The effect of inoculated corn silage with different types of bacteria on Holstein lactating cows' performance

Article Info

Article type:

Research Article

Article history:

Received

Received in revised form

Accepted

Published online

Keywords:

Dry matter intake,
Lactobacillus fermentum,
Microbial inoculation,
Milk composition,
Milk yield,

ABSTRACT

Corn fodder with 28% DM were harvested, chopped and after applying treatments (10^6 cfu g^{-1} FM) were ensiled in 30 kg bags. The experimental treatments were: 1) Silage without microbial inoculation (control), 2) silage inoculated with *Lactobacillus fermentum* produced in the laboratory (Lab), 3) silage inoculated with mixture of *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus salivarius*, *Pediococcus acidilactici* and *Enterococcus faecium* (Lab), and 4) silage inoculated with commercial bacteria containing *Enterococcus faecium*, *Lactobacillus brevis* and *Lactobacillus plantarum*. Sixteen Holstein cows in the middle of lactation (160 ± 0.10 days of lactation) were used based on a 4 x 4 integrated Latin square design with periods of 21 days. The milk production of treatments was not significantly different from the control, but 3.5% fat corrected milk of cows receiving inoculated silage was more than the control. The percentages of milk fat, protein and solids- non-fat were higher in the first treatment than other groups ($P<0.05$). Cows fed with laboratory inoculated silages had a higher ($P<0.05$) DMI than control and third treatment. The digestibility of DM, CP and ADF was higher ($P<0.05$) in the inoculated treatments than control and the highest was related to the second treatment. The rumen ammonia nitrogen in the first and second treatments was lower ($P<0.05$) than control. The rumen percentage of acetate was higher ($P<0.05$) in control and the second treatment, and propionate was higher ($P<0.05$) in the inoculated treatments than control. The overall conclusion showed that the bacterial inoculation of corn silage had no significant effect on milk production, although it increased 3.5% fat corrected milk, percentages of milk fat and protein as well as digestibility of nutrients.

Cite this article: Author, A. A., Author, B. B., & Author, C. C. (year). Article title. *Journal Title*, DOI: http//doi.org/000000000000000000

© The Author(s).

Publisher: University of Tehran Press.

DOI: http//doi.org/00000000000000000000

Extended Abstract

Introduction

Silage is actually a forage preserved through lactic acid fermentation and is an integral part of most dairy cattle diets in most countries of the world (Arriola et al., 2021). Inoculants, which are mainly composed of selected strains of lactic acid bacteria (LAB), have been used as silage additives all over the world and are the most common additives used to improve the fermentation process and silage quality (Bernardi et al., 2019). The response of livestock to the use of inoculants in silage is controversial. Some studies have observed an increase in milk production (Kung et al., 2003), while other studies have not identified a positive response (Arriola et al., 2021) or have observed a negative effect in this regard (Santos et al., 207). According to reviews, very limited studies have evaluated the effects of inoculating corn silage with newer inoculants containing mixtures of obligate homogenous fermenting and obligate or facultative heterogenous fermenting bacteria on dairy cow performance. The aim of this study was to investigate the effect of using bacterial inoculations containing heterogeneous fermenting bacteria alone or in combination with homogeneous and heterogeneous fermenting bacteria on the performance of dairy cows and nutrient digestibility.

Material and Methods

Corn fodder with 28% DM was harvested, cut into 2-3 cm pieces and after applying treatments (10^6 colonies per gram of fresh fodder) were ensiled in 30 kg bags for 260 days. The experimental treatments were: 1) Silage without microbial inoculation (control), 2) silage inoculated with *Lactobacillus fermentum* produced in the laboratory, 3) silage inoculated with mixture of *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus salivarius*, *Pediococcus acidilactici* and *Enterococcus faecium*, produced in the laboratory and 4) silage inoculated with commercial bacteria containing *Enterococcus faecium*, *Lactobacillus brevis* and *Lactobacillus plantarum*. The concentrations of bacteria used in this experiment were prepared using the multiplication method in liquid MRS broth (MRS Broth) and turbidity and absorption measurement of the samples by a spectrophotometer. The inoculants were diluted in deionized water and sprayed on the fodder with a hand sprayer. A similar amount of deionized water was sprayed on the control fodder. In this experiment, 16 multiparous Holstein cows in the middle of the lactation with body weight of 630±17 kg, 160±10 days of lactation and milk production of 30±2.1 kg were placed in individual stalls with dimensions of 4x4 square meters and were randomly assigned to one of the treatments. Each experimental period was 21 days including 14 days of adaptation period and 7 days for sample collection. Milking was done three times a day at 6:00, 14:00 and 22:00, milk production was recorded daily and milk was sampled to determine milk composition. Ruminal fluid was taken through an esophageal tube using a vacuum pump on the 21st day of each period four hours after morning feeding to determine pH, ammonia nitrogen and volatile fatty acid concentrations. The acid-insoluble ash internal indicator method was used to determine the digestibility of dry matter, crude protein and insoluble fibers in neutral detergent. This experiment was based on a 4x4 integrated Latin square design with four experimental treatments, four periods and four cows in each treatment. All the collected data were analyzed using SAS statistical software (version 9.4) by mixed analysis procedure. Mean treatments were also compared using Duncan's test at a significance level of five percent.

Results and discussion

The milk production of treatments was not significantly different from the control, but 3.5% fat corrected milk of cows receiving inoculated silage was more than the control. The percentages of milk fat, protein and solids nonfat were higher in the first treatment than other groups. Cows fed with laboratory inoculated silages had a higher ($P<0.05$) dry matter intake than control and third treatment. The digestibility of dry mater, crude protein and neutral detergent fiber was higher ($P<0.05$) in the inoculated treatments than control and the highest was related to the second treatment. The rumen ammonia nitrogen in the first and second treatments was lower ($P<0.05$) than control. The rumen percentage of acetate was higher ($P<0.05$) in control and the second treatment, and propionate was higher ($P<0.05$) in the inoculated treatments than control.

Conclusions

The results of current study showed that the bacterial inoculation of corn silage had no significant effect on the milk production, although it increased 3.5% fat corrected milk, the percentages of milk fat and protein as well as the digestibility of nutrients.

تأثیر سیلاژ ذرت تلقیح شده با باکتری‌های مختلف بر عملکرد گاوهای شیرده هلشتاین

اطلاعات مقاله

نوع مقاله:
مقالهٔ پژوهشی

تاریخ دریافت:

تاریخ بازنگری:

تاریخ پذیرش:

تاریخ انتشار:

چکیده

ذرت علوفه‌ای با ۲۸ درصد ماده‌خشک برداشت، خردشده و پس از اعمال تیمارهای آزمایشی (۱۰^۶ کلنی به ازای گرم علوفه تازه) در کیسه‌های ۳۰ کیلوگرمی سیلو شدند. تیمارهای آزمایشی عبارت بودند از: ۱) سیلاژ بدون تلقیح میکروبی(شاهد)، ۲) سیلاژ تلقیح‌شده با *لاکتوباسیلوس فرمنتوم* تولیدشده در آزمایشگاه، ۳) سیلاژ تلقیح‌شده با مخلوطی از *لاکتوباسیلوس فرمنتوم*، *لاکتوباسیلوس سالیواریوس*، *پدیوکوکوس اسیدی‌لاکتیسی* و *انتروکوکوس فاسیوم*، تولیدشده در آزمایشگاه و ۴) سیلاژ تلقیح‌شده با باکتری تجاری حاوی *انتروکوکوس فاسیوم*، *لاکتوباسیلوس برویس* و *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*. شانزده رأس گاو هلشتاین در اواسط شیردهی (۱۰/۰ ± ۱۶۰ روز شیردهی) بر پایهٔ طرح مربع‌لاتین ادغام شده ۴ ×۴ با دوره‌های ۲۱ روزه استفاده شد. تولید شیر تیمارهای آزمایشی با شاهد تفاوتی نداشت ولی تولید شیر تصحیح‌شده بر اساس ۳/۵ درصد چربی در گاوهای دریافت‌کننده سیلاژ تلقیح‌شده بیشتر از شاهد بود. درصدهای چربی، پروتئین و مواد جامد بدون چربی شیر در تیمار اول بیشتر

از گروه‌های دیگر بود. گاوهای تغذیه‌شده با سیلاژهای تلقیح‌شده آزمایشگاهی، مصرف ماده‌خشک بالاتری نسبت به شاهد و تیمار سوم داشتند. گوارش‌پذیری ماده‌خشک، پروتئین خام و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی در تیمارهای تلقیح‌شده بالاتر از شاهد بود و بیشترین آن مربوط به تیمار دوم بود. غلظت نیتروژن آمونیاکی شکمبه در تیمارهای اول و دوم کمتر از شاهد بود. درصد استات شکمبه در شاهد و تیمار دوم بالاتر و پروپیونات در تیمارهای تلقیح شده بیشتر از شاهد بود. نتایج نشان داد تلقیح باکتریایی سیلاژ ذرت تاثیر معنی‌داری بر میزان تولید شیر نداشت هرچند شیر تصحیح‌شده ۳/۵ درصد چربی، درصدهای چربی و پروتئین شیر و گوارش‌پذیری مواد مغذی را افزایش داد.

