، CP ، ADF و NDF به ترتیب محتوای پروتئین خام، الیاف شوینده اسیدی و الیاف شوینده خنثی نمونه‌ها می‌باشند.

قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی با روش هضم دو مرحله‌ای قابلیت هضم ظاهری ماده خشک و حقیقی ماده آلی نمونه‌های یونجه در آزمایشگاه بر اساس روش تیلی و تری (۳۷) و تغییرات اعمال شده از سوی گالییان (۱۵) انجام شد. برای این کار در ۰/۵ ساعت قبل از خوراک نوبت صبح، مایع شکمبه از ۳ رأس کوچ فیستولدار کردی هم سن با متوسط وزن $3 \pm 66/3$ کیلوگرم جمع‌آوری شد. دام‌ها در سطح نگهداری و ۲ نوبت در روز با جیره حاوی ۷۰ درصد علوفه و ۳۰ درصد کنسانتره تغذیه شدند. نمونه‌های مایع شکمبه با چهار لایه پارچه صاف و در شرایط کاملاً بی‌هوازی در درون فلاسک از قبیل گرم شده با آب ۳۹ درجه سانتی‌گراد به آزمایشگاه منتقل شد. مایع شکمبه تا زمان استفاده در حمام آب گرم با دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد نگهداری و به‌طور مداوم به درون آن گاز دی‌اکسید کربن دمیده شد. نیم گرم نمونه از هر تیمار در ۳ تکرار در داخل لوله‌های ۵۰ میلی‌لیتری ریخته شد و مقدار ۲۸ میلی‌لیتر محلول بزاق مصنوعی مک‌دوگال (۲۸) و ۷ میلی‌لیتر مایع شکمبه صاف شده در شرایط کاملاً بی‌هوازی به لوله‌ها اضافه و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد در داخل بن‌ماری انکوباسیون شدند. پس از ۴۸ ساعت، لوله‌ها به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۲۰۰ دور در دقیقه و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شدند. پس از جدا کردن مایع رویی، مقدار ۳۵ میلی‌لیتر محلول پپسین (شرکت سیگما) اسیدی به باقی‌مانده نمونه‌های درون لوله‌ها اضافه شد و انکوباسیون به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد ادامه یافت. پس از پایان انکوباسیون، محتویات لوله‌ها با کاغذ صافی بدون خاکستر صاف شد. باقی‌مانده نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در آن با دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد خشک شدند و وزن آن‌ها پس از قرار گرفتن در دسیکاتور ثبت شد. سپس به منظور بررسی قابلیت هضم حقیقی ماده آلی، خاکستر باقیمانده نمونه‌ها به مدت یک شب در کوره با دمای ۶۰۰ درجه سانتی‌گراد اندازه‌گیری و سپس قابلیت هضم ظاهری ماده خشک و حقیقی ماده آلی محاسبه شد.

تولید گاز، فراسنجه‌های تخمیر شکمبه و انرژی قابل متابولیسم برای بررسی اثر روش خشک کردن بر تولید گاز، فراسنجه‌های تخمیر شکمبه و انرژی قابل متابولیسم از روش ماکار (۲۷) استفاده شد. مایع شکمبه مشابه با مایع استفاده شده در روش هضم دو مرحله‌ای تهیه و در حضور دی‌اکسید کربن در دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد با نسبت ۱ به ۳ با محلول بزاق مصنوعی مخلوط شد. ترکیب محلول بزاق مصنوعی شامل محلول بافر بی‌کربنات، محلول ماکرومینرال، محلول میکرومینرال، رزازورین و محلول احیاکننده بود. در این آزمایش، سه تکرار برای هر تیمار در نظر گرفته شد. همچنین

آزمایش در ۳ روز متوالی تکرار شد (یعنی کلاً برای هر تیمار ۹ تکرار). مقدار ۵۰۰ میلی‌گرم از نمونه‌های یونجه مربوط به هر تیمار در داخل بطری‌های شیشه‌ای ۱۲۰ میلی‌لیتری ریخته شد. سه بطری بدون نمونه یونجه و حاوی مخلوط مایع شکمبه و بزاق مصنوعی یعنی بلانک در نظر گرفته شدند. مقدار ۴۰ میلی‌لیتر از مخلوط تهیه شده به هر بطری شیشه‌ای اضافه شد. بطری‌ها در داخل حمام آب گرم با دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد قرار داشتند و درب آن‌ها با درپوش پلاستیکی و فلزی با استفاده از دستگاه پرس درب ویال محکم بسته شد. سپس بطری‌ها در داخل انکوباتور شیکردار با دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند و حجم گاز تولیدی درون آن‌ها پس از ۲۴ ساعت با استفاده از دستگاه فشارسنج (مدل Testo 512, Germany) ثبت شد. پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون، محتویات بطری‌ها به داخل لوله‌هایی منتقل و با سرعت ۲۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شدند. پس از اندازه‌گیری pH با دستگاه pH متر (مدل WTW 330i/SET)، مایع رویی جدا و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان اندازه‌گیری آمونیاک نگهداری شد. غلظت آمونیاک با استفاده از روش برودریک و کانگ (۱۱) اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری قابلیت هضم ظاهری ماده خشک، محتویات لوله‌های حاوی باقی‌مانده خوراک به درون کیسه‌های پلی‌استر (قطر منافذ ۴۰ میکرومتر) از قبل توزین شده منتقل شدند و در آن با دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت خشک شدند. پس از توزین کیسه‌ها قابلیت هضم ظاهری ماده خشک محاسبه شد. برای اندازه‌گیری قابلیت هضم حقیقی ماده آلی، با فرض این که شوینده خنثی توده میکروبی را به طور کامل خارج می‌کند (۳۸)، کیسه‌های محتوای باقی‌مانده خشک به مدت یک ساعت در محلول شوینده خنثی جوشیده شدند. سپس کیسه‌ها به طور کامل با آب مقطر شسته شدند و در آن با دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت خشک و وزن آن‌ها ثبت شد. باقی‌مانده درون کیسه‌ها با دقت برداشته و خاکستر آن‌ها در کوره الکتریکی با دمای ۶۰۰ درجه سانتی‌گراد اندازه‌گیری شد. سپس ماده آلی تجزیه شده خوراک تعیین و قابلیت هضم حقیقی ماده آلی محاسبه شد. ضریب تسهیم از نسبت ماده آلی تجزیه شده به میلی‌لیتر گاز تولیدی در ۲۴ ساعت انکوباسیون محاسبه شد. تفاوت وزن کیسه قبل و بعد از جوشیدن در شوینده خنثی، توده میکروبی در نظر گرفته شد (۸). بازده تولید توده میکروبی از نسبت تولید توده میکروبی و ماده آلی تجزیه شده به دست آمد (۹). میزان انرژی قابل متابولیسم با استفاده از رابطه زیر برآورد شد (۲۹).

$$= (\text{مگاژول در کیلوگرم ماده خشک}) \text{ انرژی قابل متابولیسم} \\ = 2/2 + 0/136GP + 0/05VCP + 0/029CP^2$$

کل اسیدهای چرب فرار با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد (۷):

$$= (0/0222 \times GP) - 0/0425$$

اسیدهای چرب فرار

که در رابطه‌های بالا، GP حجم گاز تولیدی (میلی‌لیتر) پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون و CP درصد پروتئین خام نمونه‌ها در ماده خشک است.

