13 (3) 27-32, Autumn 2021

Journal of Animal Environment

(AEJ)

Journal homepage: http://www.aejournal.ir

Original Research Paper

Effect of microbial additive on some *in vitro* fermentation parameters of rainfed planted barley silage

Zohreh Kowsar [1], Shahryar Kargar [*1], Golnaz Taasoli [2], Farshid Fatahnia [3], Meysam Kanaani [1], Alidad Boostani [4]

[1] *Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran*

[2] *Department of Animal Science, Chaharmahal Bakhtiari Agriculture and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Shahrekord, Iran*

[3] *Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture, Ilam University, Ilam, Iran*

[4] *Department of Animal Science, Fars Agriculture and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Shiraz, Iran*

Key Words

Bacterial additive
Barley silage
In vitro fermentation

Abstract

Introduction: This experiment was aimed to study the effect of bacterial inoculant on some *in vitro* fermentation parameters and quality characteristics of barley silage.

Materials & Methods: Prosage bacterial inoculant (a mixture of *Lactobacillus buchneri, Lactobacillus plantarum, Enterococcus faecium and Propionibacterium acidophilus*) was added at three (0, 5, and 10 mg/kg of silage dry matter) levels to barley silages. Silage quality traits including dry matter (DM), pH and buffering capacity were measured and fleig point was calculated. *In vitro* gas production potential, gas production rate and lag time were measured. Furthermore, total protozoa population and N-ammonia concentration of experimental silages were measured and metabolizable energy, short chain fatty acids and organic matter digestibility were estimated.

Result: Results showed that buffering capacity, fleig point and pH of experimental silages were not affected by bacterial inoculant ($P>0.05$), however, barley silage containing 5 mg bacterial inoculant had greater dry matter content (30.24 vs 28.07 and 28.67 %, $P<0.05$) compared with the control and silage containing 10 mg of bacterial inoculant. Furthermore, bacterial additive had no effect on gas production parameters and total protozoa population, N-ammonia concentration, estimated metabolizable energy, short chain fatty acids and *in vitro* organic matter digestibility ($P>0.05$).

Conclusion: Based on the current experiment, use of bacterial additive for the preparation of barley silage is not recommended due to its costs.

* Corresponding Author's email: shkargar@gmail.com

Received: 15 September 2020; Reviewed: 24 October 2020; Revised: 26 November 2020; Accepted: 18 December 2020
(DOI): 10.22034/AEJ.2020.246385.2339

مقاله پژوهشی

اثر افزودنی میکروبی بر برخی فراسنجه‌های تخمیر برون‌تنی سیلاژ جو دیم

زهره کوثر[۱]، شهریار کارگر*[۱]، گلناز تأسلی[۲]، فرشید فتاح‌نیا[۳]، میثم کنعانی[۱]، علیداد بوستانی[۴]

[۱] گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

[۲] بخش تحقیقات علوم دامی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی چهارمحال و بختیاری، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، شهرکرد، ایران

[۳] گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران

[۴] بخش تحقیقات علوم دامی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی فارس، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، شیراز، ایران

کلمات کلیدی

افزودنی باکتریایی
تخمیر برون‌تنی
سیلاژ جو
کیفیت سیلاژ

چکیده

مقدمه: این پژوهش با هدف مطالعه اثر سطوح افزودنی باکتریایی بر برخی فراسنجه‌های تخمیر برون‌تنی و ویژگی‌های کیفی سیلاژ جو انجام شد.

مواد و روش‌ها: افزودنی باکتریایی پروسیج (مخلوطی از باکتری‌های لاکتوباسیلوس پلانتاروم، لاکتوباسیلوس بوچنری، انتروکوکوس فائوسیوم و پروپیونوباکتریوم اسیدوفیلوس) در سه سطح ۰، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم ماده خشک سیلاژ جو استفاده شد. ماده خشک، ظرفیت بافری، شاخص فلیگ و pH سیلاژهای آزمایشی اندازه‌گیری شد. فراسنجه‌های تولید گاز شامل پتانسیل تولید گاز، نرخ تولید گاز و فاز تأخیر اندازه‌گیری شد. هم‌چنین، غلظت نیتروژن آمونیاکی و جمعیت کل پروتوزوآ در شرایط برون‌تنی اندازه‌گیری و انرژی قابل متابولیسم، اسیدهای چرب کوتاه زنجیر و گوارش‌پذیری ماده آلی سیلاژهای آزمایشی نیز برآورد شد.

نتایج: هیچ‌کدام از شاخص‌های کیفی سیلاژ شامل ظرفیت بافری، شاخص فلیگ و pH سیلاژهای آزمایشی تحت تأثیر افزودنی باکتریایی قرار نگرفت (P>۰/۰۵)، اما سیلاژ جو حاوی ۵ میلی‌گرم افزودنی باکتریایی در مقایسه با سیلاژ شاهد و سیلاژ جو حاوی ۱۰ میلی‌گرم افزودنی باکتریایی، ماده خشک بیش‌تری داشت (۳۰/۲۴ در برابر ۲۸/۰۷ و ۲۸/۶۷ درصد، P<۰/۰۵). هم‌چنین، افزودنی باکتریایی تأثیری بر فراسنجه‌های تولید گاز، جمعیت کل پروتوزوآ، غلظت نیتروژن آمونیاکی و برآورد انرژی قابل متابولیسم، اسیدهای چرب کوتاه زنجیر و گوارش‌پذیری ماده آلی نداشت (P>۰/۰۵).

