Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

Journal of Ruminant Research

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

Effect of *Lactobacillus plantarum* on the chemical composition, fermentation characteristics, aerobic stability, and *in vitro* digestibility of corn silage in different periods of harvesting

Sara Malekloozadeh[1], Seyed Mehdi Ghoreishi[2*], Piroz Shakeri[3], Mozhgan Mazhari[4]

[1] M.Sc. student, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Jiroft, Jiroft, Iran, Email: s.malekluozadeh@gmail.com
[2] Assistant Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, 71441–65186, Iran, Email: smghoreishi@shirazu.ac.ir
[3] Associate Prof. in Animal Nutrition and Physiology Research Department, Animal Science Research Institute of Iran, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran Email: pirouz_shakeri@yahoo.co.uk
[4] Associate Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Jiroft, Jiroft, Iran, Email: mozhgan.mazhari@gmail.com

Article Info

Article type:
Research Full Paper

Article history:
Received: 12/12/2022
Revised: 01/06/2023
Accepted: 01/07/2023

Keywords:
Aerobic stability
Corn silage
Gas production test
Lactobacillus plantarum
Time of harvesting

ABSTRACT

Background and Objectives: There are various methods to decline nutrient loss in corn silage. One of these ways is adding lactic acid producing bacteria to silage. Lactic acid-producing bacteria prevent the growth of undesirable bacteria in silage by rapidly reducing the pH, and as a result, the nutritional value of the silage is preserved. Therefore, this research was carried out to investigate the effect of *Lactobacillus plantarum* on the chemical composition, fermentation characteristics, and *in vitro* digestibility of corn silage using of gas production method in corn fodder cultivated in Bardsir city of Kerman province at different times of harvesting.

Materials and Methods: The sampling was done randomly from six corn fields being harvested in the first and last decade of September to November in Bardsir city. After the determination of dry matter, samples were ensiled with and without *Lactobacillus plantarum* additive in a mini silo with three replicates for two months. The silage effluent was measured after 72 hours and also on the 10th, 20th, 30th, and 60th days of the experiment. After opening the silos, silage pH and aerobic stability along with dry matter (DM), organic matter (OM), crude protein (CP), neutral detergent insoluble fiber (NDF), acid detergent insoluble fiber (ADF), water soluble carbohydrates (WSC), ammonia nitrogen (NH_3-N) and lactic acid were measured. *In vitro* digestibility of corn silage was determined by gas production test and fermentation parameters including metabolizable energy (ME), short chain fatty acids (SCFA), and organic matter digestibility (OMD) were estimated based on produced gas and chemical composition of samples from standard formulas.

Results: The findings of this research showed that the average percentage of DM in the samples harvested at different times had a significant difference. The average DM of silage at different times of harvesting was 19.4%. The addition of *Lactobacillus plantarum*

to fodder corn had no significant effect on the concentration of lactic acid, NH_3-N, and chemical composition of corn silage, but the concentration of WSC in inoculated silages was lower than the control silage ($P< 0.05$). The pH of the silage and the percentage of effluent were not affected by the inoculation ($P> 0.05$), however, the aerobic stability in the silage with *Lactobacillus plantarum* was lower than the untreated silage ($P<0.05$). The cumulative gas produced after 24 and 48 hours, gas production potential (b), gas production constant rate (c), and fermentation parameters (ME, SCFA, and OMD) were not significantly different among silage with and without inoculant.

Conclusion: The results of this study showed that the addition of *Lactobacillus plantarum* had no effect on the fermentation characteristics of corn silage produced in Bardsir city.

Cite this article: Malekloozadeh, S., Ghoreishi, S.M., Shakeri, P., Mazhari, M. (2023). Effect of *Lactobacillus plantarum* on the chemical composition, fermentation characteristics, aerobic stability, and *in vitro* digestibility of corn silage in different periods of harvesting. *Journal of Ruminant Research*, 11(2), 69-90.

© The Author(s).
DOI: 10.22069/ejrr.2023.20867.1878
Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

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

تأثیر *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* بر ترکیب شیمیایی، ویژگی‌های تخمیر، پایداری هوازی و گوارش‌پذیری آزمایشگاهی سیلاژ ذرت در مراحل برداشت

سارا ملک‌لوزاده[۱]، سیدمهدی قریشی[۲*]، پیروز شاکری[۳]، مژگان مظهری[۴]

[۱] دانش‌آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه جیرفت، جیرفت، ایران، رایانامه: s.malekluozadeh@gmail.com

[۲] استادیار بخش علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران، رایانامه: smghoreishi@shirazu.ac.ir

[۳] دانشیار پژوهشی بخش تحقیقات تغذیه و فیزیولوژی دام، موسسه تحقیقات علوم دامی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران رایانامه: pirouz_shakeri@yahoo.co.uk

[۴] دانشیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه جیرفت، جیرفت، ایران، رایانامه: mozhgan.mazhari@gmail.com

اطلاعات مقاله

نوع مقاله:
مقاله کامل علمی- پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۹/۲۱
تاریخ ویرایش: ۱۴۰۱/۱۰/۱۶
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۰/۱۷

واژه‌های کلیدی:
آزمون تولید گاز
پایداری هوازی
زمان برداشت
سیلاژ ذرت
لاکتوباسیلوس پلانتاروم

چکیده

سابقه و هدف: امروزه روش‌های گوناگونی برای کاهش اتلاف مواد غذایی در سیلو وجود دارد که یکی از این روش‌ها افزودن باکتری‌های مولد اسیدلاکتیک به سیلو است. این باکتری‌ها با کاهش سریع pH از رشد باکتری‌های نامطلوب در سیلو جلوگیری کرده و در نتیجه ارزش تغذیه‌ای سیلاژ حفظ می‌شود. از این‌رو این پژوهش باهدف بررسی اثر افزودنی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* بر ترکیب شیمیایی، ویژگی‌های تخمیر و گوارش‌پذیری آزمایشگاهی به‌روش تولید گاز در سیلاژ ذرت در مراحل گوناگون برداشت انجام شد.

مواد و روش‌ها: در دهه اول و آخر ماه‌های شهریور تا آبان طی شش مرحله به گونه تصادفی از شش مزرعه ذرت در حال برداشت با چاپر در شهرستان بردسیر نمونه‌برداری انجام شد. در هر مرحله پس از اندازه‌گیری ماده خشک، نمونه‌ها با و بدون افزودن باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* با تراکم حداقل 8×10^{10} CFU در هر گرم نمونه تازه علوفه، با سه تکرار در سیلوهای آزمایشگاهی به مدت دو ماه سیلو شدند. مقدار پس‌آب تولیدی سیلوها پس از ۷۲ ساعت و نیز در روزهای ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۶۰ آزمایش اندازه‌گیری شد. پس از باز کردن سیلوها، بی‌درنگ pH سیلاژ و پایداری هوازی به همراه ماده خشک، ماده آلی، پروتئین خام، الیاف نامحلول در شوینده خنثی، الیاف نامحلول در شوینده اسیدی، کربوهیدرات‌های محلول در آب، نیتروژن آمونیاکی و اسیدلاکتیک اندازه‌گیری شد. گوارش‌پذیری آزمایشگاهی به روش تولید گاز اندازه‌گیری و فراسنجه‌های تخمیر شامل انرژی قابل سوخت‌وساز، اسیدهای چرب زنجیر کوتاه و گوارش‌پذیری ماده آلی بر اساس گاز تولیدی و ترکیب شیمیایی نمونه‌ها از روابط استاندارد برآورد شد.

یافته‌ها: یافته‌های این پژوهش نشان داد که میانگین درصد ماده خشک در نمونه‌های برداشت‌شده در مراحل زمانی گوناگون، اختلاف معنی‌داری داشت. میانگین ماده خشک سیلاژ

در ماه‌های گوناگون برداشت، ۱۹/۴ درصد بود. افزودن باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* به ذرت علوفه‌ای بر غلظت اسیدلاکتیک، نیتروژن آمونیاکی و ترکیبات شیمیایی سیلاژ ذرت تأثیر معنی‌داری نداشت، ولی غلظت کربوهیدرات‌های محلول در آب در سیلاژهای دارای افزودنی از گروه شاهد کم‌تر بود (P<۰/۰۵). میزان pH سیلاژ و درصد پس‌آب تولیدی تحت تأثیر افزودنی باکتریایی قرار نگرفت (P>۰/۰۵)، ولی پایداری هوازی در سیلاژ دارای افزودنی از گروه شاهد کم‌تر بود (P<۰/۰۵). با افزودن باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*، گاز تجمعی تولیدشده پس از ۲۴ و ۴۸ ساعت، پتانسیل تولید گاز (b)، نرخ تولید گاز (c) و همچنین انرژی قابل سوخت‌وساز، اسیدهای چرب زنجیرکوتاه و گوارش‌پذیری ماده آلی سیلاژ نسبت به سیلاژهای بدون افزودنی تفاوت معنی‌داری نداشت.

نتیجه‌گیری: یافته‌های این آزمایش نشان دادند که افزودن باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* بر ویژگی‌های تخمیر سیلاژ ذرت تولیدی در شهرستان بردسیر تأثیری نداشت.

استناد: ملک لوزاده، س.، قریشی، س.م.، شاکری، پ.، مظهری، م. (۱۴۰۲).تأثیر *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* بر ترکیب شیمیایی، ویژگی‌های تخمیر، پایداری هوازی و گوارش‌پذیری آزمایشگاهی سیلاژ ذرت در مراحل برداشت. *پژوهش در نشخوارکنندگان*، ۱۱(۲)، ۹۰-۶۹.