تجزیه آماری داده‌ها

تجزیه آماری داده‌های مربوط به ترکیب شیمیایی، بخش‌های نیتروژن، پروتئین غیرقابل تجزیه در شکمبه و قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی با روش دو مرحله‌ای بر اساس طرح کاملاً تصادفی و فراسنجه‌های تولید گاز، غلظت آمونیاک، انرژی قابل متابولیسم و کل اسیدهای چرب فرار بر اساس طرح بلوک‌های کامل تصادفی (روزهای تکرار آزمایش بلوک نامیده شده است) با رویه GLM نرم‌افزار آماری SAS (۳۵) انجام شد. میانگین تیمارها در سطح آماری ۵ درصد با هم مقایسه شدند.

نتایج و بحث

ترکیب شیمیایی

یونجه برداشت شده در صبح یا عصر و خشک شده در آفتاب، آن یا مایکروویو در مقایسه با یونجه برداشت شده در صبح یا عصر و خشک شده در سایه درصد ماده خشک بالاتری داشتند ($P < 0.01$). که بیان‌گر اتلاف محتوای آب در اثر حرارت است. دو عامل دما و سرعت خشک کردن در اتلاف محتوای آب علوفه‌ها نقش مهمی دارند (۱۳). بین برداشت صبح و عصر نمونه‌های یونجه تفاوتی از نظر محتوای ماده خشک مشاهده نشد. روش‌های خشک کردن بر درصد پروتئین خام، عصاره اتری، لیاف شوینده خنثی و خاکستر یونجه اثر معنی‌داری نداشتند. مشابه این نتایج، در پژوهش پلتیر و همکاران (۳۲) خشک کردن یونجه در آن یا مایکروویو بر درصد پروتئین خام و لیاف شوینده خنثی اثر معنی‌داری نداشت. در پژوهش هیگینس و اسپونر (۱۹) نیز خشک کردن یونجه در آن، مایکروویو یا به شکل هوا خشک بر محتوای پروتئین خام اثر معنی‌داری نداشت اما محتوای لیاف شوینده خنثی نمونه‌های خشک شده در آن در مقایسه با هوا خشک بالاتر بود. هیچ کدام از روش‌های خشک کردن بر محتوای ماده خشک، خاکستر خام، پروتئین خام و عصاره اتری یونجه برداشت شده در صبح یا عصر اثر معنی‌داری نداشتند. کمترین محتوای کربوهیدرات‌های غیرالیافی در یونجه برداشت شده در صبح و خشک شده در سایه و آن و یونجه برداشت شده در عصر و خشک شده در آن دیده شد ($P = 0.04$). هم‌چنین یونجه برداشت شده در عصر در مقایسه با صبح دارای کربوهیدرات‌های غیرالیافی بیشتری بود. در پژوهش یاری و همکاران (۴۳) بین یونجه برداشت شده در صبح یا عصر تفاوتی از نظر محتوای ماده خشک، خاکستر، پروتئین خام، کربوهیدرات‌های غیرالیافی و عصاره اتری مشاهده نشد. توجه به این نکته ضروری است که لیپیدهای غیراشباع برگ‌های علوفه خشک شده در آفتاب در اثر فرآیندهای اکسیداسیون نوری^۱ و پلیمری شدن به رزین‌ها تبدیل می‌شوند، به طوری که این فرآیندها در طی ذخیره‌سازی در انبار نیز ادامه می‌یابد و سبب کاهش محتوای عصاره اتری علوفه می‌شود (۳۸). در این پژوهش محتوای عصاره اتری

یونجه خشک شده در آفتاب در مقایسه با یونجه خشک شده در سایه، آن و مایکروویو پایین‌تر بود. هرچندکه از نظر آماری معنی‌دار نبود (جدول ۱). افزایش محتوای کربوهیدرات‌های غیرالیافی در یونجه برداشت شده در عصر در مقایسه با صبح را می‌توان به افزایش سنتز قندها در فرآیند فتوسنتز در طول روز ارتباط داد (۳۸). کاهش محتوای کربوهیدرات‌های غیرالیافی در یونجه خشک شده در آن در مقایسه با سایر روش‌ها را می‌توان به استفاده از دمای بالاتر در این روش و افزایش احتمال تشکیل فرآورده‌های واکنش میلارد ارتباط داد (ون سوست، ۱۹۹۴) چراکه آن را می‌توان با افزایش در محتوای بخش C پروتئین (جدول ۲) و افزایش محتوای لیاف شوینده اسیدی (جدول ۱) در این نمونه‌ها توجیه کرد، زیرا افزایش بخش C پروتئین شاخصی از آسیب حرارتی محصول می‌باشد (۳۸). خشک کردن یونجه برداشت شده در صبح یا عصر در آن در مقایسه با دیگر روش‌ها سبب افزایش محتوای لیاف شوینده اسیدی شد ($P < 0.01$). اما در پژوهش پلتیر و همکاران (۳۲) خشک کردن یونجه برداشت شده در صبح یا عصر در آن یا مایکروویو و نیز در پژوهش هیگینس و اسپونر (۱۹) خشک کردن یونجه در آن، مایکروویو یا به شکل هوا خشک بر محتوای لیاف شوینده اسیدی نمونه‌ها اثر معنی‌داری نداشت. افزایش محتوای لیاف شوینده اسیدی یونجه خشک شده در آن می‌تواند به دلیل تشکیل فرآورده‌های واکنش میلارد باشد که در اثر حرارت بالا (۱۳) یا طولانی مدت (۳۲) تشکیل می‌شوند. در این پژوهش بالا بودن نسبی بخش C پروتئین که شاخصی برای تشکیل فرآورده‌های واکنش میلارد در یونجه برداشت شده در صبح یا عصر و خشک شده در آن به شمار می‌رود، بیان‌گر همین مطلب است (جدول ۲). تشکیل فرآورده‌های واکنش میلارد سبب کاهش محتوای قندها و پروتئین حقیقی و افزایش دیواره سلولی به دلیل غیرقابل هضم بودن آن‌ها در شوینده خنثی و اسیدی می‌شود (۱۳). در این پژوهش برای خشک کردن یونجه در آن در مقایسه با دیگر روش‌ها از دمای بالاتر (۵۵ درجه سانتی‌گراد) و در مقایسه با مایکروویو مدت زمان بیشتری (۴۸ ساعت در مقایسه با ۳ دقیقه) استفاده شد. از میان روش‌های خشک کردن علوفه‌ها روشی مناسب‌تر است که باعث حفظ محتوای کربوهیدرات‌های غیرساختمانی و کاهش محتوای کربوهیدرات‌های ساختمانی شود (۳۲). با توجه به نتایج این پژوهش خشک کردن در آن سبب افزایش لیاف شوینده اسیدی یونجه شد. از طرفی پلتیر و همکاران (۳۲) گزارش کردند که احتمالاً خشک کردن یونجه در آن (دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد) سبب تخمین بیشتر از مقدار واقعی لیاف شوینده اسیدی و شوینده خنثی می‌شود که در اندازه‌گیری صحیح بخش‌های مختلف نیتروژن اختلال وارد می‌کند. بین یونجه برداشت شده در صبح یا عصر از نظر محتوای لیاف شوینده اسیدی و شوینده خنثی تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. یاری و همکاران (۴۳) گزارش کردند که محتوای برگ‌های یونجه در مقایسه با ساقه در برداشت عصر در مقایسه با برداشت صبح بیشتر بود که می‌تواند دلیلی برای کاهش عددی لیاف شوینده اسیدی و شوینده خنثی در