کلیدواژه‌ها:
ترکیب شیر،
تلقیح میکروبی،
تولید شیر،
لاکتوباسیلوس فرمنتوم،
ماده خشک مصرفی

ویرایشی نشده

مقدمه

سیلاژ، علوفه‌ای است که از طریق تخمیر اسید لاکتیک حفظ شده و جزء جدایی ناپذیر بیشتر جیره غذایی گاوهای شیری در اکثر مزارع دامپروری جهان است (Ben-Meir *et al*., 2018; Arriola *et al*., 2021). توسعه راهبردها جهت بهبود کیفیت سیلاژ و کاهش تلفات موادمغذی در طول سیلوکردن از مواردی است که مورد علاقه محققین در گذشته بوده است (Zhang et al., 2019; Arriola *et al*., 2021). تلقیح سیلاژ ذرت که عمدتاً از سویه‌های انتخابی باکتری‌های اسید لاکتیک (LAB) تشکیل شده است، به‌عنوان افزودنی‌های سیلاژ در سرتاسر جهان استفاده شده و رایج‌ترین افزودنی‌های مورد استفاده برای بهبود فرآیند تخمیر و کیفیت سیلاژ می‌باشند (Ben-Meir *et al*., 2018; Bernardi *et al*., 2019; Zhang et al., 2019; Arriola *et al*., 2021). میزان باکتری توصیه‌شده برای تلقیح سیلاژ معمولاً بین 10^5 تا 10^6 سلول زنده در گرم علوفهٔ مرطوب است که این میزان برای تشکیل جمعیت غالب در سیلاژ علاوه بر باکتری‌های اسید لاکتیک طبیعی روی گیاه (اپی‌فایتیک) کافی به‌نظر می‌رسد (Ben-Meir *et al*., 2018). مفهوم تلقیح میکروبی سیلاژ، اضافه‌کردن باکتری‌های اسید لاکتیک با رشد سریع به منظور تسلط بر فرایند تخمیر است. تلقیح‌های میکروبی حاوی یک یا چند مورد از این باکتری‌ها هستند که به دلیل توانایی آن‌ها در کنترل تخمیر انتخاب شده‌اند. دلیل منطقی وجود میکروارگانیسم‌های متعدد از پتانسیل هم‌افزایی بالقوه آن‌ها ناشی می‌شود (Fellner *et al*., 2001; Bayatkouhsar *et al*., 2011). علاوه بر بهبود کیفیت سیلاژ، بررسی مطالعات گذشته نشان می‌دهد که در برخی از آزمایش‌های گزارش‌شده، تلقیح میکروبی بر عملکرد حیوانات اثر مثبتی داشته است.

پیشینهٔ پژوهش

تلقیح سیلاژ ذرت با باکتری‌های اسید لاکتیک سبب افزایش مصرف خوراک (۴–۱۱ درصد)، افزایش وزن زنده (۷–۱۱ درصد)، تولید شیر (۳–۵ درصد) و بازده خوراک (۹ درصد) شده است اما علت بهبود در عملکرد دام نامشخص است (Ben-Meir *et al*., 2018). تفاوت‌های معمولی در ویژگی‌های تخمیر سیلاژ بین سیلاژهای تیمارنشده و تلقیح‌شده تقریباً ۰/۳۰ کیلوگرم افزایش تولید شیر در روز را توضیح می دهد (Huhtanen *et al*., 2003; Ben-Meir *et al*., 2018). این تغییرات در محصولات تخمیر و بهبودهای کوچک در بازیابی ماده خشک، عملکرد حیوان را افزایش می‌دهد. تلاش‌های متعددی که بر بقای باکتری‌های تلقیحی در دستگاه گوارش حیوانات متمرکز است برای یافتن مکانیسم این اثر انجام شده است (Han *et al*., 2014). سایر اثراتی که مورد مطالعه قرار گرفتند شامل گوارش‌پذیری ماده خشک و دیواره سلولی (aNDF)، تولید گاز و بازده زیست توده میکروبی تحت شرایط آزمایشگاهی بوده است، اما نتایج متفاوت و متغیری از این آزمایشات گزارش شده است (Ben-Meir *et al*., 2018).

پاسخ عملکرد دام به استفاده از تلقیح سیلاژ بحث برانگیز است (Santos *et al*., 2017; Bernardi *et al*., 2019). برخی از مطالعات، افزایش در تولید شیر را گزارش کرده‌اند (Kung *et al*., 2003)، در حالی که مطالعات دیگر پاسخ مثبتی را مشاهده نکرده (Santos *et al*., 2017; Arriola *et al*., 2021) یا اثر منفی در این زمینه گزارش کرده‌اند (Santos *et al*., 2017). مشخصات تخمیر سیلو می‌تواند مصرف

ماده خشک را تعیین کند (Santos *et al*., 2017)، اما به نظر نمی‌رسد این مکانیسم تغییری در گوارش‌پذیری سیلاژ داشته باشد (Ellis *et al*., 2016; Santos *et al*., 2017). گرچه برخی از مطالعات نشان داده‌اند که بهبود عملکرد دام از اثرات بالقوه پروبیوتیکی تلقیح‌های سیلاژ حاصل می‌شود (Bernardi *et al*., 2019)؛ اما برخی دیگر پیشنهاد کردند که تغییرات در ترکیب شیمیایی و تخمیر سیلاژ عوامل اصلی افزایش عملکرد دام است (Rabelo *et al*., 2018). به‌طور کلی مطالعات در مورد اثرات کاربرد تلقیح میکروبی در علوفه بر عملکرد گاوهای شیری اندک است و مطالعات موجود نتایج مبهمی را به همراه داشته است (Santos *et al*., 2017). با این حال، پیشنهاد شده است که تلقیح سیلاژ می‌تواند عملکرد حیوان را با تغییر تخمیر شکمبه افزایش دهد (Fellner *et al*., 2001; Bayatkouhsar *et al*., 2011). اگرچه یافته‌ها مبهم هستند، اما علت بهبود عملکرد حیواناتی که با سیلاژ تلقیح‌شده تغذیه می‌شوند، نامشخص است (Santos *et al*., 2017; Bernardi *et al*., 2019). با توجه به بررسی‌ها، مطالعات بسیار محدودی اثرات تلقیح سیلاژ ذرت با تلقیح‌کننده‌های جدیدتر را که حاوی مخلوط‌هایی از باکتری‌های تخمیرکننده همگن اجباری و تخمیرکننده ناهمگن اجباری یا اختیاری بر عملکرد گاوهای شیری است، ارزیابی کرده است؛ به همین منظور هدف از این مطالعه بررسی تأثیر استفاده از تلقیح‌های باکتریایی حاوی باکتری‌های تخمیرکننده ناهمگن به تنهایی یا در ترکیب با باکتری‌های تخمیرکننده همگن و ناهمگن بر عملکرد گاوهای شیرده بود.

روش‌شناسی پژوهش

محل انجام آزمایش و تیمارهای آزمایشی

پژوهش حاضر در گاوداری خصوصی رجبی واقع در حومه شهر همدان طی سال‌های ۱۳۹۹ تا ۱۴۰۰ انجام شد. این پژوهش طی دو مرحله انجام شد؛ مرحله اول شامل آماده‌سازی سیلاژها و تلقیح باکتری‌ها و مرحله دوم شامل آزمایشات درون‌تنی بود. جهت آماده‌سازی سیلاژهای ذرت، علوفه ذرت در مرحلهٔ یک‌سوم خط شیری سن بلوغ با ماده خشک ۲۸ درصد از مزارع شهر کرمانشاه برداشت و توسط یک دستگاه برداشت علوفهٔ سه ردیفه (فامکو، ایران) در شرایط مزرعه به قطعاتی به طول ۳-۲ سانتی‌متر خرد و سپس با اعمال تیمارهای آزمایشی (تلقیح باکتریایی با نرخ 10^6 cfu[1] به ازاء هر گرم علوفه تازه) در کیسه‌های نایلونی مخصوص ۳۰ کیلوگرمی به مدت ۲۶۰ روز سیلو شدند. تیمارهای آزمایشی عبارت بودند از: ۱) سیلاژ بدون تلقیح میکروبی (شاهد)، ۲) سیلاژ تلقیح‌شده با *لاکتوباسیلوس فرمنتوم* به عنوان کشت تازه تولید شده در آزمایشگاه، ۳) سیلاژ تلقیح‌شده با مخلوطی از *لاکتوباسیلوس فرمنتوم*، *لاکتوباسیلوس سالیواریوس*، *پدیوکوکوس اسیدی لاکتیسی* و *انتروکوکوس فاسیوم*، به عنوان کشت تازه تولید شده در آزمایشگاه و ۴) سیلاژ تلقیح‌شده با باکتری تجاری (بایومین) حاوی *انتروکوکوس فاسیوم*، *لاکتوباسیلوس برویس* و *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*.

غلظت‌های مورد استفاده باکتری‌ها در این آزمایش، با استفاده از روش تکثیر در محیط کشت ام آر اس مایع (MRS Broth) و کدورت سنجی و اندازه‌گیری جذب نمونه‌ها با دستگاه اسپکتروفتومتر (VARIAN, Cary100 UV-Vis Spectrophotometer، ساخت کشور استرالیا) تهیه شد. تلقیح‌ها در آب دیونیزه رقیق و با سمپاش دستی روی علوفه پاشیده شد. مقدار مشابهی از آب دیونیزه شده روی علوفه شاهد اسپری شد. در این مطالعه برای تیمارهای دوم و سوم از تلقیح باکتری‌های اسید لاکتیک آزمایشگاهی که توسط آقامحمدی و همکاران (۱۴۰۰) کشت داده شده بود، استفاده شد (جدول ۱).