DOI: 10.22069/ejrr.2023.20867.1878

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

© نویسندگان.

مقدمه

رایج‌ترین روش نگهداری علوفه در تغذیه نشخوارکنندگان، سیلو کردن آن‌ها است. سیلاژ ترکیب اصلی خوراک گاو شیری در بیش‌تر کشورهای دنیا است. در این روش نگهداری، در اثر فعالیت باکتری‌های تولیدکننده اسیدلاکتیک در شرایط بی‌هوازی، کربوهیدرات‌های محلول در آب موجود در علوفه به اسیدهای آلی که بیش‌ترِ آن اسیدلاکتیک است تبدیل‌شده و سبب کاهش pH و درنتیجه نگهداری علوفه از فساد میکروبی می‌شود (Oliverira و همکاران، ۲۰۱۷؛ Filya، ۲۰۰۳a). راهکارهای فراوانی برای بهبود کیفیت سیلاژ و کاهش افت آن در طول زمان سیلو کردن به‌کارگرفته شده‌اند. استفاده از افزودنی باکتریایی یکی از رایج‌ترین روش‌ها برای افزایش کیفیت سیلاژ به شمار می‌آید (Arriola و همکاران، ۲۰۲۱). افزودن باکتری‌های تولیدکننده اسیدلاکتیک به علوفه ذرت باهدف افزایش سرعت اسیدی شدن و کاهش افت ماده خشک و افت مواد مغذی انجام می‌شود. رایج‌ترین و قدیمی‌ترین افزودنی باکتریایی سیلاژ، باکتری‌های با تخمیر همگن[1] هستند؛ هرچند که این باکتری‌ها امروزه ازنظر رده‌بندی جانداران در دسته باکتری‌های با تخمیر ناهمگن اختیاری قرار می‌گیرند. باکتری‌های تولیدکننده اسید با تخمیر همگن به‌سرعت pH را کاهش داده و تولید اسیدلاکتیک را نسبت به دیگر محصولات تخمیر افزایش می‌دهند (Muck و همکاران، ۲۰۱۸). *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* یک باکتری تولیدکننده اسیدلاکتیک از دسته باکتری‌های با تخمیر همگن (باکتری‌های هومولاکتیک اسید) است که معمولاً یک مولکول گلوکز را طی فرآیند تخمیر با کارایی بالای انرژی، به دو مولکول لاکتیک اسید تبدیل می‌کند (Muck و همکاران، ۲۰۱۸). در پژوهش‌های فراوان انجام‌شده نتایج حاصل از به‌کارگیری افزودنی باکتریایی بر ویژگی‌های سیلاژ یکسان نبوده است. با افزودن *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* به سیلاژ ذرت در برخی پژوهش‌ها، افزایش اسیدلاکتیک و کاهش نیتروژن آمونیاکی (Chen و همکاران، ۲۰۱۷؛ Filya، ۲۰۰۳a؛ Filya و همکاران، ۲۰۰۶)، افزایش کربوهیدرات‌های محلول در آب (Chen و همکاران، ۲۰۱۷) و کاهش pH (Chen و همکاران، ۲۰۱۷؛ Taghizadeh و همکاران، ۲۰۲۲) گزارش شد؛ درحالی‌که این فراسنجه‌ها در برخی مطالعات دیگر، تحت تأثیر افزودنی میکروبی قرار نگرفت (Queiroz و همکاران، ۲۰۱۳؛ Ranjit و Kung، ۲۰۰۰). فراواکاوی[2] یافته‌های پژوهش‌های انجام‌شده در یک بازه ۱۰ ساله درباره اثر افزودنی‌های دارای باکتری‌های هومولاکتیک بر ویژگی‌های سیلاژ نشان داد عواملی مانند نوع علوفه، گونه باکتری و نرخ استفاده از باکتری می‌تواند بر میزان تأثیر افزودنی مؤثر باشد (Oliverira و همکاران، ۲۰۱۷). تولید ذرت علوفه‌ای در ایران در سال زراعی ۹۹ – ۹۸ نزدیک ۱۴/۳ میلیون تن گزارش‌شده است (Ahmadi و همکاران، ۲۰۲۱). این حجم بالا می‌تواند نشان‌دهنده پتانسیل بالای مصرف افزودنی‌های میکروبی سیلاژ برای بهبود کیفیت سیلاژ باشد. از سوی دیگر یکی از مشکلات سیلاژ ذرت در ایران، ماده خشک پایین ذرت علوفه‌ای هنگام برداشت است که باعث کاهش کیفیت سیلاژ ذرت می‌شود. به نظر می‌رسد برداشت زودهنگام ذرت یکی از دلایل کاهش ماده خشک در سیلاژ ذرت باشد. ازاین‌رو این پژوهش باهدف بررسی تأثیر افزودنی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* (با نام تجارتی اکوسایل) در بهبود کیفیت سیلاژ ذرت در زمان‌های گوناگون برداشت (از اوایل شهریور تا اواخر آبان) انجام شد.

1. Homofermentative

2. Meta-analysis

مواد و روش‌ها

تهیه ذرت علوفه‌ای، آماده‌سازی و سیلو کردن نمونه‌ها: به‌منظور نمونه‌برداری، شش مزرعه کشت ذرت علوفه‌ای در شهرستان بردسیر استان کرمان به‌طور تصادفی انتخاب شد. نمونه‌برداری در فصل برداشت در منطقه (اوایل شهریور تا اواخر آبان) از ذرت علوفه‌ای خردشده (رقم ۷۰۴) هنگام برداشت با دستگاه چاپر انجام شد. زمان نمونه‌برداری در شش مرحله در دهه نخست و پایانی ماه با فواصل زمانی تقریباً دوهفته‌ای (در تاریخ‌های ۹ و ۲۷ شهریور، ۸ و ۲۲ مهر، ۵ و ۲۳ آبان) بود. نمونه‌ها بی‌درنگ به آزمایشگاه تغذیه دام مرکز تحقیقات جهاد کشاورزی کرمان برده شد. پس از اندازه‌گیری ماده خشک نمونه‌ها، نمونه‌های هر مرحله برای سیلو کردن در سیلوهای آزمایشی (هر یک با سه تکرار) به دو بخش تقسیم شدند. یک بخش بدون افزودنی و بخش دیگر با باکتری مولد اسیدلاکتیک، سویه MTD/۱ *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* با تراکم حداقل CFU ^{۱۰}۱۰×۸ در هر گرم نمونه تازه علوفه (ECOSYL، کمپانی نیکوتک انگلستان)، برپایه سفارش شرکت تولیدی (۶۲/۵ میلی‌گرم به ازای هر ۲۵ کیلوگرم ذرت علوفه‌ای) در سیلوهای آزمایشگاهی سیلو شدند. سیلوهای آزمایشگاهی (مینی سیلو) از جنس لوله‌های پی‌وی‌سی (دهانه ۱۱۰ میلی‌متر، بلندای ۵۰ سانتی‌متر و گنجایش نزدیک سه لیتر) و دارای یک شیر خروج پس‌آب در قسمت پایین بودند. پس از پر کردن سیلوها، محتویات آن با استفاده از یک دستگاه پرس دستی به‌خوبی فشرده و سرپوش آن‌ها کاملاً محکم و آب‌بندی شد. سیلوها پس از پر شدن، توزین و در دمای آزمایشگاه بدون وسیله گرمایشی نگهداری شدند. اندازه‌گیری پس‌آب، پس از ۷۲ ساعت از بستن سرپوش سیلوها و نیز در روزهای ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۶۰، با توزین دوباره سیلوها پس از تخلیه کامل پس‌آب، انجام شد. میزان پس‌آب در روزهای ۳۰ و ۶۰ بر اساس درصد وزن نمونه نخستین سیلو شده گزارش و واکاوی آماری شد. پس از دو ماه، سرپوش سیلوهای آزمایشی باز و از مخلوط محتویات آن‌ها برای انجام آزمایش‌های بعدی چندین نمونه برداشته شد.

ماده خشک، خاکستر خام، ماده آلی، چربی خام، پروتئین خام نمونه‌ها به روش انجمن شیمی‌دانان کشاورزی، (AOAC، ۲۰۱۰) الیاف نامحلول در شوینده خنثی و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی به روش Van Soset و همکاران (۱۹۹۱) اندازه‌گیری شد. برای استخراج عصاره از سیلاژ، مقدار ۲۰ گرم از هر سیلاژ درون یک مخلوط‌کن به همراه ۱۸۰ میلی‌لیتر آب مقطر به مدت ۳۰ ثانیه هم‌زده و با پارچه ململ دولایه فیلتر شد تا این عصاره برای اندازه‌گیری‌های بعدی به‌کار رود (Adesogan و همکاران، ۲۰۰۴). میزان pH این عصاره با pHمتر (CRISON مدل Bassic20+, EU ساخت کشور اسپانیا) اندازه‌گیری شد. قندهای محلول به روش Dubios و همکاران (۱۹۵۶) و نیتروژن آمونیاکی به روش فنل هیپوکلریت اندازه‌گیری شد (Broderick و Kung، ۱۹۸۰). برای اندازه‌گیری غلظت اسیدلاکتیک در عصاره نمونه‌های سیلاژ ذرت، روش رنگ‌سنجی به‌کار رفت (Barker و Summerson، ۱۹۴۱). درصد بازیابی ماده خشک سیلاژ، براساس نسبت وزن سیلو در پایان آزمایش به وزن سیلو در آغاز آزمایش (بر پایه ماده خشک) گزارش شد (Queiroz و همکاران، ۲۰۱۳). برای اندازه‌گیری پایداری هوازی سیلاژها، یک کیلوگرم از هر نمونه تازه در سطل پلاستیکی ریخته و روی سطل‌ها با پارچه متقال دولایه پوشانده شد. سطل‌ها در مکانی با دمای ۲۱ تا ۲۲ درجه سانتی‌گراد نگهداری شده و دمای مرکز سیلاژ با دماسنج الکلی، هریک ساعت بررسی و یادداشت شد. مدت زمانی که دمای سیلاژ، دو درجه بیش‌تر از دمای

محیط بود به‌عنوان پایداری هوازی گزارش شد (Aksu و همکاران، ۲۰۰۶).