نتیجه‌گیری و بحث: با توجه به عدم تأثیر سطوح افزودنی باکتریایی بر شاخص‌های کیفی اندازه‌گیری شده سیلاژ در این آزمایش، استفاده از افزودنی باکتریایی در تهیه سیلاژ جو با درنظر گرفتن هزینه آن توصیه نمی‌شود.

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: shkargar@gmail.com

تاریخ دریافت: ۲۵ شهریور ۱۳۹۹؛ تاریخ داوری: ۳ آبان ۱۳۹۹؛ تاریخ اصلاح: ۶ آذر ۱۳۹۹؛ تاریخ پذیرش: ۲۸ آذر ۱۳۹۹
(DOI): 10.22034/AEJ.2020.246385.2339

مقدمه

جو با نام علمی هوردوم ولگار (*Hordeum vulgare*) به‌طور وسیعی در جیره نشخوارکنندگان استفاده می‌شود. سطح زیرکشت جو در کشور در سال زراعی ۹۷-۹۶ حدود ۱،۴۵۳،۶۰۹ هکتار و کل تولید کشور ۳۱۰۱۷۷۴ تن برآورد شده است (آمارنامه محصولات کشاورزی، ۱۳۹۷). کاشت گیاه جو به‌علت مقاومت به خشکی برای مناطق نیمه‌خشک بسیار مناسب است و در بیش‌تر مناطق ایران کشت می‌شود. اگر زمان کافی برای مصرف جو تازه نباشد، می‌توان سیلاژ آن را به‌راحتی تهیه کرد. علوفه جو برای تولید سیلاژ بسیار مناسب است، زیرا مقدار زیادی کربوهیدرات محلول در آب دارد و ظرفیت بافری آن کم می‌باشد. از مزایای سیلوکردن جو، بی‌نیازی به جدا کردن دانه، کاهش هدرروی بذر در هنگام برداشت محصول و برداشت ماده خشک بیش‌تر در سطح هکتار است. امکان تهیه سیلاژ در همه مراحل رشد فراهم می‌باشد (Buxton و همکاران، ۲۰۰۳). افزودنی‌ها به سیلاژ برای بهینه‌سازی فرآیند تخمیر و تولید سیلاژ مطلوب و در نتیجه کاهش اتلاف و افزایش پایداری هوازی اضافه می‌شوند. افزودنی‌های سیلاژ در چهار گروه طبقه‌بندی می‌شوند: ۱-محرک تخمیر، ۲- بازدارنده تخمیر، ۳- بازدارنده فساد هوازی سیلاژ و ۴- مواد مغذی و جاذب‌ها. افزودنی‌های محرک تخمیر، با افزایش سرعت کاهش pH سیلاژ تولید اسیدلاکتیک را بهبود می‌بخشد. افزودنی‌های باکتریایی به‌عنوان محرک تخمیر درنظر گرفته می‌شوند (Muck و همکاران، ۲۰۱۸). به‌طورکلی افزودنی‌های باکتریایی موجب افزایش اسیدلاکتیک و کاهش اسید استیک، اسید بوتیریک، pH و نیتروژن آمونیاکی سیلاژ، حفظ کربوهیدرات‌های گیاهی طی تخمیر و کاهش تجزیه و دآمیناسیون پروتئین‌های گیاه می‌شود (Addah و همکاران، ۲۰۱۶). یکی از قدیمی‌ترین و رایج‌ترین افزودنی‌های باکتریایی، باکتری‌های تولید کننده اسیدلاکتیک می‌باشد. بیش‌تر باکتری‌های تولید کننده اسید لاکتیک با تخمیر ناهمگن و اختیاری هستند. لاکتوباسیلوس پلانتاروم (*Lactobacillus plantarum*) و لاکتوباسیلوس بوچنری (*Lactobacillus buchneri*) از مهم‌ترین باکتری‌های این دسته هستند که به‌میزان زیادی در افزودنی‌های باکتریایی تجاری استفاده می‌شوند. لاکتوباسیلوس پلانتاروم موجب افزایش سرعت کاهش pH می‌شود و لاکتوباسیلوس بوچنری در بهبود پایداری هوازی سیلاژ نقش دارد (Dunière و همکاران، ۲۰۱۳). استفاده از افزودنی باکتریایی در سیلاژ جو سبب حفظ کربوهیدرات‌های محلول در آب، کاهش غلظت اسیداستیک، اسیدسوکسینیک و pH (Addah و همکاران، ۲۰۱۶)، غلظت نیتروژن