
Effect of bacterial inoculant and acetic acid on chemical compositions, fermentation characteristics and digestibility of tomato pomace and pumpkin waste silage in ruminant nutrition

**Esmail Ganji Jameh Shooran^{1*}, Javad Bayat Kouhsar², Neda Farzin¹,
Abolghasem Seraj¹, Sona Akhondnejad¹**

¹Assistant Professor, Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Azadshahr Branch, Islamic Azad University, Azadshahr, Iran, Email: esmaelganji@gmail.com

²Assistant Professor, Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Gonbad Kavous University, Gonbad Kavous, Iran

Article Info

Article type:
Research Full Paper

Article history:
Received: 06/07/2023
Revised: 12/11/2023
Accepted: 12/12/2023

Keywords:
Acetic Acids
Bacterial Inoculant
Fermentation
Pumpkin Waste Silage
Tomato Pomace Silage

Abstract

Background and objectives: In recent years, due to human concerns about the emergence of antibiotic-resistant bacteria strain, especial attention has been paid to plant essential oil and extracts as replacer for growth promoter antibiotics. The results of *in vitro* studies have shown that essential oils and their constituents have the potential to alter ruminal fermentation and improve energy utilization in ruminants. One of the plants that have been recently considered is cinnamon with the scientific name of *Cinnamomum verum*. Therefore, this experiment was performed to investigate the effect of cinnamon essential oil on performance, nutrient digestibility and rumen fermentation in feedlot lambs.

Background and Objectives: Considering the characteristics of tomato pomace, which contains high amounts of crude protein, as well as pumpkin waste (including skin and fruit), which contain high amounts of soluble carbohydrates as an energy source, the combination of these two is better for preparing silage. It can support the fermentation process in silage. The purpose of this study was to investigate the effect of the use of bacterial and acidic additives on chemical acids, fermentation properties and digestibility in tomato pomace silage and pumpkin waste.

Material and Methods: Representative of samples were packed manually, in triplicate into plastic bags and were stored at ambient temperature and allowed to ensiled for 90 days. The following treatments were applied to the forage samples: 1) tomato pomace and pumpkin waste silage mix (50:50), without any additives (control), 2) control + LAB made inoculant (8×10^9 CFU/ml), 3) control + organic acid and 4) control + organic acid + LAB made inoculants.

Results: The results showed that there was a significant effect between the treatments in terms of dry matter in 45 days ($P < 0.05$). The highest was observed on the 45th day in the 24.38 acid treatment. There was no significant effect between the treatments in terms of crude protein, neutral detergent fiber and acid detergent fiber ($P > 0.05$). But, as days passed after ensiling crude protein, neutral detergent fiber and acid detergent fiber decreased. A significant difference was observed in the amount of ammonia nitrogen between the experimental treatments 45 days after ensiling ($P < 0.05$), which was the highest on the 90th day of 2.50 in the bacterial treatment and the lowest on the 1st day in the acid treatment of 0.20. The pH value of different silages during the time after ensiling was not affected by the experimental treatments. The lowest pH value (3.85) was observed on the 90th day after ensiling in silage with added bacteria.

As the time after ensiling increased, the pH decreased. Flake point was significant in all treatments and all days ($P<0.05$). The lowest was observed on the 1st day of 49.08 in the control treatment and the highest was observed on the 45th day of 93.86 in the bacterial treatment. There was no significant effect between treatments in terms of dry and organic matter digestibility, parsing factor, microbial mass production and gas production efficiency ($P>0.05$). However, the highest and lowest digestibility of dry and organic matter were related to treatments 2 and 1, respectively. In terms of microbial protein production efficiency, the difference was statistically significant ($P<0.05$). The pH value at the end of the period was significant ($P<0.05$), and all the treatments had lower pH compared to the control. Also, the amount of ammonia nitrogen at the end of the period was significant ($P<0.05$) and the highest ammonia nitrogen belonged to the control.

Conclusion: In general, the results showed that the use of different additives did not have a significant effect on the nutritional value of the mixed silage of tomato pomace and pumpkin waste compared to the control treatment. Considering the cost of adding additives, as well as having information and technical knowledge regarding additives, it is recommended to consume tomato pomace and pumpkin waste without adding any additives.

Cite this article: Ganji Jameh Shooran, E., Bayat Kouhsar, J., Farzin, N., Sedraj, A.Gh., Akhondnejad, S. (2023). Effect of bacterial inoculant and acetic acid on chemical compositions, fermentation characteristics and digestibility of tomato pomace and pumpkin waste silage in ruminant nutrition. *Journal of Ruminant Research*, 12(1), 17-34.



© The Author(s).

DOI: 10.22069/ejrr.2023.21426.1902

Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

تأثیر افزودنی باکتریایی و اسید استیک بر ترکیبات شیمیایی، فراسنجه‌های تخمیر و قابلیت هضم سیلاژ تفاله گوجه‌فرنگی و کدو آجیلی

اسماعیل گنجی جامه شوران^{۱*}، جواد بیات کوهسار^۱، ندا فرزین^۱، ابوالقاسم سراج^۱، سونا آخوندنژاد^۱

^۱استادیار گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی واحد آزادشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، آزادشهر، ایران. رایانامه: esmaeilganji@gmail.com
استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبدکاووس، گنبدکاووس، ایران

اطلاعات مقاله	چکیده
نوع مقاله: مقاله کامل علمی- پژوهشی	سابقه و هدف: با توجه به خصوصیات تفاله گوجه‌فرنگی که حاوی مقادیر بالای پروتئین خام بوده و همچنین بقایای کدو آجیلی (شامل پوست و میوه) که حاوی مقادیر بالای کربوهیدرات محلول به‌عنوان منبع انرژی بوده، ترکیب این دو در تهیه سیلاژ بهتر می‌تواند از روند تخمیر در سیلو حمایت کند. هدف از انجام این مطالعه، بررسی تأثیر استفاده از افزودنی‌های باکتریایی و اسیدی بر ترکیبات شیمیایی، خصوصیات تخمیر و قابلیت هضم در سیلاژ تفاله گوجه‌فرنگی و بقایای کدو آجیلی بود.
تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۳/۱۷ تاریخ ویرایش: ۱۴۰۲/۹/۲۰ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۹/۲۱	مواد و روش‌ها: تیمارهای آزمایشی در سه تکرار در کیسه‌های نایلونی به وزن ۳ کیلوگرم به صورت دستی فشرده و به مدت ۹۰ روز سیلو شدند. داده‌های حاصل از این پژوهش در قالب طرح کاملاً تصادفی تجزیه شدند. تجزیه و تحلیل آماری و مقایسه میانگین‌ها به روش دانکن انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل: (۱) مخلوط تفاله گوجه‌فرنگی و بقایای کدو آجیلی به نسبت ۱:۱ (به‌عنوان شاهد)، (۲) شاهد + افزودنی باکتریایی تولیدشده در آزمایشگاه، (۳) شاهد + اسیداستیک و (۴) شاهد + اسیداستیک + افزودنی باکتریایی بودند.
واژه‌های کلیدی: اسید استیک باکتری‌های مولد اسیدلاکتیک تخمیر سیلاژ بقایای کدو آجیلی سیلاژ تفاله گوجه‌فرنگی	یافته‌ها: نتایج نشان داد بین تیمارها از نظر ماده خشک در روز ۱۴۵ پس از سیلو کردن اختلاف آماری معنی‌داری وجود داشت ($P < 0/05$) که بالاترین در روز ۱۴۵ در گروه اسید ۲۴/۳۸ مشاهده شد. بین تیمارها از نظر پروتئین خام، الیاف نامحلول در شوینده خنثی و اسیدی اثر معنی‌داری وجود نداشت ($P > 0/05$)؛ اما با گذشت روزهای پس از سیلو کردن پروتئین خام، الیاف نامحلول در شوینده خنثی و اسیدی روند کاهشی داشتند. مقدار نیتروژن آمونیاکی بین تیمارهای آزمایشی در روز ۴۵ بعد از سیلو کردن اختلاف معنی‌داری مشاهده شد ($P < 0/05$) که بالاترین در روز ۹۰ ام ۲/۵۰ در تیمار باکتری و پایین‌ترین در روز ۱۱ ام ۰/۲۰ در تیمار اسید مشاهده شد. مقدار pH در سیلاژهای مختلف در طول زمان پس از سیلو کردن تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت. پایین‌ترین مقدار pH (۳/۸۵) در روز ۹۰ پس از سیلو کردن در سیلاژ دارای افزودنی باکتری مشاهده شد. با افزایش زمان پس از سیلو کردن، مقدار pH روند کاهشی داشت، نقطه فلیک در تمام تیمارها و در تمام روزها معنی‌دار بود ($P < 0/05$) که پایین-

ترین در روز ۱۱م ۴۹/۰۸ در تیمار شاهد و بالاترین در روز ۱۴۵م ۹۳/۸۶ در تیمار باکتری مشاهده شد. بین تیمارها از نظر قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی، عامل تفکیک، تولید توده میکروبی و بازده تولید گاز اثر معنی‌داری وجود نداشت ($P > 0.05$). با این حال بالاترین و پایین‌ترین قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی به ترتیب مربوط به تیمارهای باکتری و شاهد بود. از نظر بازده تولید پروتئین میکروبی اختلاف آماری معنی‌دار بود ($P < 0.05$). میزان pH در انتهای دوره معنی‌دار بود ($P < 0.05$) و تمام تیمارها نسبت به شاهد pH پایین‌تری داشتند. هم‌چنین میزان ازت آمونیاکی در انتهای دوره معنی‌دار بود ($P < 0.05$) و بالاترین ازت آمونیاکی متعلق به شاهد بود.

