Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

Journal of Ruminant Research

Print ISSN: 2345 - 4261
Online ISSN: 2345 - 4253

The effect of organic acid, molasses, and enzyme as silage additives on chemical composition, aerobic stability, gas production parameters, and digestibility of pea (*Pisum sativum*) silage

Fatemeh Arab[1], Javad Bayatkouhsar[2*], Farzad Ghanbari[3], Ashoor Mohammad Gharehbash[4], Ali Nakhzari Moghaddam[5]

[1] MSc. Graduated Student of Animal Science Department, Fculty of Agriculture Science and Natural Resources, Gonbad Kavous Universty, Iran, Email: fatemeh96rp@yahoo.com
[2]Assistant Professor, Faculty of Agriculture Science and Natural Resources, Gonbad Kavous, Email: Javad_bayat@yahoo.com
[3]Assistant Professor, Faculty of Agriculture Science and Natural Resources, Gonbad Kavous, Email: farzadghanbari@yahoo.com
[4]Assistant Professor, Faculty of Agriculture Science and Natural Resources, Gonbad Kavous, Email: ghareh44@yahoo.com
[5]Assistant Professor, Faculty of Agriculture Science and Natural Resources, Gonbad Kavous, Email: a_nakhzari@yahoo.com

Article Info

Article type:
Research Full Paper

Article history:
Received: 12/06/2022
Revised: 01/02/2023
Accepted: 01/03/2023

Keywords:
Chemical composition
Different additives
Digestibility
Gas production
Green Pea silage

ABSTRACT

Background and Objectives: Sources of protein are the most expensive part of animal feed, and every year a large amount of these sources are imported from abroad for use in the animal husbandry industry. One of the important steps in reducing the cost of feed is the optimal use of available resources and the recognition of new foods and their use in animal rations. On the other hand, every year, a huge amount of agricultural product residues are obtained, which can be used in animal nutrition. The optimum use of agricultural by-products and processing industries in feeding ruminants is important from economic and environmental aspects. Pea *(Pisum sativum L.)* is a cool-season crop and one of the most important legumes, in temperate climatic regions and it has been widely consumed as a legume or vegetable throughout the world for both human nutrition and animal nutrition. Peas are cultivated to produce green seeds, but after harvesting the pods containing seeds, Their waste can be used by ruminants as high-quality bulk feed. The by-product after the harvesting of chickpeas (green chickpeas) which can be extracted and separated manually is the parts of the stem, leaves, and pods that are free of green seeds. This research was conducted to investigate the effect of using organic acid (acetic acid) and fibrinolytic enzymes and molasses on the chemical composition, fermentation characteristics, gas production, and digestibility parameters of pea silage.

Materials and Methods: Whole crop pea silage was harvested and chopped with a conventional forage harvester under farm conditions in 2-3 cm pieces. Representative pea forage sample was packed manually, in triplicate into plastic bags. The filled silos were stored at ambient temperature and allowed to ensile for 45 days. The following treatments were applied to the forage samples: 1) pea forage without any additives (control), 2) control + fibrinolytic enzyme (2 grams per kg of dry matter), 3) control + molasses (8%), 4) control + organic acid(combination of 0.8 % of formic acid + 1%

propionic acid, 2%) and 5) control + (fibrinolytic enzyme+ molasses). Additives were diluted in deionized water and applied with a handheld sprayer while forage samples were stirred manually. A similar quantity of deionized water was sprayed on the control forage. After designated ensiling times, silos were opened and the ensiled forage was mixed thoroughly and then dried at a 60°C in the oven for 48 h and then ground to pass through a 2 mm screen for later analysis.

Results: Results showed that there were significant differences among treatments on NDF, CP, and pH (P>0.05). Enzyme-treated silages had the lowest NDF content (46.50%) compared with other treatments (P<0.05). The lowest pH was related to treatment containing molasses. silage treated with organic acid improved aerobic stability, significantly. There were significant differences among treatments on gas production parameters (P<0.05) and molasses and enzyme-treated pea silage had highest and the lowest gas production potential than others (199.1 and 183.3 ml/g DM, respectively). Results showed that there were no significant differences among treatments on DMD and partitioning factor (P>0.05). Organic acid-treated silages had the lowest effect on DMD and OMD compared with other treatments (P<0.05).

Conclusion : Overall, results showed that using molasses and molasses + enzymes as additives enhances the nutritive value of pea silage better than others. Nevertheless, green pea forage according to the appropriate level of crude protein similar to corn forage and its silage characteristics, has the potential of silage and can be used in livestock feeding.

Cite this article: Arab, F., Bayatkouhsar, J., Ghanbari, F., Mohammad, A., Nakhzari Moghaddam, A. (2023). The effect of organic acid, molasses and enzymes as silage additives on chemical composition, aerobic stability, gas production parameters and digestibility of pea (Pisum sativum) silage. *Journal of Ruminant Research*, 11(2), 49-68.

© The Author(s).
DOI: 10.22069/ejrr.2023.20827.1876
Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

پژوهش در نشخوارکنندگان
شاپا چاپی: ۴۲۶۱-۲۳۴۵
شاپا الکترونیکی: ۴۲۵۳-۲۳۴۵

تاثیر اسید آلی، ملاس و آنزیم به‌عنوان افزودنی سیلویی بر ترکیب شیمیایی، پایداری هوازی، فراسنجه‌های تولید گاز و قابلیت هضم برون‌تنی سیلاژ نخودفرنگی

فاطمه عرب[۱]، جواد بیات کوهسار[۲*]، فرزاد قنبری[۳]، آشورمحمد قره باش[۴]، علی نخزری مقدم[۵]

[۱] دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، رایانامه: fatemeh96rp@yahoo.com
[۲] استادیار، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، رایانامه: javad_bayat@yahoo.com
[۳] استادیار، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، رایانامه: farzadghanbari@yahoo.com
[۴] استادیار، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، رایانامه: farzadghanbari@yahoo.com
[۵] استادیار، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، رایانامه: a_nakhzari@yahoo.com

اطلاعات مقاله

نوع مقاله:
مقاله کامل علمی- پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۹/۱۵
تاریخ ویرایش: ۱۴۰۱/۱۰/۱۲
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۰/۱۳

واژه‌های کلیدی:
افزودنی‌های مختلف
ترکیب شیمیایی
تولید گاز
سیلاژ نخودفرنگی
قابلیت هضم

چکیده

سابقه و هدف: منابع تأمین‌کننده پروتئین، پرهزینه‌ترین بخش خوراک دام را تشکیل می‌دهند و سالانه مقدار زیادی از این منابع جهت استفاده در صنعت دام‌پروری از خارج وارد کشور می‌شود. یکی از اقدامات مهم در کاهش هزینه خوراک، استفاده بهینه از منابع موجود و شناخت مواد غذایی جدید و به‌کارگیری آن در جیره دام است. از طرفی سالانه حجم عظیمی از بقایای محصولات کشاورزی حاصل می‌شود که می‌توان از آن‌ها در تغذیه دام استفاده نمود. استفاده بهینه از فرآورده‌های فرعی کشاورزی و کارخانجات بوجاری و صنایع تبدیلی در تغذیه نشخوارکنندگان، از جنبه‌های اقتصادی و زیست‌محیطی حائز اهمیت می‌باشد. نخودسبز یا نخودفرنگی (*Pisum sativum*) از خانواده نخود که محصول آب‌وهوای معتدل و سرد بوده و در اکثر قسمت-های جهان باهدف تولید دانه سبز کشت می‌شود اما ضایعات آن پس از برداشت غلاف‌های حاوی دانه، به‌عنوان خوراک حجیم مرغوب می‌تواند مورداستفاده نشخوارکننده قرار گیرد. فرآورده فرعی بعد برداشت نخودفرنگی (نخود سبز) که به‌صورت دستی قابل‌دسترس و تفکیک بوده بخش-های ساقه، برگ‌ها و غلاف عاری از دانه سبز می‌باشد. هدف از انجام این مطالعه، بررسی تأثیر استفاده از افزودنی‌های اسید آلی، آنزیمی و ملاس بر ترکیب شیمیایی، پارامترهای تولید گاز و قابلیت هضم سیلاژ علوفه نخود فرنگی بود.

مواد و روش‌ها: علوفه نخودفرنگی در مرحله خمیری برداشت و توسط چاپر به قطعات حدود ۳-۲ سانتی‌متر خرد شد. علوفه‌های برداشت‌شده نخودفرنگی در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار در کیسه‌های نایلونی به‌صورت دستی فشرده و سیلو شدند. سیلوهای پرشده در دمای اتاق نگهداری و برای مدت ۴۵ روز سیلو شدند. تیمارهای آزمایشی شامل: ۱) نخودفرنگی بدون هیچ-گونه افزودنی (شاهد)، ۲) نخودفرنگی + آنزیم (فیبرولیتیک ۲ گرم به ازاء هر کیلوگرم)، ۳) نخودفرنگی + افزودنی اسید آلی (اسید فرمیک + اسید پروپیونیک، ۲ درصد)، ۴) نخودفرنگی + ملاس (۸ درصد) و ۵) نخودفرنگی + آنزیم+ ملاس (فیبرولیتیک ۲ گرم به ازاء هر کیلوگرم ماده

خشک + ۸ درصد) بودند. افزودنی‌ها در آب دیونیزه حل و با اسپری دستی به روی علوفه اسپری شدند. بعد از سپری شدن زمان معین، سیلوها باز و نمونه‌ها با هم مخلوط و در دمای ٦٠ درجه سانتی‌گراد در آون برای ٤٨ ساعت خشک شدند. ترکیب شیمیایی نمونه‌ها با استفاده از روش‌های استاندارد تعیین شد. به‌منظور برآورد فراسنجه‌های تولید گاز از آزمون تولید گاز و قابلیت هضم برون‌تنی از روش کشت بسته استفاده شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که بین تیمارهای آزمایشی ازنظر الیاف نامحلول در شوینده خنثی، پروتئین خام و pH اختلاف معنی‌داری وجود داشت ($p<۰/۰۵$). تیمار دارای افزودنی آنزیمی دارای پایین‌ترین مقدار الیاف نامحلول در شوینده خنثی (٤٦/٥٠ درصد ماده خشک) بود. تیمارهای دارای ملاس از pH پایین‌تری در مقایسه با سایر تیمارها برخوردار بودند. ازنظر پایداری هوازی، تیمار دارای اسید آلی بیشترین تأثیر را در بین تیمارها داشت. بین تیمارهای آزمایشی ازنظر پتانسیل تولید گاز و فراسنجه‌های تخمیری اختلاف معنی‌داری وجود داشت ($P<۰/۰۵$). بالاترین و پایین‌ترین مقدار پتانسیل تولید گاز مربوط به تیمار دارای افزودنی ملاس و آنزیم بود (به‌ترتیب ۱۹۹/۱ و ۱۸۳/۳ میلی‌گرم به ازای گرم ماده خشک). بین تیمارهای آزمایشی ازنظر قابلیت هضم ماده خشک و عامل تفکیک اختلاف معنی‌داری وجود داشت ($P<۰/۰۵$). در بین افزودنی‌ها آنزیم کمترین تأثیر را برقابلیت هضم ماده خشک (۳۸/۹ درصد) و افزودنی ملاس کمترین تأثیر را بر قابلیت هضم ماده آلی (٤/٤٢ درصد) داشت.

نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد که در بین افزودنی‌ها، استفاده از افزودنی‌های سیلویی ملاس و ملاس + آنزیم باعث بهبود ارزش تغذیه‌ای سیلاژ در مقایسه با سایر گردید. علوفه نخودفرنگی با داشتن مقدار پروتئین خام همانند علوفه ذرت و نیز خصوصیات سیلویی مناسب، دارای پتانسیل سیلو شدن بوده و می‌تواند در تغذیه دام مورد استفاده قرار گیرد.

استناد: عرب، ف.، بیات کوهسار، ج.، قنبری، ف.، قره باش، آ.م.، نخزری مقدم، ع. (١٤٠٢). تأثیر اسید آلی، ملاس و آنزیم به‌عنوان افزودنی سیلویی بر ترکیب شیمیایی، پایداری هوازی، فراسنجه‌های تولید گاز و قابلیت هضم برون تنی سیلاژ نخودفرنگی. *پژوهش در نشخوارکنندگان*، ١١(٢)، ٦٨-٤٩.

DOI: 10.22069/ejrr.2023.20827.1876

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

© نویسندگان.

مقدمه

افزایش مصرف محصولات دامی در آینده منجر به تقاضای زیادی برای خوراک خواهد شد. پاسخگویی به تقاضای خوراک به شیوه‌ای پایدار، چالشی در برابر پس‌زمینه تغییرات آب و هوایی، رقابت غذا، سوخت، خوراک، تخریب زمین، کمبود آب و از دست دادن تنوع زیستی و غیره خواهد بود. دو گزینه واضح برای افزایش در دسترس بودن مواد خوراکی وجود دارد: ۱) استفاده کارآمد از منابع خوراک موجود و ۲) افزایش پایه منابع خوراک، به‌ویژه تمرکز بر آن دسته از منابع خوراکی است که با غذای انسانی رقابت نمی‌کنند (FAO، ۲۰۱۵).

استفاده بهینه از فرآورده‌های فرعی زراعی و صنایع تبدیلی کشاورزی در تغذیه نشخوارکنندگان، که توانایی استفاده از این محصولات رادارند و شناختن ارزش تغذیه‌ای آن‌ها، ازلحاظ اقتصادی اهمیت زیادی دارد. بقایای کشاورزی قسمت‌هایی از گیاه هستند که پس از برداشت در مزرعه باقی می‌مانند و عمدتاً از کربوهیدرات‌های ساختاری تشکیل‌شده‌اند (Nie و همکاران، ۲۰۲۰). مصرف این منابع خوراکی، علاوه بر تأمین بخشی از نیازهای مواد مغذی دام، مشکلات زیست‌محیطی ناشی از تجمع آن‌ها را نیز کاهش می‌دهد (Sandoval Castro و همکاران، ۲۰۰۰؛ NRC، ۲۰۰۱).

نخود سبز یا نخودفرنگی (*Pisum sativum*) یکی از گیاهان خانواده نخود که محصول آب‌وهوای معتدل و سرد بوده و در اکثر قسمت‌های جهان کشت می‌شود (Elzebroek و Wind، ۲۰۰۸). این گیاه ازجمله بقولاتی است که به‌دلیل نیاز غذایی کم، دوره رشد کوتاه و توان تثبیت زیستی نیتروژن به‌عنوان کود سبز از اهمیت خاصی برخوردار بوده و همچنین، رشد این گیاه در فصل پاییز، روزهای آخر زمستان و روزهای اول بهار، امکان استفاده از عناصر غذایی باقی‌مانده در خاک و استفاده از بارش‌های این فصل‌ها را فراهم می‌کند (Fallah و همکاران، ۲۰۱٤). علوفه نخودفرنگی به دلیل دارا بودن سطوح کافی الیاف خام و پروتئین خام می‌تواند به‌عنوان علوفه سبز مناسبی برای تغذیه گاوهای شیری مورداستفاده قرار بگیرد (Kavian و همکاران، ۲۰۰۸).

سیلو کردن ازجمله روش‌هایی است که وابستگی بسیار کمی به مرحله برداشت، شرایط جوی و یا بلوغ گیاهان دارد و توسط دامداران برای ذخیره کردن گیاهان علوفه‌ای استفاده می‌شود (Valizadeh و همکاران، ۲۰۰۳). از افزودنی‌های مختلف سیلاژی برای به دست آوردن سیلاژ با کیفیت مطلوب، بهبود ارزش تغذیه‌ای، بهتر شدن خصوصیات تخمیری علوفه‌های سیلو شده و افزایش زمان ماندگاری استفاده می‌شود (Kung و همکاران، ۲۰۰۳). اسیدهای آلی کیفیت سیلاژ را به‌وسیله‌ی سرعت بخشیدن در کاهش pH در مراحل اولیه فرآیند سیلو کردن و با خصلت ضد قارچی بهبود می‌بخشند. نشان داده‌شده است که تیمار اسید فرمیک می‌تواند موجب بهترشدن ارزش تغذیه‌ای گراس‌ها برای نشخوارکنندگان بشود (McDonald و همکاران، ۱۹۹۱). نشان داده‌شده است که تیمار اسید فرمیک باعث افزایش غلظت اسیدلاکتیک و اسید استیک و به دنبال آن کاهش pH سیلاژ یونجه پژمرده شد (Brodrick و Nagel، ۱۹۹۲).

آنزیم‌ها دسته دیگری از افزودنی‌ها هستند که باهدف تجزیه کردن الیاف به کربوهیدرات‌های محلول در آب برای تخمیر کردن باکتری‌های اسیدلاکتیک (Kung و Ranjit، ۲۰۰۱)، مخصوصاً باکتری‌هایی که دارای فعالیت سلولولیتیک، آمیلولیتیک و همی سلولولیتیک هستند، در سیلاژ مورد آزمایش قرار گرفتند. وظیفه اولیه آن‌ها شکستن ترکیبات دیواره سلولی و نشاسته برای بهتر شدن تخمیر سیلاژ مورد استفاده دام است (Muck و Bolsen، ۱۹۹۱). تیمار

آنزیمی در سیلوها باعث کاهش غلظت الیاف نامحلول در شوینده خنثی و اسیدی و افزایش قابلیت هضم الیاف نامحلول در شوینده خنثی می‌شود. اما هنگام استفاده از علوفه‌هایی که تیمار آنزیمی و غیرآنزیمی بر آن اعمال‌شده بود افزایش تولید شیر را در پی نداشت (Sheperd و Kung، ۱۹۹۶؛ Dean و همکاران، ۲۰۰۵). از طریق افزودن ملاس می‌توان ارزش غذایی سیلاژ را بهبود داد که به‌دلیل جلوگیری از رشد کردن باکتری‌های نامطلوب و مصرف قند به‌وسیله باکتری‌های تولیدکننده اسیدلاکتیک است. ملاس علاوه بر بهتر شدن کیفیت سیلاژ، می‌تواند خوش‌خوراکی سیلاژ را نیز بهبود دهد (Valizadeh و همکاران، ۲۰۰۳).

روشن است که ملاس باعث زیادشدن تخمیر لاکتیکی شده و باعث کاهش اسیدیته سیلاژ می‌شود و از تخمیر پروتوزوآیی و کلستریدیایی جلوگیری می‌کند و در پایان مانع از هدر رفتن مواد آلی سیلاژ می‌گردد (Goffen و Khalifa، ۲۰۰۷).

با توجه به هدف برداشت محصول نخودفرنگی، عمدتاً برای برداشت غلاف به‌صورت سبز و حجم آن و با در نظر گرفتن شرایط جوی استان گلستان در زمان برداشت (بارندگی، ابری بودن و غیره)، به نظر می‌رسد بهترین روش نگهداری، سیلو کردن آن می‌باشد. از طرفی به‌دلیل بالا بودن پروتئین خام آن ایجاد شرایط مطلوب برای دستیابی به سیلاژی با خصوصیات تخمیری مناسب با مشکل همراه خواهد بود. لذا هدف از انجام این مطالعه، بررسی تأثیر استفاده از افزودنی‌های اسید آلی، آنزیمی و ملاس بر ترکیب شیمیایی، پارامترهای تولید گاز و قابلیت هضم سیلاژ علوفه نخودفرنگی بود.