آمونیاکی (Amanullah و همکاران، ۲۰۱۳)، افزایش ماده خشک و خاکستر (Amanullah و همکاران، ۲۰۱۳) و پایداری هوازی سیلاژ جو (Addah و همکاران، ۲۰۱۲) شد. پژوهش دیگری نشان داد استفاده از افزودنی باکتریایی غلظت اتانول و بوتاندیول را در سیلاژ جو کاهش داد (Muck و همکاران، ۲۰۱۸). در ایران به‌دلیل تنوع شرایط آب و هوایی در بعضی نواحی به‌علت وجود فصول نامساعد و نیز شرایط نامطلوب جوی استفاده از علوفه سبز و تازه محدود می‌شود و دامداران از روش‌های متفاوتی نظیر خشک کردن و سیلوکردن برای ذخیره علوفه استفاده می‌کنند. یکی از روش‌های آزمایشگاهی سریع و ارزان قیمت برای برآورد ارزش غذایی مواد خوراکی، استفاده از آزمون تولید گاز می باشد (آقاجانزاده گلشنی و همکاران، ۱۳۹۸). بنابراین، پژوهش حاضر با هدف بررسی ارزش غذایی و خصوصیات کیفی سیلاژ جو دارای سطوح افزودنی باکتریایی با استفاده از آزمون تولیدگاز شرایط برون‌تنی انجام شد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش طی یک طرح مشترک بین دانشگاه شیراز و دانشگاه ایلام از تاریخ خرداد ۹۶ تا شهریور ۹۹ انجام شد. علوفه جو دیم در مرحله خمیری (با ماده خشک ۴۸/۸۶ درصد) در اوایل خرداد ۱۳۹۶ برداشت شد. علوفه‌ها با دستگاه خرد کن به ذرات ۴ سانتی‌متر (با میانگین هندسی ۳/۸ میلی‌متر و انحراف معیار ۱/۶ میلی‌متر) خرد شدند. یک کیلوگرم علوفه جو در کیسه‌های نایلونی به‌صورت دستی فشرده شده و برای مدت ۴۵ روز سیلو شد. افزودنی باکتریایی با نام تجاری پروسیج (Prosage، محصول شرکت مهر بیستون) حاوی مخلوطی از باکتری‌های لاکتوباسیلوس پلانتاروم، لاکتوباسیلوس بوچنری، انتروکوکوس فائوسیوم (*Enterococcus faecium*) و پروپیونوباکتریوم اسیدوفیلوس (*Propionibacterium acidophilus*) می‌باشد که تأمین کننده 1×10^{10} واحد تشکیل دهنده کلنی به‌ازای هر گرم علوفه تازه بودو در سه سطح ۰، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم ماده خشک جو استفاده شد. سیلاژهای آزمایشی شامل: ۱-سیلاژ جو بدون افزودنی (شاهد)، ۲- سیلاژ جو حاوی ۵ میلی‌گرم افزودنی باکتریایی، ۳- سیلاژ جو حاوی ۱۰ میلی‌گرم افزودنی باکتریایی بود و هر سیلاژ با سه تکرار تهیه شد. مقدار ۱۵ و ۳۰ میلی‌گرم از افزودنی باکتریایی به‌ترتیب برای سطوح ۵ و ۱۰ میلی‌گرم در ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل و بر روی سیلاژها اسپری شدند. به سیلاژهای شاهد، به‌میزان مساوی از افزودنی آب مقطر اضافه شد. پس از باز کردن سیلوها برای اندازه‌گیری pH، ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر به ۱۰ گرم نمونه تازه سیلاژ اضافه و با مخلوط کن هموژنیزه و سپس صاف شد. pH محلول به‌دست آمده با استفاده از pHمتر دیجیتال (Metrohm, Swiss) قرائت شد (معینی‌زاده و همکاران، ۱۳۹۲). برای اندازه گیری ظرفیت بافری، ابتدا ۱۰ گرم از سیلاژ آزمایشی با ۲۰۰ میلی‌لیتر آب مقطردر مخلوط کن به‌مدت ۳۰ ثانیه هم‌زده شد. pH مخلوط یادداشت شد. با اسیدکلریدریک ۰/۱