جدول ۱. سویه‌های باکتری اسید لاکتیک کشت شده در آزمایشگاه[1]

سویه‌های باکتری اسیدلاکتیک	منبع جداسازی	هم ترازی در BLAST	کد در NCBI	درصد شباهت
سویه ۷	محتویات روده مرغ‌های گوشتی	*Lactobacillus salivarius*	LT852760.1	۱۰۰
سویه ۱۱	محتویات روده مرغ‌های گوشتی	*Pedicoccus acidilatici*	KY549392.1	۹۹
سویه ۱۶	محتویات روده مرغ‌های تخم گذار	*Lactobacillus fermentum*	GQ231445.1	۱۰۰
سویه ۱۹	محتویات روده شترمرغ	*Enterococcus faecium*	KY682304.1	۱۰۰

1. Colony Forming Unit

[1] استفاده شده از سویه‌های تهیه شده توسط Aghamohamadi *et al*., (2022)

پس از ۲۶۰ روز سیلاژهای ذرت آماده شده در تهیه جیره‌های آزمایشی استفاده شد. تراکم مواد مغذی جیره‌های آزمایشی بر مبنای جداول استاندارد گاو شیری و احتیاجات غذایی معمول گاو شیری با استفاده از نرم افزار (NRC, 2001) تنظیم شد. در جیره‌ها، سیلاژهای ذرت تیمار نشده و تیمار شده با باکتری‌های تولیدکننده اسید لاکتیک، منبع اصلی علوفه بود. اجزای جیره و ترکیبات شیمیایی مواد خوراکی استفاده شده در جیره‌های آزمایشی در جدول ۲ آورده شده است. در این آزمایش تعداد ۱۶ رأس گاو هلشتاین دو شکم‌زا در اواسط دوره شیردهی با میانگین وزن بدن ۱۷±۶۳۰ کیلوگرم، میانگین روزهای شیردهی۱۰±۱۶۰ روز و میانگین تولید شیر ۲/۱±۳۰ کیلوگرم در جایگاه‌های انفرادی به ابعاد ۴×۴ مترمربع قرار گرفتند و به‌طور تصادفی به یکی از تیمارها، اختصاص داده شد. دام‌های تحت آزمایش طوری انتخاب شدند که به لحاظ روزهای شیردهی و تولید شیر کاملاً مشابه بودند. گاوها سه نوبت در روز و در ساعت‌های ۷، ۱۵ و ۲۳ با در نظرگرفتن ۱۰ درصد باقی‌مانده خوراک در آخورها بصورت مصرف اختیاری و در حد اشتهاء با استفاده از جیره‌های کاملاً مخلوط تغذیه شدند. آب کافی و تمیز در کل دوره آزمایش در دسترس دام‌ها قرار گرفت. هر دوره آزمایشی ۲۱ روز شامل ۱۴ روز دوره سازگاری و ۷ روز برای جمع آوری نمونه‌ها بود. وزن بدن هر گاو در ابتدای هر دوره ثبت شد.

ترکیبات شیمیایی

مقدار خوراک مصرفی و پسماند آن برای هر گاو، روزانه اندازه‌گیری و نمونه‌برداری از آن‌ها، هفتگی بود. نمونه‌ها با هم مخلوط و ترکیب شیمیایی آن‌ها تعیین شد. پیش از خوراک‌دهی وعده صبح، باقی‌مانده خوراک از آخور به طور روزانه جمع‌آوری و برای تعیین ماده خشک توزین شد. نمونه‌گیری از مواد خوراکی مورد استفاده در جیره‌ها پیش از شروع آزمایش، نمونه‌گیری از جیره‌های کاملاً مخلوط و پس آخور به طور هفتگی انجام شد. گوارش‌پذیری ظاهری مواد مغذی براساس روش نشانگر داخلی خاکستر نامحلول در اسید و با استفاده از اسید کلریدریک دو نرمال اندازه‌گیری شد؛ بدین منظور، طی روزهای نمونه‌برداری از خوراک ریخته شده در آخور، و از مدفوع ۱۶ رأس گاو مورد آزمایش در هر دوره یک نمونه صبح و یک نمونه عصر (به صورت روزانه) جمع‌آوری و در دمای ۲۰- درجه‌سانتی‌گراد شد (Van Keulen & Young, 1977). در هنگام تجزیه شیمیایی مدفوع، تمامی نمونه‌های مربوط به هر گاو با هم مخلوط شدند. نمونه‌های خوراک، پسماند خوراک و مدفوع خشک شده با آسیاب مجهز به الک یک میلی‌متری آسیاب شدند (Wiley's pulverizer for laboratory, Orgaw Seiki Co., Ltd., Tokyo, Japan). اندازه‌گیری مادهٔ خشک، پروتئین خام، عصاره اتری و خاکستر نمونه ها مطابق با روش‌های استاندارد توصیه شده آزمایشگاهی (AOAC, 2000) انجام شد. همچنین، الیاف نامحلول در شوینده خنثی و اسیدی نیز به روش متداول (Van Soest *et al*., 1991) اندازه‌گیری شد. غلظت کربوهیدرات‌های غیرالیافی جیره‌های کاملاً مخلوط، با استفاده از رابطه (۱) برآورد شد:

$$NFC = 100 - (\%\ NDF + \%\ CP + \%\ EE + \%\ Ash) \quad \text{رابطه ۱)}$$

که در این رابطه NFC، کربوهیدرات‌های غیرالیافی؛ EE؛ چربی خام؛ CP، پروتیین خام؛ NDF، الیاف نامحلول در شوینده خنثی؛ Ash، خاکستر هستند.

جدول۲. مواد خوراکی و ترکیب شیمیایی جیره‌های آزمایشی (براساس ماده خشک)

	جیره‌های آزمایشی[1]			
فراسنجه	شاهد	اول	دوم	سوم
اجزای جیره				
یونجه خشک خرد شده	۱۷/۷۹	۱۷/۷۹	۱۷/۷۹	۱۷/۷۹
سیلاژ ذرت	۲۸/۸۹	۲۸/۸۹	۲۸/۸۹	۲۸/۸۹
جو آسیاب شده	۱۹/۱۳	۱۹/۱۳	۱۹/۱۳	۱۹/۱۳

ویرایش نشده

ذرت آسیاب شده	۱۱/۶۰	۱۱/۶۰	۱۱/۶۰	۱۱/۶۰
کنجاله سویا	۱۰/۸۰	۱۰/۸۰	۱۰/۸۰	۱۰/۸۰
سبوس گندم	۵/۸۷	۵/۸۷	۵/۸۷	۵/۸۷
کاه گندم	۲/۵۴	۲/۵۴	۲/۵۴	۲/۵۴
نمک	۰/۰۷۷	۰/۰۷۷	۰/۰۷۷	۰/۰۷۷
بی‌کربنات سدیم	۰/۵۵	۰/۵۵	۰/۵۵	۰/۵۵
کربنات کلسیم	۰/۷۱	۰/۷۱	۰/۷۱	۰/۷۱
چربی کلسیمی[۲]	۱/۰۵	۱/۰۵	۱/۰۵	۱/۰۵
مکمل معدنی- ویتامینی[۳]	۰/۳۰	۰/۳۰	۰/۳۰	۰/۳۰
ترکیب شیمیایی (درصدی از ماده خشک)				
ماده خشک	۶۲/۱۰	۶۳/۲۰	۶۳/۷۵	۶۳/۱۵
پروتیین خام	۱۷/۵۰	۱۷/۷۵	۱۸/۰۰	۱۷/۶۰
کربوهیدرات‌های غیرالیافی	۴۳/۵۰	۴۴/۰۰	۴۴/۵۰	۴۳/۷۵
الیاف نامحلول در شوینده خنثی	۳۰/۹۰	۳۰/۰۰	۳۰/۵۰	۳۰/۸۵
الیاف نامحلول در شوینده اسیدی	۱۸/۶۰	۱۸/۲۰	۱۸/۰۰	۱۸/۵۰
عصاره اتری	۳/۶۰	۳/۲۵	۳/۰۰	۳/۵۰
خاکستر	۶/۵۰	۶/۳۰	۶/۱۵	۶/۴۰
کلسیم	۱/۰۰	۱/۰۰	۱/۰۰	۱/۰۰
فسفر	۰/۶	۰/۶	۰/۶	۰/۶
انرژی خالص شیردهی[۳]	۱/۶۱	۱/۶۱	۱/۶۱	۱/۶۱

[۱] شاهد (جیره با سیلاژ بدون افزودنی میکروبی)، تیمار اول: جیره با سیلاژ حاوی باکتری *لاکتوباسیلوس فرمنتوم Lactobacillus fermentum (LF)*؛ تیمار دوم: جیره با سیلاژ محتوی مخلوط باکتری‌های *لاکتوباسلوس سالیواریوس Lactobacillus salivarius (LS)*، *پدیوکوکوس اسیدی‌لاکتیسی Pedicoccus acidilatici (PA)*، *لاکتوباسیلوس فرمنتوم Lactobacillus fermentum (LF)* و *انتروکوکوس فاسیوم Enterococcus faecium (EF)*، تیمار سوم: جیره با سیلاژ حاوی افزودنی میکروبی تجاری بایومین *Biomi*.

[۲] نمک کلسیمی اسیدهای چرب پالمیتیک و استئاریک اسید شرکت دانش بنیان کیمیا دانش الوند- قم- ایران.

[۳] هر کیلوگرم مخلوط مکمل معدنی و ویتامین شامل: ۱۰۰۰۰۰ میلی‌گرم کلسیم، ۳۰۰۰۰ میلی‌گرم فسفر، ۲۰۰۰۰ میلی‌گرم منیزیوم، ۱۱۰ میلی‌گرم کبالت، ۳۷۶۰ میلی‌گرم مس، ۱۷۸ میلی‌گرم ید، ۱۵۳۶۰ میلی‌گرم روی، ۵۲ میلی‌گرم سلنیوم، ۵۰۰۰ میلی‌گرم آهن، ۵۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین A، ۱۰۰۰۰۰واحد بین‌المللی ویتامین D، ۱۲۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین E.

[۳] مگاکالری بر کیلوگرم ماده خشک، براساس NRC، ۲۰۰۱ محاسبه شد.

