

## تأثیر افزودنی های باکتریایی بر ارزش غذایی و تجزیه پذیری شکمبه ای یونجه سیلو شده

فاطمه کاظمی<sup>۱</sup>، مهدی دهقان بنادکی<sup>۲\*</sup>، ابوالفضل زالی<sup>۳</sup> و کامران رضا یزدی<sup>۲</sup>  
۱، ۲، ۳، دانش آموخته کارشناسی ارشد، دانشیاران و استادیار پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران  
(تاریخ دریافت: ۹۰/۸/۲۵ - تاریخ تصویب: ۹۱/۵/۸)

### چکیده

هدف از این پژوهش، بررسی تأثیر دو نوع افزودنی های میکروبی بر ارزش غذایی و تجزیه پذیری شکمبه ای مواد مغذی یونجه سیلو شده بود. تیمارها شامل: ۱- یونجه سیلو شده بدون افزودنی (شاهد)، ۲- تیمار شده با افزودنی میکروبی ایکوسایل، ۳- تیمار شده با لاکتیسیل مایز ۴- تیمار شده با ترکیب هر دو افزودنی ایکوسایل و لاکتیسیل مایز به مقداری نیمی از تیمار های ۲ و ۳ بود. افزودنی ها به سیلوهای آزمایشگاهی کوچک اضافه و پس از ۴۰ روز باز شده و مورد ارزیابی قرار گرفتند. تعیین مؤلفه های تجزیه پذیری با استفاده از ۳ رأس گاو شیری هلشتاین غیرشیرده فیستولدار انجام شد. سیلوی تیمار شده با ایکوسایل کمترین میزان ماده خشک را نسبت به بقیه سیلوه ها به خود اختصاص داد ( $P < 0/05$ ). در سیلوهای حاوی لاکتیسیل مایز کمترین مقدار بود و تیمار ۳ به طور معنی داری  $pH$  پایین تری نسبت به بقیه تیمار ها داشت ( $P < 0/05$ ). تیمارهای ۳ و ۴ بیشترین میزان تجزیه پذیری ماده خشک در زمان صفر و همچنین بیشترین بخش سریع تجزیه شونده ماده خشک را به خود اختصاص دادند ( $p < 0/05$ ). تیمار ۳ بخش  $a+b$  و تجزیه پذیری مؤثر دیواره سلولی را نسبت به تیمارهای دیگر کاهش داد. بیشترین مقدار بخش سریع تجزیه شونده مربوط به تیمار ۲ بود ( $P < 0/01$ ). در زمان ۷۲ هم تیمار ۴ بیشترین میزان تجزیه پذیری دیواره سلولی را با تفاوت معنی داری نسبت به بقیه تیمار ها به خود اختصاص داد ( $P < 0/01$ ). ایکوسایل موجب بیشترین میزان تجزیه پذیری پروتئین در زمان ۱۲، ۴۸ و ۷۲ انکوباسیون شکمبه ای در تیمار ۲ نسبت به تیمار ۴ گردید ( $P < 0/05$ ). با توجه به نتایج این مطالعه لاکتیسیل مایز به علت کاهش  $pH$  و افزایش بخش سریع شونده ماده خشک می تواند به عنوان یک افزودنی مناسب برای یونجه استفاده شود.

**واژه های کلیدی:** یونجه سیلو شده، افزودنی میکروبی، تجزیه پذیری شکمبه ای، ارزش غذایی

### مقدمه

این محصول وجود ندارد. نخستین گام برای حفظ محصولات زراعی به وسیله تخمیر طبیعی، دستیابی سریع به شرایط بی هوازی و در نتیجه جلوگیری از فعالیت میکروارگانیسم های نامطلوب مانند کلسترییدیوم ها و انتروباکتری ها می باشد. این موجودات

هدف اصلی از حفظ هر محصول زراعی، نگهداری آن در شرایط مطلوب رشد برای استفاده در فصولی است که

۱. بخش سریع تجزیه شونده  
۲. بخش سریع تجزیه شونده + بخش کند تجزیه شونده

کشاورزی و عملیات زراعی کمتری است و به همین دلیل ذخیره علوفه یونجه به صورت سیلویی نسبت به علوفه خشک شده آن مقرون به صرفه تر است، مطالعه امکان سیلو کردن آن با افزودنی های باکتریایی جهت تسهیل کاهش pH و تولید سیلویی با کیفیت مناسب ضروری به نظر می رسد. با توجه به مطالب فوق هدف از اجرای این پژوهش بررسی تاثیر دو نوع افزودنی رایج در فرآوری سیلو در ایران بر ارزش غذایی و فراسنجه های تجزیه پذیری شکمبه ای مواد مغذی یونجه سیلو شده بود.

### مواد و روش ها

علوفه یونجه در اواخر گلدهی از مزرعه پردیس کشاورزی دانشگاه تهران واقع در ابتدای جاده محمد آباد بصورت دستی چیده و پس از خرد کردن با ۲۹ درصد ماده خشک سیلو شد. برای سیلو کردن از ظرفهای پلاستیکی ۱۰ لیتری استفاده شد. سوراخی در ته ظرف ها برای خروج پس آب احتمالی تعبیه شد. یونجه با اندازه قطعات ۳ سانتیمتر خرد شد و برای خارج شدن هوا به با استفاده از اهرمی استوانه شکل ۱۰ کیلویی و با دست به شدت فشرده شده و با استفاده از نایلون درب ظرف را پوشانده و سپس درب پلاستیکی ظرف بسته شد.