نرمال pH عصاره به ۴ رسانده شد. سپس با هیدروکسید سدیم ۰/۱ نرمال pH به ۶ رسانده شد. مقدار اسید و هیدروکسید سدیم مصرفی یادداشت شد. ظرفیت بافری به‌صورت میلی اکی‌والان باز مورد نیاز برای رساندن pH از ۴ به ۶ به‌ازای ۱۰۰ گرم ماده خشک سیلو بیان شد (Jasaitis و همکاران، ۱۹۸۷). شاخص فلیگ با توجه به ماده خشک و pH سیلاژ براساس رابطه (۱) محاسبه شد (Kilic,۱۹۸۶):

(رابطه ۱): شاخص فلیگ= ۲۲۰+ (۲ × درصد ماده خشک -۱۵)- ۴۰ × pH

نمونه‌هایی از سیلاژهای آزمایشی به‌مدت ۷۲ ساعت در آون با دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد خشک شد (آبسالان و همکاران، ۱۳۹۸) و با الک ۱ میلی‌متری آسیاب شدند. برای برآورد فراسنجه‌های تولید گاز، مایع شکمبه از دو رأس گوسفند نر نژاد کردی دارای فیستولای شکمبه با میانگین وزن زنده ۵±۶۰ کیلوگرم جمع‌آوری شد. این گوسفندان در جایگاه انفرادی و با آخور و آبخوری مجزا نگه‌داری و با یک جیره کاملاً مخلوط حاوی ۷۰ درصد علوفه و ۳۰ درصد کنسانتره در سطح نگه‌داری تغذیه شدند. این جیره حاوی ۵۵ درصد علوفه خشک یونجه، ۱۵ درصد کاه گندم، ۱۵ درصد دانه جو، ۱۰ درصد کنجاله سویا، ۳/۵ درصد سبوس گندم و مخلوط مکمل ویتامینی-معدنی ۱/۵ درصد بود که در دو نوبت صبح و عصر به گوسفندان داده می‌شد. سنگ نمک نیز به‌صورت آزادانه در آخور قرار داشت. نمونه مایع شکمبه قبل از خوراک نوبت صبح جمع‌آوری شد و مایع شکمبه در بطری پلاستیکی کوچکی ریخته شد و این بطری در یک فلاسک که از قبل با آب ۳۹ درجه سانتی‌گراد پر شده بود، قرار گرفت. مایع شکمبه با پارچه کتان چهار لایه صاف شد. بافر تهیه شده (Menke و Steingass، ۱۹۸۸) با نسبت دو به یک با مایع شکمبه مخلوط شد. ۴۰ میلی‌لیتر از مخلوط مایع شکمبه و بافر به ویال‌های حاوی ۲۰۰ میلی‌گرم از سیلاژهای آزمایشی اضافه شد (Menke و Steingass، ۱۹۸۸). سپس ۱۵ ثانیه دی اکسیدکربن تزریق و بلافاصله درپوش لاستیکی ویال‌ها گذاشته شد و با استفاده از محافظ آلومینیومی مخصوص پرس گردید. میزان گاز تولیدی در زمان‌های ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۲، ۲۴، ۴۸، ۷۲، ۹۶ و ۱۲۰ ساعت پس از شروع انکوباسیون با فشارسنج قرائت شد. داده‌های فشار گاز به حجم تبدیل شد (Lopez و همکاران، ۲۰۰۷). برای تصحیح میزان گاز، ۴۰ میلی‌لیتر از مخلوط مایع شکمبه و بافر داخل سه ویال فاقد نمونه آزمایشی (بلانک) ریخته شد. برآورد فراسنجه‌های تولید گاز از معادله $Y=a+b\{1-e^{-c(t-lag)}\}$ به‌دست آمد (McDonald، ۱۹۸۱). در این معادله، Y: میزان گاز تجمعی تولید شده در زمان، a+b: پتانسیل تولیدگاز، c: سرعت کل تولید گاز (درصد در ساعت) ، t: زمان و lag: فاز تأخیر می‌باشد. برای اندازه‌گیری نیتروژن آمونیاکی و شمارش جمعیت پروتوزوآ یک آزمون تولید گاز به‌مدت ۲۴ ساعت انجام شد. پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون، ۲ میلی‌لیتر از مایع درون ویال با ۵ میلی‌لیتر محلول اسیدکلریدریک ۰/۲ نرمال رقیق شد و تا روز اندازه‌گیری در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شد. نیتروژن آمونیاکی با استفاده از اسپکتروفتومتر به‌روش فنول هیپوکلریت اندازه‌گیری شد (Broderick و Kang، ۱۹۸۰). برای شمارش جمعیت پروتوزوآ ۵ میلی‌لیتر از مایع شکمبه با ۵ میلی‌لیتر محلول فرمالین ۵۰ درصد، رقیق شد سپس دو قطره رنگ سبز بریلیانت به آن اضافه و به‌خوبی تکان داده شد. ۲۴ ساعت بعد از افزودن رنگ، شمارش پروتوزوآ با استفاده از لام‌نئوبار و میکروسکوپ نوری با بزرگ‌نمایی ۱۰ انجام شد (Dehority، ۲۰۰۳). میزان انرژی قابل متابولیسم و گوارش پذیری ماده آلی سیلاژهای آزمایشی با استفاده از رابطه‌های ۲ و ۳ برآورد شد (Menke و Steingass، ۱۹۸۸):

(رابطه ۲): =(مگاژول در کیلوگرم ماده خشک) انرژی قابل متابولیسم
۲/۰+۲/۱۳۶GP+۰/۰۵۷CP

(رابطه ۳): ۱۴/۰+۸۸/۸۸۹ GP +۰/۰۴۵CP=(درصد) گوارش‌پذیری ماده آلی

کل اسیدهای چرب فرار با استفاده از رابطه چهار محاسبه شد (Makkar، ۲۰۱۰):

(رابطه ۴): ۰/۰۲۲۲GP-۰/۰۰۴۲۵=(میلی‌مول) اسیدهای چرب کوتاه زنجیر

که در رابطه‌های فوق GP، حجم گاز حاصل از ۲۴ ساعت انکوباسیون (میلی‌لیتر) و CP، پروتئین خام (درصد) است. داده‌های حاصل در قالب طرح کاملاً تصادفی و براساس رویه خطی ساده نرم‌افزار آماری SAS (نسخه ۹/۲) و با رابطه ۵ تجزیه واریانس شد و میانگین تیمارها با استفاده از آزمون توکی مقایسه و در سطح احتمال کم‌تر یا مساوی ۰/۰۵ معنی‌دار تلقی شدند. رابطه ۵ مدل آماری آزمایش را نشان می‌دهد:

(رابطه ۵): $Yij = \mu + Ti + eij$

که در این رابطه Yij، متغیر وابسته، μ، میانگین جامعه، Ti، اثر تیمار و eij، اثر خطای آزمایشی است.

نتایج

ویژگی‌های کیفی سیلاژها: اثر سطوح مختلف افزودنی باکتریایی بر ویژگی‌های کیفی سیلاژ جو در جدول ۱ نشان داده شده است. افزودنی باکتریایی تأثیری بر ظرفیت بافری، شاخص فلیگ و pH سیلاژهای آزمایشی نداشت. اما سیلاژ حاوی سطح کم‌تر افزودنی باکتریایی دارای ماده خشک بیش‌تری نسبت به دو سیلاژ دیگر بود (P<۰/۰۵).