اندازه‌گیری تولید شیر و ترکیبات آن

شیردوشی سه بار در روز در ساعت‌های ۶:۰۰، ۱۴:۰۰ و ۲۲:۰۰ انجام و تولید شیر در هر وعده، به صورت روزانه ثبت و از شیر به جهت تعیین ترکیبات شیر نمونه‌برداری شد. نمونه‌برداری از شیر، در ظروف پلاستیکی دارای دی کرومات پتاسیم انجام و ترکیبات شیر در شرکت ایده‌سازان روژان الوند واقع در کرج با استفاده از دستگاه میلکواسکن (Milk-O-Scan, Foss Electric, Denmark) اندازه‌گیری شد. میانگین شیر تصحیح شده برای ۳/۵ درصد چربی با استفاده از رابطه (۲) محاسبه شد.

رابطه ۲)

(تولید چربی (کیلوگرم) × ۱۶/۶) + تولید شیر (کیلوگرم) × (۰/۴۱۴۸) = شیر تصحیح شده برای ۳/۵ درصد چربی (کیلوگرم)

تعیین برخی فراسنجه‌های شکمبه

مایع شکمبه در روز ۲۱ هر دوره با استفاده از پمپ خلاء و از طریق سوند مری چهار ساعت پس از تغذیه صبح برای تعیین pH، غلظت نیتروژن آمونیاکی و غلظت اسیدهای چرب فرار گرفته شد. برای اطمینان از عدم آلودگی محتویات مایع شکمبه با بزاق، مقدار ۱۰۰ میلی‌لیتر اولیه مایع شکمبه دور ریخته و دومین نمونه مورد استفاده قرار گرفت. نمونه‌ها از طریق چهار لایه پارچه پنیر فیلتر شده و pH بلافاصله

ویرایش شده

اندازه‌گیری شد (pH متر دیجیتال، مدل JENWAY, 350 pH meter manual, England.). برای تعیین غلظت نیتروژن آمونیاکی، ۱۰ میلی لیتر مایع شکمبه فیلتر شده به ۱۰ میلی‌لیتر هیدروکلراید ۰/۲ نرمال اضافه شد و بلافاصله در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان تجزیه منجمد شد. برای اندازه‌گیری غلظت نیتروژن آمونیاکی، نمونه‌های منجمد شده یخ‌گشایی نسبی شده و سپس با استفاده از روش فنیل‌هیپوکلرایت و دستگاه اسپکتروفتومتری در طول موج نوری ۶۳۰ نانومتر (Unico, UV-2100 spectrophotometer، ساخت کشور امریکا) تعیین شد (Broderick & Kang, 1980). مقدار چهار میلی‌لیتر از مایع شکمبه صاف شده برداشته و به آن به نسبت ۱:۴ متافسفریک اسید۲۰ درصد اضافه و تا زمان تعیین تجزیه در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شد. غلظت اسیدهای چرب فرار شکمبه با استفاده از کروماتوگرافی گازی اندازه‌گیری شد (Ottensin & Butler, 1971). از ۴-متیل والریک اسید (شرکت سیگما، لویس آمریکا) به عنوان استاندارد داخلی استفاده شد. برنامهٔ دمایی و مشخصات دستگاه به قرار زیر بود:

دمای تزریق‌کننده دستگاه ۱۱۰ و تشخیص‌دهندهٔ ۲۰۰ درجهٔ سانتیگراد بود. از گاز هلیوم به‌عنوان ناقل و تشخیص‌دهنده از نوع FID بود. در ابتدا دمای ستون دستگاه ۱۱۰ درجهٔ سانتی‌گراد بود و برای دو دقیقه در این دما نگه داشته و سپس در طول پنج دقیقه به ۲۰۰ درجهٔ سانتی‌گراد رسانده شد و یک دقیقه در این دما باقی ماند .ستون مورد استفاده از نوع مویینه به طول ۳۰ متر بود (Alltech Capillary Column, ECTM .1000, inside diameter 0.53 mm, film thickness 1 micron). غلظت هر یک از اسیدهای چرب فرار از تقسیم سطح زیر نقطهٔ اوج آن اسید چرب بر سطح زیر نقطهٔ اوج مجموع اسیدهای چرب محاسبه و به صورت میلی‌گرم در دسی لیتر از مجموع اسیدهای چرب فرار بیان شد.

تعیین گوارش‌پذیری جیره

از روش نشانگر داخلی خاکستر نامحلول در اسید[1] جهت تعیین گوارش‌پذیری ماده‌خشک، پروتئین‌خام و الیاف نامحلول در شوینده خنثی استفاده شد (Van Keulen & Young, 1977). برای تعیین گوارش‌پذیری ظاهری مواد مغذی در طول دوره آزمایش، به مدت ۷ روز متوالی، از طریق توشه رکتال دو نمونه مدفوع (یک نمونه صبح و یک نمونه عصر) از هر رأس گاو جمع‌آوری و در دمای ۲۰- درجه‌سانتی‌گراد نگهداری شد و در هنگام تجزیه شیمیایی، تمامی نمونه‌های مربوط به هر گاو با هم مخلوط شدند. از خوراک ریخته شده در آخور در روزهای مشابه نیز نمونه‌برداری شد.

روش آنالیز آماری

این آزمایش بر پایه طرح مربع لاتین ادغام شده (مستطیل لاتین) ۴×۴ با چهار تیمار آزمایشی و چهار دوره و چهار گاو در هر تیمار اجراء شد. تمامی داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم افزار آماری SAS (نسخه ۹/۰۴) توسط رویهٔ مختلط واکاوی و براساس رابطه (۳) تجزیه شدند. میانگین تیمارها نیز با استفاده از آزمون دانکن در سطح معنی‌داری پنج درصد مقایسه شدند.

$$Y_{ijk} = \mu + P_i + C_k + T_j + e_{ijk}$$ رابطه ۳)

در این رابطه، μ= میانگین کلی، P_i= اثر ثابت دوره (i=۱ تا۴)، C_k= اثر تصادفی گاو (k=۱ تا ۱۶) T_j= اثر ثابت تیمار آزمایشی (j=۱ تا۴) e_{ijk}= اثر اشتباه آزمایشی

یافته‌های پژوهش

1. Acid-insoluble Ash

عملکرد

داده‌های مربوط به تولید و ترکیب شیر در جدول ۳ نشان داده شده است. تلقیح باکتریایی سیلاژ تأثیر معنی‌داری بر تولید شیر نداشت ولی تولید شیر تصحیح شده بر اساس ۳/۵ درصد چربی در گاوهای دریافت‌کننده سیلاژ تلقیح شده بیشتر از گروه شاهد بود به نحوی که در گاوهای دریافت‌کننده جیره محتوی سیلاژ حاوی باکتری *لاکتوباسیلوس فرمنتوم* (تیمار اول) بیشتر از سایر گروه‌های آزمایشی بود. به نظر می‌رسد، این تفاوت عمدتا به سبب درصد چربی بیشتر شیر تولیدی در گاوهای تغذیه شده با جیره‌های حاوی سیلاژ تلقیح شده بود. با این حال، تلقیح باکتریایی سیلاژ سبب افزایش درصدهای چربی شیر و مواد جامد بدون چربی شد به نحوی که در مورد گاوهای تیمار اول نسبت به گروه شاهد معنی‌دار بود (P<۰/۰۵). درصد پروتئین شیر گاوهای دریافت‌کننده سیلاژ تلقیح‌شده با بایومین نسبت به گروه شاهد کمتر بود (P<۰/۰۵) هرچند تفاوتی آماری معنی‌داری بین گروه شاهد و تیمارهای آزمایشی دیگر مشاهده نشد (P>۰/۰۵). درصد لاکتوز شیر تحت تاثیر تلقیح باکتریایی سیلاژ ذرت قرار نگرفت و تفاوت آماری معنی‌داری بین گروه‌های آزمایشی وجود نداشت (P>۰/۰۵). درصد کل مواد جامد شیر در گروه‌های دریافت‌کننده سیلاژ تلقیح شده بیشتر از گروه شاهد بود و این تفاوت در مورد تیمار اول و دوم نسبت به شاهد معنی‌دار بود (P<۰/۰۵). میزان نیتروژن اوره‌ای شیر تحت تأثیر افزودنی‌های باکتریایی قرار گرفت و تلقیح باکتریایی سیلاژ سبب افزایش نیتروژن اوره‌ای شیر شد به نحوی که در مورد شیر گاوهای تیمار اول و سوم نسبت به گروه شاهد معنی‌دار بود (P<۰/۰۵). شمارش سلول‌های بدنی در تیمار سوم کمترین و در تیمار اول و شاهد بیشترین بود (P<۰/۰۵).