تیمارهای آزمایشی شامل ۱- تیمار شاهد یونجه سیلو شده که فاقد هرگونه افزودنی بود و به منظور ایجاد شرایط یکسان با تیمارهای دیگر به همان میزان آب مقطر به آن اضافه شد. ۲- ایکوسایل (Ecosyl, UK) به میزان ۰/۱۲۵ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم علوفه استفاده شد که معادل  $1 \times 10^5$  واحد تشکیل دهنده کلنی در هر کیلوگرم علوفه می باشد. هر گرم از افزودنی باکتریایی در ۱۶۰۰ میلی لیتر آب حل شده و بر تمامی سطوح علوفه به طور یکنواخت توسط دستگاه اسپری تحت فشار پاشیده شد. در حین پاشیدن محلول علوفه مخلوط می شد.

ترکیبات این افزودنی میکروبی عبارتند از: لاکتوباسیلوس پلانتروم خشک شده، شکر، قارچ خشک

اسیدبوتیریک تولید کرده و اسیدهای آمینه را به فرآورده های با ارزش غذایی پایین تجزیه می کنند و در نتیجه باعث کاهش ارزش غذایی محصول می شوند (MacDonald et al, 1991). متداولترین روش پیشگیری از رشد این میکروارگانیزم های نامطلوب، افزایش تخمیر اسیدلاکتیکی است. برای بهبود فرآیند سیلو کردن استفاده از افزودنی های شیمیایی و بیولوژیکی مختلف در حال توسعه می باشد (Adesogan & salawu, 2004; Adesogan et al, 2007) افزودنی های بیولوژیکی مفیدتر به نظر می رسند؛ زیرا نسبت به افزودنی های شیمیایی ایمن تر هستند و استفاده از آنها آسان است، ماشین آلات را دچار خوردگی نمی کنند، محیط را آلوده نمی کند و به عنوان یک محصول طبیعی قابل قبول هستند (Rowghani & Zamiri, 2008).

باکتری های تولیدکننده اسیدلاکتیک (لاکتوباکتریها) مانند انتروباکتریها معمولاً در علوفه چیده شده وجود دارند و بی هوازی اختیاری هستند. این میکروارگانیزمها قندهایی را که به طور طبیعی در گیاهان وجود دارند به مخلوطی از اسیدها و عمدتاً اسیدلاکتیک تخمیر می نمایند. اسیدلاکتیک تولید شده غلظت یون هیدروژن را تا سطحی افزایش می دهد که باکتری های نامطلوب در آن توان رشد ندارند. در اکثر مطالعات اولیه، نتایج رضایت بخش تحقیقات آزمایشگاهی غالباً در مزرعه مآیوس کننده بود. بنحوی که بیشتر محققین اولیه بر این عقیده بودند که تعداد باکتری های تولیدکننده اسیدلاکتیک در علوفه به طور طبیعی به اندازه ای است، که امکان تخمیر طبیعی را فراهم آورد. ولی در مطالعات بعدی مشخص شد که، برخی از سویه های این میکروارگانیزمها جهت سیلو کردن، مناسب نمی باشند (MacDonald et al, 1991).

یونجه به دلیل ظرفیت بافوری بالا، کم بودن جمعیت باکتری های اسیدلاکتیکی، غالب شدن کلسترییدیوم ها و تولید شدن سیلوی اسید بوتیریکی، برای سیلو کردن نامناسب شناخته شد (MacDonald et al, 1991). به علت آنکه خشک کردن چین اول و آخر یونجه با مشکل مواجه است دامداران ترجیح می دهند آن را سیلو کنند. از طرفی زمانی که علوفه یونجه به منظور سیلو کردن برداشت می شود، برای برداشت آن نیاز به ماشین آلات

تقریبی با استفاده از آسیاب با الک ۱ میلیمتر آسیاب شد. برای انجام آزمایش تجزیه پذیری شکمبه ای نمونه های خشک شده با آسیابی با الک ۳ میلی متر آسیاب شد (Vanzant, 1998). میزان تجزیه پذیری ماده خشک، پروتئین خام و الیاف غیرمحلول در شوینده خنثی بر اساس روش استاندارد شده (Vanzant 1998) با استفاده از کیسه های با جنس الیاف پلی استر با ابعاد ۱۰×۲۰ سانتیمتر با قطر منافذ ۵۰ میکرومتر اندازه گیری شد. مقدار تجزیه پذیری با استفاده از ۳ رأس گاو شیری هلشتاین غیرشیرده چند بار زایش کرده با میانگین وزنی ۱۰±۶۸ کیلوگرم که قبلاً با استفاده از روش جراحی دو مرحله ای فیستولاگذاری شده بودند، تعیین شد. خوراک حیوانات مورد آزمایش دارای نسبت علوفه به کنسانتره برابر با ۶۰ به ۴۰ درصد با نرم افزار NRC, (2001)، تنظیم و با استفاده از دستگاه خوراک ریز (فیدر) تهیه شد. خوراک به میزان ۱۰ درصد بالاتر از سطح نگهداری در دو وعده برابر در ساعات ۸ صبح و ۱۶ عصر به حیوانات داده شد.