نتیجه‌گیری: به‌طور کلی، نتایج نشان داد با افزایش زمان‌های پس از سیلو کردن، مقدار پروتئین خام، الیاف نامحلول در شوینده خنثی و اسیدی و pH کاهش ولی مقدار نیتروژن آمونیاکی افزایش یافت. در کل استفاده از افزودنی‌های مختلف در مقایسه با گروه شاهد تأثیر قابل‌ملاحظه‌ای بر ارزش تغذیه‌ای سیلاژ مخلوط تفاله گوجه‌فرنگی و ضایعات کدو آجیلی نداشتند و با توجه به هزینه افزودن افزودنی‌ها و هم‌چنین داشتن اطلاعات و دانش فنی در ارتباط با افزودنی‌ها، توصیه می‌شود تفاله گوجه‌فرنگی و بقایای کدو آجیلی بدون افزودن هرگونه افزودنی مصرف گردد.

استناد: جامه شوران، ا.، بیات، ج.، فرزین، ن.، سراج، ا.، آخوندنژاد، س. (۱۴۰۳). تأثیر افزودنی باکتریایی و اسید استیک بر ترکیبات شیمیایی، فراسنجه‌های تخمیر و قابلیت هضم سیلاژ تفاله گوجه‌فرنگی و کدو آجیلی. پژوهش در نشخوارکنندگان، ۱۲(۱)، ۳۴-۱۷.

DOI: 10.22069/ejrr.2023.21426.1902



© نویسندگان.

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

مقدمه

افزایش نقش تغذیه در اقتصاد دام پروری، باعث - شده متخصصین علوم دامی برای شناسایی ارزش غذایی خوراک‌ها و تعیین احتیاجات غذایی حیوانات مزرعه‌ای تحقیقات زیادی انجام دهند و در تغذیه دام از پسماندهای کشاورزی بهره ببرند (Kizilsimsek و همکاران، ۲۰۰۷). در سالیان گذشته استفاده از محصولات فرعی کشاورزی و صنایع غذایی به‌عنوان یکی از جایگزین‌های خوراک دام مورد توجه قرار گرفته است (Robinson و Bampidis، ۲۰۰۶). پسماندهای کشاورزی به‌عنوان خوراک دام، نه تنها باعث کاهش وابستگی دام به غلاتی می‌شود که به مصرف انسان می‌رسد بلکه باعث جلوگیری از آلودگی زیست‌محیطی حاصل از انباشت این پسماندها می‌گردد (Grasser و همکاران، ۱۹۹۵).

در کشور ما علاوه بر کمبود تولید علوفه، تأخیر در برداشت، فاسدشدن علوفه برداشت‌شده، خشک کردن علوفه در زیر تابش شدید آفتاب و بارندگی مقادیر زیادی از علوفه تولیدی از بین می‌رود (Karimi، ۱۹۹۰). تحقیقات نشان داد سیلو کردن فرآورده‌های فرعی مناسب‌ترین روش حفاظت از آن‌ها برای مدت طولانی است و از بروز این آسیب‌ها جلوگیری می‌کند. اکثر حیوانات بالأخص نشخوارکنندگان توانایی استفاده از لیاف را به دلیل وجود میکروارگانیسم‌های شکمبه دارا هستند و به همین دلیل می‌توان این پسماندها را در جیره‌ی آن‌ها استفاده نمود (Mussatto و همکاران، ۲۰۰۶).

هدف اصلی از حفظ هر محصول زراعی، نگهداری آن در شرایط مطلوب رشد برای استفاده در فصولی است که این محصول وجود ندارد. مسئله تهیه و تأمین خوراک مرغوب و با ارزش به‌خصوص مناسب برای فصل زمستان از مسائل مهم در یک واحد دامداری است. در کشورهایی که فصل رشد محدود

بوده، علوفه خشک و سیلاژ نقش مهمی در تأمین منابع غذایی نشخوارکنندگان دارد (Buxton و همکاران، ۲۰۰۳). سیلو کردن، یک روش معمول برای نگهداری علوفه‌های مرطوب و پسماندهای غذایی است (Filya و همکاران، ۲۰۰۰). به‌منظور کمک در فرآیند تخمیر، مواد افزودنی گوناگونی مورد استفاده قرار می‌گیرد که به بهبود حفظ مواد مغذی و بازیافت انرژی در سیلو کمک می‌کند و متعاقباً باعث بهبود در عملکرد حیوان می‌شود (Muck و Kung، ۱۹۹۷). مثلاً در اثر فعالیت باکتری‌های مولد اسیدلاکتیک تحت شرایط بی‌هوازی، کربوهیدرات‌های محلول در آب علوفه به اسیدهای آلی عمدتاً اسیدلاکتیک تبدیل و باعث کاهش pH و در نتیجه از فساد میکروبی علوفه جلوگیری می‌شود (Filya و همکاران، ۲۰۰۰). به‌کار بردن باکتری‌ها به‌عنوان افزودنی در مقایسه با استفاده از اسیدها بی‌خطر بوده و سبب خوردگی ماشین‌آلات نمی‌شود و از این‌رو توجه دامداران به آن جلب شده است (McDonald و همکاران، ۱۹۹۱). جمعیت باکتری‌های مولد اسیدلاکتیک موجود بر روی گیاهان اغلب کم است و ممکن است باکتری‌های هترولاکتیک غالب و بیش‌تر از باکتری‌های همولاکتیک باشند. تعداد ناکافی باکتری‌های مولد اسیدلاکتیک همگن زنده بر روی محصولات برداشت‌شده، می‌تواند موجب تأخیر در کاهش pH مواد گیاهی طی سیلو کردن، افزایش هدر رفتن مواد غذایی و تولید علوفه سیلو شده‌ای شود که موجب کاهش مصرف مواد خشک توسط دام گردد (Buxton و همکاران، ۲۰۰۳).

اسیدها برای کاهش سریع اسیدیته یا افزایش طول عمر سیلاژ به علوفه سیلویی افزوده می‌شوند. اسیدها شامل اسیدهای آلی و اسیدهای معدنی می‌باشند. استفاده از این افزودنی‌ها در سیلاژهای با پروتئین بالا میزان تخمیر را کاهش داده و تولید اسید استیک و

نسبت ۱:۱ (به‌عنوان شاهد)، ۲) شاهد + افزودنی باکتریایی (شامل مخلوطی از لاکتوباسیلوس-اسیدوفیلوس، لاکتوباسیلوس کازئی، لاکتوباسیلوس-پلاننتاروم، انتروکوکوس فوزیوم و پدیوکوکوس پنتوزاسئوس) تولیدشده در آزمایشگاه (۸×۱۰^{۱۰} واحد تشکیل کلونی^۱ در هر گرم، یک میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم ماده خشک)، ۳) شاهد + اسید آلی (۱ درصد)، ۴) شاهد + اسید آلی + افزودنی باکتریایی، بودند. پس از حل شدن افزودنی‌ها در آب یون‌زدایی شده، سپس روی علوفه اسپری شد. برای گروه شاهد هم مقادیر مساوی از آب یون‌زدایی شده اسپری شد. سیلوهای پر شده پلاستیکی به مدت ۹۰ روز به شکل کاملاً بسته و در دمای اتاق نگهداری شدند. در سیلوها پس از سپری شدن زمان معین، باز و نمونه‌ها با هم مخلوط گردید و در نهایت از سطوح پایینی، میانی و بالایی هر ماده سیلو شده نمونه‌برداری گردید.