مواد و روش‌ها

تهیه نمونه و سیلاژسازی: این پژوهش در آزمایشگاه تغذیه دام دانشگاه گنبدکاووس انجام شد. ضایعات نخودفرنگی از مزارع اطراف شهرستان گنبدکاووس خریداری و توسط چاپر به قطعات حدود ۳-۲ سانتی‌متر خرد شد. علوفه برداشت شده در سه تکرار در کیسه‌های پلاستیکی به‌صورت دستی فشرده و سیلو شدند. تیمارهای آزمایشی شامل: ۱) نخودفرنگی بدون هیچ‌گونه افزودنی (شاهد)، ۲) نخودفرنگی + آنزیم (فیبرولیتیک ۲ گرم به ازای کیلوگرم ماده خشک)، ۳) نخودفرنگی + افزودنی اسید آلی (ترکیب ۰/۸ درصد اسید فرمیک و یک درصد اسید پروپیونیک، ۲ درصد)، ٤) نخودفرنگی + ملاس (۸ درصد) و ۵) نخودفرنگی + آنزیم+ ملاس (فیبرولیتیک ۲ گرم به ازاء هر کیلوگرم ماده خشک + ۸ درصد) بودند. افزودنی‌ها در آب دیونیزه حل و با اسپری دستی به روی علوفه نخودفرنگی اسپری شدند. همچنین مقادیر مساوی از آب دیونیزه برای تیمار شاهد به‌کاربرده شد. سیلوهای پرشده با درب پلاستیکی کاملاً بسته و در دمای اتاق و در مدت ٤۵ روز نگهداری شدند بعد از سپری شدن زمان تعیین‌شده برای سیلو، درب سیلوها باز و نمونه‌ها با هم مخلوط شدند. سپس از سطوح بالایی، میانی و پایینی هر ماده سیلو شده نمونه‌برداری شد.

تعیین pH و ترکیب شیمیایی: برای تعیین pH، ۵۰ گرم از نمونه سیلاژ را در دستگاه مخلوط‌کن ریخته و ٤۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر به آن اضافه گردید. وقتی‌که کاملاً به هم زده شد و نمونه یکنواخت به‌دست آمد بلافاصله آن را با صافی پارچه‌ای صاف می‌کنیم و عصاره نمونه یکنواخت به حاصل می‌شود. pH محلول با دستگاه pH متر (Metrohm, Model 691)، اندازه‌گیری شد. میزان نیتروژن آمونیاکی نمونه‌ها با

استفاده از روش فنل_هیپوکلریت (Broderik و Kung، ۱۹۸۰) و با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر (مدل Biochrom Libera- S22) با طول‌موج ٦٣٠ نانومتر اندازه‌گیری شد. نمونه‌های سیلاژ با توری یک میلی‌متری آسیاب شدند و ترکیبات شیمیایی آن‌ها شامل ماده خشک، پروتئین خام و خاکستر به روش AOAC (۲۰۰۵) و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی و خنثی با روش Van Soest (۱۹۹۱) اندازه‌گیری شدند.

تعیین پایداری هوازی: برای تعیین میزان پایداری هوازی مقدار ۱ کیلوگرم از هر نمونه سیلاژ درون ظرفی بدون آنکه فشرده شود ریخته شد و بر روی آن پارچه قرار داده شد (برای جلوگیری از تماس گردوغبار موجود در هوا و درعین‌حال امکان وجود تبادل هوا). تغییر دما با قرار دادن دماسنجی در وسط توده سیلویی به‌صورت هر ۲ ساعت یک‌بار تا زمانی که دمای آن به میزان ۲ درجه سانتی‌گراد از دمای محیط بالاتر شود، اندازه‌گیری شد (Ashbell و همکاران، ۱۹۹۱).

اندازه‌گیری تولید گاز در شرایط آزمایشگاهی: برای آزمون تولید گاز طبق پیشنهاد Menke و همکاران (۱۹۷۹)، مایع شکمبه از سه رأس گوسفند نر فیستول‌دار نژاد دالاق (۲/۵±٤٤ کیلوگرم) از بخش‌های مختلف شکمبه و قبل از وعده تغذیه صبح‌گاهی جمع‌آوری شد. ذرات درشت مایع شکمبه با عبور دادن از چهار لایه پارچه متقال جداشده و در یک بن‌ماری با دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. حیوانات در سطح نگهداری با جیره حاوی ۷۰ درصد علوفه (یونجه و سیلاژ ذرت به نسبت مساوی) و ۳۰ درصد کنسانتره (جو، کنجاله تخم پنبه، سبوس و مکمل) تغذیه شدند. همچنین به آب آزادانه دسترسی داشتند. مقدار ۲۰۰ میلی‌گرم ماده خشک از نمونه‌ها با ۳۰ میلی‌لیتر مخلوط بافر و مایع شکمبه (نسبت ۲ به ۱) در بطری‌های شیشه‌ای ریخته شده و درب آن‌ها با استفاده از درپوش لاستیکی و پوشش آلومینیومی کاملاً بسته و در دمای ۳۸ درجه سلسیوس به مدت ۹٦ ساعت انکوباسیون شدند. به‌منظور تصحیح گاز تولیدشده با منشأ مایع شکمبه، ۳ ویال شیشه‌ای بدون نمونه خوراکی و دارای ۳۰ میلی‌لیتر از مخلوط مایع شکمبه و بزاق مصنوعی، به‌عنوان شاهد در نظر گرفته شد. برای ایجاد شرایط بی‌هوازی گاز دی‌اکسید کربن به داخل ویال‌ها تزریق شد و بعد از درپوش‌گذاری، در حمام آب گرم با دمای ۳۸ درجه سلسیوس قرار داده شدند. حجم گاز تولیدشده در فواصل زمانی ۲، ٤، ٦، ۸، ۱۲، ۲٤، ۳٦، ٤۸، ۷۲، ۹٦ ساعت بعد از انکوباسیون، به‌صورت تجمعی محاسبه شد. برآورد فراسنجه‌های تولید گاز با استفاده از نرم‌افزار SAS انجام شد. بدین منظور از رابطه غیرخطی Orskov و McDonald (۱۹۷۹) استفاده شد.

$P=b\ (1-e^{-ct})$

c:ثابت نرخ تولید گاز،P: حجم تولید گاز در زمان t به‌صورت تجمعی، t: مدت‌زمان انکوباسیون،b: گاز تولیدشده از بخش قابل تخمیر می باشد.

اسیدهای چرب کوتاه زنجیر، قابلیت هضم ماده آلی و انرژی قابل متابولیسم به روش Makkar (۲۰۰۵) تخمین زده شد.

$OMD= ١٤/٨٨+ ٠/٨٨٩\ GP +٠/٤٥\ CP + ٠/٠٦٥Ash$

$ME= ٢/٢٠+٠/١٣٦\ GP+٠/٠٥٧٤CP+٠/٠٠٠٢٩CF$

/۰۰٤۲۵

GP: حجم گاز تولیدی تصحیح‌شده برای ٢٤ ساعت (میلی‌لیتر بر ۲۰۰ میلی‌گرم ماده خشک)، OMD: قابلیت هضم ماده آلی (گرم بر کیلوگرم ماده خشک)، Ash: خاکستر خام (گرم بر کیلوگرم ماده خشک)، CP: پروتئین خام (درصد)، ME: انرژی قابل متابولیسم (مگا ژول بر کیلوگرم ماده خشک)، SCFA: اسیدهای چرب کوتاه زنجیر می‌باشد.

اندازه‌گیری قابلیت هضم در شرایط برون‌تنی: اندازه‌گیری قابلیت هضم تیمارهای مختلف بر اساس روش کشت بسته انجام گردید (Theodorouet و همکاران، ۱۹۹٤). روش تهیه بزاق مصنوعی و جمع‌آوری مایع شکمبه مطابق آنچه در آزمون تولید گاز شرح داده شد، انجام شد. با این تفاوت که در آزمایش تعیین قابلیت هضم، داخل هر یک از ویال‌های شیشه‌ای ۵۰۰ میلی‌گرم از هر نمونه ریخته و ۵۰ میلی‌لیتر از مخلوط بزاق مصنوعی و مایع شکمبه به نسبت ۲ به ۱ (۲حجم بزاق مصنوعی و یک حجم مایع شکمبه) به داخل هر ویال اضافه گردید. بعد از گذشت ۲٤ ساعت، تمامی ویال‌ها از حمام آب گرم خارج‌شده و برای غیرفعال شدن فعالیت میکروبی، به ظرف حاوی یخ منتقل گردید. نمونه‌های موجود در هر ویال، با استفاده از پارچه مخصوص صاف شده و محتویات هضم نشده از فاز مایع جدا شدند. پس از آن pH فاز مایع نمونه‌ها اندازه‌گیری شد. محتویات هضم نشده هر ویال جمع‌آوری‌شده و درون کروزه‌های از قبل توزین شده انتقال یافت. کروزه‌ها به‌مدت ٤۸ ساعت در آون با درجه حرارت ٦۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. سپس قابلیت هضم ظاهری محاسبه گردید. سپس کروزه‌های حاوی محتویات هضم نشده به مدت ٦ ساعت در کوره با دمای ٥٤۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. این کار به‌منظور تعیین مقدار خاکستر خام مواد هضم نشده موجود در کروزه‌ها و تعیین قابلیت هضم ماده آلی صورت گرفت. بازده تولید گاز (GP_{24}) به‌صورت حجم گاز تولیدشده پس از ۲٤ ساعت انکوباسیون تقسیم بر مقدار ماده تجزیه شده واقعی (گرم) محاسبه شد (Getachew و همکاران، ۲۰۰۲). جهت محاسبه توده میکروبی تولید شده از معادله پیشنهاد شده Blummel و Becker (۱۹۹۷) استفاده گردید:

$MCP = GP\times (PF-۲/۲)$ تولید توده میکروبی (میلی‌گرم)

GP: میلی‌لیتر گاز تولیدشده در زمان ۲٤ ساعت.

PF: عامل تفکیک که به‌صورت میلی‌گرم ماده هضم شده واقعی، بخش‌بر میلی‌لیتر گاز تولیدی در ساعت ۲٤ انکوباسیون محاسبه شد (Blummel و Becker، ۱۹۹۷).