کیسه ها بلافاصله پس از خارج شدن از شکمبه (ساعات ۶، ۱۲، ۲۴، ۴۸، ۷۲) جهت توقف سریع تخمیر میکروبی مواد خوراکی داخل کیسه در آب سرد قرار داده شدند. کیسه ها با دست به روش پیشنهادی (Coblentz et al, 1998) به مدت ۲۰ دقیقه و تا شفاف شدن آب خروجی از کیسه ها شستشو شدند. برای تعیین تجزیه پذیری در زمان صفر، کیسه ها بدون انکوباسیون در شکمبه با استفاده از آب سرد همانند کیسه های خارج شده از شکمبه شسته شدند. کیسه ها پس از شستشو به مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۶۰ درجه سانتی گراد قرار گرفتند. سپس به منظور تعیین تجزیه پذیری ماده خشک توزین شده و میزان پروتئین خام، الیاف نامحلول در شوینده خنثی و ماده آلی نمونه ها بر اساس روش AOAC (۱۹۹۰) تعیین شد. درصد تجزیه پذیری، تجزیه پذیری مؤثر و فراسنج‌های a، b و c برای ماده خشک، ماده آلی، پروتئین خام و الیاف نامحلول در شوینده خنثی با استفاده از معادلات غیر خطی (Ørskov & McDonald, 1979) با

شده، دی پتاسیم فسفات، مونوسدیم فسفات، گلايسين، سدیم اريتروبايت (نگهدارنده)، منیزیم سولفات، سدیم آلومینیوسیلیکات ۳-لاکتیسیل مایز (Lactical Maize) که به میزان ۰/۲ میلی گرم در هر کیلوگرم علوفه استفاده شد و هر گرم در ۲۰۰ میلی لیتر آب حل شده و به علوفه اضافه شد. این افزودنی شامل ۵ گونه باکتری می باشد که عبارتند از: انتروکوکوس فاسیوم، لاکتوباسیلوس پلانتاروم، پدیوکوکوس پنتوزاسیوس، لاکتوباسیلوس کاسئی، لاکتوباسیلوس بوچنری و غلظت باکتری (واحد تشکیل دهنده کلنی به ازای هر کیلوگرم علوفه) برابر  $10^5 \times 1.5$  می باشد. این نسبت ها بر اساس توصیه شرکت های سازنده بود. ۴-ترکیب دو افزودنی میکروبی ایکوسایل و لاکتیسیل مایز که از هر کدام به میزان نیمی از مقادیری که در تیمارهای ۲ و ۳ استفاده شد که مقادیر مورد استفاده ایکوسایل و لاکتیسیل مایز به ترتیب ۰.۰۶۲۵ و ۰.۱ میلی گرم به کیلوگرم علوفه در آب حل شده و به علوفه اضافه شد.

محلول های افزودنی بر روی سطح علوفه اسپری شد. سیلوها در دمای اتاق نگهداری شدند و در روز ۴۰ با ۳ تکرار برای هر تیمار باز شدند. نمونه گیری از یک سوم میانی سیلو انجام شد.

از هر سیلو ۴۰۰ گرم نمونه به منظور اندازه گیری ماده خشک، الیاف غیرمحلول در شوینده خنثی (NDF)، پروتئین خام (CP)، خاکستر و شاخص های تجزیه پذیری شکمبه ای و ۱۵ گرم هم برای عصاره گیری جهت اندازه گیری pH برداشته شد. به منظور اندازه گیری اسیدیته نمونه تر سیلو به میزان ۲۵ گرم در داخل مخلوط کن گذاشته شد و به میزان ۱۰۰ گرم آب مقطر به آن اضافه شد و پس از ۹۰ ثانیه مخلوط ایجاد شده با استفاده از توری چهارلایه صاف شد. برای اندازه گیری pH عصاره سیلو، بلافاصله پس از نمونه گیری، pH توسط یک pH متر قابل حمل Sentron مدل A102-003 که با استفاده از بافرهای ۴ و ۷ کالیبره شده بود، اندازه گیری شد. نمونه ۴۰۰ گرمی به مدت ۴۸ ساعت در آون با درجه حرارت ۶۰ درجه سانتیگراد قرار داده شد و سپس توزین و به منظور انجام آزمایش های تجزیه

استفاده از نرم افزار NEWAY تعیین شد.

جدول ۱- مواد خوراکی جیره غذایی گاوهای فیستوله دار (درصد ماده خشک)

ماده خوراکی	درصد جیره	ماده خوراکی	درصد جیره
یونجه خشک	۲۱/۷۸	سبوس برنج	۲/۹۵
ذرت سیلو شده	۲۹/۴۹	سبوس گندم	۳/۹۱
کاه گندم	۸/۷۳	سدیم بیکربنات	۰/۳۲
تفاله چغندر قند	۲/۸۴	کلسیم کربنات	۰/۴۹
جو	۹/۹۸	دی کلسیم فسفات	۰/۰۸
ذرت	۲/۸۴	مکمل مواد معدنی و ویتامینی	۰/۰۸
گندم	۴/۸۸	نمک	۰/۱۶
کنجاله کلزا	۶/۹۲	زئولیت	۰/۹۲
کنجاله سویا	۳/۶۳		

هر کیلو گرم مکمل ویتامینی و معدنی دارای ۶۰۰ هزار واحد بین المللی ویتامین A، 200 هزار واحد بین المللی ویتامین D، 2000 واحد بین المللی ویتامین E، 2500 میلی گرم آنتی اکسیدان، ۱۹۵ گرم کلسیم، ۲۱۰۰۰ میلی گرم منیزیم، ۲۲۰۰ میلی گرم منگنز، ۳۰۰۰ میلی گرم آهن، ۳۰۰ میلی گرم مس، ۳۰۰۰ میلی گرم روی، ۱۰۰۰ میلی گرم کبالت، ۱۲۰ میلی گرم ید و ۲۰ میلی گرم سلنیوم بود.