اندازه‌گیری گوارش‌پذیری آزمایشگاهی به روش تولید گاز: گوارش‌پذیری مواد سیلو شده به روش تولید گاز اندازه‌گیری شد (Menke و Steingass، ۱۹۸۸). شیرابه شکمبه از دو رأس گوسفند دارای فیستولای شکمبه‌ای، گرفته شد و بی‌درنگ به‌وسیله فلاسک به آزمایشگاه آورده شد. شیرابه شکمبه، پس از هم‌زدن در دستگاه مخلوط‌کن برقی، با پارچه متقال چهارلایه، صاف شد. سپس به ظرف دارای بافر به نسبت یک به دو (یک بخش شیرابه شکمبه و دو بخش بافر) شیرابه شکمبه صاف‌شده افزوده شد. در همه مراحل، گاز دی‌اکسیدکربن برای ایجاد شرایط بی‌هوازی در ظروف دمیده شد. سپس ۳۰ میلی‌لیتر از آمیزه بافر و شیرابه شکمبه، درون شیشه‌های ۱۰۰ میلی‌لیتری که پیشتر ۲۰۰ میلی‌گرم نمونه در آن‌ها وزن شده بود ریخته شد. در پایان پس از دمیدن گاز دی‌اکسیدکربن در فضای بالای شیشه، درب آن‌ها با درپوش لاستیکی و روکش آلومینیومی بسته شد و شیشه‌ها در حمام آب گرم گذاشته شدند. حجم گاز تولیدی در ساعات ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۰، ۱۲، ۱۶، ۲۰، ۲۴ و ۴۸ با ستون آب اندازه‌گیری شد. برای بیرون کشیدن خطای ناشی از گاز تولیدی به‌وسیله میکروارگانیسم‌ها، چهار عدد بلانک (دارای آمیزه بافر و شیرابه شکمبه و بدون نمونه) در نظر گرفته شد. هر نمونه دارای ۴ تکرار بود. تولید گاز در هر نمونه پس از کسر از میانگین گاز تولیدی شیشه‌های بلانک، به‌صورت تجمعی بیان‌شده و داده‌های پایانی با رابطه زیر پردازش شدند (Ørskov و همکاران ۱۹۸۰).

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

در رابطه بالا P، مقدار گاز تولیدی به میلی‌لیتر (به ازای ۲۰۰ میلی‌گرم ماده خشک) در زمان t (ساعت)، b، پتانسیل گاز تولیدی (میلی‌لیتر) و c، ثابت نرخ تولید گاز است. انرژی قابل سوخت‌وساز[1]، گوارش‌پذیری ماده آلی[2] (Menke و Steingass، ۱۹۸۸) و اسیدهای چرب کوتاه زنجیر[3] (Getachew و همکاران، ۲۰۰۴) به ترتیب از روابط زیر برآورد شد:

$$ME\ (MJ/kg\ DM) = 2.2 + 0.136\ GP_{24} + 0.57\ CP + 0.0029\ CF^2$$

$$OMD\ (\%) = 14.88 + 0.889\ GP_{24} + 0.448\ CP + 0.065\ Ash$$

$$SCFA\ (mmol) = 0.0222\ GP_{24} - 0.00425$$

که در این روابط GP_{24}، تولید گاز تجمعی در ۲۴ ساعت، CP، درصد پروتئین خام، CF، درصد چربی خام و Ash، درصد خاکستر خام است.

واکاوی آماری: این آزمایش در قالب طرح آماری کاملاً تصادفی با روش فاکتوریل ۶×۲ با سه تکرار انجام شد. فاکتور اول سطوح افزودنی شامل بدون افزودنی و افزودنی باکتریایی (*لاکتوباسیلوس پلانتاروم*) و فاکتور دوم مراحل مختلف زمانی نمونه‌برداری (شش مرحله زمانی نمونه‌گیری ذرت علوفه‌ای) بود. واکاوی آماری داده‌ها با نرم‌افزار SAS نسخه ۱/۹ (۲۰۰۳) و با استفاده از رویه GLM انجام شد و میانگین‌ها با آزمون دانکن مقایسه شدند. مدل آماری بدین گونه بود:

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + H_j + (AH)_{ij} + e_{ijk}$$

در این مدل Y_{ijk} مشاهدات مربوط به تیمار ij (سطح i از عامل A و سطح j از عامل H)، μ میانگین، A_i اثر افزودنی میکروبی (عامل اول)، Hj اثر زمان برداشت (عامل دوم)، $(AH)_{ij}$ اثر متقابل افزودنی میکروبی و زمان برداشت و e_{ijk} خطای آزمایشی بود.

نتایج و بحث

درصد ماده خشک ذرت علوفه‌ای برداشت‌شده در زمان‌های گوناگون نمونه‌برداری، در جدول ۱ نشان داده‌شده است. میانگین ماده خشک در همه نمونه‌های گرفته‌شده ۱۹/۴ درصد بود که این درصد بالای

1. Metabolizable energy (ME)
2. Organic matter digestibility (OMD)
3. Short chain fatty acids (SCFA)

رطوبت در ذرت علوفه‌ای، افزایش اتلاف ماده مغذی از راه تولید پس‌آب و افزایش احتمال تخمیر نامناسب (تخمیر کلستریدیومی) را به‌دنبال خواهد داشت (Johanson و همکاران، ۲۰۰۳). ماده خشک بهینه برای ذرت علوفه‌ای ۳۵ درصد گزارش‌شده است. رطوبت بالای ذرت علوفه‌ای (۷۵ تا ۸۰ درصد) در بیش‌تر مزارع، یکی از دلایل کاهش ارزش تغذیه‌ای سیلاژ ذرت در کشور است (Mc Donald و همکاران، ۱۹۹۱) درحالی‌که سیلاژ باکیفیت، به‌عنوان بخشی از علوفه می‌تواند بخش شایان توجهی از نیاز انرژی دام، به‌ویژه دام‌های پر تولید را برآورده کند و نیاز به کنسانتره را در جیره کاهش دهد. ذرت علوفه‌ای در ایران معمولاً به‌عنوان کشت دوم در تیرماه کشت می‌شود؛ ازاین‌رو زمان بسنده برای رسیدن به بلوغ مناسب را ندارد (Khorvash و همکاران، ۲۰۰۶) و کشاورزان به دلیل خطر سرمازدگی، آن را با ماده خشک پایین (۲۰ تا ۲۵ درصد) برداشت می‌کنند.

یافته‌های به‌دست‌آمده از اثر افزودن *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* به سیلاژ ذرت و اثر زمان برداشت بر ترکیبات شیمیایی سیلاژ ذرت در جدول ۲ و اثر متقابل افزودنی و زمان برداشت در جدول ۳ آمده است. هیچ یک از ترکیبات شیمیایی سیلاژها به‌جز الیاف نامحلول در شوینده اسیدی تحت تأثیر افزودنی باکتریایی قرار نگرفتند، ولی در دوره‌های برداشت، روند کاهشی معنی‌داری در درصد پروتئین و الیاف نامحلول در شوینده خنثی دیده شد (P<۰/۰۵، جدول ۲). اثر افزودنی باکتریایی بر ترکیب شیمیایی سیلاژ نسبت به شاهد در گزارش‌های مختلف، یکسان نبوده است. هم‌سو با یافته‌های پژوهش کنونی، در چندین آزمایش با افزودنِ افزودنی باکتری‌های تولیدکننده اسیدلاکتیک به ذرت علوفه‌ای (Aksu و همکاران، ۲۰۰۶؛ Taghizadeh و همکاران، ۲۰۲۲؛ Queiroz و همکاران، ۲۰۱۳)، یونجه (Kizilsimsek و همکاران، ۲۰۰۷) و علوفه ارزن (Asadi Alamouti و همکاران، ۲۰۰۴) ترکیبات شیمیایی تحت تأثیر قرار نگرفت. در پژوهش دیگری که به بررسی اثر افزودن دوسویه گوناگون از باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتارم* به ذرت علوفه‌ای پرداخته بود؛

جدول ۱- میانگین و انحراف معیار ماده خشک ذرت علوفه‌ای برداشت‌شده در زمان‌های مختلف برداشت

Table 1. Mean and standard deviation of dry matter of corn in different harvesting time

زمان برداشت Harvesting time	ماده خشک (٪) Dry matter (%)	انحراف معیار Standard deviation
۹ شهریور 31th Aug	23.98a	0.502
۲۷ شهریور 18th Sep	19.37b	0.580
۸ مهر 30th Sep	14.39c	0.764
۲۲ مهر 14th Oct	15.63c	1.637
۵ آبان 27th Oct	19.48b	0.840
۲۳ آبان 14th Nov	23.51a	0.775
SEM	0.535	-
P-value	<0.0001	-

میانگین‌های با بندواژه‌های یکسان در هر ستون اختلاف معنی‌دار ندارند (P>۰/۰۵).