فراسنجه‌های تولید گاز: جدول ۲ اثر سطوح مختلف افزودنی باکتریایی تأثیری بر پتانسیل و سرعت تولید گاز، فاز تأخیر، غلظت نیتروژن آمونیاکی و کل جمعیت پروتوزوآ سیلاژهای آزمایشی را نشان می‌دهد. هیچ‌کدام از فراسنجه‌های پتانسیل و سرعت تولید گاز، فاز تأخیر، غلظت نیتروژن آمونیاکی و کل جمعیت پروتوزوآ تحت تأثیر افزودنی باکتریایی قرار نگرفتند.

فراسنجه‌های برآورد شده: اثر سطوح مختلف افزودنی باکتریایی تأثیری بر برآورد انرژی قابل متابولیسم، کل اسیدهای چرب فرار و گوارش‌پذیری ماده آلی در جدول ۳ نشان داده شده است. هیچ‌یک از فراسنجه‌های برآورد شده تحت تأثیر سطوح مختلف افزودنی باکتریایی قرار نگرفت.

جدول ۱: اثر سطوح مختلف افزودنی باکتریایی بر ویژگی‌های کیفی سیلاژ جو

فراسنجه	افزودنی باکتریایی (میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک جو)			خطای معیار	سطح معنی‌داری
	۰	۵	۱۰		
ماده خشک (درصد)	۲۸/۰۷ b	۳۰/۲۴ a	۲۸/۶۷ b	۰/۴۳	۰/۰۱
ظرفیت بافری (میلی اکی‌والان در لیتر)	۳۱۰/۰۲	۳۲۸/۰۴	۳۱۷/۲۳	۸/۴۱	۰/۳۷
شاخص فلیگ	۸۵/۹۵	۸۷/۳۷	۸۵/۶۵	۱/۵۷	۰/۷۲
pH	۴/۳۸	۴/۴۵	۴/۴۲	۰/۰۳	۰/۳۵

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

جدول ۲: اثر سطوح مختلف افزودنی باکتریایی بر فراسنجه‌های تولیدگاز، غلظت نیتروژن آمونیاکی و کل جمعیت پروتوزوآ

فراسنجه	افزودنی باکتریایی (میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک جو)			خطای معیار	سطح معنی‌داری
	۰	۵	۱۰		
تولید گاز (میلی‌لیتر)	۱۳۳/۱۲	۱۵۳/۶۸	۱۵۴/۳۲	۷/۶۶	۰/۲۹
نرخ تولید گاز (در ساعت)	۰/۰۵۳	۰/۰۵۹	۰/۰۵۷	۰/۰۰۵	۰/۷۵
فاز تأخیر (ساعت)	۰/۰۳	۰/۱۱	۰/۱۲	۰/۱۰	۰/۷۹
غلظت نیتروژن آمونیاکی (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	۱۴/۷۲	۱۵/۸۷	۱۲/۵۷	۳/۲۵	۰/۷۳
کل جمعیت پروتوزوآ[1]	۴/۴۴	۴/۳۲	۴/۲۶	۰/۱۱	۰/۵۸

۱: لگاریتم بر مبنای ۱۰ به‌ازای هر گرم دایجستا (Log^{10} /g digesta)

جدول ۳: اثر سطوح مختلف افزودنی باکتریایی بر برآورد قابل انرژی متابولیسم، کل اسیدهای چرب کوتاه زنجیر و گوارش‌پذیری ماده آلی

فراسنجه	افزودنی باکتریایی (میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک جو)			خطای معیار	سطح معنی‌داری
	۰	۵	۱۰		
انرژی قابل متابولیسم (مگاکالری در کیلوگرم ماده خشک)	۲/۷۳	۳/۰۳	۲/۵۱	۰/۲۶	۰/۳۸
اسیدچرب کوتاه زنجیر (میلی‌مول در ۲۰۰ میلی‌گرم ماده خشک)	۱/۴۹	۱/۷۰	۱/۳۵	۰/۱۸	۰/۳۸
گوارش‌پذیری ماده آلی (درصد)	۷۵/۳۵	۸۳/۴۸	۶۹/۳۷	۷/۲۶	۰/۳۶

بحث

ویژگی‌های کیفی سیلاژها: فرآیند تخمیر سیلاژ بستگی زیادی به‌دسترسی باکتری‌ها به کربوهیدرات‌های قابل تخمیردارد (Bolsen و همکاران، ۱۹۹۲). سیلاژ دانه جو به‌علت کربوهیدرات‌های قابل تخمیر بالا، اغلب تخمیر مطلوبی دارد. پس از باز کردن سیلاژها، همه سیلاژهای آزمایشی به‌لحاظ رنگ و بو از کیفیت خوبی برخوردار بودند و هیچ‌گونه قارچ یا کپکی در آن‌ها مشاهده نشد. در آزمایش قبلی نگارندگان این مقاله، استفاده از همین سطوح افزودنی باکتریایی در سیلاژ جو پژمرده شده، میزان‌ماده خشک را به‌طور مشابهی‌تحت تأثیر قرار داد. به گونه‌ای که سیلاژ حاوی سطح کم‌تر افزودنی باکتریایی دارای‌ماده خشک بیش‌تری نسبت به سیلاژ دارای سطح بالاتر افزودنی باکتریایی بود (آبسالان و همکاران، ۱۳۹۸). در واقع شاید بتوان گفت افزودنی باکتریایی باعث کاهش اتلاف ماده خشک سیلاژ شده است، بنابراین سیلاژ دارای سطح کم‌تر افزودنی باکتریایی نسبت به سیلاژ شاهد ماده خشک بیش‌تری داشت. هم‌چنین اگرچه pH سیلاژها با یکدیگر تفاوت معنی‌داری‌نداشت ولی سیلاژ دارای سطح کم‌تر افزودنی باکتریایی از لحاظ عددی pH بالاتری نسبت به دو سیلاژ دیگر داشت (جدول ۱)، زیرا افزایش pH با سطوح بالای ماده خشک، تخمیر را