داده‌های جمع‌آوری‌شده در قالب طرح کاملاً تصادفی و با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS (۹/۱) (۲۰۰۳) و رویه GLM انجام گردید. مقایسه میانگین‌ها به کمک آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) انجام شد.

نتایج و بحث

تأثیر استفاده از افزودنی‌های مختلف بر ترکیب شیمیایی سیلاژ علوفه نخودفرنگی: بین تیمارهای آزمایشی ازنظر pH، پروتئین خام و الیاف نامحلول در شوینده خنثی اختلاف معنی‌داری وجود داشت ($P<۰/۰٥$). پایین‌ترین مقدار الیاف نامحلول در شوینده خنثی در تیمار دارای افزودنی آنزیمی (٤٦/٥۰ درصد ماده خشک) مشاهده شد. با این وجود، بین بقیه تیمارها از نظر مقدار الیاف نامحلول در شوینده خنثی اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. مقدار پروتئین خام در بین تیمارها در دامنه ۸/۳۱ درصد ماده خشک (تیمار دارای افزودنی اسید آلی) تا ۹/۱۹ درصد ماده خشک (تیمار دارای افزودنی آنزیم + ملاس) قرار داشت که اختلاف معنی‌داری داشتند. در هرصورت، استفاده از افزودنی‌های ملاس، آنزیم، اسید آلی و آنزیم + ملاس در مقایسه با تیمار شاهد تأثیر معنی‌داری بر مقدار پروتئین خام سیلاژها نداشت.

فراسنجه‌های تخمیری شامل pH و نیتروژن آمونیاکی بین تیمارهای آزمایشی ازلحاظ آماری متفاوت بودند ($P<۰/۰٥$). اگرچه pH در تمامی

تیمارها در دامنه قابل‌قبول وجود داشت؛ بااین‌حال پایین‌ترین مقدار pH در تیمار دارای ملاس (۳/۹٤) مشاهده شد. در مقایسه با شاهد، استفاده از افزودنی‌های ملاس، آنزیم و اسید الی تأثیر معنی‌داری بر کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی داشتند و پایین‌ترین غلظت در تیمار دارای افزودنی ملاس مشاهده شد.

برای تهیه سیلاژ با کیفیت مطلوب، پیشنهادشده است که ماده خشک علوفه باید بین ۲۵ تا ۳۵ درصد بوده، در غیر این صورت علوفه‌های با میزان رطوبت بالاتر باعث تولید پس‌آب، تخمیر اسید بوتیریکی و هدر روی مواد مغذی در سیلاژ می‌شوند (Bouriako و همکاران، ۲۰۰۱؛ McDonald و همکاران، ۱۹۹۱). با این حال، در برخی مطالعات، دامنه ماده خشک مطلوب برای تولید سیلوی با کیفیت بالا ۳۵۰-۲۰۰ گرم بر کیلوگرم ماده خشک نیز گزارش‌شده است (Denek و Can، ۲۰۰٦). در این مطالعه مقدار ماده خشک سیلو به‌طور متوسط ۲۲ درصد بود. لذا پیشنهاد می‌شود که در شرایط عملی و کاربردی، استفاده از مواد جاذب رطوبت، ضمن کاهش اتلاف ماده خشک و بهبود ارزش غذایی، در نهایت منجر به تهیه سیلویی باکیفیت مطلوب‌تر خواهد شد (Ozkul و همکاران، ۲۰۱۱). برخلاف انتظار، استفاده از افزودنی ملاس منجر به هیچ‌گونه تغییری در مقدار ماده خشک سیلوها نشد که احتمالاً به‌دلیل پایین بودن مقدار ماده خشک ماده سیلویی اولیه و خروج شیرابه از سیلاژ (Ely، ۱۹۷۸) باشد. هرچند در این شرایط هم معمولاً ملاس ضایعات کلی ماده خشک را کاهش می‌دهد (Thomasو همکاران، ۱۹۸۰). در بسیاری از مطالعات (Ayubi Far و همکاران، ۲۰۲۱؛ Abarghoei و همکاران، ۲۰۱۱؛ Aksu و همکاران، ۲۰۰٦)، استفاده از ملاس به‌عنوان افزودنی منجر به افزایش مقدار ماده خشک در سیلاژهای کنگر، زیتون و ذرت شده است.

در خصوص مقدار خاکستر خام، همانند مقدار ماده خشک نتایج برخلاف مطالعات گذشته بود. در مطالعه Mansouri و همکاران (۲۰۰۸) افزودنی‌های اسیدی، آنزیمی و ملاس به سیلاژ ذرت منجر به افزایش به‌ترتیب ۹/٦۹، ۱۰/۰٦، ۹/۹٦ درصد ماده خشک خاکستر در مقابل ۸/۹۰ درصد ماده خشک شاهد برحسب ماده خشک سیلو شدند. استفاده از ملاس در سیلاژ تفاله چغندرقند نیز باعث افزایش مقدار ماده خشک و خاکستر شد (Hedayati poor و همکاران، ۲۰۱۲).

از نظر درصد پروتئین خام بین تیمارهای آزمایشی با تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. با این حال بین تیمارهای دارای افزودنی اسید آلی و تیمار دارای آنزیم و ملاس اختلاف معنی‌داری وجود داشت که همسو با نتایج Philip و همکاران (۱۹۹۰) بود. نشان داده‌شده است استفاده از افزودنی آنزیمی (Exing و همکاران، ۲۰۰۹) و ملاس (Kennedy، ۱۹۹۰) باعث افزایش پروتئین خام سیلو می‌شود که با نتایج این مطالعه همخوانی ندارد. نکته قابل‌توجه بالاتر بودن مقدار پروتئین خام در تیمار دارای افزودنی ملاس+ آنزیم هست. استفاده از افزودنی آنزیمی و ملاس به‌تنهایی در سیلوها تأثیری بر مقدار پروتئین خام نداشت؛ بااین‌حال در سیلوهایی که آنزیم و ملاس باهم استفاده شدند مقدار پروتئین خام بالاتر بود که به نظر می‌رسد استفاده توأم از آنزیم و ملاس توانسته است فرآیند تخمیر را به‌خوبی حمایت کرده و موجب کاهش پروتئولیز در سیلو شود.

کاهش در مقدار الیاف نامحلول در شوینده خنثی در تیمار دارای افزودنی آنزیمی همسو با نتایج Kung و Ranjit (۲۰۰۱)؛ Zobel و همکاران (۲۰۰۰)؛ Murgavi و همکاران (۲۰۰۰) و Dean و همکاران (۲۰۰۵) بود. نشان داده‌شده است که استفاده از آنزیم‌ها در سیلو موجب کاهش غلظت الیاف نامحلول

در شوینده خنثی و اسیدی و افزایش قابلیت هضم الیاف نامحلول در شوینده خنثی امّا هنگام استفاده از علوفه‌هایی که تیمار آنزیمی و غیر آنزیمی بر آن اعمال‌شده بود افزایش تولید شیر را در پی نداشت (Dean و همکاران، ۲۰۰۵؛ Sheperd و Kung، ۱۹۹۶).

یکی از موارد مهم که در ارزشیابی سیلاژ موردتوجه قرار می‌گیرد، میزان pH است که با اندازه گرفتن آن می‌توان به کیفیت فرآیند تخمیر و نیز مقدار تولید اسید لاکتیک در سیلو پی برد (McDonald و همکاران، ۱۹۹۱). پایین آمدن pH سیلاژ، به علت تخمیر کربوهیدرات‌های محلول در آب به‌وسیله باکتری‌های تولیدکننده اسیدلاکتیک و درنتیجه تولید شدن اسیدهای آلی می‌باشد (Balabanli و همکاران، ۲۰۱۰). ثابت‌شده است که pH انتهایی و نیتروژن آمونیاکی با زیادشدن مواد تخمیری قابل‌دسترس کم می‌شود (Pettersson و Lindgren، ۱۹۸۹). در pH کم فعالیت پروتئازهای میکروبی و گیاهی با محدودیت مواجه شده و از این نظر هر چه سرعت افت pH در سیلاژ بالاتر باشد این اثر ممانعت کنندگی بیشتر خواهد بود (Buxton و همکاران، ۲۰۰۳). همسو با نتایج این مطالعه، در مطالعه Higginbotham و همکاران (۲۰۰٤) و Stokes و Chen (۱۹۹٤) استفاده از افزودنی آنزیمی تأثیر معنی‌داری بر pH نهایی سیلاژ نداشت. افزودنی ملاس باعث کاهش معنی‌داری در pH سیلاژ شده است و در مقایسه با بقیه تیمارها از سرعت بالاتری برخوردار بود (Ayubi Far و همکاران، ۲۰۲۱؛ Enkosi و Mesk ۲۰۱۰). اضافه کردن ملاس به سیلاژ باعث زیادشدن غلظت کربوهیدرات‌های محلول و سریع‌التخمیر گردیده (Yokota و همکاران، ۱۹۹۲) که باعث تسریع در رشد و تکثیر میکروارگانیسم‌ها و درنتیجه باعث زیادشدن اسیدلاکتیک و کم شدن pH سیلاژ می‌گردد (Phllip و همکاران، ۱۹۹۰).