یونجه برداشت شده در عصر در این پژوهش باشد زیرا محتوای الیاف شوینده خنثی برگها در مقایسه با ساقه کمتر است (۳۸).

جدول ۱- اثر روش خشک کردن بر ترکیب شیمیایی (درصد از ماده خشک) یونجه برداشت شده در صبح یا عصر

Table 1. Effect of drying method on chemical composition (% of DM) of alfalfa harvested in the morning or in the evening

P-Value	SEM	عصر				صبح				ترکیب شیمیایی
		مایکروویو	آون	سایه	آفتاب	مایکروویو	آون	سایه	آفتاب	
<۰/۰۱	۰/۴۶	۹۵/۰ ^a	۹۶/۵ ^a	۹۲/۵ ^b	۹۵/۵ ^a	۹۵/۵ ^a	۹۶/۵ ^a	۹۱/۵ ^b	۹۵/۵ ^a	ماده خشک
۰/۹۹	۰/۷۷	۱۸/۱	۱۸/۳	۱۸/۲	۱۸/۶	۱۸/۳	۱۸/۲	۱۸/۲	۱۸/۱	پروتئین خام
۰/۸۷	۰/۴۴	۳/۲	۳/۴	۳/۲	۳/۱	۳/۲	۳/۵	۳/۹	۳/۱	عصاره اتری
<۰/۰۱	۰/۵۹	۳۹/۸ ^b	۳۳/۳ ^a	۳۰/۰ ^b	۲۹/۹ ^b	۳۰/۱ ^b	۳۳/۸ ^a	۳۰/۸ ^b	۳۰/۶ ^b	الیاف شوینده اسیدی
۰/۸۸	۱/۲۵	۴۰/۹	۴۱/۹	۴۰/۵	۳۹/۸	۴۱/۰	۴۲/۴	۴۱/۰	۴۰/۶	الیاف شوینده خنثی
۰/۶۲	۰/۰۳	۱۲/۶	۱۲/۱	۱۲/۶	۱۲/۶	۱۲/۰	۱۲/۱	۱۲/۶	۱۲/۶	خاکستر
۰/۰۴	۰/۲۵	۲۵/۳ ^a	۲۴/۳ ^b	۲۵/۵ ^a	۲۵/۹ ^a	۲۵/۵ ^a	۲۳/۸ ^b	۲۴/۳ ^b	۲۵/۶ ^a	کربوهیدرات‌های غیرالیافی ^۲

$$NFC (\%) = 100 - (\%CP + \%NDF + \%EE + \%ash) - 2$$

۱- اشتباه معیار کل میانگین‌ها،

مایکروویو بیشتر بر تشکیل فرآورده‌های واکنش میلارد موثر بودند تا رسوب پروتئین‌ها. همچنین به نظر می‌رسد که حرارت ناشی از روش خشک کردن با تشکیل فرآورده‌های واکنش میلارد سبب افزایش بخش C شده است، به طوری که در روش خشک کردن در سایه (که از حرارت استفاده نشده است) کمترین بخش C مشاهده شد. در بین روش‌های خشک کردن که از حرارت استفاده شد بخش C در یونجه خشک شده در مایکروویو تمایل به کاهش داشت، هرچند که معنی‌دار نبود. دلیل آن را می‌توان به مدت زمان کم حرارت‌دهی با روش مایکروویو ارتباط داد زیرا حرارت‌دهی سریع سبب جلوگیری از تشکیل فرآورده‌های واکنش میلارد می‌شود (۱۳). از طرفی خشک کردن طولانی مدت یونجه در آون سبب افزایش دمای نمونه و اتلاف کربوهیدرات‌های درون سلول می‌شود (۳۲). بنابراین می‌توان گفت که در بین روش‌های خشک کردن که از حرارت استفاده شد، روش مایکروویو به دلیل سرعت بالای خشک کردن، روش مناسب‌تری برای خشک کردن یونجه باشد. با توجه به این پژوهش روش‌های خشک کردن بیشتر بر بخش‌های B₃ و C نیتروژن یونجه تأثیر گذاشتند. به طوری که می‌توان گفت حرارت سبب افزایش بخش C و کاهش بخش B₃ شد. با افزایش بخش B₃ یا C نیتروژن، مقادیر پروتئین غیرقابل تجزیه در شکمبه با نرخ عبور ۲، ۵ و ۸ درصد مواد هضمی از شکمبه در ساعت افزایش یافت. بخش B₃ به کندی از طریق میکروارگانسیم‌های شکمبه تجزیه می‌شود و بخش بیشتر آن در روده هضم می‌شود. اما بخش C در شکمبه یا روده هضم نمی‌شود (۳۸).

بخش‌های نیتروژن و پروتئین غیرقابل تجزیه در شکمبه

بخش‌های A، B₁ و B₂ تحت تأثیر نوع روش خشک کردن قرار نگرفت. خشک کردن یونجه در آفتاب یا آون در مقایسه با مایکروویو یا سایه، سبب کاهش بخش B₃ یونجه برداشت شده در صبح یا عصر شد (P<۰/۰۱). در پژوهش پلتیر و همکاران (۳۲) نیز بخش B₃ یونجه خشک شده در مایکروویو در مقایسه با آون بالاتر بود. کاهش بخش B₃ را می‌توان به افزایش بخش C ارتباط داد. کمترین بخش C مربوط به یونجه برداشت شده در صبح یا عصر و خشک شده در سایه بود (P=۰/۰۳). در پژوهش پلتیر و همکاران (۳۲) بخش C یونجه تحت تأثیر نوع روش خشک کردن قرار نگرفت اما در یونجه خشک شده در آون در مقایسه با مایکروویو تمایل به افزایش داشت. در پژوهش هوف و همکاران (۲۰) بخش C در بوته‌های لگومینه خشک شده در آون (دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد) در مقایسه با بوته لگومینه تازه افزایش یافت. اثر حرارت بر پروتئین خوراک‌ها به دو شکل رسوبی یا تشکیل فرآورده‌های واکنش میلارد می‌باشد. پروتئین رسوبی در شوینده خنثی غیرقابل حل است اما هنوز قابل هضم است. در حالی که فرآورده‌های واکنش میلارد به طور کامل غیرقابل هضم هستند. رسوب پروتئین‌ها سبب کاهش پروتئین خام قابل حل می‌شود (۳۸، ۱۳). بر اساس نتایج این پژوهش بخش‌های B₁ و B₂ تحت تأثیر روش خشک کردن قرار نگرفتند اما محتوای الیاف شوینده اسیدی و بخش C تحت تأثیر قرار گرفتند لذا می‌توان گفت که احتمالاً حرارت ناشی از روش‌های خشک کردن در آفتاب، آون یا