محدود می‌کند (Kung و همکاران، ۱۹۸۴). در دیگر پژوهش‌ها، افزودنی باکتریایی باعث کاهش میزان ماده خشک سیلاژ جو شد (Amanullah و همکاران، ۲۰۱۳) و یا اثری بر ماده خشک سیلاژ جو نداشت (Addah و همکاران، ۲۰۱۶؛ Baah و همکاران، ۲۰۱۱). برای پیش‌بینی استفاده از مکمل بافری در جیره و کنترل تعادل اسید-باز، ارزیابی ظرفیت بافری و pH خوراک ضروری به‌نظر می‌رسد، چراکه وضعیت اسید-باز شکمبه pH، ظرفیت بافری و تحریک تولید بزاق تحت تأثیر قرار می‌دهد (Le Ruyet و همکاران، ۱۹۹۲؛ Jasaitis و همکاران، ۱۹۸۷). شاخص فلیگ اطلاع خوبی از وضعیت تخمیر و کیفیت سیلاژ می‌دهد. براساس معادله‌فلیگ، درصورتی‌که این شاخص بین ۸۵ تا ۱۰۰ باشد نشان‌دهنده کیفیت بسیار خوب سیلاژ است و اگر این شاخص بین ۶۰ تا ۸۰ باشد، نشانه کیفیت خوب و بین ۵۵ تا ۶۰، نشانه کیفیت متوسط و بین ۲۵ تا ۴۰ نشان‌دهنده رضایت بخش بودن کیفیت سیلاژ می‌باشد. شاخص پایین‌تر از ۲۰ نشانگر کیفیت بد سیلاژ است (Kilic، ۱۹۸۶). با توجه به اعداد جدول ۱ هر سه سیلاژ به‌لحاظ شاخص فلیگ کیفیت بسیار خوبی داشتند. یکی از بهترین شاخص برای تعیین کیفیت سیلاژ pH است. محدوده pH مناسب سیلاژ خوب در حدود ۴/۵-۳/۵ می‌باشد (Zahiroddini و همکاران، ۲۰۰۴). به‌طورکلی pH کمتر سیلاژ بیانگر تولید اسیدلاکتیک بیش‌تر و سیلاژ مناسب می‌باشد. چراکه کاهش pH مانع فعالیت باکتری‌های فاسدکننده سیلاژ می‌شود. افزون بر این، با کاهش pH عمل پروتئولیز و فعالیت آنزیم‌های گیاه کم و در نتیجه فساد سیلاژ و تبدیل پروتئین به‌نیتروژن غیرپروتئنی هم کم می‌شود(McDonald و همکاران، ۱۹۹۱). ناهم‌سو با نتایج پژوهش حاضر، افزودنی باکتریایی باعث کاهش pH سیلاژجو پژمرده شد(آبسالان و همکاران، ۱۳۹۸)، که‌دلیل آن می‌تواند پژمرده شدن جو قبل از تهیه سیلاژ در آن آزمایش باشد. پژمرده شدن گیاه قبل از سیلوکردن تخمیر سیلاژ را بهبود می‌بخشد (Marsh، ۱۹۷۹). استفاده از افزودنی لاکتوباسیلوس بوچنری در سیلاژ یونجه برخلاف آزمایش حاضر، باعث کاهش ماده خشک و pH شد (شفیع‌پور و همکاران، ۱۳۹۶). اگرچه در پژوهش‌های دیگرpH سیلاژ جو تحت تأثیر افزودنی میکروبی قرار نگرفت (Addah و همکاران، ۲۰۱۶؛ Baah و همکاران، ۲۰۱۱).

فراسنجه‌های تولید گاز: نتیجه‌فعالیت تخمیری میکروارگانیسم‌های شکمبه بر روی خوراک تولید اسیدچرب و گاز می‌باشد. هم‌سو با این نتایج در آزمایش دیگری، استفاده از افزودنی باکتریایی در سیلاژ جو پژمرده شده، فراسنجه‌های تولید گاز، غلظت نیتروژن آمونیاکی و کل جمعیت پروتوزوآ را تحت تأثیر قرار نداد (آبسالان و همکاران، ۱۳۹۸). دامنه تولید گاز (۱۳۳ تا ۱۵۴ میلی‌لیتر) در این آزمایش نزدیک به اعداد گزارش‌شده (۱۳۵ تا ۱۶۰ میلی‌لیتر)در آزمایش قبلی نگارندگان این مقاله می‌باشد (آبسالان و همکاران، ۱۳۹۸). هم‌چنین، تفاوتی در فراسنجه‌های تولید گاز سیلاژ تریتیکاله دارای افزودنی باکتریایی مشاهده نشد (مکاری و همکاران، ۱۳۹۶). جمعیت پروتوزوآی‌شکمبه تحت‌تأثیر pHشکمبه‌وفعالیت پروتئولیتیکی قرار می‌گیرد (Dehority، ۲۰۰۳). به‌طور مشابه، افزودن آنزیم تغییری در جمعیت پروتوزوآی سیلاژ ذرت ایجاد نکرد (Donmez و همکاران، ۲۰۰۳).

