Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

Journal of Ruminant Research

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

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

Esmaeil Ganji Jameh Shooran[1*], Javad Bayat Kouhsar[2], Neda Farzin[1], Abolghasem Sedraj[1], Sona Akhondnejad[1]

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

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

Article Info

Article type:
Research Full Paper

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

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

Abstract

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

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

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

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

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

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

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

© The Author(s).
DOI: 10.22069/ejrr.2023.21426.1902
Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

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

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

اسماعیل گنجی جامه شوران[1*]، جواد بیات کوهسار[2]، ندا فرزین[1]، ابوالقاسم سراج[1]، سونا آخوندنژاد[1]

[1] استادیار گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی واحد آزادشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، آزادشهر، ایران، رایانامه: esmaeelganji@gmail.com

[2] استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبدکاووس، گنبدکاووس، ایران

اطلاعات مقاله

نوع مقاله:
مقاله کامل علمی- پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۳/۱۷
تاریخ ویرایش: ۱۴۰۲/۹/۲۰
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۹/۲۱

واژه‌های کلیدی:
اسید استیک
باکتری‌های مولد اسیدلاکتیک
تخمیر
سیلاژ بقایای کدو آجیلی
سیلاژ تفاله گوجه‌فرنگی

چکیده

سابقه و هدف: با توجه به خصوصیات تفاله گوجه‌فرنگی که حاوی مقادیر بالای پروتئین خام بوده و هم‌چنین بقایای کدو آجیلی(شامل پوست و میوه) که حاوی مقادیر بالای کربوهیدرات محلول به‌عنوان منبع انرژی بوده، ترکیب این دو در تهیه سیلاژ بهتر می‌تواند از روند تخمیر در سیلو حمایت کند. هدف از انجام این مطالعه، بررسی تأثیر استفاده از افزودنی‌های باکتریایی و اسیدی بر ترکیبات شیمیایی، خصوصیات تخمیر و قابلیت هضم در سیلاژ تفاله گوجه‌فرنگی و بقایای کدو آجیلی بود.

مواد و روش‌ها: تیمارهای آزمایشی در سه تکرار در کیسه‌های نایلونی به وزن ۳ کیلوگرم به‌صورت دستی فشرده و به مدت ۹۰ روز سیلو شدند. داده‌های حاصل از این پژوهش در قالب طرح کاملاً تصادفی تجزیه شدند. تجزیه‌وتحلیل آماری و مقایسه میانگین‌ها به‌روش دانکن انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل: ۱) مخلوط تفاله گوجه‌فرنگی و بقایای کدو آجیلی به نسبت ۱:۱ (به‌عنوان شاهد)، ۲) شاهد + افزودنی باکتریایی تولیدشده در آزمایشگاه، ۳) شاهد + اسیداستیک و ٤) شاهد + اسیداستیک + افزودنی باکتریایی بودند.

یافته‌ها: نتایج نشان داد بین تیمارها از نظر ماده خشک در روز ٤٥ام پس از سیلو کردن اختلاف آماری معنی‌داری وجود داشت (P<۰/۰۵) که بالاترین در روز ٤٥ام در گروه اسید ۲٤/۳۸ مشاهده شد. بین تیمارها از نظر پروتئین خام، الیاف نامحلول در شوینده خنثی و اسیدی اثر معنی‌داری وجود نداشت (P>۰/۰۵)؛ اما با گذشت روزهای پس از سیلو کردن پروتئین خام، الیاف نامحلول درشوینده خنثی و اسیدی روند کاهشی داشتند. مقدار نیتروژن آمونیاکی بین تیمارهای آزمایشی در روز ٤٥ بعد از سیلو کردن اختلاف معنی‌داری مشاهده شد (P<۰/۰۵) که بالاترین در روز ۹۰ام ۲/۵۰ در تیمار باکتری و پایین‌ترین در روز ۱ام ۰/۲۰ در تیمار اسید مشاهده شد. مقدار pH در سیلاژهای مختلف در طول زمان پس از سیلو کردن تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت. پایین‌ترین مقدار pH (۳/۸۵) در روز ۹۰ پس از سیلوکردن در سیلاژ دارای افزودنی باکتری مشاهده شد. با افزایش زمان پس از سیلو کردن، مقدار pH روند کاهشی داشت، نقطه فلیک در تمام تیمارها و در تمام روزها معنی‌دار بود (P<۰/۰۵) که پایین-

ترین در روز ۱ام ٤٩/٠٨ در تیمار شاهد و بالاترین در روز ٤٥ام ٩٣/٨٦ در تیمار باکتری مشاهده شد. بین تیمارها از نظر قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی، عامل تفکیک، تولید توده میکروبی و بازده تولید گاز اثر معنی‌داری وجود نداشت (P>٠/٠٥). بااین‌حال بالاترین و پایین‌ترین قابلیت هضم ماده‌خشک و ماده آلی به ترتیب مربوط به تیمارهای باکتری و شاهد بود. از نظر بازده تولید پروتئین‌میکروبی اختلاف آماری معنی‌دار بود (P<٠/٠٥). میزان pH در انتهای دوره معنی‌دار بود (P<٠/٠٥) و تمام تیمارها نسبت به شاهد pH پایین‌تری داشتند. هم‌چنین میزان ازت - آمونیاکی در انتهای دوره معنی‌دار بود (P<٠/٠٥) و بالاترین ازت آمونیاکی متعلق به شاهد بود.