آماده‌سازی تلقیح باکتریایی: تلقیح باکتریایی شامل مخلوطی از لاکتوباسیلوس کازئی PTCC ۱۶۰۸، لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس PTCC ۱۶۴۳، لاکتوباسیلوس پلاننتاروم PTCC ۱۰۵۸، پدیوکوکوس پنتوزاسئوس PTCC ۱۴۲۶ و انتروکوکوس فوزیوم PTCC ۱۲۳۸ بود؛ که از سازمان علمی صنعتی ایران تهیه شد. کشت‌های خالص باکتریایی در درون ظروف شیشه‌ای قرار گرفته و به‌صورت انفرادی در لوله‌های حاوی ۱۰ سی‌سی از محیط کشت ام آر اس^۲ برات (مرک آلمان^۳) بعد از کشت لوله‌ها به مدت ۲۴ ساعت در درجه حرارت ۳۷ درجه سلسیوس انکوباسیون شدند. از روش پلت کانت برای شمارش جمعیت کشت‌های باکتریایی بعد از انکوباسیون استفاده شد. ابتدا رقت‌های مختلفی تا ۱۰ برابر (محلول استریل-

اسیدسیتریک و رشد باکتری‌های پروتئولیتیک را کاهش می‌دهند (Flork و همکاران، ۲۰۰۴). استفاده از افزودنی اسیدی با کاهش pH، باکتری‌ها را به مرحله تثبیت رسانده و از رشد کپک‌ها و مخمرها جلوگیری نموده و بدین ترتیب باعث بهبود روند تخمیر در سیلو می‌گردد (Baytok و همکاران، ۲۰۰۵). به نظر می‌رسد با توجه به خصوصیات تفاله گوجه‌فرنگی و بقایای کدو آجیلی، از نظر مقدار پروتئین خام و کربوهیدرات‌های محلول به‌عنوان منبع انرژی، ترکیب این دو در تهیه سیلاژ بهتر بتواند از روند تخمیر در سیلو حمایت کند. لذا، هدف از انجام این مطالعه، بررسی تأثیر استفاده از افزودنی‌های باکتریایی و اسیدی بر ترکیبات شیمیایی، خصوصیات تخمیر و قابلیت هضم در سیلاژ تفاله گوجه‌فرنگی و بقایای کدو آجیلی بود.

مواد و روش‌ها

تهیه سیلو: بقایای کدو آجیلی از مزارع استان گلستان و تفاله گوجه‌فرنگی موردنیاز از کارخانه رب گوجه‌فرنگی دلد تهیه گردید. بقایای کدو آجیلی پس از جدا کردن دانه به ذراتی به اندازه‌های ۲ تا ۳ سانتی-متری برش خورده و نمونه‌ها به‌سرعت جهت آماده سازی سیلوی آزمایشگاهی به آزمایشگاه تغذیه دام، دانشکده کشاورزی گنبدکاووس برای تهیه سیلاژ فرستاده شد.

بقایای کدو آجیلی و تفاله گوجه‌فرنگی جهت رسیدن به ماده خشک مطلوب به مدت حدود ۴ ساعت در آزمایشگاه پژمرده شدند. جهت تهیه سیلوهای آزمایشگاهی، ابتدا بقایای کدو آجیلی و تفاله گوجه‌فرنگی با نسبت ۱:۱ به‌خوبی باهم مخلوط گردیدند و در کیسه‌های پلاستیکی در سه تکرار به شکل دستی فشرده و سیلو گردیدند. تیمارها شامل: ۱) مخلوط بقایای کدو آجیلی و تفاله گوجه‌فرنگی به-

¹ CFU: Colont Forming Unit

² MRS

³ Germany Merck

$$20 + \left[\left(2 \times \text{درصد ماده خشک} \right) - 2 \right] - \left[15 \right] - (40 \times \text{pH})$$

فلیگ یک رابطه مثبت بین این شاخص و کیفیت سیلو بیان می‌کند.

برآورد قابلیت هضم در شرایط برون‌تنی: قابلیت هضم تیمارهای مختلف بر اساس روش کشت بسته تئودورو اندازه‌گیری شد (Theodorou و همکاران، ۱۹۹۴). برای این کار، نمونه‌ها ابتدا به ذراتی به قطر یک میلی‌متر آسیاب و در نهایت خشک شدند. در آزمایش تعیین قابلیت هضم به روش منک، میزان ۰/۵ گرم از هر نمونه داخل هر یک از ظروف شیشه‌ای - ریخته و سپس ۵۰ سی‌سی از مخلوط بزاق مصنوعی و مایع شکمبه به نسبت ۲ به ۱ (۲ حجم بزاق مصنوعی و ۱ حجم مایع شکمبه) داخل هر ظرف شیشه‌ای افزوده شد (Menke و همکاران، ۱۹۷۹). در ادامه داخل هرکدام از ظروف شیشه‌ای به مدت ۱۰ ثانیه گاز دی‌اکسید کربن تزریق کرده و درب آن توسط درب - لاستیکی و درپوش آلومینیمی به‌طور کامل بسته شد. ظروف شیشه‌ای بعد از قرار گرفتن داخل بن‌ماری با دمای ۳۹ درجه سلسیوس در موقعیت‌های زمانی خاص و مساوی تکان داده شدند. همه ظروف شیشه‌ای بعد از گذشت ۲۴ ساعت از بن‌ماری خارج و به ظرف حاوی یخ منتقل شدند و با استفاده از پارچه مخصوص نمونه‌های موجود در هر ظرف شیشه‌ای ابتدا صاف‌شده و سپس باقی‌مانده گوارش نشده از فاز مایع جدا شد. در نهایت pH فاز مایع نمونه‌ها اندازه‌گیری شد. بخش باقی‌مانده گوارش نشده هر ظرف شیشه‌ای جمع‌آوری و داخل کروزه‌های با وزن معین منتقل شد. کروزه‌ها در آن با دمای ۶۰ درجه سلسیوس به مدت ۴۸ ساعت قرارگرفت تا این‌که وزن خشک نمونه‌های حذف شده مشخص گردد و

سیلین) تهیه و رقت‌های ۶ تا ۱۰ روی پلت‌های حاوی محیط کشت به‌علاوه ۱/۵ درصد آگار کشت داده‌شده و در انکوباتور به مدت ۲۴ ساعت گذاشته شدند (Adesogan و همکاران، ۲۰۰۴).

تعیین ترکیب شیمیایی و خصوصیات تخمیر: به‌منظور اندازه‌گیری pH نمونه‌های سیلو شده، ۵۰ گرم از هر نمونه با ۴۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر توسط یک مخلوط‌کن هموژنیزه شد. پس از صاف نمودن عصاره حاصل، pH آن بلافاصله با استفاده از دستگاه pH متر الکترونیکی (مدل ۶۹۱، شرکت متروم^۱) ثبت شد. برای تعیین نیتروژن آمونیاکی، مقدار ۱۰ میلی‌لیتر از نمونه عصاره صاف‌شده گرفته و معادل حجم آن اسیدکلریدریک ۰/۲ نرمال افزوده و در فریزر با دمای ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری شد. مقدار ۱۰۰ گرم از هر نمونه جهت تعیین درصد ماده خشک در آن (دمای ۱۰۵ درجه سلسیوس) به مدت ۴۸ ساعت قرار داده شد. به‌منظور تهیه مخلوطی یکنواخت، نمونه‌های علوفه سیلو شده پس از خشک‌کردن با استفاده از آسیاب با توری یک میلی‌متر آسیاب شدند. ترکیبات شیمیایی شامل مقدار ماده خشک و پروتئین خام طبق روش‌های استاندارد (AOAC (۲۰۰۵)، الیاف نامحلول در شوینده خنثی و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی بر اساس روش ون‌سوست (۱۹۹۴) بدون استفاده از آمیلاز مقاوم به حرارت تعیین شد. میزان نیتروژن - آمونیاکی نمونه‌ها با استفاده از روش فنل‌هیپوکلریت تعیین گردید (Kang و Broderick، ۱۹۸۱). بدین منظور از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۳۰ نانومتر جهت قرائت جذب نوری استفاده شد. جهت ارزیابی کیفیت سیلوه‌ها با استفاده از شاخص فلیگ از فرمول زیر استفاده شد:

² Fleig Point

¹ Metrohm

در نهایت به مدت ۶ ساعت کروزه‌های حاوی باقی‌مانده مواد گوارش نشده در کوره با دمای ۵۵۰ درجه سلسیوس قرار گرفت. این عمل جهت به دست آوردن مقدار خاکستر خام مواد گوارش نشده باقی‌مانده در کروزه‌ها صورت گرفت. توده میکروبی تولیدشده با استفاده از معادله پیشنهادی Blummel و همکاران (۱۹۹۷) محاسبه گردید.

توده میکروبی = MB

میزان تولید گاز خالص بعد از ۲۴ ساعت (میلی‌لیتر) = GP
عامل تفکیک (میلی‌گرم در میلی‌لیتر) = PF

عامل تفکیک برابر با نسبت میلی‌گرم ماده آلی حقیقی حذف‌شده بر میلی‌لیتر حجم گاز خالص تولیدی می‌باشد. بازده از طریق تقسیم توده میکروبی تولیدشده بر مقدار ماده آلی حقیقی قابل تخمیر میزان توده میکروبی در پایان زمان انکوباسیون (۲۴ ساعت) محاسبه گردید. آنالیز داده‌های حاصل با رویه GLM نرم‌افزار آماری SAS (۲۰۰۳) نسخه ۹/۱ در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. تجزیه و تحلیل آماری و مقایسه میانگین‌ها به روش دانکن انجام شد.

$$Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij}$$

که در آن Y_{ij} مقدار مشاهده مربوط به تیمار i در تکرار j ، μ میانگین جامعه، T_i اثر تیمار و e_{ij} خطای آزمایشی مربوط به مشاهده تیمار i در تکرار j است.