Average with the same superscripts in each column have no significantly difference (P>0.05)

جدول ۲- اثر *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و زمان برداشت ذرت علوفه‌ای بر ترکیبات شیمیایی سیلاژ ذرت

Table 2. Effect of *Lactobacillus plantarum* and harvesting time of corn fodder on chemical composition of corn silage

فاکتور Factor	سطح Level	Chemical composition (%DM) ترکیبات شیمیایی (درصد ماده خشک)					
		ماده خشک Dry matter	پروتئین خام Crude protein	عصاره اتری Ether extract	الیاف نامحلول در شوینده خنثی NDF	الیاف نامحلول در شوینده اسیدی ADF	خاکستر Ash
افزودنی باکتریایی* Bacterial inoculant*	-	19.02	6.92	1.29	43.61	33.62[a]	7.75
	+	18.85	6.87	1.37	42.98	32.15[b]	7.52
اشتباه معیار میانگین	SEM	0.185	0.078	0.095	0.290	0.320	0.399
سطح معنی‌داری	*P-value*	0.262	0.67	0.826	0.117	0.007	0.684
زمان برداشت Harvesting time	۹ شهریور 31th Aug	20.80[b]	7.69[a]	1.19	46.86[a]	32.66b[c]	8.73
	۲۷ شهریور 18th Sep	20.18b[c]	7.09[b]	1.43	44.35[b]	30.93[d]	7.20
	۸ مهر 30th Sep	16.74[d]	6.93[b]	1.28	43.68b[c]	35.55[a]	7.89
	۲۲ مهر 14th Oct	15.65[e]	6.85[b]	1.25	42.83[c]	34.16[ab]	7.91
	۵ آبان 27th Oct	19.47[c]	6.38[c]	1.36	42.56c[d]	32.56[bc]	7.84
	۲۳ آبان 14th Nov	21.72[a]	6.44[c]	1.41	41.35[d]	32.46[c]	6.25
اشتباه معیار میانگین	SEM	0.278	0.135	0.143	0.436	0.481	0.692
سطح معنی‌داری	*P-value*	<0.0001	<0.001	0.797	<0.0001	<0.0001	0.240

میانگین‌های با بندواژه‌های یکسان در هر ستون اختلاف معنی‌داری ندارند (P>۰/۰۵)

. Average with the same superscripts in each column have no significantly difference (P>0.05).

* -: بدون افزودنی، +: با افزودنی باکتریایی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*

* -: Without additive; +: with additive

جدول ۳- اثر متقابل *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و زمان برداشت ذرت علوفه‌ای بر ترکیبات شیمیایی سیلاژ ذرت

Table 3. Interaction effect of *Lactobacillus plantarum* and harvesting time of corn fodder on chemical composition of corn silage

Chemical composition (%DM) ترکیبات شیمیایی (درصد ماده خشک)						Factor فاکتور	
خاکستر Ash	الیاف نامحلول در شوینده اسیدی Acid detergent fiber	الیاف نامحلول در شوینده خنثی Neutral detergent fiber	عصاره اتری Ether extract	پروتئین خام Crude protein	ماده خشک Dry matter	افزودنی باکتریایی* Bacterial inoculant*	زمان برداشت Harvesting time
8.97	33.55	47.80^{a}	1.34	7.51^{ab}	21.66^{b}	–	۹ شهریور 31th Aug
8.50	30.90	45.00^{b}	0.89	7.88^{a}	19.08^{c}	+	
7.06	30.4	43.70^{bc}	1.22	7.54^{ab}	21.16^{b}	–	۲۷ شهریور 18th Sep
7.33	31.43	45.00^{b}	1.64	6.63^{cd}	19.20^{c}	+	
6.63	36.36	44.90^{b}	1.23	6.69^{cd}	16.45^{de}	–	۸ مهر 30th Sep
9.14	34.73	42.46^{cd}	1.33	7.18^{bc}	17.03^{d}	+	
8.56	34.90	42.76^{bcd}	1.12	6.88^{cd}	16.07^{de}	–	۲۲ مهر 14th Oct
7.26	33.43	42.90^{bcd}	1.37	6.81^{cd}	15.23^{e}	+	
7.59	33.26	42.00^{cd}	1.41	6.31^{d}	19.18^{c}	–	۵ آبان 27th Oct
8.08	31.86	43.13^{bc}	1.30	6.44^{d}	19.76^{e}	+	
6.30	33.20	41.93^{cd}	1.43	6.30^{d}	20.48^{bc}	–	۲۳ آبان 14th Nov
6.20	31.73	40.76^{d}	1.43	6.57^{cd}	22.98^{a}	+	
0.979	0.680	0.616	0.202	0.191	0.394	SEM	اشتباه معیار میانگین
0.530	0.293	0.021	0.579	0.02	<0.0001	*P-value*	سطح معنی‌داری

میانگین‌های با بندواژه‌های یکسان در هر ستون اختلاف معنی‌داری ندارند (P>۰/۰۵).

Average with the same superscripts in each column have no significantly difference (P>0.05)

* -: بدون افزودنی، +: با افزودنی باکتریایی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*

* -: Without additive; +: with additive

جدول ٤- اثر *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و زمان برداشت ذرت علوفه‌ای بر ویژگی‌های تخمیر، درصد پس‌آب و پایداری هوازی سیلاژ ذرت

Table 4. The effect of *Lactobacillus plantarum* and harvesting time of corn fodder on fermentation characteristics, effluent percentage and aerobic stability of corn silage

فاکتور Factor	سطح Level	Parameters فراسنجه‌ها							
		pH	پس‌آب تا روز ۳۰ Effluent till 30th day (%)	پس‌آب از روز ۳۰ تا ٦۰ Effluent from 30th to 60th day (%)	بازیابی ماده خشک Dry matter recovery(%)	کربوهیدرات‌های محلول در آب Water soluble carbohydrate (DM%)	نیتروژن آمونیاکی Ammonia-N (mmol)	اسید لاکتیک Lactic acid (DM%)	پایداری هوازی Aerobic Stability (h)
افزودنی	-	4.01	9.64	1.88	88.87	2.54[a]	4.91	4.143[a]	21.083[b]
باکتریایی* Bacterial inoculant*	+	3.98	9.78	2.10	86.38	2.20[b]	4.66	4.061[a]	23.53[a]
اشتباه معیار میانگین	SEM	0.019	0.580	0.20	1.53	0.085	0.305	0.18	0.401
سطح معنی‌داری	*P-value*	0.242	0.864	0.479	0.25	0.010	0.410	0.760	0.002
زمان برداشت Harvesting time†	۹ شهریور 31th Aug	3.81[c]	8.07[b]	0.85[b]	77.65[c]	2.79[a]	6.51[b]	4.525	22.5[b]
	۲۷ شهریور 18th Sep	3.81[c]	10.41[b]	1.74[b]	88.74[ab]	2.51[a]	8.19[a]	4.168	22.25[b]
	۸ مهر 30th Sep	3.97[b]	15.02[a]	2.72[a]	95.65[a]	2.67[a]	3.94[cd]	4.356	24.81[a]
	۲۲ مهر 14th Oct	4.41[a]	9.27[b]	2.77[a]	88.16[ab]	2.32[a]	4.01[cd]	3.633	26.41[a]
	۵ آبان 27th Oct	3.89[bc]	7.76[b]	1.54[b]	90.68[ab]	1.48[b]	4.32[c]	4.460	24.50[a]
	۲۳ آبان 14th Nov	4.20[a]	7.98[b]	1.71[b]	83.49[bc]	2.44[a]	2.62[d]	3.471	13.83[c]
اشتباه معیار میانگین	SEM	0.0298	0.965	0.303	2.54	0.148	0.458	0.328	0.695
سطح معنی‌داری	*P-value*	<0.001	<0.001	0.007	0.001	<0.001	<0.001	0.143	<0.0001

میانگین‌های با بندواژه‌های یکسان در هر ستون اختلاف معنی‌داری ندارند (P>۰/۰۵).

Average with the same superscripts in each column have no significantly difference (P>0.05)

* -: بدون افزودنی، +: با افزودنی باکتریایی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*

* -: Without additive; +: with additive.

پروتئین و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی، با افزودن هردو سویه این باکتری تحت تأثیر افزودن باکتری قرار نگرفت ولی الیاف نامحلول در شوینده خنثی، تنها با افزودن یکی از سویه‌ها نسبت به شاهد به گونه معنی‌داری کاهش یافت (Ranjit و Kung، ۲۰۰۰). کاهش درصد الیاف نامحلول در شوینده اسیدی در تیمارهای دارای افزودنی باکتریایی در پژوهش کنونی، در آزمایش‌های دیگر نیز با افزودن باکتری‌های مولد اسیدلاکتیک به علوفه‌های مختلف گزارش‌شده است (Khorvash و همکاران، ۲۰۰۶؛ Adesogan و همکاران، ۲۰۰۴؛ Kizilsimsek و همکاران، ۲۰۰۷).