(جدول ۲). افزودنی میکروبی ایکوسایل که تنها باکتری آن لاکتوباسیلوس پلانتاروم بود بازیافت ماده خشک را کاهش داد. در اکثر مطالعات بهبود در ماده خشک سیلو گزارش شده است (Kung et al, n 1997). اما در مطالعه ای دیگر هیچگونه تفاوت معنی داری در بین سیلوی کنترل و سیلوی تلقیح شده از نظر میزان ماده خشک مشاهده نشد (Kamarloy et al, 2008). افزودن سویه های باکتریایی باعث رشد و تخمیر بسیار سریع و در نتیجه حفظ بیشتر ماده خشک می گردد (Macdonald et al, 1991). این اثر بسته به نوع محصول، کاهش تجزیه پروتئین و آمین زدایی آنها نتیجه ممانعت از فعالیت کلستریدیا و انتروباکتریها و در نتیجه غالب شدن باکتری های تولید کننده اسید لاکتیک همگن می باشد. تیمار ۲ بیشترین مقدار pH را با تفاوت معنی داری نسبت به تیمارهای حاوی لاکتیسیل مایز داشت. با توجه به اینکه تنها باکتری افزودنی ایکوسایل لاکتوباسیلوس پلانتاروم است اینگونه استنباط می شود که اگرچه اضافه کردن باکتری پلانتاروم به منظور تخمیر اسید لاکتیکی و کاهش سریع pH مناسب شناخته شد اما برخی سویه های آن قبل از افت pH به کمتر از ۵ قابلیت تولید اسید لاکتیک ضعیفی داشتند (Macdonald et al, 1991). تلقیح ایده آل، باید حاوی باکتری های

این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تیمار و ۳ تکرار برای هر تیمار انجام شد و آنالیز آماری داده های ارزش غذایی با استفاده از نرم افزار آماری SAS و رویه GLM با مدل آماری الف انجام گرفت. آنالیز داده های مربوط به تجزیه پذیری شکمبه ای با استفاده از رویه MIXED همین نرم افزار با مدل آماری ب صورت گرفت.

مدل الف:

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

$Y_{ij}$  نشان دهنده مشاهده هر صفت،  $\mu$  اثر میانگین هر صفت،  $T_i$  اثر تیمار و  $e_{ij}$  نشان دهنده اثر خطا در مدل الف می باشد.

مدل ب:

$$Y_{ijk} = \mu + \tau_i + \rho_j + c_k + e_{ijk}$$

$Y_{ijk}$  نشان دهنده مشاهده هر صفت،  $\mu$  اثر میانگین هر صفت،  $T_i$  اثر تیمار،  $P_j$  اثر دوره،  $c_k$  اثر تصادفی حیوان و  $e_{ijk}$  اثر خطا می باشد.

## نتایج و بحث

### ارزش غذایی

تیمار ایکوسایل کمترین مقدار ماده خشک را با تفاوت معنی داری با بقیه تیمارها به خود اختصاص داد

معنی داری داشت (Asku et al, 2004). میزان NDF یونجه سیلو شده با افزودنی های مختلف در این آزمایش تفاوت معنی داری نداشت (جدول ۲). این نتایج مطابق با نتایج تعدادی از مطالعات انجام شده همخوان بود (Kamarloy et al, 2008; Kung & Muck, 1997). اما با نتایج Aksu et al, (2004) مغایر است. به طور کلی، احتمال کاهش محتوی NDF سیلوهای تلقیح شده در نتیجه هیدرولیز جزئی همی سلولزها وجود دارد (kung and Muck, 1997). همچنین تفاوت معنی داری از نظر میزان پروتئین خام بین تیمارهای مختلف سیلوی یونجه دیده نشد. به خوبی معلوم شده است که میزان افت pH در تعیین وسعت تجزیه پروتئین مهم است (Brady, 1960). زمانی که pH به ۴.۳ برسد تجزیه پروتئین ناچیز خواهد شد (Macpherson, 1985). اما در سیلوی یونجه به علت ظرفیت بافری بالای آن pH به ۴.۳ نرسید (جدول ۲). از طرفی بسیاری از محققین بعدی نشان دادند که حتی با اسیدی کردن مستقیم محیط جهت رسیدن به pH کمتر از ۴ نمی توان از تجزیه پروتئین جلوگیری کرد، زیرا بسیاری از پروتئینهای گیاهی pH مطلوب کمتر از ۴ دارند. در برخی مطالعات هم با اضافه کردن اسیدهای معدنی و کاهش pH هیچگونه تغییری در میزان پروتئین خام در مقایسه با شاهد مشاهده نشد (vakili et al, 2009).

تولیدکننده اسیدلاکتیکی باشد که در محدوده pH ۵ تا ۶،۵ فعال هستند. نشان داده شده است که باکتریهای استریتوکوکوسی و پدیوکوکوسی این نقش را به خوبی ایفا می کنند (Lindgren et al, 1985). در تلقیح با مخلوط باکتری های انتروکوکوس فکالیس و لاکتوباسیلوس پلانتاروم، گونه اولی که دارای رشد سریع در شرایط هوای است باید در مراحل اولیه سیلوکردن غالب گردد اما چون در محیط اسیدی مقاوم نیست در زمان افت pH به کمتر از ۵ جای خود را به لاکتوباسیلوس پلانتاروم می دهد (Lindgren et al, 1985). احتمالاً عملکرد بد افزودنی ایکوسایل به دلیل آن بوده که تنها باکتری آن لاکتوباسیلوس پلانتاروم بوده که توانایی رشد در علوفه یونجه که ظرفیت بافری بالایی دارد را نداشته است اما افزودنی لاکتیسیل مایز که دارای گونه هایی از باکتری مانند لاکتوباسیلوس فاسیوم و پدیوکوکوس پنتوزاسیوس بوده که این باکتری توانایی شروع به رشد در pH بالا را داشته و pH را به مقادیر پایین تر کاهش داده و شرایط را برای رشد باکتری لاکتوباسیلوس پلانتاروم فراهم می کند (Sneath, 1986). شاید به این علت باشد که تیمار ۳ pH را با تفاوت معنی داری نسبت به سایر تیمارها کاهش داد. تفاوت معنی داری در بین تیمارها از نظر درصد ماده آلی وجود نداشت. اما در مطالعات دیگر میزان ماده آلی سیلو تلقیح شده نسبت به سیلو کنترل افزایش غیر