جدول ۳. تأثیر تیمارهای آزمایشی بر تولید و ترکیب شیر گاوهای شیری

فراسنجه	تیمارهای آزمایشی[1]				SEM	سطح معنی‌داری		
	شاهد	اول	دوم	سوم		تیمار	حیوان	دروه
تولید (کیلوگرم در روز)								
شیر	۲۸/۱۱	۲۸/۹۱	۲۸/۴۹	۲۸/۸۸	۰/۵۰۰	۰/۴۱۰	۰/۶۱۱	۰/۱۱۴
شیر تصحیح شده ۳/۵ درصد چربی	۲۶/۶۰ d	۳۰/۷۵ a	۲۹/۲۵ b	۲۸/۷۵ c	۰/۰۶۷	۰/۰۰۱	۰/۳۱۳	۰/۰۰۱
ترکیبات شیر (درصد)								
چربی	۳/۲۱ b	۳/۹۰ a	۳/۷۰ ab	۳/۵۲ ab	۰/۱۷۰	۰/۰۴۳	۰/۸۴۶	۰/۱۳۲
پروتئین	۳/۳۸ ab	۳/۵۸ a	۳/۵۰ ab	۳/۱۵ b	۰/۱۲۹	۰/۰۱۲	۰/۹۵۴	۰/۹۸۴
نسبت چربی به پروتئین	۰/۹۸ b	۱/۰۹ ab	۱/۰۵۱ ab	۱/۱۰۸ a	۰/۰۳۹	۰/۰۱۳۲	۰/۹۱۳	۰/۵۳۲
لاکتوز	۴/۲۴	۴/۳۰	۴/۱۸	۴/۱۷	۰/۰۶۸	۰/۴۸۱	۰/۴۸۸	۰/۰۱
کل مواد جامد	۱۱/۷۹ b	۱۳/۴۴ a	۱۳/۰۱ a	۱۲/۸۱ ab	۰/۳۹۲	۰/۰۳۲	۰/۵۸۷	۰/۰۶
مواد جامد بدون چربی	۸/۵۷ b	۹/۵۴ a	۹/۳۱ ab	۹/۲۹ ab	۰/۳۰۹	۰/۰۳	۰/۷۵۹	۰/۰۷
ترکیبات شیر (کیلوگرم در روز)								
چربی	۰/۹۰	۱/۱۳	۱/۰۵	۱/۰۱	۰/۴۳۱	۰/۰۹۱	۰/۵۴۲	۰/۲۵۱
پروتئین	۰/۹۵ ab	۱/۰۴ a	۱/۰۰ ab	۰/۹۱ b	۰/۳۴۵	۰/۰۱۶	۰/۶۱۲	۰/۴۱۰
لاکتوز	۱/۱۹	۱/۲۴	۱/۱۹	۱/۲۰	۰/۴۴۱	۰/۱۴۵	۰/۱۵۵	۰/۱۶۸
نیتروژن اوره (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	۱۲/۹۶ b	۱۴/۵۶ a	۱۴/۰۱ ab	۱۴/۴۲ a	۰/۳۷۱	۰/۰۱۷	۰/۴۳۷	۰/۰۹
شمارش سلول‌های بدنی[2]	۷۱/۸۷۵ a	۶۱/۷۵۰ a	۴۵/۳۷۵ b	۳۳/۷۵۰ c	۳/۷۸۹	۰/۰۰۱	۰/۵۷۶	۰/۰۰۱
نقطه انجماد شیر(درجه سانتی‌گراد)	−۰/۵۳	−۰/۵۵	−۰/۵۰	−۰/۵۲	۰/۴۳۰	۰/۰۶۲	۰/۶۹۱	۰/۵۸۹

[a,b] تفاوت میانگین ارقام در هر ردیف با حروف نامشابه، معنی‌دار است (P<۰/۰۵)؛ SEM= خطای معیار میانگین.

ویراستاری نشده

[1] شاهد (جیره با سیلاژ بدون افزودنی میکروبی)، تیمار اول: جیره با سیلاژ حاوی باکتری *لاکتوباسیلوس فرمنتوم* *Lactobacillus fermentum (LF)*؛ تیمار دوم: جیره با سیلاژ محتوی ترکیب باکتری‌های *لاکتوباسلوس سالیواریوس* *Lactobacillus salivarius (LS)*، *پدیوکوکوس اسیدی‌لاکتیسی* *Pedicoccus acidilatici (PA)*، *لاکتوباسیلوس فرمنتوم* *Lactobacillus fermentum (LF)* و *انتروکوکوس فاسیوم* *Enterococcus faecium (EF)*، تیمار سوم: جیره با سیلاژ حاوی افزودنی میکروبی تجاری بایومین (*Biomin*)

[2] Somatic cell Count = SCC (× 1000 cell/mL milk)

مصرف ماده خشک و گوارش‌پذیری

میانگین مصرف روزانهٔ مادهٔ خشک و گوارش‌پذیری جیره‌ها در جدول۴ ارائه شده است. مصرف مادهٔ خشک گاوهای تغذیه‌شده با جیره‌های حاوی سیلاژهای تلقیح شده در تیمارهای اول و دوم نسبت به گروه شاهد، بیشتر بود (P<۰/۰۵) و بیشترین مقدار مربوط به گاوهای تغذیه شده با جیره حاوی سیلاژ تلقیح شده با باکتری *لاکتوباسیلوس فرمنتوم* بود (P<۰/۰۵) ولی تفاوت آماری معنی‌داری بین گروه تغذیه‌شده با سیلاژ تلقیح‌شده با بایومین و گروه شاهد مشاهده نشد. تغییرات وزن گاوهای شیری بین گروه‌های آزمایشی در طول دوره آزمایش معنی‌دار نبود. گوارش‌پذیری‌پذیری ماده خشک، پروتئین خام و الیاف نامحلول در شوینده خنثی جیره‌های حاوی سیلاژ تلقیح‌شده بالاتر از گروه شاهد بود (P<۰/۰۵). به نحوی که در جیره‌های حاوی سیلاژ تلقیح شده با ترکیب باکتری‌ها در هر سه فراسنجه نسبت به سایر گروه بیشتر بود (P<۰/۰۵). گوارش‌پذیری‌پذیری ماده خشک و الیاف نامحلول در شوینده خنثی جیره‌های حاوی سیلاژ تلقیح‌شده با *لاکتوباسیلوس فرمنتوم* کمتر از سایر جیره‌های حاوی سیلاژ تلقیح‌شده بود (P<۰/۰۵).

جدول٤. تأثیر تیمارهای آزمایشی بر مصرف ماده خشک و گوارش‌پذیری مواد مغذی

فراسنجه	تیمارهای آزمایشی[1]				SEM	سطح معنی‌داری
	شاهد	اول	دوم	سوم		
ماده خشک مصرفی (کیلوگرم)	۲۰/۴۰ ^{c}	۲۱/۸۸ ^{a}	۲۱/۵۹ ^{ab}	۲۰/۹۶ ^{bc}	۰/۱۳۶	۰/۰۰۱
گوارش پذیری (گرم بر کیلوگرم ماده خشک)						
ماده خشک	۶۹/۴۶ ^{d}	۷۱/۶۷ ^{c}	۷۵/۳۵ ^{a}	۷۳/۵۴ ^{b}	۰/۳۴۶	۰/۰۰۱
پروتئین خام	۷۰/۰۶ ^{c}	۷۲/۱۲ ^{b}	۷۴/۵۰ ^{a}	۷۲/۳۴ ^{b}	۰/۲۶۳	۰/۰۰۱
الیاف نامحلول در شوینده خنثی	۴۸/۰۱ ^{d}	۴۹/۳۸ ^{c}	۵۱/۰۸ ^{a}	۵۰/۰۶ ^{b}	۰/۲۲۸	۰/۰۰۱

[a,b,c,d] تفاوت میانگین ارقام در هر ردیف با حروف نامشابه، معنی‌دار است (P<۰/۰۵).

NDF= الیاف نامحلول در شوینده خنثی ؛ SEM= خطای معیار میانگین.

[1] شاهد (جیره با سیلاژ بدون افزودنی میکروبی)، تیمار اول: جیره با سیلاژ حاوی باکتری *لاکتوباسیلوس فرمنتوم* *Lactobacillus fermentum (LF)*؛ تیمار دوم: جیره با سیلاژ حاوی ترکیب باکتری‌های *لاکتوباسلوس سالیواریوس* *Lactobacillus salivarius (LS)*، *پدیوکوکوس اسیدی‌لاکتیسی* *Pedicoccus acidilatici (PA)*، *لاکتوباسیلوس فرمنتوم* *Lactobacillus fermentum (LF)* و *انتروکوکوس فاسیوم* *Enterococcus faecium (EF)*، تیمار سوم: جیره با سیلاژ حاوی افزودنی میکروبی تجاری بایومین (*Biomin*)

فراسنجه‌های تخمیر شکمبه

نتایج فراسنجه‌های تخمیر شکمبه‌ای نشان داد که pH شکمبه و غلظت نیتروژن آمونیاکی بین تیمارهای آزمایشی متفاوت بود (جدول ۵). pH شکمبه در گاوهای تغذیه‌شده با جیره حاوی ذرت تلقیح‌شده نسبت به گروه شاهد پایین‌تر بود (P<۰/۰۵). پایین‌ترین pH شکمبه مربوط به جیره‌های حاوی ذرت تلقیح شده با باکتری *لاکتوباسیلوس فرمنتوم بود* (P<۰/۰۵). غلظت نیتروژن آمونیاکی نیز تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت به نحوی که غلظت این فراسنجه در تیمارهای حاوی باکتری *لاکتوباسیلوس فرمنتوم* (تیمار اول) و ترکیبی از باکتری (تیمار دوم) پایین‌تر از گروه شاهد و جیره‌های حاوی سیلاژ تلقیح شده با سویه‌های تجاری بایومین (تیمار سوم) بود (P<۰/۰۵). اگرچه تیمارها تأثیر معنی‌داری بر غلظت کل اسیدهای چرب فرار نداشتند؛ ولی در شکمبه حیواناتی که با جیره‌های حاوی تیمار اول و سوم تغذیه

شدند غلظت پروپیونات بالاتر بود (P=۰/۰۷)، در حالی که تفاوتی بین گاوهای تغذیه شده با جیره‌های حاوی سیلاژ شاهد و سیلاژ حاوی افزودنی ترکیبی باکتری‌ها (تیمار دوم) مشاهده نشد. روند تغییرات غلظت استات و بوتیرات در گروه‌های آزمایشی مشابه بود به نحوی که غلظت این دو اسید چرب فرار در گاوهای گروه شاهد بیشترین و در تیمار دوم کمترین بود (P<۰/۰۵) هرچند تفاوت آماری معنی‌داری بین گروه شاهد و تیمارهای اول و سوم مشاهده نشد. نسبت استات به پروپیونات در گروه شاهد بیشتر از گروه‌های دیگر بود (P<۰/۰۵).