نتایج

تأثیر استفاده از افزودنی باکتری‌های مولد اسیدلاکتیک و اسید آلی بر ترکیب سیلاژ مخلوط

بقایای کدو آجیلی و تفاله گوجه‌فرنگی در جدول ۱ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که بین تیمارهای عمل‌آوری شده از نظر مقدار ماده خشک اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ($P > 0.05$). فقط در تیمارهای روز ۴۵ پس از سیلو کردن اختلاف معنی‌داری مشاهده شد. با افزایش زمان پس از سیلو کردن، مقدار ماده خشک سیلاژها از روند خاصی تبعیت نمی‌کرد. مقدار پروتئین خام (۲٪) سیلاژ (هیلدین‌رگیم) تیمار MB مختلف اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ($P > 0.05$) و تحت تأثیر تیمارها قرار نگرفت. با گذشت زمان مقدار پروتئین خام روند کاهشی داشت و بیش‌ترین کاهش در مقدار پروتئین خام، در گروه شاهد (۳/۷۵ درصد) مشاهده شد.

مقدار الیاف نامحلول در شوینده خنثی در بین تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ($P > 0.05$). با این حال با افزایش زمان پس از سیلو کردن مقدار الیاف نامحلول در شوینده خنثی روند کاهشی داشت، بالاترین و پایین‌ترین مقدار الیاف نامحلول در شوینده خنثی در روز ۹۰ پس از سیلو کردن به ترتیب در تیمارهای شاهد و باکتری مشاهده گردید. مقدار الیاف نامحلول در شوینده اسیدی در بین تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ($P > 0.05$). با این حال با افزایش زمان پس از سیلو کردن مقدار الیاف نامحلول در شوینده اسیدی روند کاهشی داشت. بالاترین و پایین‌ترین مقدار به ترتیب در تیمارهای اسید + باکتری و باکتری مشاهده گردید.

تأثیر افزودنی باکتریایی و اسید استیک بر ترکیبات... / اسماعیل گنجی جامه شوران و همکاران

جدول ۱- تأثیر استفاده از افزودنی باکتریایی و اسید استیک بر ترکیب شیمیایی (برحسب ماده خشک) در روزهای مختلف بعد از سیلو کردن

Table 1 - Effect of using bacterial inoculant and organic acid on chemical composition (DM) at different times after ensiling

اثر متقابل تیمار و روز	اثر روز D	اثر تیمار T	میانگین انحراف معیار SEM	تیمار Treatment				روزهای پس از سیلو کردن Days after ensiling	صفات Characterist ics
				باکتری و اسید (Bacterial +Acid)	اسید (Acid)	باکتری (Bacteri a)	شاهد (Contr ol)		
0.0490	0.015	0.015	0.329	21.60 ^a	22.00 ^a	21.11 ^b	20.84 ^b	1	ماده خشک Dry Matter(%)
				21.20 ^b	21.60 ^a	20.67 ^b	21.73 ^a	3	
				20.95 ^b	21.35 ^a	20.01 ^c	20.91 ^b	7	
				21.48 ^a	21.87 ^a	20.93 ^b	21.76 ^a	21	
				23.91 ^b	24.38 ^a	23.43 ^c	22.05 ^d	45	
22.25 ^{ab}	22.70 ^a	21.81 ^a	21.72 ^b	90					
0.9456	0.179	0.179	1.192	16.30	16.55	16.00	16.20	1	پروتئین خام Crude Protein(%)
				16.10	16.35	15.90	16.50	3	
				15.00	15.30	14.75	15.40	7	
				14.45	14.70	14.15	13.75	21	
				14.05	14.30	13.80	13.90	45	
13.85	14.05	13.65	13.45	90					
0.9154	0.048	0.048	2.680	57.16 ^a	57.20 ^a	57.10 ^a	54.76 ^b	1	الیاف نامحلول در شوینده ختنی Neutral Detergent Fiber(%)
				56.57 ^a	56.61 ^a	56.40 ^a	54.15 ^b	3	
				55.51 ^a	55.77 ^a	55.40 ^a	53.60 ^b	7	
				52.91 ^b	54.13 ^a	52.60 ^b	52.80 ^b	21	
				51.89 ^b	52.45 ^a	51.50 ^c	51.95 ^b	45	
52.31 ^b	52.50 ^b	52.15 ^b	53.20 ^a	90					
1.000	0.001	0.001	2.252	45.70 ^a	44.71 ^b	44.50 ^b	44.61 ^b	1	الیاف نامحلول در شوینده اسید Acid Detergent Fiber(%)
				45.13 ^a	43.65 ^{bc}	43.58 ^c	44.10 ^b	3	
				44.61 ^a	42.80 ^b	42.73 ^b	42.75 ^b	7	
				44.08 ^a	41.75 ^b	41.75 ^b	41.76 ^b	21	
				43.83 ^a	41.62 ^b	41.48 ^b	41.55 ^b	45	
43.58 ^a	41.10 ^b	40.98 ^b	41.06 ^b	90					

SEM: میانگین خطای استاندارد؛ D: اثر روزهای سیلو، T: اثر تیمار، T×D: اثر متقابل روز و تیمار.

میانگین‌های هر ردیف با حروف غیرمشترک دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند ($P < 0.05$)

SEM: mean standard error, D: effect of days of silage, T: effect of treatments, T×D: interaction of day and treatment. The means of each row with non-common letters have a significant difference ($P < 0.05$).

۹/۳۳ درصد و برای سیلاژ تفاله گوجه‌فرنگی ۲۶/۹۰ درصد (Gallo و همکاران، ۲۰۱۷) گزارش کردند. به‌هرحال، استفاده از افزودنی‌های باکتریایی و اسید آلی تأثیر معنی‌داری بر مقدار ماده خشک سیلاژ مخلوط تفاله گوجه‌فرنگی و سیلاژ بقایای کدو آجیلی (به‌جز روز ۴۵ پس از سیلو کردن) نداشت ($P > 0.05$)؛ که در توافق با نتایج Adesogan و همکاران (۲۰۰۴) بود. این محققین در پژوهش خود گزارش دادند که در اثر استفاده از افزودنی‌های باکتریایی در سیلاژ علوفه گرامینه تأثیری بر مقدار ماده خشک مشاهده نکردند. نتایج این مطالعه پیشنهاد می‌کند که مخلوط

باقی مانده گوجه‌فرنگی بعد از استحصال رب از آن حاوی ماده خشک حدود ۱۶/۵ درصد و pH حدود ۴/۸۵ بود. مقدار ماده خشک تفاله گوجه‌فرنگی و سیلاژ ضایعات کدو آجیلی در روز اول پس از سیلو کردن به ترتیب ۲۲/۶۰ و ۱۸/۵۰ درصد بود که با مخلوط این دو به ۲۰/۸۴ درصد رسید. مقدار ماده خشک یک سیلاژ باکیفیت خوب بایستی در دامنه ۳۵-۲۰ درصد باشد (Ergül, ۱۹۸۸) که ترکیب این - دو ماده، تولید سیلاژی با ماده خشک نزدیک به دامنه مطلوب کرده است. در مطالعات گذشته مقدار ماده خشک سیلاژ تفاله کدو (Ulger و همکاران، ۲۰۱۸) را

آب می‌گردد. این مواد حاوی سطوح بالایی از مواد مغذی سیلویی است که خروج آن مطلوب نمی‌باشد. ثاقبی و همکاران (۱۴۰۲) هم‌سو با نتایج تحقیق حاضر گزارش دادند که افزودن قارچ *آسپرژیلوس اوریزا* به کاه گندم سبب کاهش الیاف نامحلول در شوینده ختشی و اسیدی گردید. در بین تیمارهای مختلف میزان پروتئین خام تفاوت آماری معنی‌داری مشاهده نشد ($P > 0/05$). مقدار پروتئین خام تفاله گوجه‌فرنگی و سیلاژ بقیای کدو در روز اول پس از سیلو کردن در گروه شاهد به ۱۶/۲۰ درصد رسید. Niderkorn و Baumont (۲۰۰۹) مقدار پروتئین خام سیلاژ ضایعات کدو آجیلی را ۱۶/۵ درصد گزارش کرد که در تضاد با نتایج مطالعه حاضر بود. هرچند مقدار پروتئین خام با افزایش زمان پس از سیلو کردن به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر تیمارها قرار نگرفت ولی از روند کاهشی برخوردار بود. در بسیاری از مطالعات در نتیجه استفاده از افزودنی‌های باکتریایی و اسیدی باعث کاهش (Gallo و همکاران، ۲۰۱۷) و یا عدم تأثیر (Kizilsimsek و همکاران، ۲۰۰۷) در مقدار پروتئین خام گزارش شده است هم‌زمان با بالا رفتن زمان بعد از سیلو کردن، کاهش پروتئین خام به خاطر کم بودن ظرفیت بافری می‌تواند در تهیه سیلاژ به‌عنوان یک - مزیت محسوب شود (Miron و همکاران، ۲۰۰۵). با این حال کم‌ترین افت در مقدار پروتئین خام مربوط به تیمار دارای افزودنی باکتریایی بود؛ و بیش‌ترین افت در مقدار پروتئین خام مربوط به گروه شاهد بود. در بسیاری از مطالعات در نتیجه استفاده از افزودنی اسید آلی کم‌ترین کاهش در مقدار پروتئین خام گزارش شده است (Baytok و همکاران، ۲۰۰۵). بیش‌ترین فعالیت - های پروتولیتیک در روزهای آغازین سیلو کردن اتفاق می‌افتد که کاهش سریع اسیدیته در ابتدای سیلو کردن از فعالیت آنزیم‌های گیاهی و میکروارگانیسم‌های هوازی جلوگیری کرده و سبب حفظ پروتئین در سیلاژ می‌گردد