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

استناد: جامه شوران، ا.، بیات، ج.، فرزین، ن.، سراج، ا.، آخوندنژاد، س. (١٤٠٣). تأثیر افزودنی باکتریایی و اسید استیک بر ترکیبات شیمیایی، فراسنجه های تخمیر و قابلیت هضم سیلاژ تفاله گوجه‌فرنگی و کدو آجیلی. *پژوهش در نشخوارکنندگان*، ١٢(١)، ٣٤-١٧.

DOI: 10.22069/ejrr.2023.21426.1902

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

© نویسندگان.

مقدمه

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

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

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

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

کاهش می‌دهند (Flork و همکاران، ۲۰۰٤). استفاده از افزودنی اسیدی با کاهش pH، باکتری‌ها را به مرحله تثبیت رسانده و از رشد کپک‌ها و مخمرها جلوگیری نموده و بدین ترتیب باعث بهبود روند تخمیر در سیلو می‌گردد (Baytok و همکاران، ۲۰۰۵). به نظر می‌رسد با توجه به خصوصیات تفاله گوجه‌فرنگی و بقایای کدو آجیلی، از نظر مقدار پروتئین خام و کربوهیدرات‌های محلول به‌عنوان منبع انرژی، ترکیب این دو در تهیه سیلاژ بهتر بتواند از روند تخمیر در سیلو حمایت کند. لذا، هدف از انجام این مطالعه، بررسی تأثیر استفاده از افزودنی‌های باکتریایی و اسیدی بر ترکیبات شیمیایی، خصوصیات تخمیر و قابلیت هضم در سیلاژ تفاله گوجه‌فرنگی و بقایای - کدو آجیلی بود.

مواد و روش‌ها

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

بقایای کدو آجیلی و تفاله گوجه‌فرنگی جهت رسیدن به ماده خشک مطلوب به مدت حدود ٤ ساعت در آزمایشگاه پژمرده شدند. جهت تهیه سیلوهای آزمایشگاهی، ابتدا بقایای کدو آجیلی و تفاله گوجه‌فرنگی با نسبت ۱:۱ به‌خوبی باهم مخلوط گردیدند و در کیسه‌های پلاستیکی در سه تکرار به شکل دستی فشرده و سیلو گردیدند. تیمارها شامل: ۱) مخلوط بقایای کدو آجیلی و تفاله گوجه‌فرنگی به-نسبت ۱:۱ (به‌عنوان شاهد)، ۲) شاهد + افزودنی باکتریایی (شامل مخلوطی از *لاکتوباسیلوس-اسیدوفیلوس، لاکتوباسیلوس کازئی، لاکتوباسیلوس-پلانتاروم، انتروکوکوس‌فوزیوم و پدیوکوکوس پنتوزاسئوس*) تولیدشده در آزمایشگاه (8×10^{10} واحد تشکیل کلونی[1] در هر گرم، یک میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم ماده خشک)، ۳) شاهد + اسید آلی(۱ درصد)، ٤) شاهد+ اسید آلی+ افزودنی باکتریایی، بودند. پس از حل شدن افزودنی‌ها در آب یون‌زدایی شده، سپس روی علوفه اسپری شد. برای گروه شاهد هم مقادیر مساوی از آب یون‌زدایی شده اسپری شد. سیلوهای پر شده پلاستیکی به مدت ۹۰ روز به شکل کاملاً بسته و در دمای اتاق نگه‌داری شدند. در سیلوها پس از سپری شدن زمان معین، باز و نمونه‌ها با هم مخلوط گردید و در نهایت از سطوح پایینی، میانی و بالایی هر ماده سیلو شده نمونه‌برداری گردید.