جدول ۵. تاثیر تیمارهای آزمایشی بر فراسنجه‌های تخمیر شکمبه گاوهای شیری

فراسنجه	تیمارهای آزمایشی[1]				SEM	سطح معنی‌داری		
	شاهد	اول	دوم	سوم		تیمار	حیوان	دروه
pH	۶/۵۸ ^{a}	۶/۱۸ ^{c}	۶/۳۰ ^{b}	۶/۳۷ ^{b}	۰/۱۵۲	۰/۰۰۱	۰/۰۵۱	۰/۰۲۱
نیتروژن آمونیاکی (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	۷/۰۱ ^{a}	۵/۴۵ ^{b}	۴/۵۶ ^{c}	۶/۳۷ ^{a}	۰/۲۹۴	۰/۰۰۱	۰/۰۴۹	۰/۰۱۱
کل اسیدهای چرب فرار (میلی‌مول در لیتر)	۶۰/۴۲	۵۸/۲۵	۵۰/۳۳	۵۹/۰۳	۳/۵۸۰	۰/۲۰۲	۰/۸۴۶	۰/۳۸۶
استات (درصد)	۷۷/۷۶ ^{a}	۷۳/۹۰ ^{b}	۷۵/۱۸ ^{ab}	۷۴/۸۶ ^{b}	۲/۵۲۷	۰/۰۲۲	۰/۶۵۵	۰/۱۸۴
پروپیونات (درصد)	۹/۸۰ ^{b}	۱۳/۷۳ ^{a}	۱۳/۹۳ ^{a}	۱۴/۰۷ ^{a}	۰/۷۴۱	۰/۰۵۱	۰/۵۲۷	۰/۸۲۶
بوتیرات (درصد)	۹/۹۱ ^{a}	۹/۳۷ ^{ab}	۸/۱۰ ^{b}	۸/۳۵ ^{ab}	۰/۳۸۲	۰/۰۴۵	۰/۵۶۱	۰/۰۷۳
نسبت استات به پروپیونات	۷/۹۴ ^{a}	۵/۳۸ ^{b}	۵/۴۰ ^{b}	۵/۳۲ ^{b}	۰/۷۱۱	۰/۰۲۴	۰/۲۹۸	۰/۱۰۹
والرات (درصد)	۰/۷۳	۰/۸۴	۰/۸۰	۰/۸۰	۰/۰۴۹	۰/۶۲۱	۰/۶۴۸	۰/۲۰۳
ایزووالرات (درصد)	۰/۸۳ ^{b}	۱/۱۸ ^{a}	۱/۱۹ ^{a}	۱/۰۸ ^{ab}	۰/۰۳۹	۰/۰۲۸	۰/۱۹۴	۰/۰۹۳
ایزوبوتیرات (درصد)	۰/۹۵	۰/۹۸	۰/۷۹	۰/۸۲	۰/۰۵۹	۰/۳۱۱	۰/۹۴۵	۰/۷۳۴

^{a,b,c} تفاوت میانگین ارقام در هر ردیف با حروف نامشابه، معنی‌دار است (P<۰/۰۵)؛ SEM= خطای معیار میانگین.

[1] شاهد (جیره با سیلاژ بدون افزودنی میکروبی)، تیمار اول: جیره با سیلاژ حاوی باکتری *لاکتوباسیلوس‌فرمنتوم Lactobacillus fermentum (LF)*؛ تیمار دوم: جیره با سیلاژ محتوی ترکیب باکتری‌های *لاکتوباسلوس‌سالیواریوس Lactobacillus salivarius (LS)*، *پدیوکوکوس‌اسیدی‌لاکتیسی Pedicoccus acidilatici (PA)*، *لاکتوباسیلوس‌فرمنتوم Lactobacillus fermentum (LF)* و *انتروکوکوس‌فاسیوم Enterococcus faecium (EF)*، تیمار سوم: جیره با سیلاژ حاوی افزودنی میکروبی تجاری بایومین (*Biomin*)

بحث

عملکرد

در مطالعه حاضر تاثیر معنی‌داری از تلقیح باکتریایی سیلاژ ذرت بر تولید شیر نسبت به گروه شاهد مشاهده نشد ولی تولید شیر تصحیح شده بر اساس ۳/۵ درصد چربی در گاوهای دریافت‌کننده سیلاژ تلقیح شده بیشتر از گروه شاهد بود. نتایج متعدد و گاهی متناقض در این مورد گزارش شده است. به عنوان مثال برخی محققین مشابه این نتایج، تغییری در تولید شیر مشاهده نکردند (Bernardi *et al*., 2019; Zhang *et al*., 2019; Arriola *et al*., 2021) ولی محققین دیگر افزایش در تولید شیر را گزارش کردند (Kung *et al*., 2003; Oliveira et al., 2017). گزارش شده است تغذیه گاوهای شیرده با جیره حاوی سیلاژ ذرت تلقیح شده با *لاکتوباسیلوس‌پلانتاروم* تاثیری بر ترکیب شیر

ویراستاری نشده

نداشت، اما مصرف مادۀ خشک و تولید شیر اصلاح شده با چربی ۳/۵ درصد به طور قابل توجهی افزایش یافت (Bernardi *et al*., 2019). گزارش یک مطالعه متاآنالیز (فراتحلیلی) نشان داد بهبود فرآیند تخمیر سیلاژ توسط تلقیح باکتری‌های اسید لاکتیک تنها ۰/۳کیلوگرم در روز افزایش تولید شیر را توضیح می‌دهد (Huhtanen *et al*., 2003). از آنجایی که اثر تلقیح باکتری‌های اسید لاکتیک سیلاژ ذرت بر تولید شیر از آنچه از بهبود کیفیت سیلاژ انتظار می‌رود، بیشتر است، تحقیقات هنوز نیاز به تعیین چگونگی بهبود عملکرد دام دارند (Huhtanen *et al*., 2003; Bernardi *et al*., 2019). بهبود در تولید شیر به افزایش دریافت انرژی قابل سوخت و ساز، افزایش مصرف مادۀ خشک یا بهبود گوارش‌پذیری مادۀ خشک نسبت داده شده است (Bayatkouhsar *et al*., 2011; Oliveira *et al*., 2017). برخی مطالعات نظیر مطالعه حاضر، تغییر ترکیب شیر به واسطه تلقیح باکتریای سیلاژ را گزارش کردند (Kung *et al*., 2003; Oliveira *et al*., 2017)؛ هر چند نتایج مطالعات دیگر، نشان‌دهنده عدم تغییر ترکیب شیر است (Bayatkouhsar *et al*., 2011; Arriola *et al*., 2021).

علت بهبود عملکرد دام به دنبال تغذیه با سیلاژ تلقیح‌شده باکتریایی مشخص نیست، اما محققین پیشنهادهای متعددی مرتبط با بهبود عملکرد ارائه کرده‌اند. یکی از این پیشنهادها، اثر بالقوه پروبیوتیکی باکتری‌های اسید لاکتیک استفاده شده در تلقیح سیلاژ می‌باشد که مکانیسم آن هنوز نامشخص است. پیشنهاد دیگر این‌که باکتری‌های اسید لاکتیک که به عنوان تلقیح‌کننده سیلاژ مورد استفاده قرار می‌گیرند، سبب مهار میکروارگانیسم‌های مضر شده و ممکن است از تولید سموم در سیلاژ جلوگیری کنند و تأثیر مثبتی بر محیط شکمبه داشته باشند. برخی محققین، عامل اصلی در بهبود عملکرد دام را تغییرات در ترکیب شیمیایی و تخمیر سیلاژ پیشنهاد داده‌اند. هرچند، به نظر می‌رسد، تعامل باکتری‌های اسید لاکتیک با میکروارگانیسم‌های شکمبه و برخی سویه‌های خاص میکروارگانیسم‌ها است که سبب بهبود عملکرد شکمبه می‌شود (Ellis *et al*., 2016; Rabelo *et al*., 2018; Bernardi *et al*., 2019; Zhang *et al*., 2019; Arriola *et al*., 2021). از طرفی، پیشنهاد شده است که تلقیح سیلاژ می‌تواند عملکرد دام را با تغییر تخمیر شکمبه افزایش دهد (Fellner *et al*., 2001; Zhang *et al*., 2019). زیرا تلقیح با باکتری‌های اسید لاکتیک عموماً عملکرد شکمبه را با تحریک میکروب‌های شکمبه بهبود داده و سبب افزایش تولید اسیدهای چرب فرّار می‌شود (Zhang *et al*., 2019; Arriola *et al*., 2021). همچنین، تجزیه‌پذیری دیواره سلولی (Arriola *et al*., 2021) یا سنتز پروتئین میکروبی (Zhang *et al*., 2019; Arriola *et al*., 2021) را افزایش می‌دهد.

در مطالعه حاضر تلقیح سیلاژ با باکتری‌های اسید لاکتیک همراه با افزایش درصد چربی شیر بود، اما مکانیسم اساسی آن نامشخص است. هرچند مطالعات قبلی نشان دادند که باکتری‌های اسید لاکتیک می‌توانند اسیدهای چرب لینولئیک و لینولنیک را در طول سیلوکردن هیدروژنه و تجزیه کنند (Oliveira *et al*., 2017). به نظر می‌رسد که با کاهش غلظت اسیدهای چرب غیر اشباع، تلقیح ممکن است مسیرهای بیوهیدروژناسیون شکمبه را تغییر و در نتیجه فراوانی واسطه‌های بیوهیدروژناسیون را کاهش دهد که به طور بالقوه می‌تواند حضور اسیدهای چربی نظیر C18:2 trans-10, cis-12 در خون و جذب آن توسط غدد پستانی را افزایش و متعاقب آن تولید چربی شیر را مهار کند (Oliveira *et al*., 2017). لذا مکانیسم اساسی که توسط آن تلقیح باکتری‌های اسید لاکتیک سیلاژ باعث افزایش پاسخ چربی شیر شده است، نیاز به بررسی بیشتر دارد. همچنین در مطالعه حاضر، تلقیح سیلاژ با باکتری‌های اسید لاکتیک همراه با افزایش درصد پروتئین شیر بود هرچند تفاوت معنی‌داری با گروه شاهد نداشت. اگرچه سازوکاری که توسط آن تلقیح سیلاژ با باکتری‌های اسید لاکتیک باعث افزایش غلظت پروتئین شیر شود، مشخص نیست، اما فرض بر این است که تلقیح در دسترس‌بودن پروتئین و انرژی قابل سوخت و ساز برای سنتز پروتئین شیر را با کاهش پروتئولیز و آمین‌زدایی اسیدهای آمینه و دِکربوکسیلاسیون در طول سیلوکردن، از طریق بالابردن مصرف ماده خشک، افزایش می‌دهد (Oliveira *et al*., 2017).