جدول ۲- اثر روش خشک کردن بر بخش‌های نیتروژن و پروتئین غیرقابل تجزیه در شکمبه برای یونجه برداشت شده در صبح یا عصر
Table 2. Effect of drying method on nitrogen fractions and rumen undegradable protein of alfalfa harvested in the morning or in the evening

P-Value	SEM	عصر				صبح			
		مایکروویو	آون	سایه	آفتاب	مایکروویو	آون	سایه	آفتاب
		بخش نیتروژن (درصد از کل نیتروژن)							
۰/۹۸	۱/۴۱	۳۱/۲	۳۱/۲	۳۱/۷	۳۱/۶	۳۱/۴	۳۱/۱	۳۲/۳	۳۲/۷
۰/۹۴	۱/۴۰	۱۸/۸	۱۸/۶	۱۷/۸	۱۷/۸	۱۸/۵	۱۷/۸	۱۷/۵	۱۶/۵
۰/۹۹	۱/۸۵	۳۳/۸	۳۳/۸	۳۳/۱	۳۳/۸	۳۳/۵	۳۳/۶	۳۳/۹	۳۳/۱
<۰/۰۱	۰/۵۲	۶/۹ ^{ad}	۴/۳ ^c	۸/۴ ^a	۵/۷ ^{dc}	۶/۸ ^{ad}	۴/۳ ^c	۸/۳ ^a	۴/۸ ^c
۰/۰۳	۰/۶۳	۱۰/۷ ^{ab}	۱۲/۳ ^b	۸/۹ ^b	۱۱/۱ ^a	۱۰/۹ ^{ab}	۱۲/۳ ^b	۸/۹ ^b	۱۱/۳ ^a
		پروتئین غیرقابل تجزیه در شکمبه (درصد از پروتئین خام)							
۰/۰۳	۰/۷۱	۲۰/۹ ^a	۱۹/۳ ^{ad}	۱۹/۵ ^{ad}	۱۷/۴ ^d	۲۱/۰ ^a	۱۹/۳ ^{ad}	۱۹/۹ ^a	۱۷/۳ ^d
۰/۰۵	۱/۰۷	۳۷/۶ ^a	۳۴/۷ ^{ad}	۳۵/۵ ^{ad}	۳۲/۶ ^d	۳۷/۷ ^a	۳۵/۰ ^{ab}	۳۵/۷ ^{ad}	۳۲/۶ ^d
۰/۰۲	۲/۱۱	۴۵/۶ ^a	۳۸/۰ ^{dc}	۳۹/۹ ^{adc}	۳۷/۳ ^c	۴۵/۳ ^{ad}	۳۹/۰ ^{adc}	۴۰/۴ ^{adc}	۳۵/۳ ^c

۱- اشتباه معیار کل میانگین‌ها، ۲- RUP_۵، RUP_۳، RUP_۸ به ترتیب پروتئین غیرقابل تجزیه در شکمبه در سطوح ۲، ۵ و ۸ درصد عبور مواد هضمی از شکمبه.

(۳۲) خشک کردن یونجه در آون، مایکروویو یا به شکل هوا خشک بر قابلیت هضم ماده خشک نمونه‌ها با روش تبلی و تری (۳۷) اثر معنی‌داری نداشت، با این وجود، ضرایب قابلیت هضم در این پژوهش کمتر از پژوهش هیگینس و اسپونر (۱۹) بود اما با پژوهش پلتیر و همکاران (۳۲) مشابه بود. یاری و همکاران (۴۳) در قابلیت هضم برون‌تنی و شکمبه‌ای ماده خشک و ماده آلی یونجه برداشت شده در صبح یا عصر تفاوت معنی‌داری مشاهده نکردند. اما پارسی و همکاران (۳۰) کاهش قابلیت هضم ماده آلی در علوفه گیاهان خانواده لگومینه خشک شده در آون را در مقایسه با علوفه‌های خشک شده به روش انجمادی گزارش کردند. الیزاده و همکاران (۱۴) افزایش قابلیت هضم ماده خشک علوفه یونجه را به افزایش محتوای پروتئین خام و کاهش محتوای الیاف شوینده خنثی ارتباط دادند. افزایش محتوای الیاف سبب کاهش نرخ و میزان تخمیر و بنابراین کاهش قابلیت هضم ماده آلی و ماده خشک می‌شود (۳). در این پژوهش، روش خشک کردن و زمان چیدن بر محتوای پروتئین خام و الیاف شوینده خنثی نمونه‌های علوفه یونجه اثری نداشتند (جدول ۱) و آن می‌تواند عاملی باشد که در قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی آن‌ها تفاوتی به نظر نیاید.

در بین تیمارهای آزمایشی صرف نظر از زمان برداشت، بیشترین مقادیر پروتئین غیرقابل تجزیه در شکمبه در سطوح ۲، ۵ و ۸ درصد عبور مواد هضمی از شکمبه در یونجه خشک شده در مایکروویو مشاهده شد (به ترتیب P=۰/۰۳، P=۰/۰۵ و P=۰/۰۲). آبدالا و همکاران (۱)، ۲۰ درصد کاهش در بخش‌های A و B_۱ و ۴۷ درصد افزایش در بخش‌های B_۳ و C نیتروژن نمونه‌های علوفه خشک شده در آون (دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد) در مقایسه با نمونه‌های خشک شده با روش انجمادی را گزارش کردند. گرابر (۱۷) و رپتو و همکاران (۳۴) نیز افزایش در بخش‌های B_۳ و C نیتروژن علوفه یونجه خشک شده با حرارت بالاتر را گزارش کردند. پلتیر و همکاران (۳۲) افزایش در محتوای بخش‌های B_۳ و C نیتروژن علوفه یونجه و تیموتی خشک شده در آون و مایکروویو را در مقایسه با علوفه خشک شده به روش انجمادی گزارش کردند. افزایش محتوای پروتئین غیر قابل تجزیه در شکمبه برای نمونه‌های یونجه خشک شده در مایکروویو در این پژوهش را می‌توان به افزایش مجموع بخش‌های B_۳ و C در این نمونه‌ها ارتباط داد (جدول ۲).