جدول ۱. تأثیر استفاده از افزودنی‌های آنزیمی، اسید آلی و ملاس بر ترکیب شیمیایی (درصد ماده خشک) سیلاژ علوفه نخودفرنگی

Table 1. Effect of molasses, organic acid and enzyme additives on chemical composition (DM basis) of green pea silage

تیمارها[1]	[2]DM	[3]Ash	[4]NDF	[5]ADF	[6]CP	pH	N -NH_3[7]
شاهد Control	22.09	14.75	54.00^{a}	45.20	8.66^{ab}	4.15^{a}	0.45^{a}
آنزیم Enzyme	21.59	15.4	46.50^{b}	46.30	8.84^{ab}	4.14^{a}	0.33^{b}
ملاس Molases	22.37	14.11	52.10^{a}	45.30	8.57^{ab}	3.94^{b}	0.23^{c}
اسید آلی Organic Acid	23.84	14.75	54.30^{a}	45.90	8.31^{b}	4.03^{b}	0.47^{a}
آنزیم+ملاس Enzyme+Molases	22.29	14.66	50.80^{a}	45.10	9.19^{a}	3.97^{ab}	0.33^{b}
SEM	0.493	0.335	1.162	0.632	0.193	0.047	0.011
P-Value	0.561	0.403	0.0243	0.633	0.0138	0.037	0.021

[1] شاهد: نخودفرنگی بدون هیچ‌گونه افزودنی، آنزیم: نخودفرنگی + آنزیم فیبرولیتیک ۲ گرم به ازای کیلوگرم ماده خشک)، ملاس: نخود فرنگی + ملاس (۸ درصد)، اسید آلی: نخودفرنگی + افزودنی اسید آلی (ترکیب ۰/۸ درصد اسید فرمیک و یک درصد اسید پروپیونیک، ۲ درصد) و آنزیم + ملاس: نخودفرنگی + آنزیم+ ملاس (فیبرولیتیک ۲گرم به ازای کیلوگرم ماده خشک + ۸ درصد).

۲- ماده خشک، ۳- خاکستر خام، ٤- الیاف نامحلول در شوینده خنثی، ٥- الیاف نامحلول در شوینده اسیدی، ٦- پروتئین خام و ۷- نیتروژن آمونیاکی میانگین‌های هر ستون با حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند (p<۰/۰٥).

[1] Control: pea forage without any additives, 2) Enzyme: control + fibrinolytic enzyme (2 grams per kg of dry matter), 3) Molasses: control + molasses (8%), 4) Organic acid: control + organic acid (combination of 0.8 % of formic acid + 1% propionic acid, 2%) and 5) Molasses + fibrinolytic enzyme: control + (2 g/kg DM fibrinolytic enzyme + 8% molasses).

2) Dry Matter, 3) Crud Ash, 4) Neutral Detergent Fiber, 5) Acid Detergent Fiber, 6) Crude Protein, 7) Amonia Nitrogen (mg/dl).

Means within a column that do not have a common superscript are significantly different (P<0.05).

نیتروژن آمونیاکی، بهترین معرف برای ارزیابی کیفی تخمیر سیلاژ، در سیلاژ می‌باشد. Pettersson (۱۹۸۹) گزارش داد که بالا بودن نیتروژن آمونیاکی، نشان می‌دهد که تخمیر کلستریدیومی بالا بوده که موجب تولید شدن اسید بوتیریک به میزان زیاد، افزایش pH و کاهش کیفیت سیلاژ می‌گردد. در این مطالعه مقدار نیتروژن آمونیاکی در تیمار دارای ملاس به‌طور معنی‌داری در مقایسه با سایر تیمارها پایین‌تر بود که همسو با نتایج Valizadeh و همکاران (۲۰۰۳) بود. McDonald و همکاران (۱۹۹۱) گزارش کردند که افزودن ملاس موجب تولید کمی از نیتروژن آمونیاکی به‌علت قند زیاد ملاس می‌شود. دلیل آن زیاد شدن تخمیرات لاکتیکی و در نتیجه باعث کم شدن سریع pH و محدودیت فعالیت باکتری‌های تجزیه کننده و مهار شدن دکربوکسیلاسیون و دی‌آمیناسیون‌های اسیدهای آمینه می‌گردد (Caesar و همکاران، ۲۰۰۵).

تأثیر استفاده از افزودنی‌های مختلف بر تولید گاز و فراسنجه‌های تخمینی سیلاژ نخود فرنگی: تأثیر استفاده از افزودنهای مختلف بر فراسنجه‌های تخمیری سیلاژ نخودفرنگی در جدول ۲ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که بین تیمارهای آمایشی از نظر نرخ تولید گاز و پتانسیل تولید گاز اختلاف معنی داری وجود داشت (P<۰/۰۵). بالاترین مقدار پتانسیل تولید گاز و نرخ تولید گاز مربوط به تیمار دارای ملاس بود (به‌ترتیب ۱۹۹/۱ میلی‌گرم به ازاء گرم ماده خشک و ۰/۰۳۰٤ میلی‌لیتر در ساعت). در مقایسه با تیمار شاهد تیمار دارای ملاس به‌طور معنی‌داری بالاترین انرژی قابل متابولیسم، قابلیت هضم ماده آلی و غلظت اسیدهای چرب کوتاه زنجیر (به‌ترتیب ۳۷/٤٤ درصد، ۵/۳۵ درصد و ۰/۵۱۰ میلی‌مول به ازاء ۲۰۰میلی‌گرم ماده خشک) را داشت. در بین تیمارهای دارای افزودنی، تیمار دارای افزودنی اسید آلی در مقایسه با سایر افزودنی‌ها پایین‌ترین نرخ تولید گاز، کمترین انرژی قابل متابولیسم، قابلیت هضم و غلظت اسیدهای چرب کوتاه زنجیر(به‌ترتیب ٤/۹۲ درصد، ۰/۰۲۵٦ میلی‌لیتر در ساعت، ۳٤/۵۸ درصد و ۰/٤۳۹ میلی‌مول به ازای ۲۰۰ میلی‌گرم ماده خشک) را داشت. از نظر روند تولید گاز (شکل ۱) نیز تیمار دارای ملاس از ساعت ۲٤ پس از انکوباسیون، به‌طور معنی‌داری از روند تولید گاز بالاتری در مقایسه با سایر تیمارها برخوردار بود (P<۰/۰۵).

گازها (اکثرا متان و دی‌اکسید کربن)، اسیدهای توده میکروبی و چرب فرار، محصولات نهایی هضم شکمبه‌ای هستند (Getachew و همکاران، ۱۹۹۸). تولید گاز در شرایط برون‌تنی یک فرآسنجه مهم برای تخمین فرآورده‌های نهایی هضم و قابلیت هضم و ساخت پروتئین میکروبی از مواد اولیه توسط میکروارگانیسم‌های شکمبه است (Sommart و همکاران، ۲۰۰۰). گاز تولید شده در شرایط برون‌تنی ماحصل خنثی شدن اسیدهای چرب فرار با بی‌کربنات موجود در محیط کشت (غیر مستقیم) و فعالیت میکروبی (مستقیم) می‌باشد. به‌دلیل این‌که در روش برون‌تنی از اول بی‌کربنات به عنوان بافر محلول استفاده می‌شود، دی‌اکسید کربن به داخل فاز گاز آزاد شده و اسیدهای چرب فرار به‌داخل محیط کشت وارد می‌شوند (Menke و Steingass، ۱۹۸۸).

تولید گاز تحت تاثیر زیاد ماهیت فیزیکی و ترکیب شیمیایی خوراک قرار دارد (Menke و Steingass، ۱۹۸۸). کربوهیدرات نقش مهمی در ازدیاد حجم گاز تولیدی دارد. Volin (۱۹٦۰) بیان داشت تخمیر بر اثر پروتئین در مقایسه با کربوهیدرات گاز کمی تولید می‌کند. همچنین Menke و Steingass (۱۹۸۸) و Getachew و همکاران (۱۹۹۸) سهم چربی را در تولید گاز کم می‌دانند.

در مطالعه Ayubi Far و همکاران (۲۰۲۱) تیمار دارای افزودنی اسیدآلی و ملاس به‌ترتیب پایین‌ترین و بالاترین پتانسیل تولید گاز و سایر فراسنجه‌های تولید گاز را در بین تیمارهای دارای افزودنی داشت که همسو با نتایج این مطالعه بود. از آنجایی که تولید گاز به‌طرز قابل توجه‌ای تحت تاثیر ماهیت فیزیکی و ترکیب شیمیایی خوراک قرار دارد (Menke و Steingass، ۱۹۸۸) و کربوهیدرات نقش مهمی در افزایش حجم تولیدی گاز دارد، این اختلاف در پتانسیل تولید گاز در بین تیمارهای مختلف را شاید بتوان به اختلاف در ترکیب شیمیایی آن‌ها نسبت داد. کربوهیدرات لازم توسط ملاس برای فرآیند تخمیر تامین می‌شود. بنابراین، افزودنی ملاس می تواند موجب افزایش تخمیر علوفه‌ای شود. استفاده از ملاس در سیلاژهای با ماده خشک پایین موجب زیادی تلفات مواد غذایی سیلاژ می‌شود (Savi و همکاران، ۲۰۰۳). ثابت شده که ملاس موجب زیاد شدن تخمیر لاکتیکی شده و اسیدیته سیلاژ را کم می‌کند و از تخمیر پروتوزوآیی و کلستریدیایی جلوگیری به‌عمل می‌آورد. در انتها موجب ممانعت از هدر شدن مواد آلی سیلاژ می‌شود (Gofen و Khalife، ۲۰۰۷).

جدول ۲- تاثیر استفاده از افزودنی‌های آنزیمی، اسید آلی و ملاس بر فراسنجه‌های تولید گاز و تخمینی سیلاژ علوفه نخود فرنگی

Table 2. Effect of molasses, organic acid and enzyme additives on gas production and estimated parameters of green pea silage

تیمارها[1]	[2](a+b) (ml/gDM)	[3]C (ml/gDM)	[4]OMD (% DM)	[5]ME (MJ/Kg)	[6]SCFA (mmol)
شاهد Control	173.1 ± 8.18	0.0298 ± 0.0028	4.85[b]	34.13[b]	0.428[b]
آنزیم Enzyme	183.3 ± 8.04	0.0283 ± 0.0027	5.10[ab]	35.78[ab]	0.469[ab]
ملاس Molases	199.1± 6.07	0.0304 ± 0.0021	5.35[a]	37.44[a]	0.510[a]
اسید آلی Organic Acid	186.6 ± 7.83	0.0256 ± 0.0022	4.92[b]	34.58[b]	0.439[b]
آنزیم+ملاس +Molases Enzyme	186.2 ± 4.60	0.0291 ± 0.0016	5.08[ab]	35.63[ab]	0.465[ab]
SEM	-	-	0.101	0.680	0.0167
Pvalue	-	-	0.0464	0.0469	0.0469

۱) شاهد: نخودفرنگی بدون هیچ‌گونه افزودنی، آنزیم: نخودفرنگی + آنزیم فیبرولیتیک ۲ گرم به ازای کیلوگرم ماده خشک)، ملاس: نخود فرنگی + ملاس (۸ درصد)، اسید آلی: نخودفرنگی + افزودنی اسید آلی (ترکیب ۰/۸ درصد اسید فرمیک و یک درصد اسید پروپیونیک، ۲ درصد)، و آنزیم + ملاس: نخودفرنگی + آنزیم+ ملاس (فیبرولیتیک ۲گرم به ازای کیلوگرم ماده خشک + ۸ درصد).