سیلاژ تفاله گوجه‌فرنگی و سیلاژ ضایعات کدو آجیلی می‌تواند باعث افزایش مقدار ماده خشک بقیای کدو آجیلی شود. میزان تغییرات در ماده خشک در تیمارهای مختلف از روند خاصی تبعیت نمی‌کرد، بالاترین و پایین‌ترین میزان افزایش به ترتیب در گروه شاهد و باکتری + اسید آلی به ترتیب ۰/۸۸ و ۰/۶۵ واحد مشاهده شد. Adesogan و Kim (۲۰۰۴) گزارش دادند در صورتی که سیلاژ ذرت به شکل مرطوب برداشت شود بر تخمیر تأثیر منفی داشته و افزایش دمای سیلو باعث کاهش نرخ اسیدلاکتیک و غلظت کربوهیدرات‌های محلول و هم‌چنین افزایش نیتروژن آمونیاکی، pH، پروتئولیز و تخمیر ثانویه شده است. لذا بر اساس گزارش Barzamani و همکاران (۲۰۱۴)، افزودن تفاله چغندر قند و تفاله خشک مرکبات منجر به افزایش ماده خشک و نیز بهبود کیفیت سیلاژ تفاله گوجه‌فرنگی می‌شود. سیلاژها در صورتی که ماده خشک آن‌ها در محدوده ۲۰ تا ۳۵ درصد باشد، کم‌تر تحت تأثیر فساد و تخمیر ثانویه ناشی از کلستریدیها که باعث دکربوکسیلاسیون و دامیناسیون آمینواسیدها و به دنبال آن پروتئین گیاه می‌شود قرار می‌گیرند (McDonald و همکاران، ۱۹۹۱). McDonald و همکاران (۱۹۹۱) گزارش - کردند که سیلاژهای مرطوب نسبت به سیلاژهای خشک میزان pH پایین‌تری دارند، زیرا در سیلاژها با ماده خشک پایین‌تر میزان فشار اسمزی کم‌تر است و این فاکتور نهایتاً باعث مهار باکتری‌های مولد اسیدلاکتیک در سیلاژهای خشک می‌گردد. جهت تهیه سیلاژ استفاده از محصولات کشاورزی با رطوبت بالاتر از حد باعث تولید پس‌آب شده و مستعد افزایش دما و فساد در مقایسه با سیلاژهایی با رطوبت مناسب می‌باشد (Kung و Muck، ۲۰۰۷). Kung و Muck (۲۰۰۷) گزارش کردند که افزایش بیش‌از حد رطوبت باعث فشردگی سیلو و خروج پس

تأثیر قرار نداد. با این که بین تیمارهای آزمایشی از نظر غلظت دیواره سلولی در زمان‌های مختلف پس از سیلو کردن اختلاف معنی‌داری وجود نداشت، اما شاید بتوان روند کاهشی از نظر عددی با افزایش زمان پس از سیلو کردن را به کاهش pH نسبت داد. همی سلولز در شرایط اسیدی به دلیل این که به کاهش اسیدیته حساس بوده سریعاً تجزیه می‌شود (Kung و همکاران، ۲۰۰۰). در سیلاژ، استفاده از افزودنی اسیدی یا افزودنی‌هایی که سبب تولید اسیدلاکتیک می‌شود، باعث افزایش تجزیه همی سلولز شده است (Hristov و McAllister، ۲۰۰۲). در سیلوهای علفه-ای محدوده ییاف نامحلول در شوینده خنثی از ۵۰ تا ۶۵۰ گرم در کیلوگرم ماده خشک متغیر است. مقدار ییاف نامحلول در شوینده خنثی با بالا رفتن نسبت کدو آجیلی در سیلوها کاهش یافت (Vahedi و همکاران، ۲۰۱۱). در سیلوی کدو آجیلی با نسبت ۸۵:۱۵ کاه گندم و بقایای کدو آجیلی مقدار ییاف - نامحلول در شوینده خنثی ۶۰/۷۵ درصد گزارش شد (Abassi و Mokhtarapur، ۱۹۹۴). در تحقیق Keramandli و همکاران (۲۰۱۴) ییاف نامحلول در شوینده اسیدی تأثیری مشابه با ییاف نامحلول در شوینده خنثی در اثر افزودن سطوح مختلف کاه گندم داشت که مشابه نتایج تحقیق حاضر می‌باشد. تأثیر استفاده از افزودنی باکتری‌های مولد اسیدلاکتیک و اسید آلی بر فراسنجه‌های تخمیر سیلاژ مخلوط بقایای کدو آجیلی و تفاله گوجه‌فرنگی در جدول ۲ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که میزان ازت آمونیاکی در بین تیمارهای مختلف در تمامی زمان‌های پس از سیلو کردن اختلاف معنی‌داری (به جز روز ۱۴ام) وجود داشت ($P < 0.05$). هم‌چنین میزان pH در بین تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ($P > 0.05$) و میزان pH در بین تیمارهای مختلف در

(Kung و Muck، ۲۰۰۶). به خاطر بالا بودن میزان پروتئین خام تفاله گوجه‌فرنگی و پایین بودن آن در بقایای کدو آجیلی، میزان پروتئین خام گروه شاهد متوسط می‌باشد (Vahedi و همکاران، ۲۰۱۱). در نتایج مربوط به آزمایش کاملاً مشهود است که سیلو کردن باعث تجزیه پروتئین‌ها شده و هم‌چنین باعث کم-تر شدن نسبت پروتئین در قیاس با مواد اولیه می‌شود. عواملی که بر دامنه تجزیه پروتئین‌ها تأثیر می‌گذارند شامل دما، میزان ماده خشک، نوع گیاه، میزان و دامنه تغییرات pH می‌باشند، ولی این تجزیه حتی در سیلوهایی که به‌طور مطلوب تهیه شده‌اند ممکن است پروتئین را به میزان ۵۰ تا ۶۰ درصد کاهش دهد (McDonald و همکاران، ۱۹۹۱).

سیلاژ شاهد پایین‌ترین مقادیر ییاف نامحلول در شوینده خنثی را داشت. مقدار ییاف نامحلول در شوینده خنثی و ییاف نامحلول در شوینده اسیدی در طی زمان‌های پس از سیلو کردن روند کاهشی داشت. در این مطالعه استفاده از افزودنی باکتریایی، اسید آلی و ترکیب آن‌ها تأثیر معنی‌داری بر غلظت دیواره سلولی نداشتند که در تضاد با نتایج (Xing و همکاران، ۲۰۰۹) بود. در مطالعاتی که از آنزیم‌های فیبرولایتیک به‌عنوان افزودنی استفاده شده است کاهش در مقادیر ییاف نامحلول در شوینده اسیدی و ییاف - نامحلول در شوینده خنثی را گزارش کردند (Xing و همکاران، ۲۰۰۹)؛ اما در مقابل، هم‌سو با نتایج حاضر، افزودنی‌های باکتریایی تأثیری بر غلظت دیواره سلولی سیلاژ نداشتند (Kent و همکاران، ۱۹۸۸). Kung و Kizilsimsek (۲۰۰۶) نیز گزارش کردند که افزودنی حاوی لاکتوباسیلوس بوخنری و پدیوکوکوس پنتوز/سئوس درصد ییاف نامحلول در شوینده اسیدی و ییاف نامحلول در شوینده خنثی را در سیلاژ ذرت با ۳۷ درصد ماده خشک در روزهای ۱۴، ۲۸، ۴۲، ۵۶، ۷۰، ۲۸۲ و ۳۶۱ پس از سیلو کردن تحت

تمامی زمان‌های پس از سیلو کردن اختلاف معنی‌داری وجود داشت (P<۰/۰۵) جدول ۲- تأثیر استفاده از افزودنی باکتریایی و اسید آلی بر فراسنجه‌های تخمیری در روزهای مختلف بعد از سیلو کردن.

Table 2 - Effect of using bacterial inoculant and organic acid on fermentation characteristics at different times after ensiling.