نوع روش خشک کردن بر قابلیت هضم ظاهری ماده خشک و حقیقی ماده آلی نمونه‌های یونجه اثر معنی‌داری نداشت. در پژوهش هیگینس و اسپونر (۱۹) و پلتیر و همکاران

جدول ۳- اثر روش خشک کردن بر قابلیت هضم ظاهری ماده خشک و حقیقی ماده آلی (درصد) یونجه برداشت شده در صبح یا عصر با روش دو مرحله‌ای

Table 3. Effect of drying method on apparent dry matter and true organic matter digestibility of alfalfa harvested in the morning or in the evening

P-Value	SEM	عصر				صبح				فراسنجه
		مایکروویو	آون	سایه	آفتاب	مایکروویو	آون	سایه	آفتاب	
۰/۵۶	۱/۶۱	۷۹/۵	۷۷/۷	۸۱/۱	۷۸/۰	۷۹/۰	۷۷/۲	۸۰/۹	۷۷/۵	قابلیت هضم ظاهری ماده خشک
۰/۵۹	۱/۵۱	۷۹/۳	۷۸/۷	۸۰/۴	۷۷/۰	۷۹/۹	۷۷/۶	۷۹/۹	۷۷/۰	قابلیت هضم حقیقی ماده آلی

۱- اشتباه معیار کل میانگین‌ها

تولید گاز، فراسنجه‌های تخمیر شکمبه و انرژی قابل متابولیسم

بیشترین تولید گاز مربوط به یونجه برداشت شده در عصر و خشک شده در سایه یا مایکروویو بوده است ($P < 0/01$). پارسی و همکاران (۳۰) گزارش کردند که با کاهش مقدار فرآورده‌های غیرقابل تجزیه واکنش میلارد یا بخش C خوراک‌ها، میزان تولید گاز افزایش می‌یابد. در آزمایش حاضر بخش C در یونجه برداشت شده در عصر و خشک شده در سایه یا مایکروویو در مقایسه با دیگر تیمارها پایین‌تر بود (جدول ۲) که می‌تواند دلیلی برای میزان بالای تولید گاز باشد. بلومل و اورسکوف (۷) همبستگی بالایی را بین تولید گاز و ماده آلی قابل هضم گزارش کردند که در تطابق با نتایج پژوهش حاضر، یونجه برداشت شده در عصر و خشک شده در سایه یا مایکروویو تولید گاز، قابلیت هضم ظاهری ماده خشک و قابلیت هضم حقیقی ماده آلی بالاتری داشتند (جدول ۴). پایین‌ترین میزان تولید گاز مربوط به یونجه برداشت شده در صبح یا عصر و خشک شده در آن بود که تفاوت آنها تنها با یونجه برداشت شده در عصر و خشک شده در سایه یا مایکروویو معنی‌دار بود. دلیل تولید گاز پایین را می‌توان علاوه بر بالا بودن بخش C به بالا بودن محتوی الیاف شوینده اسیدی یونجه برداشت شده در صبح یا عصر و خشک شده در آن ارتباط داد. عبدالرزاق و همکاران (۲) گزارش کردند که بین تولید گاز و محتوی الیاف شوینده اسیدی یا شوینده خنثی به دلیل کاهش فعالیت میکروبی رابطه منفی وجود دارد. پایین‌ترین مقدار ضریب تسهیم مربوط به یونجه برداشت شده در صبح و خشک شده در آن بود ($P = 0/01$). اما تفاوت بین دیگر تیمارها معنی‌دار نبود. ضریب تسهیم منعکس کننده راندمان تولید پروتئین میکروبی و توده میکروبی است (۲۷). پایین بودن ضریب تسهیم بیان‌گر این است که بخش بیشتری از ماده آلی به‌جای تولید پروتئین میکروبی صرف تولید گاز شده است. پایین بودن تولید توده میکروبی ($P < 0/01$) و بازده تولید توده میکروبی ($P = 0/05$) در یونجه برداشت شده در صبح و خشک شده در آن در مقایسه با دیگر تیمارها بیانگر همین مطلب است. پایین بودن تولید توده میکروبی و بازده تولید توده میکروبی در یونجه برداشت شده در صبح و خشک شده در آن می‌تواند به‌دلیل پایین بودن قابلیت هضم ظاهری ماده خشک یا قابلیت هضم حقیقی ماده آلی باشد. یونجه برداشت شده در صبح یا عصر و خشک شده در سایه و یونجه برداشت شده در عصر و خشک شده در مایکروویو در مقایسه با یونجه برداشت شده در صبح و خشک شده در آن به طور معنی‌داری بازده تولید پروتئین میکروبی بالاتری داشتند ($P = 0/05$). بازده تولید پروتئین میکروبی یونجه برداشت شده در عصر در مقایسه با یونجه برداشت شده در صبح در همه روش‌های خشک کردن بالاتر بود، هرچند این تفاوت از نظر آماری معنی‌دار نبود. شاید بتوان دلیل آن را به روند مشابه بالا بودن قابلیت هضم ظاهری ماده خشک و قابلیت هضم حقیقی ماده آلی (جدول ۴) در یونجه برداشت شده در عصر در مقایسه با یونجه برداشت شده در صبح ارتباط داد. در این آزمایش (جدول ۱) و آزمایش‌های دیگر