۲) قابلیت هضم ماده آلی (درصد ماده خشک)، ۳) انرژی قابل متابولیسم (مگا ژول در هر کیلوگرم ماده خشک)، ٤) اسیدهای چرب کوتاه زنجیر (میلی مول)، ٥) انرژی قابل متابولیسم (مگا ژول بر کیلوگرم)، ٦) اسیدهای چرب کوتاه زنجیر (میلی‌مول).

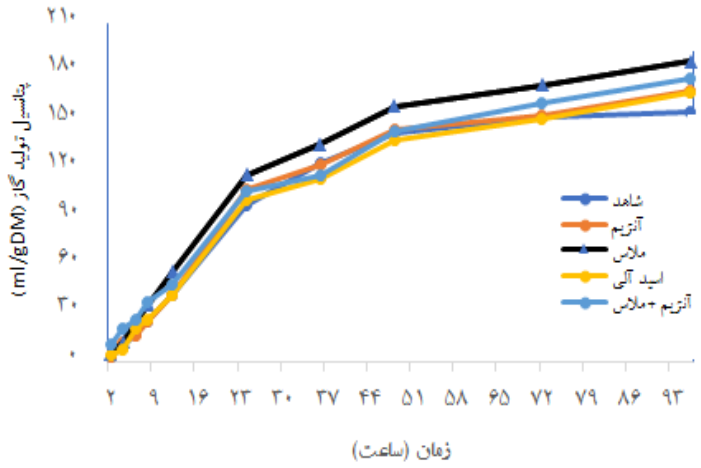
میانگین‌های هر ستون با حروف غیر مشابه دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند($p<۰/۰۵$).

[1] Control: pea forage without any additives, 2) Enzyme: control + fibrinolytic enzyme (2 grams per kg of dry matter), 3) Molasses: control + molasses (8%), 4) Organic acid: control + organic acid (combination of 0.8 % of formic acid + 1% propionic acid, 2%) and 5) Molasses + fibrinolytic enzyme: control + (2 g/kg DM fibrinolytic enzyme + 8% molasses).

[2] Gas production potential (ml/g DM). 3- Gas production rate (ml/h). 4- Organic Matter Digestibility (%DM). 5- Metabolizable Energy (Mj/Kg DM). 6- Short Chain Fatty Acids (mmol).

Means within a column that do not have a common superscript are significantly different (P<0.05).

گزارش شده است که با زیاد شدن گاز تولیدی قابلیت هضم ماده خشک نیز افزایش می‌یابد که نشان دهنده ارتباط تولید گاز با ماده خشک قابل هضم مصرفی، مصرف خوراک و سرعت رشد حیوان است (Blümmel و Ørskov، ۱۹۹۳). Hahtanan (۲۰۰۷) گزارش داد که حجم گاز تولیدی برآوردی از قابلیت هضم ظاهری می‌باشد. بین الیاف نامحلول در شوینده خنثی قابلیت هضم و تولید گاز همبستگی منفی وجود دارد. در مطالعه Khalife و Mahala (۲۰۰۷) نشان داده شد که افزایش سطوح ملاس در سیلاژ، باعث بهتر شدن انرژی قابل متابولیسم و قابلیت هضم ماده آلی گردید. در مطالعه‌ای نشان داده شد که با بالارفتن درصد ملاس در سیلاژ ارزن ایتالیایی، مقدار تجزیه‌پذیری مؤثر نیز زیاد شد (Arbabi و همکاران، ۲۰۰۸) که احتمالاً به‌دلیل تجزیه‌پذیری بسیار بالای کربوهیدرات‌های سهل‌الهضم ملاس است (Saravani و همکاران، ۲۰۱۰).



شکل ۱- منحنی تولید گاز در زمان های مختلف بعد از انکوباسیون

Figure 1. Gas production curves at different times of incubation

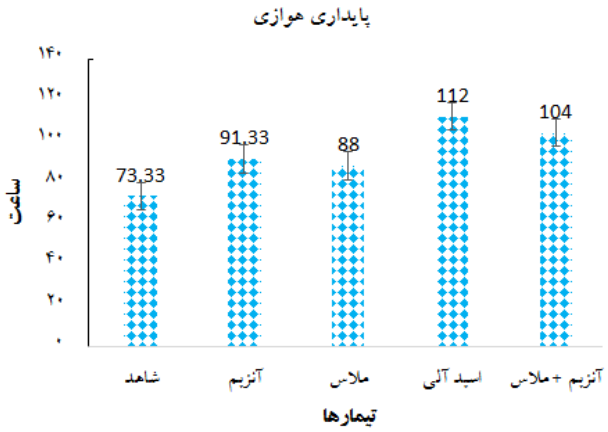
پایداری هوازی و فساد سیلو: نتایج مربوط به تاثیر استفاده از افزودنی‌های مختلف بر روی پایداری هوازی سیلاژ علوفه نخود فرنگی در شکل ۲ نمایش داده شده است. بین تیمارهای آزمایشی از نظر پایداری هوازی اختلاف معنی‌داری وجود دارد ($P<۰/۰۵$). بالاترین و پایین‌ترین پایداری هوازی به ترتیب مربوط به سیلاژهای دارای افزودنی اسید آلی (۱۱۲ ساعت) و شاهد (۷۳/۳۳ ساعت) بودند.

اندازه‌گیری افزایش دمای سیلاژ، سیستم ساده و قابل اطمینان برای تعیین پایداری هوازی می‌باشد و به‌عنوان روشی استاندارد برای ارزیابی سیلو به کار گرفته می‌شود (Roke و Hatfield ، ۲۰۰۳). مدت زمانی که سیلو در طی مرحله برداشت شروع به گرم شدن می‌کند، اصطلاحاً پایداری هوازی نامیده می‌شود. زمانی که سیلو در مجاورت هوا قرار می‌گیرد، کپک‌ها، مخمرها و باکتری‌های هوازی، که در سیلو حضور داشته و با ایجاد شرایط بی‌هوازی در حالت کمون به سر برده‌اند، شروع به رشد و تنفس از باقی‌مانده کربوهیدرات‌ها و اسیدهای آلی می‌کنند. این به نوبه خود موجب بالارفتن pH و دمای سیلو، تعداد کپک‌ها و مخمرها و احتمالاً رشد گونه‌های پاتوژنی و تولید مایکوتوکسین‌ها خواهد شد. فساد هوازی معمولاً

همراه با اتلاف ماده خشک قابل هضم، تولید دی اکسید کربن و کم شدن خوش‌خوراکی سیلو است (Weinberg و همکاران، ۲۰۰۲؛ Muck و Pitt، ۱۹۹۳؛ Pahlow و همکاران، ۲۰۰۳).

در آزمایشگاه، پایداری هوازی به صورت زمان مورد نیاز برای اینکه دمای سیلاژی که در مجاورت هوا قرار گرفته به بیشتر از ۲ درجه (Pitt و همکاران، ۱۹۹۱) دمای محیطی افزایش بیاید، تعریف می‌شود. در بعضی موارد، برای ارزیابی جزئی و دقیق‌تر، سایر شاخص‌ها مثل pH سیلو، جمعیت‌های کپک و مخمر، تولید گاز و غلظت اسیدهای آلی می‌تواند برای ارزیابی کیفیت سیلوهایی که در مجاورت هوازی قرار گرفته استفاده شود. در مجاورت هوا قرار گرفتن می‌تواند زمانی اتفاق می‌افتد که سیلو در طول فاز نگهداری به صورت غلط بسته شده باشد. سیلاژها در طی در معرض هوا قرار گرفتن، تغییرات زیادی را نشان می‌دهند؛ بعضی سیلوها هفته‌ها بدون تاثیر باقی می مانند در صورتی که برخی، کمی بعد از مواجه با هوا شروع به فاسد شدن می‌کنند. فاکتورهای مختلفی از جمله فعالیت غلظت اسیدهای آلی تجزیه نشده، آب و تعداد قارچ و باکتری‌های اسید لاکتیک می‌توانند پایداری هوازی سیلوها را متاثر کنند (Muck و همکاران، ۲۰۰۳).

فساد هوازی سیلوها از جنبه اقتصادی نیز با اهمیت می‌باشد. کاهش پایداری هوازی با اتلاف مواد مغذی خوراک باعث کم شدن مصرف مواد مغذی خوراک و بهره‌وری کمتر از گاوهای گوشتی و گاوهای شیری (Hoffman و Oscar، ۱۹۹۷) می‌شود. گیاه کامل ذرت یک محصول ایده‌آل و مناسب برای نگهداری به‌واسطه سیلوکردن شناخته می‌شود، اما به‌طور طبیعی پایداری هوازی آن در وقت باز کردن سیلو بالا می‌باشد. در تلاش برای تهیه سیلاژی که از نظر هوازی پایدارتر باشد، باید رشد مخمر، باکتری‌های اسید لاکتیکی و قارچ را در نظر داشت. با این حال، انواع دیگر از فاکتورها وجود دارد که فساد هوازی را تحت تاثیر قرار می‌دهد مثل: ماده خشک علوفه‌های سیلو شده، منشاء گیاه، سوبسترای تخمیری و درجه حرارت محیطی (Muck و همکاران، ۲۰۰۳).