یافته‌های مربوط به اثر افزودنی باکتریایی بر ویژگی‌های تخمیر، درصد پس‌آب و پایداری هوازی در جدول ۴ و ۵ آمده است. افزودن *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* به علوفه ذرت، بر میزان pH، درصد پس‌آب تولیدشده پس از ذخیره‌سازی، درصد بازیابی ماده خشک، نیتروژن آمونیاکی و اسیدلاکتیک اثر معنی‌داری نداشت. هم‌سو با یافته‌های آزمایش کنونی، با افزودن *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*، *لاکتولاسیلوس بوکنری* و مخلوط هردو به علوفه ذرت، تفاوت معنی‌داری در pH سیلاژ آن‌ها نسبت به گروه بدون افزودنی میکروبی دیده نشد (Filya و همکاران، ۲۰۰۶؛ Ranjit و Kung، ۲۰۰۰؛ Queiroz و همکاران ۲۰۱۳). در مقابل، کاهش pH با افزودن *لاکتولاسیلوس پلانتاروم* و *بوکنری* به سیلاژ جو (Kung و Ranjit، ۲۰۰۱) و سیلاژ ذرت (Taghizadeh و همکاران، ۲۰۲۲) نسبت به سیلاژ بدون افزودنی گزارش شد. در پژوهش دیگری نشان داده شد که افزودنی باکتریایی به همراه سلولاز، تغییری در pH سیلاژ گیاه چاودار ایجاد نکرد، اما در سیلاژ یونجه، pH را به‌گونه معنی‌داری کاهش داد (Kizilsimsek و همکاران، ۲۰۰۷). در پژوهش کنونی اسیدلاکتیک نیز تحت تأثیر افزودنی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* قرار نگرفت (P>۰/۰۵). در دیگر پژوهش‌ها هم گزارش‌شده است (Queiroz و همکاران، ۲۰۱۳؛ Ranjit و Kung، ۲۰۰۰؛ Fraser و همکاران، ۲۰۰۵). هرچند در برخی مطالعات، افزایش اسیدلاکتیک با به‌کارگیری افزودنی میکروبی گزارش‌شده است (Rizk و همکاران، ۲۰۰۵؛ Chen و همکاران، ۲۰۱۷؛ Filya و همکاران، ۲۰۰۶؛ Filya، ۲۰۰۳a؛ Filya، ۲۰۰۳b). کاهش pH سیلاژ در اثر فعالیت مناسب باکتری‌های تولیدکننده اسیدلاکتیک رخ می‌دهد و با تولید بسنده اسیدلاکتیک، pH به زیر ۴ کاهش می‌یابد. ازنظر تئوری، باکتری‌های افزوده‌شده به سیلاژ، با افزایش تولید اسیدلاکتیک به کاهش سریع pH کمک کرده و تخمیر بهتر را در پی دارد (Jones و همکاران، ۲۰۰۴).

در این پژوهش میانگین pH در تیمارهای با و بدون افزودنی (به ترتیب ۳/۹۶ و ۳/۹۹)، نشان می‌دهد که باکتری‌های تولیدکننده اسیدلاکتیک موجود روی گیاه برای تخمیر مناسب، بسنده بوده است و افزودن باکتری تولیدکننده اسیدلاکتیک تأثیری بر کاهش pH نگذاشته است؛ همچنان که با افزودن باکتری، تفاوتی در میزان اسیدلاکتیک سیلاژ نیز دیده نشد (P>۰/۰۵). تغییرات pH در دوره‌های برداشت، روندی افزایشی داشت (جدول ۴) به‌گونه‌ای که بیش‌ترین pH در دوره چهارم و ششم برداشت دیده شد (جدول ۵). در آزمایش کنونی افزودن باکتری تأثیری بر غلظت نیتروژن آمونیاکی سیلاژ نداشت که در پژوهش‌های دیگر نیز با افزودن *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* به سیلاژ ذرت (Queiroz و همکاران، ۲۰۱۳؛ Ranjit و Kung، ۲۰۰۰)، جو (Kung و Ranjit، ۲۰۰۱)، لوپن (Fraser و همکاران، ۲۰۰۵) و تریتیکاله (Makkari و همکاران، ۲۰۱۷) گزارش شد.

ناهمسو با یافته‌های آزمایش کنونی، کاهش نیتروژن آمونیاکی با افزودن *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*

بـه ذرت و سـورگوم دیـده شـد (Filya، ۲۰۰۳a؛ Filya، ۲۰۰۳b). نیتروژن آمونیاکی شاخصی از تجزیه پپتیـدها و اسـیدهای آمینـه بهوسـیله ارگانیسـم‌های کلسـتریدیومی اسـت (Mc Donald و همکـاران، ۱۹۹۱). کلسـتریدیا بـه دو دسـته *سـاکارولایتیک* (تخمیرکننده کربوهیدرات) و *پروتیولایتیک* دسته‌بندی می‌شوند. اگر شرایط سیلو برای رشد کلستریدیا فراهم باشد تجزیه پروتئین بیش ازآنچه به‌وسیله پروتئازهـای گیاهی ایجاد شـود، رخ مـی‌دهـد و اسـیدهای آلـی و آمونیاک تولید می‌شود. فزون بر این، انتروباکترهـا نیـز فعالیـت پروتئـولیزی دارنـد و مـی‌تواننـد در سـیلو، آمونیـاک بـالایی تولیـد کننـد (Rooke و همکـاران، ۲۰۰۳). کاهش سریع pH در گامه‌های نخستین، باعث کاهش فعالیت آنزیم‌های پروتئاز گیاه و کـاهش رشـد میکروب‌های ناپسند مانند انتروباکتر و کلستریدیا شده و ازاین‌روی تجزیه پروتئین سیلاژ را به نیتـروژن غیـر پروتئینـی کـاهش مـی‌دهـد (Makkari و همکـاران، ۲۰۱۷). در این پژوهش ازآنجاکـه pH و اسـیدلاکتیک تحت تأثیر افزودنی میکروبـی قـرار نگرفتنـد بـه نظـر می‌رسد شرایط تخمیر در سیلوهای با و بدون افزودنی میکروبی تفاوت معنی‌داری نداشته و بنابراین نیتـروژن آمونیاکی تحت تأثیر افزودن باکتری قرار نگرفته است. تولید پس‌آب، یکی از مشکلات اصلی در تهیه سـیلاژ از علوفـه‌ها اسـت کـه باعـث اتـلاف مـواد مغـذی و آلـودگی محیط‌زیسـت می‌شـود (Jones، ۱۹۸۸). رطوبت علوفه سیلو شده مهم‌ترین عامـل در میـزان پس‌آب خروجی از سیلو است. مایع جریان یافته از سیلو دارای قندها، ترکیبـات نیتروژنـه محلـول، مـواد معدنی و اسیدهای حاصل از تخمیر اسـت کـه ارزش غذایی بالایی دارد (Khorvash و همکاران، ۲۰۰۶). در آزمـایش حاضـر بـیش‌تـرین پـس‌آب (جـدول ۴) در سیلاژهای دوره سوم و چهارم دیده شد که بیش‌تـرین رطوبت را داشتند (جدول ۱) هم‌سو بـا یافتـه‌های مـا، اسـتفاده از مخلـوطی از افزودنـی‌هـای میکروبـی بـه علوفه‌های گراس (High، ۱۹۹۸) و نیز افزودن دو نوع افزودنی میکروبی مولد اسیدلاکتیک به ذرت علوفـه‌ای (Khorvash و همکاران، ۲۰۰۶) تـأثیر معنـی‌داری بـر مقدار پس‌آب در تیمارهای دارای افزودنی نسـبت بـه گـروه شـاهد نداشـت. در پـژوهش دیگـری افـزودن *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* به سیلاژ لوپن، میزان پـس‌آب را افـزایش داد (Fraser و همکـاران، ۲۰۰۵). افـزودن *لاکتوباسـیلوس پلانتـاروم* بـه سـیلاژ ذرت، کـاهش پایداری هوازی و کاهش کربوهیدرات‌های محلول در آب را بـه دنبـال داشـت ($P<0/05$، جـدول ۴ و ۵). کاهش در کربوهیدرات‌های محلول در آب با افـزودن *لاکتوباسـیلوس پلانتـاروم* بـه سـیلاژ جـو (Kung و Ranjit، ۲۰۰۱) و یونجه (Rizk و همکاران، ۲۰۰۵) و افـزودن *لاکتوباسـیلوس بـوکنری* بـه سـیلاژ ذرت و سورگوم (Filya،۲۰۰۳a؛ Filya، ۲۰۰۳b)، جو (Kung و Runjit، ۲۰۰۱) و برمـــــودا‌گراس (Adesogan و همکاران، ۲۰۰۴) نیز گزارش شد. در مقابل، در برخی مطالعات، کربوهیدرات‌های محلول در آب بـا افـزودن *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* به سیلاژ ذرت، در مقایسه بـا تیمـار شـاهد تغییـر معنـی‌داری نداشـت (Filya و همکاران، ۲۰۰۶؛ Ranjit و Kung، ۲۰۰۰).

به دلیـل اسـتفاده بـاکتری‌هـا از کربوهیـدرات‌های محلـول در آبِ موجـود در علوفـه تـازه بـه‌عنوان سوبسترای تخمیر، میزان این کربوهیدرات‌ها در سیلاژ نسبت به علوفه تازه کاهش می‌یابد. در فرآیند تخمیـر، کربوهیـدرات‌های محلـول در آب بـه آمیـزه‌ای از اسیدهای آلی که بیش‌ترِ آن اسیدلاکتیک اسـت تبـدیل می‌شوند (Mc Donald و همکاران، ۱۹۹۱).