فراسنجه‌های برآورد شده: در پژوهش دیگری نیز مشابه با این نتایج استفاده از همین سطوح افزودنی باکتریایی در سیلاژ جو تفاوتی در میزان انرژی قابل متابولیسم، کل اسیدهای چرب فرار و گوارش پذیری ماده آلی برآورد شده ایجاد نکرد (آبسالان و همکاران، ۱۳۹۸). هم‌چنین، افزودنی باکتریایی اثری بر گوارش‌پذیری ماده‌آلی سیلاژجو (۵۷ درصد) نداشت (Addah و همکاران، ۲۰۱۲). هم‌سو با این نتایج، استفاده از افزودنی باکتریایی در سیلاژ تریتیکاله اثری بر برآورد انرژی قابل متابولیسم، گوارش‌پذیری ماده آلی و اسیدهای چرب کوتاه زنجیر نداشت (مکاری و همکاران، ۱۳۹۶). مقایسه بین میزان انرژی قابل متابولیسم سیلاژ جو (جدول ۳) با سیلاژ ذرت نشان می‌دهد که سیلاژ جو درمقایسه با سیلاژ ذرت (۲/۲۱ مگاکالری‌در کیلوگرم ماده خشک) دارای انرژی قابل متابولیسم بیش‌تری است و به‌نظر می‌رسد با توجه به مرحله رشد و نیاز دام بتوان از سیلاژ جو به‌عنوان یک علوفه پرانرژی در تغذیه نشخوارکنندگان استفاده کرد.

استفاده از افزودنی باکتریایی اگرچه سبب افزایش ماده خشک سیلاژ جو شد (در سطح ۵ میلی‌گرم) اما تأثیری بر سایر ویژگی‌های کیفی سیلاژ نداشت. هم‌چنین، افزودنی باکتریایی بر تخمیر برون‌تنی، کل جمعیت پروتوزوا، غلظت نیتروژن آمونیاکی و گوارش‌پذیری ماده آلی بی‌تأثیر بود.در کل، استفاده از افزودنی باکتریایی با توجه به هزینه آن توصیه نمی‌شود.

تشکر و قدردانی

از شرکت مهر بیستون برای در اختیار قرار دادن افزودنی باکتریایی، صمیمانه تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع

۱. **آبسالان، ا.؛ تأسلی، گ.؛ کارگر، ش.؛ فتاح‌نیا، ف.؛ کوثر، ز. و بوستانی، ع.، ۱۳۹۸.** اثر مولتی‌آنزیم و افزودنی باکتریایی بر ترکیب شیمیایی و برخی فراسنجه‌های تخمیر برون‌تنی سیلاژ جو پژمرده شده. مجله تولیدات دامی. دوره ۲۱، شماره ۱، صفحات ۱۱ تا ۲۲.

۲. **آقاجانزاده‌گلشنی، ا.؛ ماهری‌سیس، ن.؛ سلامت‌دوست‌نوبر، ر.؛ ابراهیم‌نژاد، ی. و قربانی، ا.، ۱۳۹۸.** برآورد ارزش غذایی دانه‌های

گندم و جو با روش تولید گاز آزمایشگاهی با استفاده از دو منبع میکروارگانیسم شیرابه شکمبه و سوسپانسیون مدفوع گوسفند قزل. فصلنامه محیط‌زیست جانوری.دوره ۱۲،شماره ۲، صفحات ۴۵ تا ۵۲.

۳. **آمارنامه محصولات کشاورزی. ۱۳۹۷.** دفتر آمار و برنامه ریزی جهادکشاورزی.

۴. **شفیع‌پور، ن.؛ بشارتی، م.؛ عبدی، ع. و نعمتی، ذ.، ۱۳۹۷.** اثر افزودنی لاکتوباسیلوس بوچنری بر روی خصوصیات شیمیایی و پایداری هوازی سیلاژ یونجه مکمل شده با ملاس یا تفاله پرتقال. فصلنامه محیط‌زیست جانوری.دوره ۱۰، شماره ۳، صفحات ۶۵ تا ۷۲.

۵. **مکاری، ف.؛ کوهساربیات، ج.؛ قنبری، ف. و فلاحی، ح.، ۱۳۹۶.** اثر استفاده از افزودنی باکتریایی، اسیدآلی و اوره بر ترکیب شیمیایی، خصوصیات تخمیری، فراسنجه‌های تولید گاز و گوارش‌پذیری علوفه سیلو شده تریتیکاله در شرایط برون‌تنی. مجله تحقیقات تولیدات دامی. دوره ۶، شماره ۲، صفحات ۱۳ تا ۲۷.

۶. **معینی‌زاده، س.؛ خادم، ع.ا.؛ اسدی‌الموتی، ع. و افضل‌زاده، ا.، ۱۳۹۲.** اثر افزودن یونجه خشک به‌عنوان جاذب رطوبت بر کیفیت تخمیر و تولید پساب در سیلاژ ذرت. مجله تولیدات دامی. دوره ۱۵، شماره ۱، صفحات ۳۱ تا ۴۳.