جدول ۲- اثر افزودنی های میکروبی بر ارزش غذایی یونجه سیلو شده

P-Value	SEM*	۴	۳	۲	۱	
۰/۰۰۰	۰/۵۱	۲۶/۳۳ <sup>a</sup>	۲۶/۶۷ <sup>a</sup>	۲۵/۶۷ <sup>b</sup>	۲۵/۲۶ <sup>a</sup>	ماده خشک (گرم در صد گرم سیلو یونجه)
۰/۶۱	۱/۰۰	۸۸/۱۷	۸۸/۰۲	۸۷/۴۲	۸۸/۷۵	ماده آلی (گرم در صد گرم ماده خشک)
۰/۵۴	۳/۵۶۱	۴۲/۳۳	۳۹/۳۳	۴۱/۷۵	۴۰/۰۵	NDF (گرم در صد گرم ماده خشک)
۰/۵۸	۲۱/۴۰	۲۳/۰۲	۲۲/۴۱	۲۴/۳۴	۲۳/۲۴	CP (گرم در صد گرم ماده خشک)
<۰/۰۰۰۱	۰/۱۲	۴/۷۷ <sup>b</sup>	۴/۶۱ <sup>c</sup>	۴/۹۱ <sup>a</sup>	۴/۸۹ <sup>ab</sup>	PH

تیمار های ۱ تا ۴ به ترتیب شامل: ۱-شاهد ۲- ایکوسایل ۳- لاکتیسیل مایز ۴- ایکوسایل و لاکتیسیل مایز می باشند.

\* معیار خطای میانگین ها

**مؤلفه های تجزیه پذیری**

۱ و ۲ داشتند (جدول ۳). که می تواند به علت حضور لاکتیسیل مایز در تیمارهای ۳ و ۴ باشد. اثر تلقیح کننده ها در تجزیه پذیری بستگی به ترکیب باکتریایی به

تیمارهای ۳ و ۴ به طور معنی داری تجزیه پذیری ماده خشک بیشتری در زمان صفر نسبت به تیمارهای

زمان صفر را به قندهای محلول نسبت داد. همچنین تیمار حاوی لاکتوسیل مایز + ایکوسایل و لاکتوسیل مایز به تنهایی بیشترین میزان بخش سریع تجزیه شونده ماده خشک را داشتند که با دو تیمار دیگر تفاوت معنی داری داشتند. محققان گزارش کردند که تلقیح کننده های سیلو منجر به بهبود در کیفیت سیلو و قابلیت هضم مواد مغذی شدند (Pahlow & hoing, 1994). از نظر ثابت تجزیه پذیری (c) ماده خشک تفاوت معنی داری در بین تیمارها وجود نداشت. در برخی مطالعات انجام شده مؤلفه های تجزیه پذیری ماده خشک سیلو تحت تأثیر افزودنی های میکروبی قرار نگرفت (Hristov et al, 2000; Filya, 2003; Rowghani & Zamiri, 2008).

کار رفته در تلقیح کننده دارد (MacAllister et al, 1998; Hristov, 2000). از این رو می توان اینطور نتیجه گرفت که افزودنی میکروبی لاکتوسیل مایز به دلیل حضور ۵ نوع باکتری عملکردی متفاوت با ایکوسایل در رابطه با افزایش بخش محلول ماده خشک داشته است. بهبود در قابلیت هضم مواد مغذی سیلوی تلقیح شده مربوط به مقادیر زیاد کربوهیدرات های محلول در آب در توده سیلو در مرحله تخمیر می باشد (Davis et al, 1998). میزان بالای باکتریهای تولید کننده اسیدلاکتیک سبب تولید سیلویی با pH پایین تر و بالاترین مقدار قند می شود (MacDonald et al, 1991) و بنابراین با توجه به پایین تر بودن pH سیلوهای ۳ و ۴ می توان این افزایش تجزیه پذیری در

جدول ۳- اثر افزودنی های میکروبی بر کینتیک و مؤلفه های تجزیه پذیری ماده خشک یونجه سیلو شده