جدول ۵- اثر متقابل *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و زمان برداشت ذرت علوفه‌ای بر ویژگی‌های تخمیر، درصد پس‌آب و پایداری هوازی سیلاژ ذرت

Table 5. Interaction effect of *Lactobacillus plantarum* and harvesting time of corn fodder on fermentation characteristics, effluent percentage and aerobic stability of corn silage

فاکتور Factor		فراسنجه‌ها Parameters							
زمان برداشت Harvesting time	افزودنی باکتریایی† Bacterial inoculant†	pH	پس‌آب تا روز ۳۰ Effluent till 30th day (%)	پس‌آب از روز ۳۰ تا ۶۰ Effluent from 30th to 60th day (%)	بازیابی ماده خشک Dry matter recovery (%)	کربوهیدرات‌های محلول در آب WSC (DM%)	نیتروژن آمونیاکی Ammonia nitrogen (mmol)	اسید لاکتیک Lactic acid (DM%)	پایداری هوازی Aerobic stability (h)
۹ شهریور	-	3.80^{gf}	7.51	0.65	84.60^{bcd}	3.52^{a}	7.28	4.37^{ab}	21.30^{cd}
31th Aug	+	3.83^{egf}	8.82	1.25^{d}	70.70^{e}	2.06^{bc}	4.97	4.680^{a}	22.80^{bcd}
۲۷ شهریور	-	3.72^{g}	8.89	1.65	97.15^{a}	2.76^{ab}	9.02	50.9^{a}	21.16^{cd}
18th Sep	+	3.90^{def}	11.42	1.84	83.14^{cd}	2.25^{bc}	7.35	3.24^{bc}	23.33^{bcd}
۸ مهر	-	3.99^{cd}	15.40	2.26	94.06^{ab}	2.92^{ab}	3.52	4.29^{ab}	24.033^{cb}
30th Sep	+	3.95^{ecdf}	14 .63	3.19	97.24^{a}	2.43^{bc}	4.36	4.41^{ab}	25.60^{ab}
۲۲ مهر	-	4.29^{a}	8.75	2.98	90.97^{abc}	2.29^{bc}	4.25	2.26^{c}	25.50^{ab}
14th Oct	+	4.08^{cb}	9.79	2.57	85.35^{bcd}	2.35^{bc}	3.76	4.70^{a}	27.33^{a}
۵ آبان	-	3.96^{cde}	8.88	1.48	88.30^{abcd}	1.53^{c}	3.74	4.74^{a}	21.00^{d}
27th Oct	+	3.82^{efg}	6.63	1.61	93.05^{abc}	1.44^{c}	4.91	4.17^{ab}	28.00^{a}
۲۳ آبان	-	4.21^{ab}	8.40	1.84	78.20^{de}	2.20^{bc}	2.42	3.79^{abc}	13.50^{e}
14th Nov	+	4.20^{ab}	7.57	1.58	88.80^{abc}	2.68^{ab}	2.82	3.15^{bc}	14.16^{e}
اشتباه معیار میانگین	SEM	0.422	1.365	0.428	3.60	0.210	0.648	0.464	0.983
سطح معنی‌داری	*P-value*	0.003	0.604	0.673	0.01	0.002	0.159	0.007	0.045

میانگین‌های با بندواژه‌های یکسان در هر ستون اختلاف معنی‌داری ندارند (P>۰/۰۵).

Average with the same superscripts in each column have no significantly difference(P>0.05)

* -: بدون افزودنی، +: با افزودنی باکتریایی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*

* -: Without additive; +: with additive

جدول ٦- اثر *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و و زمان برداشت ذرت علوفه‌ای بر فراسنجه‌های تولید گاز سیلاژ ذرت

Table 6. The effect of *Lactobacillus plantarum* and harvesting time of corn fodder on gas production parameters

فاکتور Factor	سطح Level	فراسنجه‌های تولید گاز Gas production parameters						
		تولید گاز ٢٤ ساعت Gas production 24 h (ml)	تولید گاز ٤٨ ساعت Gas production 48 h (ml)	پتانسیل تولید گاز b (ml)	ثابت نرخ تولید گاز c (h^{-1})	انرژی قابل سوخت‌وساز ME (MJ/kg)	اسیدهای چرب کوتاه زنجیر SCFA (mmol/200 mg DM)	درصد گوارش‌پذیری ماده آلی OMD (%)
افزودنی باکتریایی* Bacterial inoculant*	-	40.44	47.66	47.95	0.067	8.15	0.906	54.72
	+	4.092	48.27	48.20	0.068	8.25	0.922	55.39
اشتباه معیار میانگین	SEM	0.616	0.658	0.66	0.002	0.07	0.012	0.50
سطح معنی‌داری	*P-value*	0.162	0.219	0.710	0.571	0.35	0.35	0.35
زمان برداشت Harvesting time	٩ شهریور 31th Aug	45.86^{a}	53.41^{a}	49.71	0.077^{a}	8.92^{a}	1.03^{a}	59.9٢^{a}
	٢٧ شهریور 18th Sep	42.53^{b}	48.91^{b}	47.21	0.077^{a}	8.40^{b}	0.94^{b}	56.34^{b}
	٨ مهر 30th Sep	41.59^{bc}	49.08^{b}	50.08	0.061^{b}	8.26^{b}	0.92^{b}	54.48^{b}
	٢٢ مهر 14th Oct	40.07^{bcd}	47.69^{bc}	48.75	0.062^{b}	8.04^{bc}	0.089^{bc}	54.09^{bc}
	٥ آبان 27th Oct	37.97^{d}	45.25^{c}	45.72	0.063^{b}	7.73^{c}	0.89^{c}	52.00^{c}
	٢٣ آبان 14th Nov	38.63^{cd}	46.12^{bc}	47.7	0.063^{b}	7.83^{c}	0.086^{c}	52.52^{c}
اشتباه معیار میانگین	SEM	0.924	0.987	1.001	0.004	0.13	0.020	0.86
سطح معنی‌داری	*P-value*	0.0003	0.0015	0.070	0.048	<0.0001	<0.0001	<0.0001

میانگین‌های با بندواژه‌های یکسان در هر ستون اختلاف معنی‌داری ندارند (P>٠/٠٥). Average with the same superscripts in each column have no significantly difference(P<0.05)

* -: بدون افزودنی، +: با افزودنی باکتریایی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*

* -: Without bacterial additive; +: with bacterial additive

در آزمایش کنونی پایداری هوازی با افزودن باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* کاهش یافت (P<۰/۰۵) که با یافته‌های Adesogan و همکاران (۲۰۰۴) با افزودن *لاکتوباسیلوس بوکنری* به همراه مخلوط چند آنزیم به علوفه گیاه برموداگراس و نیز Fraser و همکاران (۲۰۰۵) با افزودن *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* به علوفه باقلای سفید هم‌سو بود. در مقابل در برخی پژوهش‌ها، افزایش پایداری هوازی با افزودنی میکروبی گزارش شده است. (Filya، ۲۰۰۳a؛ Filya، ۲۰۰۳b) همچنین پایداری هوازی با افزودن باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* به سیلاژ تریتیکاله (Makkari و همکاران، ۲۰۱۷) و سیلاژ جو (Kung و Ranjit، ۲۰۰۱) و نیز افزودن باکتری *لاکتولاسیلوس بوکنری* در غلظت 10^5 واحد تشکیل کلونی در مقایسه با شاهد تفاوت معنی‌داری نداشت؛ درحالی‌که افزودن غلظت 5×10^5 واحد تشکیل کلونی و 10^6 واحد تشکیل کلونی *لاکتوباسیلوس بوکنری* به سیلاژ جو پایداری هوازی را افزایش داد (Kung و Ranjit، ۲۰۰۱).

لاکتوباسیلوس پلانتاروم از دسته باکتری‌های با تخمیر همگن (باکتری‌های هومولاکتیک اسید) است که بیش‌تر، هگزوزها را به اسیدلاکتیک تبدیل می‌کند درحالی‌که باکتری‌های با تخمیر ناهمگن یا باکتری‌های هترولاکتیک اسید (*لاکتوباسیلوس بوکنری*)، در طول ذخیره‌سازی سیلو به آهستگی لاکتیک اسید را به اسید استیک و الکل تبدیل می‌کنند. اسید استیک از رشد مخمر و کپک که هنگام بازکردن سیلو (تماس با اکسیژن) باعث فساد سیلاژ و کاهش پایداری هوازی می‌شود جلوگیری می‌کند (Muck و همکاران، ۲۰۱۸). Fraser و همکاران (۲۰۰۵) نیز دلیل کاهش پایداری هوازی با به‌کارگیری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* را به پایین‌تر بودن اسید استیک به‌عنوان عامل پیش‌گیری از رشد کپک و مخمر نسبت دادند. بررسی چندین پژوهش در یک بازه ۵ ساله درباره اثر افزودن باکتری‌های با تخمیر همگن بر پایداری هوازی، نشان داد که در ۶۰ درصد موارد، پایداری هوازی تحت تأثیر افزودنی قرار نگرفت و یا کاهش یافت. این یافته‌ها تأییدکننده این واقعیت است که اسیدلاکتیک به‌تنهایی یک عامل ضد قارچ مناسب نبوده و کاهش اسید استیک، به دلیل تخمیر غالب از نوع همگن، ممکن است در طول اندوخته‌سازی و هنگام بازکردن سیلو (در تماس با هوا) به مخمرها اجازه تکثیر بدهد (Kung و همکاران، ۲۰۰۳).