(۴۳،۱۲،۱۰) محتوی کربوهیدرات‌های غیرالیافی در نمونه‌های علوفه یونجه برداشت شده در عصر در مقایسه با علوفه یونجه برداشت شده در صبح بیشتر بود. کربوهیدرات‌های غیرالیافی عمل منبع انرژی و اسکلت کربنی برای ساخت پروتئین میکروبی را دارا هستند (۶). بیشترین و کمترین قابلیت هضم ظاهری ماده خشک و قابلیت هضم حقیقی ماده آلی به‌ترتیب مربوط به یونجه برداشت شده در عصر و خشک شده در سایه و یونجه برداشت شده در صبح و خشک شده در آن بود ($P < 0/01$). دلیل آن را می‌توان به پایین و بالا بودن بخش C (جدول ۲) یا الیاف شوینده اسیدی (جدول ۱) به ترتیب در یونجه برداشت شده در عصر و خشک شده در سایه و یونجه برداشت شده در صبح و خشک شده در آن ارتباط داد. ضریب تسهیم با مصرف ماده خشک رابطه مستقیم و با تولید متان در شکمبه رابطه عکس دارد (۹). بنابراین می‌توان پیش‌بینی کرد که یونجه برداشت شده در صبح و خشک شده در آن در مقایسه با دیگر تیمارهای آزمایشی به دلیل پایین بودن ضریب تسهیم و پایین بودن قابلیت هضم ظاهری ماده خشک و قابلیت هضم حقیقی ماده آلی، احتمالاً باعث کاهش قابلیت هضم ماده خشک و افزایش تولید متان در شکمبه حیوان می‌شود. ضرایب قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی با روش تیلی و تری (۳۷) در مقایسه با روش تولید گاز بالاتر بود (جدول ۳ و ۴). روش تیلی و تری (۳۷) به دلیل راحتی روش کار به‌طور وسیعی، برای ارزیابی قابلیت هضم خوراک‌های علوفه‌ای استفاده می‌شود اما عیب آن تخمین بالاتر از میزان واقعی ضرایب قابلیت هضم در مقایسه با روش تولید گاز است (۲۷) که در این پژوهش نیز مشاهده شد اما با این حال روند نتایج دو روش با هم هم‌خوانی دارند، هرچند که نتایج روش تیلی و تری (۳۷) از نظر آماری معنی‌دار نبودند. طولانی بودن زمان تخمیر خوراک در مایع شکمبه در روش تیلی و تری (۳۷) در مقایسه با روش تولید گاز نیز می‌تواند دلیلی برای بالا بودن ضرایب تجزیه‌پذیری با روش تیلی و تری (۳۷) عنوان کرد. pH مایع شکمبه در یونجه برداشت شده در عصر و خشک شده در مایکروویو در مقایسه با آفتاب یا سایه یا یونجه برداشت شده در صبح و خشک شده در مایکروویو به‌طور معنی‌داری، پایین‌تر بود ($P = 0/04$). اما تفاوت بین دیگر تیمارها معنی‌دار نبود. دلیل پایین بودن pH مایع شکمبه را احتمالاً می‌توان به پایین بودن غلظت آمونیاک مایع شکمبه در این تیمارها ارتباط داد. غلظت آمونیاک مایع شکمبه در یونجه برداشت شده در صبح و خشک شده در آفتاب یا سایه یا یونجه برداشت شده در عصر و خشک شده در مایکروویو در مقایسه با دیگر تیمارها به طور معنی‌داری پایین‌تر بود. پایین‌ترین غلظت آمونیاک مربوط به یونجه برداشت شده در صبح و خشک شده در سایه بود ($P < 0/01$) که تفاوت آن تنها با یونجه برداشت شده در صبح و خشک شده در آفتاب معنی‌دار نبود. دلیل پایین بودن غلظت آمونیاک مایع شکمبه را احتمالاً می‌توان به تولید بالای پروتئین میکروبی ارتباط داد (جدول ۴) زیرا می‌تواند بیانگر این باشد که بخشی از آمونیاک مایع شکمبه صرف تولید پروتئین میکروبی شده است (۶). کل اسیدهای چرب فرار مایع

صبح و خشک شده در مایکروویو بالاتر بود ($P < 0.01$). اما تفاوت بین دیگر تیمارها معنی‌دار نبود. میزان انرژی قابل متابولیسم محاسبه شده با روش منک و همکاران (۲۹) با محتوای پروتئین خام و میزان تولید گاز رابطه مستقیم دارد. با توجه به این که محتوای پروتئین خام بین تیمارهای آزمایشی تفاوت معنی‌داری نداشت (جدول ۱) بنابراین می‌توان بالا بودن میزان انرژی قابل متابولیسم در یونجه برداشت شده در عصر و خشک شده در مایکروویو را به بالا بودن میزان تولید گاز (جدول ۴) ارتباط داد.

شکمه در یونجه برداشت شده در صبح یا عصر و خشک شده در آن در مقایسه با یونجه برداشت شده در عصر و خشک شده در مایکروویو پایین‌تر بود ($P < 0.01$). به طور کلی بین میزان تولید گاز و تولید اسیدهای چرب فرار هم‌بستگی بالایی وجود دارد (۸). بنابراین پایین بودن تولید اسیدهای چرب فرار نشان‌دهنده پایین بودن تولید گاز است (جدول ۴). میزان انرژی قابل متابولیسم در یونجه برداشت شده در عصر و خشک شده در مایکروویو در مقایسه با یونجه برداشت شده در صبح یا عصر و خشک شده در آن و یونجه برداشت شده در

جدول ۴- اثر روش‌های خشک کردن بر تولید گاز، فراسنجه‌های تخمیر شکمه و انرژی قابل متابولیسم یونجه برداشت شده در صبح یا عصر
Table 4. Effect of drying method on gas production, ruminal fermentation parameters and metabolizable energy of alfalfa harvested in the morning or in the evening

P-Value	SEM	عصر				صبح			
		مایکروویو	آون	سایه	آفتاب	مایکروویو	آون	سایه	آفتاب
<0.01	۳/۹۹	۱۵۹/۳ ^a	۱۳۸/۸ ^c	۱۵۴/۶ ^{ab}	۱۴۲/۳ ^{bc}	۱۴۲/۹ ^{bc}	۱۴۸/۷ ^{abc}	۱۴۲/۹ ^{bc}	^۱ GP
0.01	0.19	۴/۳ ^a	۴/۱ ^a	۴/۱ ^{ab}	۴/۰ ^{ab}	۴/۵ ^a	۳/۵ ^d	۴/۱ ^{ab}	^۲ PF
<0.01	۷/۹۴	۱۲۲/۹ ^{ab}	۱۱۶/۳ ^d	۱۰۸/۳ ^{bc}	۱۲۲/۹ ^{ab}	۱۱۸/۳ ^d	۸۷/۱ ^c	۱۴۵/۹ ^a	^۳ MBP
0.05	۱/۵۹	۳۸/۸ ^a	۳۵/۶ ^{ab}	۴۰/۱ ^a	۳۷/۸ ^{ab}	۳۷/۲ ^{ab}	۳۳/۱ ^b	۳۹/۳ ^{ab}	^۵ EMBP
<0.01	۲/۴۰	۶۵/۸ ^{ab}	۵۵/۸ ^{bc}	۶۵/۸ ^a	۵۸/۵ ^{bc}	۵۷/۲ ^{bc}	۵۲/۳ ^c	۶۳/۴ ^{ab}	^۶ ADMD
<0.01	۲/۵۵	۶۳/۱ ^{ab}	۵۵/۵ ^{bc}	۶۶/۹ ^a	۵۸/۳ ^{bc}	۵۶/۰ ^{bc}	۵۱/۹ ^c	۶۲/۳ ^{ab}	^۷ TOMD
0.04	0.2	۶/۸۳ ^d	۶/۸۶ ^{cd}	۶/۸۸ ^a	۶/۸۹ ^a	۶/۸۸ ^a	۶/۸۶ ^{ab}	۷/۸۶ ^{ab}	pH
<0.01	0.20	۱۳/۷۷ ^d	۱۴/۴۷ ^a	۱۴/۵۳ ^a	۱۴/۸۴ ^a	۱۴/۶۹ ^a	۱۴/۸۸ ^a	۱۳/۳۱ ^c	^۸ NH ₃
<0.01	0.08	۳/۰۷ ^c	۳/۱۴ ^{bc}	۳/۰۴ ^{ab}	۳/۵۳ ^a	۳/۱۸ ^{bc}	۳/۲۹ ^{abc}	۳/۱۱ ^c	^۹ TVFA
<0.01	0.54	۲۵/۸۱ ^a	۲۳/۰۹ ^c	۲۵/۲۳ ^{ab}	۲۳/۷۸ ^{bc}	۲۳/۶۳ ^{bc}	۲۳/۳۳ ^c	۲۴/۴۰ ^{abc}	^{۱۰} ME