P-Value	*SEM	۴	۳	۲	۱	
<۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۸	۰/۴۴ <sup>a</sup>	۰/۴۴ <sup>a</sup>	۰/۴۲ <sup>b</sup>	۰/۴۳ <sup>b</sup>	زمان صفر
۰/۳۲۸	۰/۰۵	۰/۵۲	۰/۵	۰/۴۹	۰/۵۸	زمان ۶
۰/۴۹۷	۰/۰۱۲	۰/۵۱	۰/۵	۰/۵۱	۰/۵	زمان ۱۲
۰/۸۰۹	۰/۰۲۸	۰/۷	۰/۶۸	۰/۶۷	۰/۶۸	زمان ۲۴
۰/۸۸۱	۰/۰۲۵	۰/۶۸	۰/۶۸	۰/۶۸	۰/۷	زمان ۴۸
۰/۰۸۷	۰/۰۱۵	۰/۶۴	۰/۶۲	۰/۶۳	۰/۶	زمان ۷۲
<۰/۰۰۰۱	۰/۸۱	۴۴/۲۱ <sup>a</sup>	۴۴/۳۲ <sup>a</sup>	۴۲/۲ <sup>b</sup>	۴۲/۱ <sup>b</sup>	<sup>1</sup> a
۰/۷۶۴	۱/۸۴	۲۴/۰۷	۲۲/۷۱	۲۳/۶۱	۲۲/۷۴	<sup>2</sup> b
۰/۶۵۳	۱/۸۴	۶۷/۴۶	۶۶/۰۱	۶۶/۳۷	۶۵/۵۴	<sup>3</sup> a+b
۰/۹۱۳	۰/۰۱۷	۰/۱۰	۰/۱۰	۰/۱۰	۰/۰۸	<sup>4</sup> c
۰/۵۰۲	۱/۸۲۷	۵۷/۲۷	۵۵/۸۳	۵۶/۵۷	۵۹/۳۳	تجزیه پذیری مؤثر با نرخ عبور ۵ درصد
۰/۳۶۶	۲/۱۸۱	۵۵/۳۳	۵۲/۷۷	۵۳/۷۷	۵۸	تجزیه پذیری مؤثر با نرخ عبور ۸ درصد

حروف غیر مشابه در هر سطر نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار در سطح آماری ۵ درصد می باشند.

تیمارهای ۱ تا ۴ به ترتیب شامل: ۱- شاهد ۲- ایکوسایل ۳- لاکتوسیل مایز ۴- ایکوسایل و لاکتوسیل مایز می باشند.

\* معیار خطای میانگین ها

a, بخش سریع تجزیه; b, بخش کند تجزیه; a+b, بخش سریع تجزیه + بخش کند تجزیه; c, نرخ ثابت تجزیه پذیری

ترتیب پس از آن تیمار شاهد، ایکوسایل + لاکتوسیل مایز و ایکوسایل قرار داشتند (جدول ۴) و به عبارت دیگر

در زمان صفر تیمار حاوی لاکتوسیل مایز (تیمار ۳) کمترین میزان تجزیه پذیری NDF را نشان داد و به

تیمارهای حاوی ایکوسایل بود. با توجه به کیفیت نامناسب سیلوی حاوی ایکوسایل که از بالا بودن pH و افت ماده خشک آن (جدول ۲) برداشت می شود می توان بالا بودن بخش سریع تجزیه شونده دیواره سلولی را در سیلوهای حاوی ایکوسایل به فعالیت میکروارگانیزم های نامطلوب مثل قارچ ها و کپک ها نسبت داد که این موجودات مواد مورد نیاز رشد خود را با ترشح آنزیم های خارج سلولی (پروتئازها، لیپازها، آمیلازها و سلولازها) و تبدیل مولکولهای آلی پیچیده به مواد ساده تأمین می کنند (Macdonald et al, 1991) و در واقع با ترشح سلولاز توانسته اند باعث افزایش تجزیه سلولز شوند.

تیمار حاوی ایکوسایل بیشترین میزان تجزیه پذیری NDF را در زمان صفر دارا بود. در زمان ۷۲ تیمار ۴ بالاترین میزان تجزیه پذیری را داشت. در بقیه زمان ها تفاوت معنی داری در بین تیمارها دیده نشد. تیمار ۳ کمترین مقدار بخش سریع تجزیه شونده دیواره سلولی (a) و کمترین میزان تجزیه پذیری مؤثر در نرخ های عبور ۵ و ۸ درصد را داشت ( $P < 0.05$ ) که نشان دهنده آن است که باکتری های اسیدلاکتیکی توانایی در هضم سلولز ندارند.

به عبارت دیگر وظیفه باکتری های تخمیری تبدیل قندهای محلول به اسیدهای تخمیری و به طور عمده اسیدلاکتیک می باشد که بر دیواره سلولی اثری ندارند. بیشترین میزان تجزیه پذیری مؤثر NDF مربوط به

جدول ۴- اثر افزودنی های میکروبی بر کینتیک و مولفه های تجزیه پذیری NDF یونجه سیلو شده