اثر متقابل تیمار و روز T×D	اثر روز D	اثر تیمار T	میانگین انحراف - معیار SEM	تیمار Treatment				روزهای پس از سیلو کردن Days after ensiling	صفات Characteristics
				باکتری و اسید (Bacterial) (+Acid)	اسید (Acid)	باکتری (Bacteria)	شاهد (Control)		
0.0001	0.0001	0.0001	0.010	0.21 ^b	0.20 ^b	0.22 ^b	0.45 ^a	1	ازت آمونیاکی N-NH3
				0.31 ^{bc}	0.30 ^{bc}	0.33 ^b	0.50 ^a	3	
				0.71 ^a	0.69 ^{ab}	0.61 ^c	0.65 ^{bc}	7	
				1.31 ^a	1.34 ^a	1.30 ^a	1.17 ^b	21	
				1.43	1.49	1.41	1.41	45	
			2.12 ^c	2.16 ^{bc}	2.50 ^a	2.21 ^b	90		
1.000	0.100	0.152	1.152	4.93	4.98	4.88	4.94	1	pH
				4.59	4.62	4.51	4.78	3	
				4.29	4.35	4.21	4.47	7	
				4.10	4.19	4.04	4.37	21	
				4.01	4.07	3.95	4.27	45	
			3.90	3.95	3.85	4.30	90		
1.000	0.0001	0.046	8.200	51.00 ^{ab}	49.80 ^{bc}	52.42 ^a	49.08 ^c	1	نقطه فلیک Fleig Point
				63.80 ^b	63.40 ^b	65.94 ^a	57.26 ^c	3	
				75.30 ^{ab}	73.70 ^c	76.62 ^a	68.12 ^d	7	
				83.96 ^{ab}	81.14 ^c	85.26 ^a	73.72 ^d	21	
				92.42 ^{ab}	90.96 ^c	93.86 ^a	78.31 ^d	45	
			93.50 ^{ab}	92.40 ^b	94.63 ^a	76.44 ^c	90		

SEM: میانگین خطای استاندارد؛ D: اثر روزهای سیلو، T: اثر تیمار، T×D: اثر متقابل روز و تیمار.

میانگین‌های هر ردیف با حروف غیرمشترک دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند (P<۰/۰۵).

SEM: mean standard error, D: effect of days of silage, T: effect of treatments, T×D: interaction of day and treatment. The means of each row with non-common letters have a significant difference (P<0.05).

سیلو و اندازه‌گیری میزان فعالیت کلستری‌دیوم‌ها می‌باشد (McDonald و همکاران، ۱۹۹۱). در تضاد با نتایج مطالعه حاضر، در یک بررسی فرا تحلیلی روی یافته‌های ۴۶ مطالعه نشان داده شده که افزودنی‌های باکتریایی تأثیری بر غلظت نیتروژن آمونیاکی ندارند (Steen و Keady، ۱۹۹۶). در مطالعه Hassanat و همکاران (۲۰۱۷) مشاهده شد که تا روز ۴ پس از سیلو کردن، پروتئین خام محلول و نیتروژن غیرپروتئینی در تمام سیلاژهای فرآوری شده به دلیل تجزیه زیاد و سریع پروتئین در فاز اولیه سیلو شدن، افزایش یافت. بالاترین مقدار نیتروژن آمونیاکی در روز اول پس از سیلو کردن مربوط به گروه شاهد بود (۰/۴۵ میلی‌مول بر لیتر). کاهش در غلظت نیتروژن - آمونیاکی در مطالعات مختلفی در نتیجه استفاده از

بین تیمارهای آزمایشی در تمامی زمان‌های پس از سیلو کردن از نظر میزان نیتروژن آمونیاکی تفاوت آماری معنی‌داری مشاهده شد (P<۰/۰۵) که هم‌سو با نتایج Hassanat و همکاران (۲۰۱۷) بوده است. میزان نیتروژن آمونیاکی با افزایش روزهای پس از سیلو کردن، روند افزایشی داشت که هم‌سو با روند کاهش مقدار پروتئین خام بود. از این نظر پایین‌ترین مقدار افزایش در میزان نیتروژن آمونیاکی در گروه شاهد و بالاترین مقدار افزایش در میزان نیتروژن آمونیاکی در تیمار عمل‌آوری شده با باکتری مشاهده شد که دلیل بالاتر بودن ازت آمونیاکی در تیمار باکتری را می‌توان بیش‌تر بودن غلظت پروتئین خام در این افزودنی دانست. ازت آمونیاکی شاخصه‌ای از تجزیه پپتیدها و آمینواسیدها است و ملاکی برای درصد مرغوبیت

است که این دسته از باکتری‌ها سرعت اسیدی کردن سیلو را بالا برده و باعث افت pH پایانی و پروتئولیز در سیلو و کاهش ریسک تخمیر کلسترییدیومی در سیلاژ می‌شوند (Murphy و Keady، ۱۹۹۵). به-طور کلی، چون فرآیند تجزیه به‌شدت تحت تأثیر دسترسی کربوهیدرات‌های قابل تجزیه و باکتری‌های غالب طی فرآیند سیلو کردن می‌باشد، زمانی که pH سیلو تغییر پیدا نکند، تخمیر لاکتات توسط کلسترییدیا باعث تولید اسید بوتیریک و تجزیه آمینواسیدها به محصولات کم ارزش می‌شوند. برای تهیه سیلو، جهت کم کردن ریسک ناشی از رشد میکروارگانیزم‌های مضر مثل قارچ، کلسترییدیا و انتروباکتری‌ها دستیابی به یک pH پایین در مراحل اولیه فرآیند سیلو کردن بسیار مهم است (McDonald و همکاران، ۱۹۹۱). کاهش pH در نتیجه افزودنی باکتری احتمالاً به دلیل غالبیت جمعیتی باکتری‌های تولیدکننده اسیدلاکتیک در مراحل اول سیلو کردن می‌باشد. در مطالعه McAllister و همکاران (۱۹۹۸) افزودنی میکروبی باعث افزایش سرعت کاهش pH طی سیلو کردن علوفه‌های گرامینه و مخلوط گرامینه و لگومینوز شد. در مطالعه‌ای استفاده از اسید آلی فرمیک (Naghel و Brodrick، ۱۹۹۲) در سیلاژ یونجه کاهش بیش‌تری در pH را در مقایسه با گروه شاهد باعث شد.

تأثیر استفاده از افزودنی باکتریایی و اسید آلی بر قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی و فراسنجه‌های تخمیری سیلاژ مخلوط تفاله گوجه‌فرنگی و تفاله کدو در جدول ۳ نشان داده‌شده است. استفاده از افزودنی‌های باکتریایی و اسید آلی تأثیر معنی‌داری بر قابلیت هضم ماده خشک و آلی، عامل تفکیک، توده میکروبی و بازده تولید گاز نداشت ($P > 0.05$)، هرچند به‌طور عددی در مقایسه با گروه شاهد از قابلیت هضم بالاتری برخوردار بودند. بالاترین مقدار عامل تفکیک ۴/۵۷ میلی‌گرم در میلی‌لیتر، تولید پروتئین میکروبی

افزودنی باکتریایی (Adesogan و همکاران، ۲۰۰۴) و اسید آلی (Alikhani و همکاران، ۲۰۰۵) نشان داده‌شده است. به‌نظر می‌رسد تیمارهای دارای افزودنی با کاهش سریع pH از فعالیت آنزیم‌های گیاهی و میکروارگانیزم‌های هوازی ممانعت کرده و با کاهش فعالیت‌های دی‌آمیناسیون و پروتئولیز در سیلو سبب کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی شده‌اند (Muck، ۱۹۸۸). Ayoubi far و همکاران (۲۰۲۱) هم‌سو با نتایج تحقیق حاضر افزایش میزان ازت آمونیاکی را در زمان‌های پس از سیلو کردن گزارش کردند. در تضاد با نتایج مطالعه حاضر، کاهش در غلظت نیتروژن-آمونیاکی در تیمارهای دارای افزودنی باکتریایی بیانگر غلبه جمعیتی باکتری‌های اسیدلاکتیکی در محیط سیلو می‌باشد (Filya و همکاران، ۲۰۰۰).

pH شاخص مهم در ارزیابی سیلاژ بوده که با اندازه‌گیری آن می‌توان به میزان تولید اسیدلاکتیک و کیفیت فرآیند تخمیر پی برد. در بسیاری از مطالعات در نتیجه استفاده از افزودنی اسید آلی و باکتری عدم-تأثیر بر pH در سیلاژ ذرت گزارش شده است (Higginbotham و همکاران، ۱۹۹۶). در این مطالعه سرعت کاهش در pH تا روز ۷ پس از سیلو کردن در گروه دارای باکتری بالاتر از بقیه بود. علاوه بر این pH نهایی در روز ۹۰ پس از سیلو کردن در تیمارهای-دارای افزودنی در مقایسه با شاهد پایین‌تر بود. علت آن احتمالاً مربوط به افزودن اسید و باکتری‌های مولد اسیدلاکتیک می‌باشد که باکتری‌ها با تولید آنزیم سلولاز باعث تجزیه دیواره سلولی به قندهای محلول در آب شده در نهایت کاهش سریع‌تر pH شده است. کاهش سریع‌تر در pH سیلو به‌ویژه در فاز تخمیر می-تواند از طریق غیرفعال کردن پروتئاز گیاهی باعث جلوگیری از رشد میکروارگانیزم‌های نامطلوب مانند مخمر شوند (Kung و همکاران، ۲۰۰۴).