مصرف ماده خشک و گوارش‌پذیری

گزارش‌های متعدد و گاهی متناقض در مورد تأثیر تلقیح باکتریایی سیلاژ بر مصرف ماده خشک و گوارش‌پذیری مواد مغذی منتشر شده است. برخی محققین مشابه نتایج تحقیق حاضر گزارش کردند که تلقیح باکتریایی سیلاژ ذرت سبب بهبود مصرف مادۀ خشک توسط دام شد (Kung *et al*., 2003; Oliveira *et al*., 2017; Zhang *et al*., 2019). هرچند برخلاف پژوهش حاضر، برخی مطالعات نشان داد که سیلاژهای ذرت تلقیح شده با باکتری تأثیر معنی‌داری بر مصرف مادۀ خشک نداشت (Bernardi *et al*., 2019; Arriola *et al*., 2021) یا

حتی باعث کاهش مصرف مادهٔ خشک شد (Andrade *et al*., 2016). بهبود مصرف مادهٔ خشک را می‌توان به بهبود فراسنجه‌های تخمیر یا افزایش گوارش‌پذیری دیواره سلولی نسبت داد (Bernardi *et al*., 2019). ولی در مطالعه حاضر، غلی‌رغم اینکه در تیمار اول بالاترین مصرف ماده خشک مشاهده شد ولی گوارش‌پذیری دیواره سلولی کمتری داشت (جدول ۴) هرچند در این تیمار نسبت به گروه شاهد و تیمار سوم شرایط بهتری از لحاظ غلظت نیتروژن آمونیاکی مشاهده شد. البته این فرضیه Bernardiو همکاران (۲۰۱۹) در مورد تیمار دوم در مطالعه حاضر نیز مورد تایید قرار گرفت. با این حال، پیشنهاد شده است که عوامل دیگری از جمله غلظت اسیدهای چرب فرار، محتوای اسید لاکتیک، حلالیت پروتئین و سطح آمونیاک سیلاژ ممکن است بر مصرف ماده خشک تأثیر بگذارد (Bernardi *et al*., 2019). گزارش یک مطالعه فراتحلیلی نشان داد که غلظت اسید استیک بالاتر از ۱/۷۳ درصد جیرهٔ غذایی (بر اساس ماده خشک) باید مصرف مادهٔ خشک را کاهش دهد؛ با این حال، مصرف مادهٔ خشک و تولید شیر گاوهای شیری تغذیه شده با سیلاژ محتوی تلقیح‌های باکتریایی تحت تأثیر قرار نگرفت (Gerlach *et al*., 2021). ولی محققین دیگری گزارش دادند که تغذیه جیره مخلوط حاوی ۴/۳ درصد اسید استیک (بر اساس مادهٔ خشک) هیچ تأثیری بر مصرف مادهٔ خشک و تولید شیر گاوهای شیری نداشت (Bernardi *et al*., 2019).

در این مطالعه یکی از نگرانی‌های اولیه در مورد تلقیح *لاکتوباسیلوس فرمنتوم*، این بود که غلظت بالای اسید استیک سیلاژهای تلقیح شده با این باکتری باعث کاهش مصرف خوراک در دام شود. ولی نتایج نشان داد که نسبت به گروه شاهد مصرف مادهٔ خشک بالاتر بود (P<۰/۰۵). علی‌رغم اینکه تیمار *لاکتوباسیلوس فرمنتوم* منجر به افزایش غلظت استات در سیلاژها شد (نتایج گزارش نشده است)، در مطالعه حاضر، غلظت اسید استیک برای سیلاژ ذرت تلقیح شده با *لاکتوباسیلوس فرمنتوم* به تنهایی و در ترکیب با دیگر باکتری‌ها به ترتیب ۳۳/۰۹ و ۳۳/۸۲ گرم بر کیلوگرم ماده خشک بود و سیلاژ شامل ۲۸/۸۹ درصد جیره مخلوط گاوهای شیری بود که بعید است بر مصرف مادهٔ خشک تأثیر منفی بگذارد.

گوارش پذیری ظاهری مادهٔ خشک، پروتئین خام و الیاف نامحلول در شوینده خنثی جیره در بین تیمارها متفاوت بود (جدول۴). مطابق نتایج گزارش حاضر، گزارش کردند سیلاژ ذرت تلقیح شده با باکتری‌ها از لحاظ گوارش‌پذیری مادهٔ خشک، مواد آلی و دیواره سلولی متفاوت از سیلاژ ذرت تلقیح نشده بود (Andrade *et al*., 2016). هرچند چنین نتایجی در برخی گزارش محققین مشاهده نمی‌شود. به‌عنوان مثال گزارش شده است که سیلاژ ذرت به‌عنوان بخشی از کل جیره مخلوط به گاوها تغذیه شده است و از این رو اثر تلقیح ممکن است رقیق شود (Bernardi *et al*., 2019). این توجیه در مطالعات دیگران نیز تأیید شده است (Oliveira *et al*., 2017; Arriola *et al*., 2021). افزایش گوارش‌پذیری مواد مغذی به دنبال فرآیند سیلوکردن نتیجه ترکیب دو اثر است. اولاً، فرآیند تخمیر می‌تواند بخش همی‌سلولز فیبر را، هم با اثر آنزیم‌های خود گیاه و هم با هیدرولیز اسیدی یا قلیایی، تجزیه کند. ثانیاً، پائین بودن محتوای کربوهیدرات غیرفیبری جیره در سیلاژهای تلقیح شده احتمالاً به دلیل pH بالاتر شکمبه، فعالیت میکروارگانیسم‌های فیبرولیتیک شکمبه را تحریک می‌کند. علاوه بر اثر فیبرولیتیک، احتمالاً استفاده از تلقیح‌های باکتریایی به حفظ بخش کربوهیدرات‌های غیرفیبری سیلاژها کمک می‌کند (Andrade *et al*., 2016). برخی محققین مشابه نتایج مطالعه حاضر، گزارش کردند که تغذیه گاوهای شیری با جیره حاوی ذرت تلقیح شده باکتریایی تاثیری بر تغییرات وزن بدن دام نداشت (Bernardi *et al*., 2019).

فراسنجه‌های تخمیر شکمبه

بر اساس مطالعات محققین دیگر گزارش شده است که تغذیه دام با جیره های حاوی سیلاژ تلقیح‌شده باکتریایی پتانسیل تغییر فرایند تخمیر شکمبه را دارد (Ellis *et al*., 2016; Bernardi *et al*., 2019; Zhang *et al*., 2019; Arriola *et al*., 2021). عوامل متعددی از جمله غلظت نسبی بازها، اسیدها و بافرها pH شکمبه را کنترل می‌کنند. غلظت آمونیاک شکمبه را می‌توان به عنوان شاخصی از تخریب پروتئین میکروبی و پایه اولیه در شکمبه در نظر گرفت (Bernardi *et al*., 2019). بهبود فرایند حفظ پروتئین سیلاژ (یعنی کاهش NH_3-N) با تلقیح باکتری‌های

اسید لاکتیک می‌تواند سنتز پروتئین میکروبی شکمبه را مستقل از مصرف مادهٔ خشک افزایش دهد و در نتیجه به افزایش تولید شیر کمک کند (Bernardi *et al*., 2019 Oliveira *et al*., 2017;). همچنین در توافق با نتایج مطالعه حاضر، در مطالعه دیگری تلقیح سیلاژ ذرت با باکتری‌های اسید لاکتیک در مقایسه با گروه شاهد میزان pH شکمبه و غلظت نیتروژن آمونیاکی را کاهش داد (Bernardi *et al*., 2019). این حالت را می‌توان حداقل تا حدی به میکروب‌های استفاده‌کننده آمونیاک در شکمبه گاوهای تغذیه‌شده با سیلاژ تلقیح‌شده نسبت داد (Zhang *et al*., 2019). برخلاف نتیجه مطالعه حاضر، برخی محققین گزارش کردند که گاوهای شیری تغذیه‌شده با سیلاژهای تلقیح شده باکتریایی دارای pH شکمبه بالاتری نسبت به سایر تیمارها بودند (Fellner *et al*., 2001).