۱- اشتباه معیار کل میانگین‌ها، ۲- تولید گاز (میلی‌لیتر بر گرم ماده آلی)، ۳- ضریب تسهیم، ۴- توده میکروبی (میلی‌گرم)، ۵- بازده تولید توده میکروبی (درصد)، ۶- قابلیت هضم ظاهری ماده خشک (درصد)، ۷- قابلیت هضم حقیقی ماده آلی (درصد)، ۸- آمونیاک (میلی‌مول)، ۹- کل اسیدهای چرب فرار (میلی‌مول)، ۱۰- انرژی قابل متابولیسم (مگاژول در کیلوگرم ماده خشک)

هضم ماده خشک و ماده آلی، در مقایسه با روش‌های خشک کردن در آفتاب یا آون روش مناسب‌تری هستند. به‌طور کلی، بنابر نتایج این پژوهش با توجه به این که بین روش خشک کردن در سایه و مایکروویو تفاوت آماری قابل ملاحظه‌ای مشاهده نشد، به دلیل ملاحظات اقتصادی می‌توان روش خشک کردن در سایه را برای یونجه پیشنهاد کرد.

با توجه به نتایج این پژوهش به نظر می‌رسد که یونجه برداشت شده در عصر در مقایسه با یونجه برداشت شده در صبح صرف نظر از نوع روش خشک کردن باید از کیفیت بهتری برای تغذیه دام برخوردار باشد. از میان روش‌های خشک کردن، روش خشک کردن در سایه یا مایکروویو به دلیل پایین بودن بخش C پروتئین و بالا بودن قابلیت

منابع

1. Abdalla, H.O., D.G. Fox and P.J. Van Soest. 1988. An evaluation of methods for preserving fresh forage samples before fraction determinations. *Journal of Animal Science*, 66: 2646-2649.
2. Abdulrazak, S.A., T. Fujihara, J.K. Ondilek and E.R. Orskov. 2000. Nutritive evaluation of some Acacia tree leaves from Kenya. *Animal Feed Science Technology*, 85: 89-98.
3. Alomar, D., R. Fuchslocher and M. De Pablo. 2003. Effect of preparation method on composition and NIR spectra of forage samples. *Animal Feed Science Technology*, 107: 191-200.
4. Alomar, D., R. Fuchslocher and S. Stockebrand. 1999. Effects of oven- or freeze-drying on chemical composition and NIR spectra of pasture silage. *Animal Feed Science Technology*, 80: 309-319.
5. AOAC. 1990. Official Methods of Analysis. 1, 15th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, D.C., USA.
6. Bach, A., S. Calsamiglia and M.D. Stern. 2005. Nitrogen metabolism in the rumen. *Journal of Dairy Science*, 88: E9-E21.
7. Blummel, M. and E.R. Orskov. 1993. Comparison of gas production and nylon bag degradability of roughages in predicting feed intake in cattle. *Animal Feed Science Technology*, 40: 109-119.
8. Blummel, M., H.P.S. Makkar and K. Becker. 1997a. In vitro gas production: a technique revisited. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 77: 24-34.
9. Blummel, M., R. Mgonezulu, X.B. Chen, H.P.S. Makkar, K. Becker and E.R. Orskov. 1999. The modification of in vitro gas production test to detect roughage related differences in in vivo microbial protein synthesis as estimated by the excretion of purine derivatives. *Journal of Agricultural Science, (Camb.)* 133: 335-340.
10. Brito, F., G.F. Tremblay, A. Bertrand, Y. Castonguay, G. Belanger, R. Michaud, H. Lapierre C. Benchaar, H.V. Petit, D.R. Ouellet and R. Berthiaume. 2008. Alfalfa cut at sundown and harvested as baleage improves milk yield of late-lactation dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 1: 3968-3982.
11. Broderick, G.A. and J.H. Kang. 1980. Automated simultaneous determination of ammonia and total amino acids in ruminal fluid and in vitro media. *Journal of Dairy Science*, 63: 64-75.
12. Burns, J.C., D.S. Fisher and H.F. Mayland. 2007. Diurnal shifts in nutritive value of alfalfa harvested as hay and evaluated by animal intake and digestion. *Crop Science*, 47: 2190-2197.
13. Deinum, B. and A. Maassen. 1994. Effects of drying temperature on chemical composition and in vitro digestibility of forages. *Animal Feed Science Technology*, 46: 75-86.
14. Elizadeh, J.C., N.R. Merchen and D.B. Faulkner. 1999. In situ dry matter and crude protein degradation of fresh forages during the spring growth. *Journal of Dairy Science*, 82: 1978-1990.
15. Galyean, M.L. 1997. Laboratory procedures in animal nutrition research. West Texas A and M University, Division of Agriculture and Texas A and M Research and Extension Center, Amarillo.
16. Getachew, G., M. Blummel, H.P.S. Makkar and K. Becker. 1998. In vitro gas measuring techniques for assessment of nutritional quality of feeds: a review. *Animal Feed Science Technology*, 72: 261-281.
17. Grabber, J.H. 2009. Protein fractions in forage legumes containing protein-binding polyphenols: freeze-drying vs. conservation as hay or silage. *Animal Feed Science Technology*, 151: 324-329.
18. Hanson, A.A., D.K. Barnes and R.R. Hill. 1988. Alfalfa and alfalfa improvement. Agronomy no. 29. The American Society of Agronomy, Madison, WI, USA.
19. Higgins, H. and A.E. Spooner. 1986. Microwave drying of alfalfa compared to field and oven drying: effect on forage quality. *Animal Feed Science Technology*, 16: 1-6.
20. Hofman, M.A.J. 1965. Microwave heating as an energy source for the predrying of herbage samples. *Plant Science*, 23: 145-148.
21. Honson, A.A., D.K. Barnes and R.R. Hill. 1988. Alfalfa and Alfalfa Improvement. Agronomy no. 29. The American Society of Agronomy, Madison, WI, USA.
22. Hove, L., L.R. Ndlovu and S. Sibanda. 2003. The effects of drying temperature on chemical composition and nutritive value of some tropical fodder shrubs. *Agroforestry System*, 59: 231-241.
23. Kirchoff, S. 2007. Kinetik des ruminalen in situ-Nährstoffabbaus von Grünlandaufwuchsen des Alpenraumes unterschiedlicher Vegetationsstadien sowie von Maissilagen und Heu-ein Beitrag zur Weiterentwicklung der Rationsgestaltung für Milchkuhe. Dissertation, Agrar-und Ernährungswiss. Fak. Christian-Albrechts-Universität, Kiel, Germany.
24. Kowsar, R., G.R. Ghorbani, M. Alikhani, M. Khorvash and A. Nikkiah. 2008. Corn silage partially replacing short alfalfa hay to optimize forage use in total mixed rations for lactating cows. *Journal of Dairy Science*, 91: 4755-4764.
25. Licitra, G., T. Hernandez and P.J. Van Soest. 1996. Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds. *Animal Feed Science Technology*, 57: 347-358.
26. Lowman, R.S., M.K. Theodorou and D. Cuddeford. 2002. The effect of sample processing on gas production profiles obtained using the pressure transducer technique. *Animal Feed Science Technology*, 97: 221-237.
27. Makkar, H.P.S. 2010. In vitro screening of feed resources for efficiency of microbial protein synthesis. In 'In vitro screening of plant resources for extra-nutritional attributes in ruminants: nuclear and related methodologies'. (Eds PE Vercoe, HPS Makkar) 107-144. (IAEA: Dordrecht, The Netherlands).
28. McDougall, E.I. 1948. Studies on ruminant saliva. 1. The composition and output of sheep's saliva. *Biochemistry Journal*, 43: 99-109.
29. Menke, K.H., L. Rabb, A. Salewski, H. Steingass, D. Fritz and W. Schinder. 1979. The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feedstuff from the gas production when they are incubated with rumen liquor in vitro. *Journal of Agricultural Science*, 93: 217-222.