باکتری‌های به‌کاررفته در تهیه افزودنی باکتریایی در این مطالعه از نوع همگن بودند که نشان داده‌شده

۱۱۹/۷۸، بازده تولید پروتئین میکروبی ۰/۵۴ و تولید پروتئین میکروبی ۱۱۹/۷۸، مربوط به تیمار دارای -

جدول ۳- تأثیر استفاده از افزودنی باکتریایی و اسید آلی بر قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی و فراسنجه‌های تخمیری.

Table 3 - Effect of using bacterial inoculant and organic acid on digestibility dry matter, organic matter and fermentation characteristics

تیمار Treatment	قابلیت هضم ماده خشک ^۱ Dry matter digestibility	قابلیت هضم ماده آلی ^۲ Organic matter digestibility	عامل تفکیک ^۳ Parsing factor	تولید پروتئین میکروبی ^۴ Microbial protein production	بازده تولید پروتئین میکروبی Microbial protein production efficiency	بازده تولید گاز ^۵ Gaz production efficiency	pH	ازت آمونیاکی ^۶ N-NH3
شاهد Control	45.80	47.89	4.38	110.60	0.495 ^c	224.77	6.64 ^a	0.58 ^a
باکتری Bacteria	55.10	51.12	4.57	119.78	0.54 ^a	204.26	6.43 ^{ab}	0.30 ^c
اسید Acid	48.60	48.59	4.49	115.22	0.50 ^{bc}	212.11	6.35 ^b	0.57 ^a
باکتری+اسید Bacterial+Acid	52.05	49.95	4.52	117.35	0.52 ^{ab}	210.05	6.36 ^b	0.42 ^b
SEM	5.11	4.36	0.07	10.18	0.01	10.51	0.042	0.0083
p-value	0.80	0.80	0.35	0.81	0.04	0.59	0.038	0.0001

۱) قابلیت هضم ماده خشک پس از ۲۴ ساعت در شرایط آزمایشگاهی، ۲) قابلیت هضم ماده آلی پس از ۲۴ ساعت در شرایط آزمایشگاهی، ۳) عامل تفکیک (میلی گرم بر میلی لیتر)، ۴) پروتئین میکروبی تولیدشده (میلی گرم بر گرم ماده خشک)، ۵) تولید گاز (میلی لیتر)، ۶) نیتروژن آمونیاکی (میلی گرم بر دسی لیتر). SEM میانگین خطای استاندارد: P-value: سطح احتمال معنی داری.

میانگین‌های هر ردیف با حروف غیرمشترک دارای اختلاف معنی دار می‌باشند ($P < 0.05$).

1) Digestibility of dry matter after 24 hours in in-vitro, 2) Digestibility of organic matter after 24 hours in in-vitro 3) Parsing factor (mg.ml), 4) Microbial protein produced (mg per gram of dry matter), 5) Gas production (milli liter), 6) Ammonia nitrogen (mg per deci liter).

SEM: Mean Standard Error. P-value: level of significant probability.

The averages of each row with non-common letters have a significant difference ($P < 0.05$).

می‌رسد که استفاده از افزودنی باکتریایی و اسیدی در مقایسه با شاهد، مواد مغذی بیش‌تری را در سیلو حفظ کرده باشد. باین‌حال، عدم معنی‌داری را شاید نتوان به عدم تأثیر افزودنی‌ها در سیلو نسبت داد. چراکه محیط سیلو نیز می‌تواند تأثیرات افزودنی‌ها را متأثر سازد. در سیلاژهای دارای افزودنی سرعت افت در pH در مقایسه با سیلاژهای فاقد افزودنی بالاتر بوده و احتمالاً سریع‌تر به مرحله تثبیت وارد می‌شوند. از این‌رو می‌توان گفت که افزودنی‌ها فرصت کم‌تری برای هیدرولیز الباف و سایر پیوندها دارند. لذا می‌تواند بر مقدار کربوهیدرات‌های ساختمانی تأثیر داشته باشد. در مطالعه‌ای استفاده از افزودنی باکتریایی و

سیلاژ به کمک فرآیند طبیعی تخمیر و از طریق تولید اسیدلاکتیک به دست می‌آید (McDonald و همکاران، ۱۹۹۱). هدف از استفاده از افزودنی‌ها کمک به بهبود فرآیند سیلو کردن و حفظ مواد مغذی آن می‌باشد (McDonald و همکاران، ۱۹۹۱). افزودنی باکتریایی از طریق افزایش سرعت تخمیر و کاهش سریع pH، موجب پایداری سیلو گردید و ضمن کاهش پروتئولیز، اتلاف قندهای محلول و دیگر مواد مغذی را کاهش می‌دهند (Muck، ۲۰۱۰). در این مطالعه قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی در گروه دارای افزودنی باکتریایی در مقایسه با گروه شاهد به‌طور غیر معنی‌داری بهبود یافت ($P > 0.05$). به نظر

۲۴/۳۸ و ۲۳/۹۱)، بالاترین پروتئین خام در تیمار اسید و اسید + باکتری (به ترتیب ۱۶/۵۵ و ۱۶/۳۰)، بالاترین الیاف نامحلول در شوینده اسیدی در تیمار اسید + باکتری (۴۵/۷۰)، پایین‌ترین ازت آمونیاکی در تیمار اسید و اسید + باکتری (به ترتیب ۰/۲۰ و ۰/۲۱) و پایین‌ترین pH در تیمار باکتری و اسید + باکتری (به ترتیب ۳/۸۵ و ۳/۹۰) مشاهده گردید و نهایتاً این- که تیمارهای حاوی افزودنی مخصوصاً تیمار اسید + باکتری نسبت به سایر تیمارها شرایط بهتری داشت. به‌طور کلی با توجه به نتایج کلی این پژوهش، استفاده از افزودنی‌های مختلف در مقایسه با گروه شاهد تأثیر قابل ملاحظه‌ای بر ارزش تغذیه‌ای سیلاژ مخلوط تفاله گوجه‌فرنگی و ضایعات کدو آجیلی نداشتند و با توجه به هزینه افزودنی‌ها توصیه می‌شود تفاله گوجه‌فرنگی و بقایای کدو آجیلی بدون افزودن هرگونه افزودنی مصروف گردد.

آنزیمی به‌طور معنی‌داری پتانسیل تولید گاز را افزایش دادند. در برخی از مطالعات هم تلقیح آنزیم‌های فیرولاکتیک و باکتری‌های اسیدلاکتیک در شرایط آزمایشگاهی قابلیت هضم سیلو را بهبود بخشید (Dehghani و همکاران، ۲۰۱۲). عامل تفکیک در حقیقت مبین نسبت تجزیه واقعی سوبسترا به حجم گاز تولیدشده در دوره زمانی انکوباسیون (۲۴ یا ۴۸ ساعت) بوده (Oliviera, ۱۹۹۸) و شاخصی از بهره‌وری سنتز توده میکروبی در شرایط آزمایشگاهی می‌باشد (Blummel و همکاران، ۱۹۹۷). در این مطالعه گروه دارای افزودنی باکتری از عامل تفکیک بالاتری برخوردار بود و ماده آلی بیش‌تری وارد ساختار میکروبی و تولید توده میکروبی شده که خود نشان‌دهنده بالا بودن بازده سنتز میکروبی می‌باشد.

نتیجه‌گیری کلی

به‌طور کلی، از نظر ترکیبات شیمیایی بالاترین ماده خشک در تیمار اسید و باکتری + اسید (به ترتیب

منابع

- Adesogan, A.T., Krueger, N., Salawu, M.B., Dean, D.B. & Staples, C.R. (2004). The influence of treatment with dual purpose bacterial incubation soluble carbohydrates on the fermentation and aerobic stability of Bermuda grass. *Journal of Dairy Science*, 87: 3407–3416.
- Aiubifar, M., Gharehbash, A.M, Bayat. & Farivar, F. (1400). Effect of different additives on chemical composition, fermentation parameters, digestibility and gas production of *Gundelia tournefortii* silage. *Journal of Ruminant Research*, 9(3), 1-24.
- Alikhani, M., Alamooti, A.A., Ghorbani, G.R. & Sadeghi, N. (2005). Effect molasses, urea. and bacterial inoculation on the chemical composition and degradability of dry matter of ensiled sunflower. *Journal of Agricultural Sciences and Techniques and Natural Resources*, 3: 171–182.
- Bampidis, V. A. & Robinson, P. H. (2006). Citrus by-products as ruminant feeds: A review. *Journal of Animal Feed Science and Technology*, 128:175-217.
- Barzamini, H. (2014). The effect of adding sugar beet pomace and dry citrus pomace on chemical composition. Fermentation properties. Gas production and digestibility of tomato pomace silage. Master's thesis in animal nutrition. Faculty of Agriculture, Gonbad Kavos University.
- Baytok, E., Aksu, T., Karsli, M.A. & Muruz, M. (2005). The effects of formic acid, molasses and inoculants as silage additives on corn silage composition and ruminal fermentation characteristics in sheep. *Turk Journal of Veterinary Animal Science*, 29: 469-474.