مطالعات بیشتری باید انجام شود تا ارزیابی شود که آیا تلقیح های میکروبی می‌توانند به طور مداوم عملکرد حیوان یا کارایی تولید را بهبود بخشند. غلظت بیشتری از نیتروژن آمونیاکی در شکمبه گاوهایی که با سیلاژهای تلقیح نشده و تلقیح شده با افزودنی تجاری (تیمار سوم) تغذیه شدند نسبت به گاوهای تغذیه شده با سیلاژهای تیمار شده (تیمار اول و دوم) مشاهده شد (جدول ۵). مطالعه تخمیر کشت مداوم در شرایط آزمایشگاهی نشان داد که نگهداری آمونیاک مایع شکمبه در ۵۰ میلی گرم در لیتر برای حمایت از حداکثر نرخ رشد میکروارگانیسم‌های شکمبه کافی است (Zhang *et al*., 2019). بنابراین، علاوه بر مصرف مادهٔ خشک کمتر، این امر را می‌توان حداقل تا حدی به میکروب‌های بیشتری که از آمونیاک استفاده می‌کنند در شکمبه گاوهای تغذیه‌شده با سیلاژهای تیمار شده (تیمار اول و دوم) نسبت داد. همچنین، اگرچه غلظت کل اسیدهای چرب فرّار در مایع شکمبه بین همه تیمارها مشابه بود، اما غلظت بیشتر پروپیونات در شکمبه گاوهای تغذیه شده با سیلاژهای تلقیح شده نسبت به گروه شاهد، باعث کاهش pH و نسبت استات به پروپیونات شد. این نتایج نشان می‌دهد که الگوی تخمیر شکمبه در گاوهای تغذیه شده با سیلاژهای تلقیح‌شده، در مقایسه با حیواناتی که با سیلاژهای تیمار نشده تغذیه می‌شوند، به تخمیر از نوع اسید پروپیونیک تبدیل شده است، به این معنی که گونه‌ها و کمیت باکتری‌های مرتبط با شکمبه ممکن است بین این دو گروه متفاوت باشد. به‌عبارتی دیگر، تغییر تخمیر شکمبه بین گاوهای تغذیه‌شده با سیلاژهای تلقیح‌شده با باکتری‌ها و تیمار نشده نشان می‌دهد که تلقیح‌های باکتریایی مورد استفاده در مطالعه حاضر ممکن است با میکروب‌های شکمبه به عنوان پروبیوتیک عمل کنند، این روند در مطالعات دیگر محققان نیز گزارش شده است (Fellner *et al*., 2001; Zhang *et al*., 2019).

نتیجه گیری

نتایج آزمایش حاضر که با استفاده از یک تلقیح تجاری و دو تلقیح تولید شده در آزمایشگاه به صورت کشت تازه انجام شد، نشان داد که تلقیح‌های باکتریایی بر گوارش‌پذیری مواد مغذی، فراسنجه‌های تخمیر شکمبه، ترکیبات شیر و شیر تصحیح شده بر اساس ۳/۵ درصد چربی تأثیر داشت اما بر تولید شیر تأثیر معنی‌داری نداشت. بنابراین، استفاده از تلقیح‌کننده‌های باکتریایی مورد اشاره در این تحقیق می‌تواند جهت بهبود خوراک و همچنین برخی فراسنجه‌های عملکرد دام مفید باشد.

منابع

آقامحمدی، ناهید، هژبری، فردین و علیپور، داریوش (۱۴۰۰). پایداری هوازی سیلاژ ذرت تلقیح شده با جدایه‌های جدید باکتری اسید لاکتیک جدا شده از منابع مختلف. *نشریه پژوهش های علوم دامی ایران*، ۱۴ (۳)، ۳۷۷-۳۵۹.

Aghamohamadi, N., Hozhabri, F., & Alipour, D. (2022). Aerobic stability of corn silages inoculated with novel isolate of lactic acid bacteria separated from various sources. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 14(3), 359-377. https://doi.org/10.22067/ijasr.2021.68168.1003. (In Persian).

Andrade, F. L., Rodrigues, J. P. P., Detmann, E., Campos Valadares Filho, S., Castro, M. M. D., Trece, A. S., Silva, T. E., Fischer, V., Weiss, K., & Marcondes, M. I. (2016). Nutritional and productive performance of dairy cows fed corn silage or sugarcane silage with or without additives. *Tropical Animal Health & Production*, 48,747–753. https://doi.org/10.1007/s11250-016-1020-y.

AOAC (2000). *Official Methods of Analysis*. Vol. I. 17th Ed. AOAC International, Arlington.

ویرایش اولیه نشده

Arriola, K. J., Oliveira, A. S., Jiang, Y., Kim, D., Silva, H. M., Kim, S. C., Amaroand, F. X., & Adesogan, A. T. (2021). Meta-analysis of effects of inoculation with *Lactobacillus buchneri*, with or without other bacteria, on silage fermentation, aerobic stability, and performance of dairy cows. Journal of Dairy Science, 104, 7653–7670. https://doi.org/10.3168/jds.2020-19647.

Bayatkouhsar, J., Tahmasebi, A. M. & Naserian, A. A. (2011) The effects of microbial inoculation of corn silage on performance of lactating dairy cows. *Livestock Science*. 142:170–174. https://doi.org/10.1016/j.livsci.2011.07.007.

Ben-Meir, Y. A., Jami, E., Portnik, Y., Yaacoby, S., Chen, Y., Ogunade, I. M., Adesogan, A. T. & Weinberg, Z. G. (2018). Effect of silage inoculants on the quality of baled whole-crop wheat silages and milking cow performance, *Grassland Science*. 64:207–214. https://doi.org/10.1111/grs.12196.

Bernardi, A., Harter, C. J., Silva, A. W. L., Reis, R. A. & Rabelo, C. H. S. (2019). A meta-analysis examining lactic acid bacteria inoculants for maize silage: Effects on fermentation, aerobic stability, nutritive value and livestock production, *Grass Forage Science*. 74:596–612. https://doi.org/10.1111/gfs.12452.

Broderick, G. A. & Kang, J. H. (1980). Automated simultaneous determination ammonia and total acids in ruminal fluid and in vitro media. *Journal of Dairy Science*, 63:64-65. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302 (80)82888-8.

Ellis, J. L., Hindrichsen, I. K., Klop, G., Kinley, R. D., Milora, N., Bannink, A. & Djikstra, J. (2016) Effects of lactic acid bacteria silage inoculation on methane emission and productivity of Holstein Friesian dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 99:7159–7174. https://doi.org/10.3168/jds.2015-10754.

Fellner, V., Phillip, L. E., Sebastian, S., Idziak, E. S. (2001). Effects of a bacterial inoculant and propionic acid on preservation of high moisture ear corn, and on rumen fermentation, digestion and growth of beef cattle. *Canadian Journal of Animal Science*. 81: 273–280. https://doi.org/10.4141/A00-112.

Gerlach, K., Daniel, J. L. P., Jobim, C. C. & Nussio, L. G. (2021). A data analysis on the effect of acetic acid on dry matter intake in dairy cattle. *Animal Feed Science and Technology*, 272. Article 114782 https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2020.114782.

Han, H., Ogata, Y., Yamamoto, Y., Nagao, S., & Nishino, N. (2014). Identification of lactic acid bacteria in the rumen and feces of dairy cows fed total mixed ration silage to assess the survival of silage bacteria in the gut. *Journal of Dairy Science*, 97: 5754–5762. https://doi.org/10.3168/jds.2014-7968.

Huhtanen, P., Nousiainen, J. I., Khalili, H., Jaakkola, S., Heikkila, T. (2003). Relationships between silage fermentation characteristics and milk production parameters: analyses of literature data. *Livestock Production Science*, 81: 57–73. https://doi.org/10.1016/S0301-6226 (02)00195-1.

Kung, L., Taylor, C. C., Lynch, M. P. & Neylon, J. M. (2003) The effect of treating alfalfa with *Lactobacillus buchneri* 40788 on silage fermentation, aerobic stability, and nutritive value for lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 86:336–343. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302 (03)73611-X.

NRC. (2001). National Research Council. Nutrient Requirements of Dairy Cattle, 7th revised ed., National Academic Press, Washington, DC.

Oliveira, A. S., Weinberg, Z. G., Ogunade, I. M., Cervantes, A. A. P., Arriola, K. G., Jiang, Y., Kim, D., Li, X., Goncalves, M. C. M., Vyas, D. & Adesogan, A. T. (2017). Meta-analysis of effects of inoculation with homofermentative and facultative heterofermentative lactic acid bacteria on silage fermentation, aerobic stability, and the performance of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 100:4587–4603. https://doi.org/10.3168/jds.2016-11815.

Ottensin, D. M. & Butler, D. A. (1971). Improved gas chromatography separation of feed acids C_2-C_5 in solution. Analytical Chemistry, V43:P.952-955.

Rabelo, C. H. S, Basso, F. C., Lara, E. C., Jorge, L. G. O., Härter, C. J., Mesquita, L.G., Silva, L. F. P. & Reis, R. A. (2018). Effects of *Lactobacillus buchneri* as a silage inoculant and as a probiotic on feed intake, apparent digestibility and ruminal fermentation and microbiology in wethers fed low- dry- matter whole- crop maize silage. *Grass and Forage Science*, 73, 67–77. https://doi.org/10.1111/gfs.12303.

Santos, W. P., Ávila, C. L. S., Pereira, M. N., Schwan, R. F., Lopes, N. M. & Pinto, J. C. (2017). Effect of the inoculation of sugarcane silage with *Lactobacillus hilgardii* and *Lactobacillus buchneri* on feeding behavior and milk yield of dairy cows *Journal of Animal Science*, 95:4613–4622. https://doi.org/ 10.2527/jas2017.1526.

Van Keulen, J. V. & Young, B. A. (1977). Evaluation of acid insoluble ash as a natural marker in ruminant digestibility studies. *Journal of Animal Science*, 44 (2), 282-287. https://doi.org/10.2527/jas1977.442282x.

Van Soest, P. J., Robertson, J. & Lewis, B. (1991). Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, 74: 3583-3597. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302 (91)78551-2.

Zhang, Y., Zhao, X., Chen, W., Zhou, Z., Meng, Q. & Wu, H. (2019). Effects of adding various silage additives to whole corn crops at ensiling on performance, rumen fermentation, and serum physiological characteristics of growing-finishing cattle. *Animals*, 9: 695-707. https://doi.org/10.3390/ani9090695.