7. **Addah, W.; Baah, J. and McAllister, T.A., 2016.** Effects of an exogenous enzyme-containing inoculant on fermentation characteristics of barley silage and on growth performance of feedlot steers. Canadian J of animal science. Vol. 96, pp: 1-10.

8. **Addah, W.; Baah, J.; Okine, E.K. and McAllister, T.A., 2012.** A third-generation esterase inoculant alters fermentation pattern and improves aerobic stability of barley silage and the efficiency of body weight gain of growing feedlot cattle. J of Animal Science. Vol. 90, pp: 1541-1552.

9. **Addah, W.; Baah, J.; Groenewegen, P.; Okine, E.K. and McAllister, T.A., 2011.** Comparison of the fermentation characteristics, aerobic stability and nutritive value of barley and corn silages ensiled with or without a mixed bacterial inoculant. Canadian J of animal science. Vol. 91, pp: 133-146.

10. **Amanullah, S.M.; Kim, D.H.; Lee, H.J.; Joo, Y.H.; Kim, S.B. and Kim, S.C., 2013.** Effects of microbial additives on chemical composition and fermentation characteristics of barley silage. Asian Australasian Journal of Animal Science. Vol. 4, pp: 511-517.

11. **Baah, J.; Addah, W.; Okine, E.K. and McAllister, T.A., 2011.** Effects of homolactic bacterial inoculant alone or combined with an anionic surfactant on fermentation, aerobic stability and in situ ruminal degradability of barley silage. Asian Australasian. J of Animal Science. Vol. 24, pp: 369-378.

12. **Bolsen, K.K.; Lin, C. and Brent, M., 1992.** Effect of silage additives on the microbial succession and fermentation process of alfalfa and corn silage. Journal of Dairy Science. Vol. 75, pp: 3066-3083.

13. **Broderick, 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. Vol. 63, pp: 64-75.

14. **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. Madison, Wisconsin, USA.

15. **Dehority, B.A., 2003.** Rumen Microbiology. British Library Cataloguing in Publication Data.

16. **Donmez, N.; Karsl, M.A.; Cınar, A.; Aksu, T. and Baytok, E., 2003.** The effects of different silage additives on rumen protozoan number and volatile fatty acid concentration in sheep fed corn silage. Small Ruminant Research. Vol. 48, pp: 227-231.

17. **Dunière, L.; Sindou, J.; Caucheyras, D.F.; Chevallier, I. and Thévenot, S.D., 2013.** Silage processing and strategies to prevent persistence of undesirable microorganisms. Animal Feed Science and Technology. Vol. 182, pp: 1-15.

18. **Jasaitis, D.K.; Wohlt, G.E. and Evans, G.L., 1987.** Influence of feed ion content on buffering capacity of ruminant feedstuffs *in vitro*. Journal of Dairy Science. Vol. 70, pp: 1391-1403.

19. **Kilic, A., 1986.** Silo feed (instruction, education and application Proposals). Bilgehan Press, Ezmir, Turkey.

20. **Kung, J.L.; Grieve, D.B.; Thomas, J.W. and Huber, J.T., 1984.** Added ammonia or microbial inocula for fermentation and nitrogenous compounds of alfalfa ensiled at various percents of dry matter. Journal of Dairy Science. Vol. 67, pp: 299-306.

21. **Le Ruyet, P.; Tucker, B.W.; Hogue, G.F.; Aslam, M. and Lema, M., 1992.** Influence of dietary fiber and buffer value index on the ruminal milieu of lactating dairy cows. Journal of Dairy Science. Vol. 75, pp: 2394-2408.

22. **Lopez, S.; Dhanoa, M.S.; Dijkstra, J.; Bannink, A.; Kebreab, E. and France, J., 2007.** Some methodological and analytical considerations regarding application of the gas production technique. Animal Feed Science and Technology. Vol. 135, pp: 139-156.

23. **Makkar, H.P.S., 2010.** *In vitro* screening of feed resources for efficiency of microbial protein synthesis. In: Vercoe, PE, Makkar HPS, Schlink AC (Eds.), *In vitro* screening of plant resources for extra nutritional. Attributes in Ruminants: Nuclear and Related Methodologies. IAEA, Dordrecht, Netherlands. pp: 107-144.

24. **Marsh, R., 1979.** The effects of wilting on fermentation in the silo and on the nutritive value of silage. Grass and Forage Science. Vol. 34, pp: 1-10.

25. **McDonald, I., 1981.** A revised model for the estimation of protein degradability in the rumen. Journal of. Agriculture Science. Vol. 96, pp: 251-252.

26. **McDonald, P.; Henderson, A.R. and Heron, S.J.E., 1991.** The Biochemistry of silage 2nd ed. Chalcombe Publications. Marlow.UK.

27. **Menke, K.H. and Steingass, H., 1988.** Estimation of energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* production using rumen fluid. Journal of Animal Research and Development. Vol. 28, pp: 7-55.

28. **Muck, R.E.; Nadeau, E.M.G.; McAllister, T.A.; Contreras Govea, F.E.; Santos, M.C. and Kung, L.J., 2018.** Silage review: Recent advances and future uses of silage additives. Journal of Dairy Science. Vol. 101, pp: 3980-4000.

29. **Zahiroddini, H.; Baah, J.; Absalom, W. and McAllister, T.A., 2004.** Effects of an inoculant and hydrolytic enzymes on fermentation and nutritive value of whole crop barley silage. Animal Feed Science and Technology. Vol. 117, pp: 317-330.