- Blummel, M., Steingass, H. & Becker, K. (1997). The relationship between *in vitro* gas production, *in vitro* microbial biomass yield and 15N incorporation and its implications for the prediction of voluntary feed intake of roughages. *British Journal of Nutrition*, 77: 911-921.
- Broderick, G.A. & Kang, J.H. (1980). Automated simultaneous determination of ammonia and total amino acids in ruminal fluid and *in vitro* media. *Journal of Dairy Science*, 63: 64-75.
- Buxton, R., Muck, R. E. & Harrison, F. (2003). *Silage Science and Technology*. American society of agronomy. Madison. Wisconsin. USA.
- Dehghani, M.R., Weisbjerg, M.R., Hvelplund, T. & Kristensen, N.B. (2012). Effect of enzyme addition to forage at ensiling on silage chemical composition and NDF degradation characteristics. *Livestock. Science*, 150: 51-58.
- Ergül, M. (1988). Replacement of fishmeal by brewer's yeast in broiler rations with high levels of cottonseed meal and sunflower seed meal. *Landbauforschung Vlnkenrode*, 38:211-219.
- Filya, I., Ashbell, G., Hen, Y. & Weinberg, Z.G. (2000). The effect of bacterial inoculants on the fermentation and aerobic stability of whole crop wheat silage. *Animal Feed Science and Technology*, 88(1): 39-46.
- Flork, S., Purwin, C., Mainakowski, D., Stanek, M. & Tredowicz, M. (2004). The influence of formic acid additives A. Use of phytogenic products feed on the quality of silage from different plant material. *Journal of Veterinary Ir zootechnike*, 26: 1392- 2130.
- Gallo, J., Fernye, C., Orosz, S., Katona, K. & Szemethy, L. (2017). Tomato pomace silage as a potential new supplementary food for game species. *Journal of Agriculture and Food Science*, 26: 80-90.
- Grasser, L. A., Fadel, J. G., Garnett, I. & DePeters, E. J. (1995). Quantity and economic importance of nine selected by products used in California dairy rations. *Journal of Dairy Science*, 78:962-971.
- Hassanat, F., Gervais, R. & Benchaar, C. (2017). Methane production, ruminal fermentation characteristics, nutrient digestibility, nitrogen excretion, and milk production of dairy cows fed conventional or brown midrib corn silage. *Journal of Dairy Science*. 4: 2625-2636.
- Higginbotham, G.E., DePeters, E.J. & Mueller, S.C. (1996). Effect of propionic acid producing bacteria on corn silage fermentation. *Journal of Professional Animal Science*, 12:176-180.
- Hristov, A.N. & McAllister, T.A. (2002). Effect of inoculants on whole-crop barley silage fermentation and dry matter disappearance *in situ*. *Journal of Animal Science*, 80:510-516.
- Keady, T.W.J. & Murphy, J.J. (1996). Effects of inoculant treatment on ryegrass silage fermentation, digestibility, rumen fermentation, intake and performance of lactating dairy cattle. *Grass Forage Science*, 51:232-241.
- Keady, T.W.J. & Steen, R.W.J. (1995). The effects of treating low dry-matter, low dry -mater, and low digestibility grass with bacterial inoculants on the intake and performance of beef cattle, and studies on its mode of action. *Grass Forage Science*, 50:217-226.
- Kent, B., Arambel, A. & Winsryg, J.L. (1988). Effect of bacterial inoculant on alfalfa haylage: ensilage characteristics and milk production response when fed to dairy cows in early lactation. *Journal Dairy Scienc*, 71: 2457-2561.
- Keramandli, T., Gharehbash, A.M., Bayat Koohsar, J. & Mohajer, M. (2014). Investigating the nutritional value (chemical compounds, digestibility and gas production) of pumpkin and watermelon waste silage. Master's thesis, Gonbad Faculty of Agriculture and Natural Resources. 73.
- Karimi. (1990). *Cultivation and Improvement of Fodder Plants*. Tehran University Publications, Iran 428 pp.
- Kim, S.C. & Adesogan, A.T. (2006). Influence of ensiling temperature, simulated rainfall, and delayed sealing on fermentation characteristics and aerobic stability of corn silage. *Journal of Dairy Science*.,89: 3122-3132.
- Kizilsimsek, M., Schmidt, R.J. & Kung, L. (2007). Effects of a mixture of lactic Acid bacteria applied as a freeze-dried or fresh culture on the fermentation of alfalfa silage. *Journal of Dairy Science*, 90:5698-5705.

- Kleinschmit, D.H. & Kung, J.R.L. (2006). The effects of *Lactobacillus buchneri* 40788 and *Pediococcus pentosaceus* R1094 on the fermentation of corn silage. *Journal of Dairy Science*, 89:3999-4004.
- Kung, J.R., Myers, C.L., nylon, J.M., Taylor, C.C., Mills, J.A. & Whiter, A.G. (2004). The effects of buffered propionic acid-based additives alone or combined with microbial inoculation on the fermentation of the high moisture corn and whole-crop barley. *Journal of Dairy Science*, 87: 1310-1316.
- Kung, J.R., Robinson, J.R., Ranjit, N.K., Chen, J.H., Golt, C.M. & Pesek, J.D. (2000). Microbial population fermentation end products and aerobic stability of corn silage treated with ammonia or a propionic acid based preservative. *Journal of Dairy Science*, 83: 227-234.
- McAllister, T.A., Reniuk, R., Mir, Z., Mir, P., Selinger, S.B. & Cheng, K.J. (1998). Inoculants for alfalfa silage: effects on aerobic stability, digestibility and the growth performance of feedlot steers. *Journal of Livestock Production Science*, 53: 171- 181.
- McDonald, P., Henderson, A.R. & Heron, S.J.E. (1991). *The Biochemistry of Silage* (2nded), Chalcombe, U.K. 184p.
- Menke, K.H., Raab, L., Salewski, A., Steingass, H., Fritz, D. & Schneider, W. (1979). The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feeding stuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor *in vitro*. *Journal of Agriculture Science*, 93: 217-222.
- Miron, J., Ephraim, Z., Dgnit, S. & Gabriel, A. (2005). Yield, composition, *in vitro* digestibility of new forage sorghum varieties and their ensilage characteristics. *Animal Feed Science and Tecnology*, 120: 17-32.
- Mokhtarpur, G. & Abbasi, A. (1994). Selection of the best silage preparation method of pumpkin waste, Final Report of the Research Project, Natural Resources Research Center of Golestan Province.
- Muck, R.E. (1988). Factors influencing silage quality and their implications for management. *Journal of Dairy Science*, 71(11), 2992-3003.
- Muck, R.E. (2010). Silage Additives and Management Issues. Idaho Alfalfa and Forage Conference Proceedings, Burley, ID, Feb. 16-17. p. 49-55.
- Muck, R.E. & Kung, L.J.R. (2007). Silage Production. Pages 617-633 in Forages: The Science of Grassland Agriculture. Vol. II. 6th ed. R. F.
- Muck, R.E. & Kung, L.Jr. (1997). Effects of silage additives on ensiling. Pro. Form the Silage: Field to Feedbunk North American Conference. 99: 187-199.
- Mussatto, S. I., Dragone, G. & Roberto, I. C. (2006). Brewer's spent grain: generation, characteristics and potential applications. *Journal of Cereal Science*, 43(1), 1-14.
- Naghel, G.A. & Brodrick, J.H. (1992). Automated simultaneous determination of ammonia and total amino acids in ruminal fluid and *in vitro* media. *Journal of Dairy Science*, 6: 64-75.
- Niderkorn, V. & Baumont, R. (2009). Associative effects between forages on feed intake and digestion in ruminants. *Animal Journal*, 3:7, 951-960, <https://doi.org/10.1017/S1751731109004261>.
- Saghebi, M., Khalil Vandi Behroozyar, H., Pirmohammadi, R. & Donyadoust-Chelan, M. (2023). Evaluation the effects of biological processing of wheat straw by *Aspergillus oryzae* on rumen fermentation parameters and fiber degradability in ruminants. *Journal of Ruminant Research*, (4) 10, 1-20. DOI: 10.22069/ejrr.2022.19674.1818.
- Slottner, D. & Bertilsson, J. (2006). Effect of ensiling technology on protein degradation during ensiling. *Journal of Animal Feed Science and Tecnology*, 127: 101-111.
- Theodorou, M.K., Williams, B.A., Dhanoa, M.S., McAllan, A.B. & France, J. (1994). A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. *Journal of Animal Feed Science and Tecnology*, 48 (3-4): 185-197.
- Ulger, I., Kaliber, M., Ayahan, T. & Küçük, O. (2018). Chemical composition, organic matter digestibility and energy content of apple pomace silage and its combination with corn plant, sugar beet pulp and pumpkin pulp. *South African Journal of Animal Science*, 48:497-503.

Vahedi,A.,Ali Arabi,H. & Zamani,P. (2011). Investigating the possibility of ensiling pumpkin residue using a mixture of bran straw and urea. 5th Congress of Animal Sciences of Iran Isfahan University of Technology.

Xing, L., Chen, L.J. & Han, L.J. (2009). The effect of an inoculant and enzymes on fermentation and nutritive value of sorghum straw silages. *Bioresource Technology*, 100: 488-491.