30. Parissi, Z.M., K. Khazaal, A.S. Nastis and C.N. Tsiouvaras. 2004. Assessment of drying methods on chemical composition and in vitro gas production of two ligneous species. Ninth Seminar of the FAO-CHIEAM Sub-Network on Sheep and Goat Nutrition on Nutrition and Feeding Strategies of Sheep and Goats under Harsh Climates, Tunis, Tunisia. *Options Mediterraneennes*, 59: 141-146.
31. Parissi, Z.M., T.G. Papachristou and A.S. Nastis. 2005. Effect of drying method on estimated nutritive value of browse species using an in vitro gas production technique. *Animal Feed Science Technology*, 123: 119-128.
32. Pelletier, S., G.F. Tremblay, A. Bertrand, G. Belanger, Y. Castonguay and R. Michaud. 2010. Drying procedures affect non-structural carbohydrates and other nutritive value attributes in forage samples. *Animal Feed Science Technology*, 157: 139-150.
33. Pelletier, S., G.F. Tremblay, C. Lafrenière, A. Bertrand, G. Belanger, Y. Castonguay and J. Rowsell. 2009. Non-structural carbohydrate concentrations in timothy forage as affected by N fertilization, stage of development, and time of cutting. *Agronomy Journal*, 101: 1372-1380.
34. Repetto, J.L., J. Gonzalez and C. Cajarville. 2000. Effect of dehydration on ruminal degradability of lucerne. *Annales Zootechnologie*, 49: 113-118.
35. SAS. 2003. Statistical Analysis System. SAS Inc., Cary, NC.
36. Smith, D. 1973. Influence of drying and storage conditions on non-structural carbohydrate analysis of herbage tissue, a review. *Grass and Forage Science*, 28: 129-134.
37. Tilley, J.A. and R.A. Terry. 1963. A two-stage technique for the in vitro digestion of forage crop. *Journal of British Grassland Society*, 18: 104-111.
38. Van Soest, P.J. 1994. Nutritional ecology of the ruminant, 2nd ed. Comstock Publishing Associated, a division of Cornell University Press, Ithaca, NY, USA.
39. Van Soest, P.J., J.B. Robertson and B.A. Lewis. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, 74: 3593-3597.
40. Van Soest, P.J., C.J. Sniffen, J.D. Oconnor, D.G. Fox and J.B. Russel. 1992. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: 2. Carbohydrate and protein availability. *Journal of Animal Science*, 70: 3562-3577.
41. Verbic, J., E.R. Orskov, J. Zgajnar, X.B. Chen and V. Znidarsic-Pongrac. 1999. The effect of method of forage preservation on the protein degradability and microbial protein synthesis in the rumen. *Animal Feed Science Technology*, 82: 195-212.
42. Vercoe, P.E., H.P.S. Makkar and A.C. Schlink. 2010. In vitro screening of plant resources for extra-nutritional attributes in ruminants: nuclear and related methodologies. *Nuclear and Related Methodologies*. 1 st edn. Springer, Heidelberg.
43. Yari, M., R. Valizadeh, A.A. Naserian, G.R. Ghorbani, P. Rezvani Moghaddam, A. Jonker and A.Yu. 2012. Botanical traits, protein and carbohydrate fractions, ruminal degradability and energy contents of alfalfa hay harvested at three stages of maturity and in the afternoon and morning. *Animal Feed Science Technology*, 172: 162-170.
44. Yu, P., D.A. Christensen, J.J. McKinnon and J.D. Markert. 2003. Effect of variety and maturity stage on chemical composition, carbohydrate and protein sub fractions, in vitro rumen degradability and energy values of timoty and alfalfa. *Canadian Journal of Animal Science*, 83: 279-290.

Effect of Drying Method on Digestibility of Alfalfa Hay Harvested in the Morning or Afternoon

Farshid Fatahnia¹, Ali Khatibjoo², Seyyed Gholamreza Mosavi³, Taher Mohhammadizad³,
Hamed Tahmasbi³ and Aminolah Pormalekshahi³

1- Associate Professor, Ilam University (Corresponding Author: ffatahnia@yahoo.com)

2 and 3- Assistant Professor and Grajuated M.Sc., Ilam University

Received: October 8, 2014 Accepted: May 19, 2015

Abstract

Effect of drying method was investigated on chemical composition, nutrient digestibility and rumen fermentation parameters of alfalfa hay harvested in the morning or afternoon. Experimental treatments consisted of alfalfa harvested in the morning and dried in sun, alfalfa harvested in the afternoon and dried in sun, alfalfa harvested in the morning and dried in shadow, alfalfa harvested in the afternoon and dried in shadow, alfalfa harvested in the morning and dried in oven, alfalfa harvested in the afternoon and dried in oven, alfalfa harvested in the morning and dried in microwave and alfalfa harvested in the afternoon and dried in microwave. *In vitro* digestibility and ruminal fermentation parameters were determined by two steps and gas production methods. The highest acid detergent fibre and lowest dry matter content were observed in alfalfa dried in oven and shadow, respectively ($P<0.05$). The lowest nitrogen fraction C and the highest rumen undegradable protein content were observed in alfalfa hay dried in shadow and microwave, respectively ($P<0.05$). Alfalfa hay harvested in the afternoon and dried in shadow or microwave had the highest gas production ($P<0.05$). Partitioning factor and microbial biomass production were lower in alfalfa harvested in the morning and dried in oven ($P<0.05$). The highest and the lowest apparent dry matter and true organic matter digestibility were observed in alfalfa harvested in the afternoon and dried in shadow and alfalfa harvested in the morning and dried in oven, respectively ($P<0.05$). Overall, alfalfa hay harvested in the afternoon and dried in shadow or microwave had better quality compared to that harvested in the morning and dried in sun or oven.

Keywords: Alfalfa, Gas production, Microwave, Nitrogen fractions, Sun, Shadow