یافته‌های یک مقاله فراواکاوی نیز در بررسی ۱۳۰ مقاله نشان داد که به‌کارگیری باکتری‌های با تخمیر همگن (عمدتاً *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*) باعث افزایش رشد مخمر شد، ولی بر پایداری هوازی تأثیری نداشت (Oliverira و همکاران، ۲۰۱۷). از سوی دیگر اسیدلاکتیک سوبسترای کپک‌ها بوده و تولید بالای آن، سبب افزایش فساد هوازی می‌شود (Mc Donald و همکاران، ۱۹۹۱). با توجه به اینکه افزایش اسیدلاکتیک با افزودن باکتری‌های هومولاکتیک در بیش‌تر پژوهش‌ها گزارش‌شده است (Muck و همکاران، ۲۰۱۸)، افزایش شمار مخمر در پاسخ به افزودنی میکروبی می‌تواند درنتیجه فراهمی سوبسترای رشد مخمر (تجمع بیش‌تر اسیدلاکتیک) و کاهش غلظت ترکیبات ضدقارچی (کاهش اسید استیک) باشد (Oliverira و همکاران، ۲۰۱۷)؛ بنابراین می‌توان این‌گونه نتیجه‌گیری کرد که در سیلوهای دارای باکتری‌های هومولاکتیک، تولید اسیدلاکتیک بیش‌تر (سوبسترای مخمرهای فاسد کننده سیلاژ) و اسید استیکِ کم‌تر (ضد قارچ قوی) ممکن است باعث رشد بیش‌تر مخمر و کپک در سیلاژ شده و کاهش پایداری هوازی را به دنبال داشته باشد. در پژوهش کنونی کاهشِ کربوهیدرات‌های محلول در آب نسبت به شاهد، ممکن است به دلیل فعالیت افزودنی باکتریایی

و تبدیل این کربوهیدرات‌ها به محصولات تخمیری مانند لاکتیک اسید باشد که این اسیدلاکتیک به‌عنوان سوبسترای مخمرها باعث افزایش رشد مخمر و کاهش پایداری هوازی در سیلاژهای دارای افزودنی میکروبی شده است (Muck و همکاران، ۲۰۱۸؛ Oliverira و همکاران، ۲۰۱۷).

یافته‌های به‌دست‌آمده از اثر افزودن باکتریایی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* به سیلاژ ذرت و اثر زمان برداشت بر تولید گاز و فراسنجه‌های تولید گاز و اثر متقابل آن در جدول ۶ و ۷ آمده است. افزودن باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* به سیلاژ ذرت تأثیری بر گاز تجمعی تولیدی پس از ۲۴ و ۴۸ ساعت، پتانسیل تولید گاز (b) و نرخ تولید گاز (c) و فراسنجه‌های برآورد شده (انرژی قابل سوخت‌وساز، اسیدهای چرب زنجیر کوتاه و گوارش‌پذیری ماده آلی) نداشت ($P<۰/۰۵$). هم سو با این یافته‌ها، در پژوهش Makkari و همکاران (۲۰۱۷) و پژوهش Chen و همکاران (۲۰۱۷) افزودن *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* به سیلاژ، تأثیر معنی‌داری بر تولید گاز و فراسنجه‌های تولید گاز در گروه دارای افزودنی میکروبی نداشت. همچنین در پژوهش دیگری که گوارش‌پذیری شکمبه‌ای به روش کیسه‌های نایلونی اندازه‌گیری شد، افزودن *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*، *لاکتوباسیلوس بوکنری* و نیز مخلوط هر دو به سیلاژ ذرت و سورگوم، تأثیری بر تجزیه‌پذیری ماده خشک و ماده آلی نداشت (Filya، ۲۰۰۳a). در پژوهش Taghizadeh و همکاران (۲۰۲۲) افزودن *لاکتوباسیلوس بوکنری* به سیلاژ ذرت باعث افزایش گاز تولیدی و افزایش پتانسیل گاز تولیدی شد که با یافته‌های ما هم‌خوانی نداشت. دلیل افزایش گاز، کاهش pH (اسیدی‌تر بودن محیط) در سیلاژ دارای افزودنی و شکننده‌تر بودن الیاف عنوان شد.

حجم گاز تولیدی به ترکیب شیمیایی ماده خوراکی، نوع و نژاد دام دهنده شیرابه شکمبه بستگی دارد به‌ویژه میان الیاف نامحلول در شوینده خنثی و حجم گاز تولیدشده همبستگی منفی دیده‌شده است (Meneke و Steingass، ۱۹۸۸؛ Getachew و همکاران، ۲۰۰۴). از سویی باکتری‌های تولیدکننده لاکتیک اسید توانایی آنزیمی برای هیدرولیز دیواره سلولی را ندارند (Chen و همکاران، ۲۰۱۷).

فراسنجه‌های برآورد شده (انرژی قابل سوخت‌وساز، اسیدهای چرب زنجیر کوتاه و گوارش‌پذیری ماده آلی) نیز تحت تأثیر گاز تولیدی در ۲۴ ساعت و ترکیبات شیمیایی سیلاژ (درصد پروتئین، چربی خام و خاکستر خام) است. عدم تفاوت دیده‌شده در پژوهش کنونی میان گاز تولیدی و نیز فراسنجه‌های تخمیری برآورد شده در سیلاژ دارای افزودنی و سیلاژ شاهد، ممکن است به این دلیل باشد که تفاوت معنی‌داری در ترکیبات شیمیایی سیلاژ با و بدون افزودنی دیده نشد (جدول ۲). تولید گاز ۲۴ و ۴۸ ساعت و فراسنجه‌های تخمیری برآورد شده در دوره‌های برداشت روند کاهشی داشت (جدول ۶). این کاهش را می‌توان به روند کاهشی پروتئین و خاکستر خام سیلاژ در دوره‌های برداشت نسبت داد (جدول ۲). تولید گاز در ساعات ۲ تا ۲۰ نیز همانند ساعت ۲۴ و ۴۸ تحت تأثیر افزودنی میکروبی قرار نگرفت ($P>۰/۰۵$).

جدول ۷- اثر متقابل *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و زمان برداشت ذرت علوفه‌ای بر فراسنجه‌های تولید گاز سیلاژ ذرت

Table 7. Interaction effect of *Lactobacillus plantarum* and harvesting time of corn fodder on gas production parameters

Factor فاکتور		Gas production parameters فراسنجه‌های تولید گاز						
زمان برداشت Harvesting time	افزودنی باکتریایی* Bacterial inoculant*	تولید گاز ۲۴ ساعت(ml) Gas production 24h	تولید گاز ۴۸ ساعت(ml) Gas production 48h	پتانسیل تولید گاز b (ml)	ثابت نرخ تولید گاز c (h^{-1})	انرژی قابل سوخت‌وساز ME (MJ/kg)	اسیدهای چرب کوتاه زنجیر SCFA (mmol/200 mg DM)	گوارش‌پذیری ماده آلی OMD (%)
۹ شهریور	-	44.14^{bc}	52.47	49.64	0.070	8.76^{ab}	1.00^{ab}	58.86^{ab}
31th Aug	+	4.30^{a}	55.30	49.85	0.090	9.08^{a}	1.05^{ab}	60.97^{a}
۲۷ شهریور	-	45.27^{ab}	51.34	49.50	0.080	8.79^{ab}	1.00^{ab}	58.97^{ab}
18th Sep	+	39.79^{cde}	46.48	44.93	0.070	8.00^{cd}	0.88^{cd}	53.70^{dc}
۸ مهر	-	40.11^{cde}	47.11	47.88	0.06	8.04^{cd}	0.89^{cd}	53.97^{dc}
30th Sep	+	43.07^{bcd}	51.05	52.29	0.06	8.47^{bc}	0.96^{bc}	56.99^{bc}
۲۲ مهر	-	39.28^{de}	46.79	47.48	0.063	7.94^{cd}	0.87^{d}	53.44^{dc}
14th Oct	+	40.87^{cde}	48.59	50.02	0.060	8.15^{cd}	0.91^{cd}	54.74^{dc}
۵ آبان	-	37.29^{e}	44.80	46.38	0.056	7.64^{d}	0.83^{d}	51.36^{d}
27th Oct	+	38.64^{de}	45.70	45.07	0.070	7.83^{d}	0.86^{d}	52.65^{d}
۲۳ آبان	-	38.72^{e}	45.03	47.40	0.06	7.71^{d}	0.84^{d}	51.74^{d}
14th Nov	+	39.44^{cde}	47.18	48.14	0.060	7.95^{cd}	0.88^{cd}	53.29^{d}
اشتباه معیار میانگین SEM		1.307	1.396	1.415	0.006	0.184	0.029	1.22
سطح معنی‌داری *P-value*		0.027	0.074	0.071	0.318	0.03	0.04	0.03

میانگین‌های با بندواژه‌های یکسان در هر ستون اختلاف معنی‌داری ندارند (P>۰/۰۵).

Average with the same superscripts in each column have no significantly difference(P<0.05)

* -: بدون افزودنی، +: با افزودنی باکتریایی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*

* -: Without bacterial additive; +: with bacterial additive

ولی در دوره‌های مختلف، همانند تولید گاز ۲۴ و ۴۸ ساعت، روند کاهشی معنی‌داری داشت (داده‌ها نیامده است). افزودن باکتری‌های با تخمیر همگن مانند *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* به سیلاژ باهدف بهبود تخمیر از راه کاهش سریع pH و افزایش لاکتیک اسید نسبت به دیگر محصولات تخمیر مانند اسید بوتیریک و استیک و کاهش پروتیولیز انجام می‌شود (Muck و همکاران، ۲۰۱۸). هرچند نتایج پژوهش‌های فروانی که تاکنون درباره تأثیر باکتری‌های هومولاکتیک بر این فراسنجه‌ها انجام‌شده، یکسان نبوده است.