p-Value	*SEM	۴	۳	۲	۱	
۰/۰۰۱	۰/۰۶۹	۰/۲۴ <sup>b</sup>	۰/۱۰ <sup>d</sup>	۰/۳۰ <sup>d</sup>	۰/۱۸ <sup>c</sup>	زمان صفر
۰/۱۰۲	۰/۰۶۹	۰/۳۱	۰/۱۷	۰/۲۷	۰/۳۸	زمان ۶
۰/۵۳۴	۰/۰۵۲	۰/۲۹	۰/۲۱	۰/۲۲	۰/۲۷	زمان ۱۲
۰/۴۸۸	۰/۰۵۳	۰/۵	۰/۴۲	۰/۵۲	۰/۴۳	زمان ۲۴
۰/۵۱۴	۰/۰۳۹	۰/۵۵	۰/۴۷	۰/۵۳	۰/۵۲	زمان ۴۸
۰/۰۰۲	۰/۰۱۷	۰/۵۷ <sup>a</sup>	۰/۴۵ <sup>b</sup>	۰/۵۰ <sup>b</sup>	۰/۴۶ <sup>b</sup>	زمان ۷۲
۰/۰۰۱	۰/۰۱۷	۳۴/۳۶ <sup>b</sup>	۱۰/۴۶ <sup>d</sup>	۳۰/۳۷ <sup>a</sup>	۱۸/۱ <sup>c</sup>	a
۰/۱۳۳	۲/۷۶۳	۳۴/۸۷	۳۷/۱	۲۷/۴	۳۳/۳۳	b
۰/۰۴۳	۲/۷۶	۵۹/۲۳ <sup>a</sup>	۴۷/۵۶ <sup>c</sup>	۵۷/۷۷ <sup>a</sup>	۵۰/۴۴ <sup>b</sup>	a+b
۰/۴۷۴	۰/۰۰۳	۰/۰۵	۰/۰۷۳	۰/۰۵۷	۰/۰۷۶	c
۰/۰۲۶	۲/۳۹۳	۳۸/۸ <sup>a</sup>	۲۸/۴۷ <sup>c</sup>	۳۸/۷۷ <sup>a</sup>	۳۶/۱ <sup>b</sup>	تجزیه پذیری مؤثر با نرخ عبور ۵ درصد
۰/۰۲۹	۲/۶۸۵	۳۴/۵۷ <sup>a</sup>	۲۳/۴۳ <sup>b</sup>	۳۵/۵۷ <sup>a</sup>	۳۲/۹۷ <sup>a</sup>	تجزیه پذیری مؤثر با نرخ عبور ۸ درصد

حروف غیر مشابه در هر سطر نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار در سطح آماری ۵ درصد می باشند.

تیمارهای ۱ تا ۴ به ترتیب شامل: ۱- شاهد ۲- ایکوسایل ۳- لاکتیسیل مایز ۴- ایکوسایل و لاکتیسیل مایز می باشند.

\* معیار خطای میانگین ها

a, بخش سریع تجزیه; b, بخش کند تجزیه; a+b, بخش سریع تجزیه + بخش کند تجزیه; c, نرخ ثابت تجزیه پذیری

باز یافت ماده خشک را داشت شاید نشانگر غلبه کلسترییدیوم ها، انتروباکتری ها در سیلو باشد که این ارگانیسمهای نامطلوب برعکس

تیمار ایکوسایل در زمان ۱۲، ۴۸ و ۷۲ بیشترین مقدار تجزیه پذیری پروتئین خام را به خود اختصاص داد و از آنجا که تیمارهای حاوی ایکوسایل کمترین

باکتری های اسیدلاکتیکی در دامیناسیون، مؤثر می باشد (MacDonald et al, 1991).  
دکربوکسیلاسیون و اکسیداسیون پروتئین ها

جدول ۵- اثر افزودنی های میکروبی بر کینتیک و مولفه های تجزیه پذیری پروتئین خام یونجه سیلو شده

P-Value	*SEM	۴	۳	۲	۱	
۰/۴۲۶	۰/۰۳۸	۰/۷۴	۰/۷۴	۰/۷۷	۰/۶۸	زمان صفر
۰/۸۱۲	۰/۰۳۵	۰/۷۱	۰/۷۰	۰/۷۱	۰/۷۴	زمان ۶
۰/۰۳۶	۰/۰۲۲	۰/۶۲ <sup>b</sup>	۰/۶۸ <sup>ab</sup>	۰/۷۱ <sup>a</sup>	۰/۶۶ <sup>ab</sup>	زمان ۱۲
۰/۹۷۳	۰/۰۲۱	۰/۸۴	۰/۸۳	۰/۸۳	۰/۸۳	زمان ۲۴
۰/۰۳۹	۰/۰۲۰	۰/۷۷ <sup>b</sup>	۰/۸۰ <sup>ab</sup>	۰/۸۱ <sup>a</sup>	۰/۸۱ <sup>a</sup>	زمان ۴۸
۰/۰۰۵	۰/۰۳۲	۰/۷۴ <sup>b</sup>	۰/۷۶ <sup>ab</sup>	۰/۷۹ <sup>a</sup>	۰/۷۶ <sup>ab</sup>	زمان ۷۲
۰/۴۲۶	۳/۷۶۳	۷۴/۰۱	۷۴/۲	۷۶/۶۸	۶۷/۵۳	a
۰/۲۵۰	۳/۰۱۰	۴/۰۶	۵/۶۱	۵/۲۱	۱۲/۸۹	b
۰/۰۷۹	۱/۸۲۶	۷۸/۰۷	۷۹/۸۱	۸۱/۸۹	۸۰/۴۱	a+b
۰/۵۶۸	۰/۰۳۵	۰/۰۹	۰/۱۱	۰/۰۹۷	۰/۰۷۷	c
۰/۶۵۲	۱/۸۱۹	۷۴/۹۷	۷۶/۰۳	۷۷/۹۷	۷۶/۴۳	تجزیه پذیری مؤثر با نرخ ۵ درصد
۰/۸۰۴	۲/۱۹۵	۷۴/۴۷	۷۵/۲	۷۷/۳۳	۷۶/۰۷	تجزیه پذیری مؤثر با نرخ ۸ درصد

حروف غیر مشابه در هر سطر نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار در سطح آماری ۵ درصد می باشند.

تیمار های ۱ تا ۴ به ترتیب شامل: ۱- شاهد ۲- ایکوسایل ۳- لاکتیسایل مایز ۴- ایکوسایل و لاکتیسایل مایز می باشند.