شکل ۲- تاثیر استفاده از افزودنی‌های مختلف بر پایداری هوازی سیلاژ نخودفرنگی

Figure 1. Effect of various additives aerobic stability of pea silage

تاثیر افزودنی‌های مختلف بر قابلیت هضم و فراسنجه‌های تخمیری شکمبه‌ای در شرایط برون‌تنی: تأثیر استفاده از افزودنی‌های گوناگون بر قابلیت هضم ماده آلی و ماده خشک، تولید پروتئین میکروبی، بازده تولید گاز و عامل تفکیک سیلاژ نخودفرنگی در جدول ۳ نمایش داده‌شده است. نتایج نشان داد که بین تیمارهای آزمایشی از نظر قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی اختلاف معنی‌داری وجود دارد (P<۰/۰۵). بیشترین و کم‌ترین مقدار قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی به ترتیب مربوط به تیمار آنزیم + ملاس و آنزیم بود. نکته قابل‌توجه استفاده از مخلوط آنزیم+ ملاس باعث اختلاف حدود ۹ درصدی در قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی در مقایسه با تیمار دارای آنزیم شد. ازنظر pH بین تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. پایین‌ترین غلظت نیتروژن آمونیاکی مربوط به تیمارهای شاهد و تیمار آنزیم بود. بین تیمارهای عمل‌آوری شده با ملاس و اسید آلی و ملاس+ اسید آلی از این نظر اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. ازنظر توده میکروبی تولیدشده و عامل تفکیک بین دو سیلاژ اختلاف معنی‌داری وجود داشت (P<۰/۰۵).

در درجه نخست قابلیت هضم خوراک بستگی به ترکیبات آن به‌ویژه دیواره سلولی دارد. الیاف خام بیشترین تأثیر را بر قابلیت هضم یک خوراک داشته و بسته به درجه لیگنینی شدن آن، قابلیت هضم تغییرات زیادی نشان می‌دهد. لیگنین بخش غیرقابل‌هضم بوده و به‌عنوان عامل محدودکننده فعالیت میکروبی، بر روی پلی‌ساکاریدهای دیواره سلولی، محسوب می‌شود. از این رو، دیواره سلولی اثر منفی بر قابلیت هضم دارد (Van Soest، ۱۹۹٤). در این مطالعه، قابلیت هضم ماده آلی و ماده خشک به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر تیمارها قرار گرفت که احتمالاً ناشی از تأثیر افزودنی‌ها بر ترکیبات شیمیایی آن‌ها می‌باشد (Paya و همکاران، ۲۰۰۷). ترکیب شیمیایی غذاهایی نظیر مواد سیلو شده یا علوفه سبز ثبات کمی داشته و لذا نوسانات و تغییرات بیشتری در قابلیت هضم آن‌ها بروز می‌کند.

در این مطالعه قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی تیمار آنزیم + ملاس بالاتر بود. دلیل آن را شاید بتوان به بالاتر بودن مقدار پروتئین خام آن نسبت داد که از طریق فراهمی پروتئین بیشتر برای جمعیت میکروبی، فعالیت تخمیری را تحریک کرده و باعث افزایش گوارش‌پذیری ماده خشک و ماده آلی گردیده است. Iptas و Yavuz (۲۰۰۸) گزارش کردند که ممکن است استفاده از منابع پروتئین حقیقی در جیره نشخوارکنندگان قابلیت هضم الیاف را از راه تولید اسیدهای چرب فرار شاخه‌دار و یا از راه اثر مستقیم خود پپتیدها که به‌طور مستقیم به‌وسیله بعضی از میکروب‌ها مثل باکتروئید رومینوکولا مورداستفاده قرار می‌گیرند، افزایش دهند.

Olivera (۱۹۹۸) عامل تفکیک را که تحت عنوان شاخصی از راندمان ساخت توده میکروبی در شرایط برون‌تنی است (Blummel و Becker، ۱۹۹۷)، به‌صورت نسبتی از سوبسترای تجزیه‌شده به‌شکل حقیقی برحسب میلی‌گرم به حجم گاز تولیدشده در طول زمان انکوباسیون (۲٤ یا ٤۸ ساعت) تعریف کرده است. خوراک‌های با عامل تفکیک بالا به این معنی است که مقدار بیشتری از ماده تجزیه‌شده به‌درون توده میکروبی واردشده است. برای خوراک-های بدون تانن یا متعارف دامنه عامل تفکیک بین ۲/۷٤ تا ٤/٦٥ میلی‌گرم در هر میلی‌لیتر گزارش‌شده است (Blummel و Becker، ۱۹۹۷).

جدول ۳- تأثیر استفاده از افزودنی‌های مختلف بر قابلیت هضم و فراسنجه‌های تخمیری شکمبه‌ای در شرایط برون‌تنی

Table 3. Effects of using different additives on the digestibility of dry matter, organic matter and ruminal fermentation parameters in vitro

EMCP[7]	MCP[6]	PF[5]	Gas yield[4]	NH_3-N	pH	OMD[3]	DMD[2]	تیمارها[1]
0.62^{ab}	154.73^{ab}	6.00^{a}	186.08^{a}	0.84^{b}	6.83	42.3^{ab}	44.40^{a}	شاهد Control
0.64^{a}	170.47a	6.16^{a}	221.52^{a}	0.99^{b}	6.97^{a}	37.6^{b}	38.90^{b}	آنزیم Enzyme
0.56^{bc}	139.53^{bc}	5.05^{b}	218.74^{a}	1.41^{a}	6.84^{a}	42.4^{ab}	44.80^{a}	ملاس Molases
0.65^{a}	167.40^{a}	6.45^{a}	192.25^{a}	1.42^{a}	6.87^{a}	40.2^{b}	42.13^{ab}	اسید آلی Organic Acid
0.55^{c}	125.87^{c}	4.98^{b}	193.67^{a}	1.13^{ab}	6.77^{a}	46.9^{a}	47.13^{a}	آنزیم+ملاس Enzyme+Molases
0.022	8.221	0.312	17.573	0.097	0.064	0.020	0.016	SEM
0.028	0.0152	0.0168	0.512	0.0065	0.349	0.0310	0.0437	Pvalue

[1] شاهد: نخودفرنگی بدون هیچ‌گونه افزودنی، آنزیم: نخودفرنگی + آنزیم فیبرولیتیک ۲ گرم به ازای کیلوگرم ماده خشک)، ملاس: نخود فرنگی + ملاس (۸ درصد)، اسید آلی: نخودفرنگی + افزودنی اسید آلی (ترکیب ۰/۸ درصد اسید فرمیک و یک درصد اسید پروپیونیک، ۲ درصد)، و آنزیم + ملاس: نخودفرنگی + آنزیم+ ملاس (فیبرولیتیک ۲گرم به ازای کیلوگرم ماده خشک + ۸ درصد).

۲- قابلیت هضم ماده خشک (درصد)، ۳- قابلیت هضم ماده آلی، ٤- بازده تولید گاز (میلی‌لیتر)، ٥- عامل تفکیک (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)، ٦- توده میکروبی تولید شده (میلی‌گرم به ازاء گرم ماده خشک) و ۷- بازده توده میکروبی تولید شده. SEM: انحراف معیار میانگین.

در هر ستون، اعداد با حروف غیر مشابه از لحاظ آماری با یکدیگر اختلاف معنی‌دار دارند (P<۰/۰٥).

Control: pea forage without any additives, 2) Enzyme: control + fibrinolytic enzyme (2 grams per kg of dry matter), 3) Molasses: control + molasses (8%), 4) Organic acid: control + organic acid (combination of 0.8 % of formic acid + 1% propionic acid, 2%) and 5) Molasses + fibrinolytic enzyme: control + (2 g/kg DM fibrinolytic enzyme + 8% molasses).

2- Dry Matter Digestibility, 3- Organic Matter Digestibility, 4- Gas Production Efficiency (ml), 5- Partitioning Factor, 6- Microbial biomass, 7- Efficiency of microbial biomass.

Means within a column that do not have a common superscript are significantly different (P<0.05).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این مطالعه نشان داد که استفاده از افزودنی‌های مختلف تأثیر معنی‌داری بر ترکیب شیمیایی و فراسنجه‌های تخمیری سیلاژ علوفه نخودفرنگی داشت. در بین افزودنی‌ها نیز استفاده از افزودنی اسید آلی منجر به بهبود پایداری هوازی و افزودنی ملاس با یا بدون آنزیم منجر به بهبود کیفیت سیلاژ گشت. به‌طورکلی، با در نظر گرفتن ترکیب شیمیایی و مقدار پروتئین خام آن همانند سیلاژ ذرت، همین‌طور پتانسیل مناسب در سیلو شدن می‌توان از آن به‌عنوان منبع علوفه‌ای در تغذیه دام‌ها در نظر گرفت.

منابع

Abarghoei, M., Rouzbehan, Y. and Alipour, D. 2011. Nutritive Value and Silage Characteristics of Whole and Partly Stoned Olive Cakes Treated with Molasses. Journal of Agricultural Science and Technology, 13: 709-716. (In Persian).

Aksu, T., Baytok, E., Karsli, M.A. and Muruz, H. 2006. . Effects of Formic Acid, Molasses and Inoculants Additives on Corn Silage Composition, Organic Matter Digestibility and Microbial Protein Synthesis in Sheep. Small Ruminant Reserch, 61: 29-33.

Arbabi, S., Ghorchi, T. and Naserian, A.A. 2008. The effect of dried citrus pulp, dried beet sugar pulp and wheat straw as silage additives on by-products of orange silage. Asian Journal of Animal Sciences, 2(2): 35-42.

Ashbell, G., Weinberg, Z.G., Azriel, A., Hen, Y. and Horev, B. 1991. A simple system to study the aerobic deterioration of silages. Canadian Agriculture and Engineering, 33: 391-393.

Ayubi Far, M., Gharebash, A., Bayatkouhsar, J. and Farivar, F. 2021. The effect of using different additives on chemical composition, parameters of gas production and digestibility of artichoke silage. Ruminant Research Journal, 9: 3.1-24. (In Persian).