Oliverira و همکاران (۲۰۱۷) با فراواکاوی ۱۳۰ پژوهش نشان دادند که به‌کارگیری باکتری‌های هومولاکتیک تأثیری بر بهبود تخمیر و پایداری هوازی در ذرت و سورگوم نداشت و اثر افزودنی به عواملی مانند نوع علوفه، گونه باکتری و نرخ باکتری بستگی دارد. این مسئله از این نظر مهم است که سالانه هزینه شایان توجهی برای این افزودنی‌ها پرداخت می‌شود. تخمیر سیلاژ فرآیندی پویا، چندمرحله‌ای و پیچیده است که گستره و نرخ تخمیر در طول سیلو کردن تحت تأثیر چندین عامل ازجمله شرایط بی‌هوازی سیلو، غلظت کربوهیدرات‌های محلول در آب، غلظت باکتری‌های طبیعی موجود در علوفه، درصد ماده خشک و گنجایش بافری علوفه قرار می‌گیرد (Muck، ۱۹۸۸). عدم پاسخ مناسب به افزودنی میکروبی در پژوهش کنونی، شاید به این دلیل باشد که میزان کربوهیدرات‌های محلول در آب و نیز میزان میکروب‌های طبیعی موجود در گیاه برای تخمیرِ مناسب، بسنده بوده و ازاین‌رو افزودن میکروب تأثیری بر بهبود تخمیر نداشته است.

نتیجه‌گیری کلی

یافته‌های این پژوهش نشان داد که میانگین درصد ماده خشک ذرت علوفه‌ای در ایام برداشت در شهرستان بردسیر (شهریور تا آبان) در نمونه‌های گرفته‌شده و سیلاژ آن کم‌تر از ۲۰ درصد بود که نشان از کیفیت پایین این خوراک پرکاربرد در صنعت دام شیری دارد. فزون بر این، افزودن باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* به سیلاژ ذرت تأثیری بر میزان pH، غلظت اسیدلاکتیک، نیتروژن آمونیاکی، درصد بازیابی ماده خشک و گوارش‌پذیری آزمایشگاهی سیلاژ ذرت نداشت. با توجه به نتایج به‌دست‌آمده افزودن باکتری *لاکتوباسیلوس* به سیلاژ ذرت در شرایط این منطقه تأثیر سودمندی بر بهبود تخمیر نداشت.

منابع

Adesogan, A.T., Krueger, N., Salawu, M.B., Dean, D.B. and Staples, C.R. 2004. The Influence of treatment with dual purpose bacterial inoculants or soluble carbohydrates on the fermentation and aerobic stability of Bermudagrass. Journal of Dairy Science, 87: 3407-3416.

Ahmadi, K., Ebadzadeh, H., Hatami, F., Mohiti, Z., Abbas Taghani, R. 2021. Agricultural statistics book of the crop year 2019-2020. Vol. 1. Ministry of Jihad-e-Agriculture. In. https://maj.ir/Dorsapax/userfiles/Sub65/98-99.p (In Persian).

Aksu, T., Baytok, E., Akif Karsli, M. and Muruz, H. 2006. Effects of formic acid, molasses and inoculant additives on corn silage composition, organic matter digestibility and microbial protein synthesis in sheep. Small Ruminant Research, 61: 29-33.

AOAC. 2010. Official Methods of Analysis (18th edition). Association of Official Analytical Chemists. Washington, DC. USA.

Arriola, K.G., Oliveira, A.S., Jiang, Y., Kim, D., Silva, H.M., Kim, S.C., 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.
Asadi Alamouti, A., Alikhni, M., Ghorbani, G. and Sami, A. H. 2004. The effect of different additives on the fermentation quality of millet silage in laboratory silos. Journal of Crop Production and Processing, 8(3): 149-161 (In Persian).
Barker, S.B. and Summerson, W.H. 1941. The Colorimetric determination of lactic acid in biological material. Journal of Biological Chemistry, 138: 535-554.
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, 63: 64-75.
Chen, L., Yuan, X. J., Li, J. F., Wang, S. R., Dong, Z. H. and Shao, T. 2017. Effect of lactic acid bacteria and propionic acid on conservation characteristics, aerobic stability and *in vitro* gas production kinetics and digestibility of whole-crop corn based total mixed ration silage. Journal of Integrative Agriculture, 16(7): 1592-1600.
Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebes, P.A. and Smith, F. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Analytical Chemistry, 28: 350-356.
Filya, I. 2003a. The effect of *Lactobacillus buchneri* and *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.
Filya, I. 2003b. The effect of *Lactobacillus buchneri*, with or without homofermentative lactic acid bacteria, on the fermentation, aerobic stability and ruminal degradability of wheat, sorghum and maize silages. Journal of Applied Microbiology, 95: 1080–1086.
Filya, I., Sucu. E. and Karabulut, A. 2006. The effects of Propioni bacterium acid propionic and *Lactobacillus plantarum*, applied at ensiling, on the fermentation and aerobic stability of low dry matter corn and sorghum silages. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology, 33: 353-358.
Fraser, M.D., Fychan, R. and Jones, R. 2005. The effect of harvest date and inoculation on the yield and fermentation characteristics of two varieties of white lupin (*Lupinus albus*) when ensiled as a whole-crop. Animal Feed Science of Technology, 119: 307-315.
Getachew, G., Robinson, P.H., DePeters, E.J. and Taylor, S.J. 2004. Relationships between chemical composition, dry matter degradation and *in vitro* gas production of several ruminant feeds. Animal Feed Science of Technology, 111: 57-71.
Haigh, P.M. 1998. Effect of additives on grass silage fermentation and effluent production and on intake and live weight change of young cattle. Journal of Agricultural Engineering Research, 69: 141-149.
Johanson, L.M., Harrison, J.M., Davidson, D., Mahanna, W.C. and Shinners, K. 2003. Corn silage management: Effect of hybrid, maturity, inoculation, and mechanical processing on fermentation characteristics. Journal of Dairy Science, 86: 287-308.
Jones, D.I.H. 1988. The effect of cereal incorporation on fermentation of spring and autumn-cut ryegrass silage in laboratory silos. Grass and Forage Science, 43: 167-172.
Jones, C., Heinrichs, A., Roth, G. and Ishler, V. 2004. From harvest to feed: understanding silage management. Pennsylvania State University. College of Agricultural Sciences. pp 2-11.
Khorvash, M., Colombatto, D., Beauchemin, K. A., Ghorbani, G. and Samei, A. H. 2006. Use of absorbants and inoculants to enhance the quality of corn silage. Canadian Journal of Animal Science, 86: 97-107.
Kizilsimsek, M., Schmidt, R. J. and Kung, Jr. L. 2007. Effects of a mixture of lactic Acid bacteria applied as a freeze-dried or fresh culture on the fermentation of alfalfa silage. Journal of Dairy Science, 90: 5698-5705.
Kung, Jr. L. and Ranjit, N. 2001. The effect of *lactobacillus buchneri* and other additives on the fermentation, and aerobic stability of barley silage. Journal of Dairy Science, 84:1149-1155.
Kung, Jr, L., Smith, M.L., Da Silva, E.B., Windle, M.C., Da Silva, T.C. and Polukis, S.A. 2018. An evaluation of the effectiveness of chemical additive based on sodium benzoate, potassium sorbate, and sodium nitrite on the fermentation and aerobic stability of corn silage. Journal of Dairy Science, 101:5949-5960.

Kung Jr. L., Stokes, M. R. and Lin, C. J. 2003. Silage Additives. Silage Science and Technology, 42:305-360.

McDonald, P., Henderson, A. and Heron, S.J.E. 1991. The biochemistry of silage. Chalcombe publication, Marlow, England. 341p.

Makkari, F., Bayatkouhsar, J., Ghanbari, F.and Fallahi, H. A. 2017. Effect of bacterial additives, organic acid and urea on chemical composition, fermentation characteristics, gas production and digestibility parameters of triticale forage silage *in vitro*. Animal Production Research, 6: 13-27 (In Persian).

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

Muck, R.E. 1988. Factors Influencing Silage Quality and Their Implications for Management1. Journal of Dairy Science, 71: 2992-3002.

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

Oliveira, A.S., Weinberg, Z.G., Ogunade, I.M., Cervantes, A.A. P., Arriola, K.G., Jiang, Y. and Adesogan, A.T. 2017. Meta- analysis of effects of inoculation with homofermentative and lactic acid bacteria on silage fermentation, aerobic stability, and the performance of dairy cows. Journal of Dairy Science, 100: 4587-4603.

Ørskov, E.R., Deb hovel, F.D. and Mould, F. 1980. The use of the nylon bag technique for the evalution of feed stuffs. Tropical Animal Production, 5: 195-213.

Queiroz, O., Arriola, K., Daniel, J. and Adesogan, A. 2013. Effects of 8 chemical and bacterial additives on the quality of corn silage. Journal of Dairy Science, 96: 5836-5843.

Ranjit. N.K. and Kung, Jr, L. 2000. The effect of *lactobacillus buchneri*, *lactobacillus plantarum*, or a chemical preservative on the fermentation and aerobic stability of corn silage. Journal of Dairy Science, 83: 526-535.

Rizk, C., Mustafa, A. F. and Phillip, L. E. 2005. Effects of inoculation of high dry matter alfalfa silage on ensiling characteristics, ruminal nutrient degradability and dairy cow performance. Journal of the Science of Food and Agriculture, 85: 743-750.

Rooke, J.A., Hatfield, R.D., Buxton, D.R., Muck, R.E., Harrison, J.H. 2003. Biochemistry of ensiling. pp. 95–139. In D.R. Buxton, R.E. Muck and J.H. Harrison (eds). Silage Science and Technology. American Society of Agronomy, Madison, Wisconsin, USA.

Taghizadeh, A., Moradi, E., Mohammadzadeh, H. and Besharati, M. 2022. The effect of different biological additives on chemical composition and fermentation characteristics of corn silage. Iranian Journal of Animal Science Research, 14: 1-12 (In Persian).

Van Soest, P.J., Roberson, J. B. and Lewis, B.A. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. Journal of Dairy Science, 74: 3583-3597.