\* معیار خطای میانگین ها

a, بخش سریع تجزیه; b, بخش کند تجزیه; a+b, بخش سریع تجزیه + بخش کند تجزیه; c, نرخ ثابت تجزیه پذیری

### نتیجه گیری کلی

افزایش بخش سریع تجزیه شونده ماده خشک می تواند به عنوان یک افزودنی مناسب برای یونجه استفاده شود.

با توجه با نتایج پژوهش حاضر استفاده از افزودنی میکروبی لاکتیسایل مایز با کاهش pH سیلوی یونجه در حد مناسب و

### REFERENCES

1. AOAC. (1990). *Official methods of analysis*, 15th Edition. Association of Official Analytical Chemists, Washington, D. C, USA.
2. Adesogan A. & Salawu M. (2004). Effect of buchneri inoculants with or without homofermentative lactic acid bacteria on the fermentation characteristics & aerobic stability of intercropped pea-wheat silages and whole crop wheat or pea silages. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 84, 983-992.
3. Adesogan A., Kim S., Arriole K., Dean D. & Staples C. (2007). Strategic addition of dietary fibrolytic enzymes for improved performance of lactating dairy cows. *Proceedings of 18th annual Florida ruminant nutrition. Symposium, Gainesville, Florida*. PP: 92-110.
4. Aksu T., Baytok E. & Bolat D. (2004). Effects of a bacterial silage inoculants on corn silage fermentation and nutrient digestibility. *Small Ruminant Researches*. 55, 249-252.
5. Brady C. J. (1960). Redistribution of nitrogen in grass and leguminous fodder plants during wilting and ensilage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 11, 276-284.



6. Coblenz W. K., Fritz J. O., Fick W. H., Cochran R. C. & Shirley J. E. (1998). In situ dry matter, nitrogen, and fiber degradation of alfalfa, red clover, and eastern gamagrass at four maturities. *Journal of Dairy Science*. 81,150-161
7. Davies D. R., Merry R., Williams A., akewell E. B., Leemans D. & weed K. T. (1998). Proteolysis during ensilage of forage varying in soluble sugar content. *Journal of Dairy Science*. 81, 444-453.
8. Filya I. (2003). The effect of *Lactobacillus buchneri* & *Lactobacillus plantarum* on the fermentation, aerobic stability, and ruminal degradability of low dry matter corn and sorghum silages. *Journal of Dairy Science*. 86, 3575-3581.
9. Hristov A. N., McAllister T. A. & Graham S. (2000). Effect of inoculants on whole-crop barley silage fermentation and degradability of dry matter in the rumen. *Proc. West. Sect. Am. Soc. Animal Science*. 51,433-436.
10. Kamarloy M. & Teimori Yansari A. (2008). Effects of bacterial inoculants on the nutritive value of corn silage for beef cattle. *Pakistan journal of biological sciences*. 11(8), 1137-1141.
11. Kung L. J. (1997). A review on silage additive and enzymes. Department animal and food sciences. University of Delaware Newark. DE 19717-1303.
12. Kung L. & Muck R. E. (1997). Animal response to silage additives. *Proceedings of the conference on Silage: Field to feedbunk. North American Conference Hershey, PA. NRAES-99*.
13. Lindgren S., Petterson K., Jonsson A. & . Lingvall P. (1985). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 36, 765-774.
14. Macpherson H. T. (1952). Changes in nitrogen distribution in crop conservation. the rate and extent of protein breakdown in ensilage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 3, 362-365.
15. McAllister T. A., Selinger L. B., McMahon L. R., Bae H. D., Lysyk T. J., Osting S. J., & Cheng K. J. (1995). Intake, digestibility and aerobic stability of barley silage inoculated with mixtures of *Lactobacillus plantarum* and *Enterococcus faecium*. *Canadian Journal of Animal Science*. 75, 425-432.
16. McDonald P., Henderson A. R. & Herson S. J. E. (1991). *The Biochemistry of Silage*. 2nd edition. Marlow, Chalcombe Publication. UK.
17. Muck R. E. 1998. The role of silage additives in making high quality silage. *Grass Forage Science*. 44, 19-25.
18. Ørskov, E. R. & McDonald, I. (1979). The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighed according to rate of passage. *Journal of Agricultural Science*. 92, 499-503.
19. Pahlow, G & Hoing, H. (1994). The role of microbial additives in the aerobic stability of silage. *Proceedings of the 15th general meeting of the European grassland federation*. Wageningen The Netherlands, 6-9 June. PP: 149-152
20. Rowghani, E. & Zamiri M. J. (2008). The effects of a microbial inoculants and formic acid as silage additives on chemical composition, ruminal degradability and nutrient digestibility of corn silage in sheep. *Iranian Journal of Veterinary Research*, Shiraz University, Vol. 10, No. 2, Ser. No. 27, (2009).
21. Sneath P. H. A., Maire N.S., Sharpe M. E. & Holt J.G. (1986). *Bergeys manual of systematic bacteriology*. Williams and Wilkins, Baltimore. Volume 2.
22. Vakili A., Danesh Mesgaran M. & Nassiri Moghadam H. (2009). Chemical Composition, Dry Matter and Crude Protein Degradability Coefficients of Alfalfa Silage Treated with HCL and Urea and Their Effects on Production in Early Lactating Holstein Cows. *Iranian journal of animal science*. 1,19(2) (in Farsi)
23. Vanzantf E. S., Cochran R. C. & Titgemeyer E. C. (1998). Standardization of in situ techniques for ruminant feedstuff evaluation. *Journal of Animal Science*. 76, 2717-2729.