Balabanli, C., Albayrak, S., Turk, M. and Yuksel, O. 2010. A research on determination of hay yields and silage qualities of some vetch + cereal mixtures. Turkish Journal of Field Crops, 15(2): 204-209.

Blummel M. and Becker K. 1997. The degradability characteristics of fifty-four roughages and roughage neutral-detergent fibers as described by *in vitro* gas production and their relationship to voluntary feed intake. British Journal of Nutrition, 77: 757-768.

Blümmel, M. and Ørskov, E.R. 1993 Composition of *In vitro* gas production and nylon bag degradability of roughages in predicting food intake in cattle. Animal Feed Science and Technology, 40: 109-119.

Bouriako, I.A., Shihab, H., Kuri, V. and Margerison, J.K. 2001. Influence of wilting time on silage compositional quality and microbiology of grass clover mixtures. Proceedings of the British Society of Animal Science, 88: 102-108.

Broderik, G.A. and 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

Buxton, D.R., Muck, R.E. and Harrison, J.H. 2003. Silage Science and Technology. American Society of Agronomy, Inc., Crop Science Society of America, Inc., Soil Science Society of America, Inc. Publications, Madison, WI.

Dean, D.B., Adesogan,A.T., Krueger, N. and Littell, C. 2005a. Effect of fibrolytic enzymes on the fermentation characteristics, aerobic stability, and digestibility of bermudagrass silage. Journal of Dairy Science, 88: 994-1003.

Denek, N. and Can, A. 2006. Feeding value of wet tomato pomace ensiled with wheat straw and wheat grain for Awassi sheep. Small Ruminant Research, 65(3): 260-265.

Ely, L. 1978. In fermentation of silage–a Review (M E. Mc Cullough, ed). Journal of National Feed Ingredients Association, 235-280.

Elzebroek, T. and Wind, K. 2008. Guide to cultivated plants. CAB International, Oxfordshire, UK.

Fallah, S., Susan, B. and Ali, A.S. 2014. Evaluation of competitive and economic indices in canola and pea intercropping at different rates of nitrogen fertilizer. Journal of Agroecology, 6(3): 571-581. (In Persian).

FAO. FAOSTAT statistical database. Rome. 2015. Available from: URL, faostat.fao.org.

Getachew, G., Blummel, M., Makkar, H.P.S. and Becker, K. 1998. *In vitro* gas measuring techniques for assessment of nutritional quality of feeds. a review. Animal Feed Science and Technology, 72: 261-281.

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

Hedayati poor, A., Khorvash, M., Ghorbani, Gh.R. and Al-Modarres, A. 2012. Comparison of chemical characteristics and degradability of kinds of forage and silage sorghum by corn silage in *In vitro* and nylon bag. Iran Journal Animal Science Research, 4: 224-232. (In Persian).

Higginbotham, G.E., Mueelier, S.C., Collar, C.A., Schultz, T.A., Brazle, F.K. and Bush, L.J. 2004. Effects of an enzyme addition on corn silage fermentation. The Professional Animal Scientist, 10 (4): 163-168.

Kavian, A., Abbasi, A., Gharehbash, A., Pasandi, M. and Kamali, R. 2005. Pea production waste and its feeding value (chemical composition and *In vivo* digestibility). 2*nd* national simposium on losser of agricultural product. 662-674.

Kennedy, S.J. 1990. Comprison of the fermentation quality and nutritive value of sulphuric and formic acid-treated silages feed to beef cattle. Grass and forage Science, 45: 17-28.

Kung, L. and Ranjit, N.K. 2001. The effect of *Lactobacillus buchneri* and other additives on fermentation and aerobic stability of barley silage. Journal of Dairy Science, 84: 1149-1155.

Kung, L., Stokes, M.R. and Lin, C.J. 2003. Silages additives. Page 305 in D. R. Buxton, R. R. Muck and J. R. Harrison, eds. Silage science and technology. Agronomy monograph, No. 42, Madison, WI.

McDonald P., Henderson A.R., Heron S.J.E. 1991. The Biochemistry of Silage. Chalcombe Publications, 13 Highwoods drive, Marlow Bottom, Marlow, Bucks, and UK.

Menke, K.H. and Steingass, H. 1988. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and gas production using rumen fluid. Journal Animal Research Development, 28: 7-55.

Menke, K.H., Raab, L., Salewski, A., Steingass, H., Fritz, D. and Schneider, W. 1979. The estimation of the digestibility and metabolisable energy content of ruminant feedingstuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor *in vitro.* The Journal of Agricultural Science, 93: 217-222.

Muck, R. E., Moser, L.E. and Pitt, R.E. 2003. Post harvest factors affecting ensiling .Pages 251-304 in Silage Science and Technology. D. R. Buxton, R. E. Muck. and J. H. Harrison, ed. American Society of Agronomy, Inc., Crop Science Society of America, Inc., Soil Science Society of America, Inc. Publications, Madison, WI.

Muck, R.E. and Bolsen, K.K. 1991. Silage preservation and silage additive products. Page 105 in Field Guide for Hay and Silage Management in North America. K. K. Bolsen, J. E. Baylor, and M. E. McCullough, eds. Natl. Feed Ingred. Assoc., West Des Moines, IA.

Muck, R.E. and Pitt, R.E. 1993.Proceedings of National Silage Production Conference, Syracuse, New York, p. 55-56.

National Research Council (NRC). 2001. Nutrient requirements of dairy cattle. 7th ed. National Academy Press, Washington, DC, USA.

Nie, H., Wang, Z., You, J., Zhu, G., Wang, H. and Wang, F. 2020. Comparison of *in vitro* digestibility and chemical composition among four crop straws treated by *Pleurotus ostreatus*. Asian-Australian Journal of Animal Sciences, 33: 24-34.

Olivera, R.M. 1998. Use of *in vitro* gas production technique to assess the contribution of both soluble and insoluble fractions on the nutritive value of forages. A thesis submitted to the University of Aberdeen, Scotland, in partial fulfilment of the degree of Master of Science in Animal Nutrition.

Ozkul, H., Kilic, A. and Polat, M. 2011. Evaluation of mixtures of certain market wastes as silage. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences, 24(9): 1243-1248.

Pahlow, G., Muck, R.E., Driehuis, F., Elfrink, S.J. and Spolestra, S. 2003. Microbiology of Ensiling. In: Buxton. Eds. D. R., Muck, R, E and Harrison, J. H., Silage Science and Technology. ASA.

Paya, H., Taghizadeh. A., Janmohammadi, H. and Moghadam, G.A. 2007. Nutrient Digestibility and Gas production of some Tropical Feeds Used in Ruminant Diets Estimated by the *in vivo* and *in vitro* Gas production Techniques. American Journal of Animal and Veterinary Sciences, 2(4): 108-113.

Pettersson, K. and Lindgren, S. 1989. The influence of the carbohydrate fraction and additives on silage quality. Grass and Forage Science, 45: 223.

Phllip, L.E., Underhill, L. and Garino, H. 1990. Effects of treating Lucerne with an inoculums of lactic acid bacteria or formic acid upon chemical changes during fermentation, and upon the nutritive value of the silage for lambs. Grass and Forage Science, 45: 337-348.

Pitt, R.E., Liu, Y. and Muck R.E. 1991. Stimulation of the effect of additives on aerobic stability of alfalfa and corn silages. American Society of Agricultural and Biological Engineers, 34:1633-1641.

Sandoval Castro, C.A., MagaSevilla, H., Capetillo Leal, C. and DeBHovell, F.D. 2000. Comparison of charcoal and polyethylene glycol (PEG) for neutralizing tannin activity with an *in vitro* gas production technique. An EAAP Satellite symposium. Wageningen International Conference Centre.The Netherlands, 18-19August: 109-110.

Saravani, M., Jalilund, Gh., Shojaian, K., Youssef Elhahi, M. and Hormazipur, H. 2010. Determining the nutritional value of Oyarsalam fodder ensiled with urea and molasses using the gas production test. The 4th Congress of Animal Sciences of Iran. University of Tehran, 1389. (In Persian).

Sheperd, A.C. and Kung Jr, L. 1996. An enzyme additive for corn silage: effects on silage composition and animal performance. Journal of Dairy Science, 79: 1760-1766.

Sommart, K., Parker, D.S., Rowlinson, P. and Wanapat, M. 2000. Fermentation characteristics and microbial protein synthesis in an *in vitro* system using cassava, rice straw and dried ruzi grass as substrates. Asian-Australian Journal Animal Science, 13: 1084-1093.

Stokes, M.R. and Chen, J. 1994. Effects of enzyme inoculant mixture on the course of fermentation of corn silage. Journal of Dairy Science, 77:3401.

Theodorou, M.K., Williams, B.A., Dhanoa, M.S., McAllan, A.B. and France, J. 1994. A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. Animal Feed Science and Technology, 48: 185-197.

Thomas, P., Chamberlain, D., Kelly, N. and Wait, M. 1980. The nutritive value of silages digestion of nitrogenous constituents in sheep receiving diets of grass silage and grass silage and barley. British Journal of Nutrition, 43(3):469-479.

Valizadeh, R., Abbas Ali, N. and Abtain, A.F. 2003. Biochemistry of silage. Publications of Ferdowsi University of Mashhad. Page 413.

Van Soest, P.J. 1994. Nutritional Ecology of the Ruminants, 2th Edition, Comstock Cornell University Press, USA.

Weinberg, Z.G., Ashbell, G., Hen, Y., Azrieli, A., Szakkacs, G. and Filya, I. 2002. Ensiling whole-crop wheat and corn in large containers with *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus buchneri*. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology, 28: 7-11.

Wolin, M. J. 1988. A theoretical rumen fermentation balance. Journal of Dairy Science, 43:1452-1459.

Yokota, H., Kim, J.H., Okajima, T. and Ohshima, M. 1992. Nutritional quality of Wilted napier grass ensiled with or without molasses. Asian-Australian Journal Animal Science, 5: 673.