آماده‌سازی تلقیح باکتریایی: تلقیح باکتریایی شامل مخلوطی از *لاکتوباسیلوس کازئی* PTCC ۱٦۰۸، *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* PTCC۱٦٤۳، *لاکتوباسیلوس‌پلانتاروم* PTCC ۱۰۵۸، *پدیوکوکوس پنتوزاسئوس* PTCC ۱٤۲٦ و *انتروکوکوس‌فوزیوم* PTCC ۱۲۳۸ بود؛ که از سازمان علمی صنعتی ایران تهیه شد. کشت‌های خالص باکتریایی در درون ظروف شیشه‌ای قرارگرفته و به‌صورت انفرادی در لوله‌های حاوی ۱۰ سی‌سی از محیط کشت ام آر اس[2] براث (مرک آلمان[3]) بعد از کشت لوله‌ها به‌مدت ۲٤ ساعت در درجه حرارت ۳۷ درجه سلسیوس انکوباسیون شدند. از روش پلت‌کانت برای شمارش جمعیت کشت‌های باکتریایی بعد از انکوباسیون استفاده شد. ابتدا رقت‌های مختلفی تا ۱۰ برابر (محلول استریل-سیلین) تهیه و رقت‌های ٦ تا ۱۰ روی پلت‌های حاوی

[1] CFU: Colont Forming Unit
[2] MRS
[3] Germany Merck

محیط کشت به‌علاوه ۱/۵ درصد آگار کشت داده‌شده و در انکوباتور به مدت ۲٤ ساعت گذاشته شدند (Adesogan و همکاران، ۲۰۰٤).

تعیین ترکیب شیمیایی و خصوصیات تخمیر: به‌منظور اندازه‌گیری pH نمونه‌های سیلو شده، ۵۰ گرم از هر نمونه با ٤۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر توسط یک مخلوط‌کن هموژنیزه شد. پس از صاف نمودن عصاره حاصل، pH آن بلافاصله با استفاده از دستگاه pH متر الکترونیکی (مدل٦۹۱، شرکت متروم[1]) ثبت شد. برای تعیین نیتروژن آمونیاکی، مقدار ۱۰ میلی‌لیتر از نمونه عصاره صاف‌شده گرفته و معادل حجم آن اسیدکلریدریک ۰/۲ نرمال افزوده و در فریزر با دمای ۲۰- درجه سلسیوس نگه‌داری شد. مقدار ۱۰۰ گرم از هر نمونه جهت تعیین درصد ماده خشک در آون (دمای ۱۰۵ درجه سلسیوس) به مدت ٤۸ ساعت قرار داده شد. به‌منظور تهیه مخلوطی یکنواخت، نمونه‌های علوفه سیلو شده پس از خشک‌کردن با استفاده از آسیاب با توری یک میلی‌متر آسیاب شدند. ترکیبات شیمیایی شامل مقدار ماده خشک و پروتئین خام طبق روش‌های استاندارد (۲۰۰۵) AOAC، الیاف نامحلول در شوینده خنثی و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی بر اساس روش ون‌سوست (۱۹۹٤) بدون استفاده از آمیلاز مقاوم به حرارت تعیین شد. میزان نیتروژن - آمونیاکی نمونه‌ها با استفاده از روش فنل‌هیپوکلریت تعیین گردید (Broderick و Kang، ۱۹۸۱). بدین منظور از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول‌موج ٦۳۰ نانومتر جهت قرائت جذب نوری استفاده شد.

جهت ارزیابی کیفیت سیلوها با استفاده از شاخص فلیگ از فرمول زیر استفاده شد:

$$\text{نقطه فلیگ}^{2} = 220 + \left[\left(2 \times \text{درصد ماده خشک}\right) - 15\right] - (40 \times \text{pH})$$

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

برآورد قابلیت هضم در شرایط برون‌تنی: قابلیت هضم تیمارهای مختلف بر اساس روش کشت بسته تئودورو اندازه‌گیری شد (Theodorou و همکاران، ۱۹۹٤). برای این کار، نمونه‌ها ابتدا به ذراتی به قطر یک میلی‌متر آسیاب و در نهایت خشک شدند. در آزمایش تعیین قابلیت هضم بهروش منک، میزان ۰/۵ گرم از هر نمونه داخل هر یک از ظروف شیشه‌ای - ریخته و سپس ۵۰ سی‌سی از مخلوط بزاق مصنوعی و مایع شکمبه به نسبت ۲ به ۱ (۲ حجم بزاق مصنوعی و۱ حجم مایع شکمبه) داخل هر ظرف شیشه‌ای افزوده شد (Menke و همکاران، ۱۹۷۹). در ادامه داخل هرکدام از ظروف شیشه‌ای به مدت ۱۰ ثانیه گاز دی‌اکسید کربن تزریق کرده و درب آن توسط درب - لاستیکی و درپوش آلومینیمی به‌طور کامل بسته شد. ظروف شیشه‌ای بعد از قرار گرفتن داخل بن‌ماری با دمای ۳۹ درجه سلسیوس در موقعیت‌های زمانی خاص و مساوی تکان داده شدند. همه ظروف شیشه- ای بعد از گذشت ۲٤ ساعت از بن‌ماری خارج و به ظرف حاوی یخ منتقل شدند و با استفاده از پارچه مخصوص نمونه‌های موجود در هر ظرف شیشه‌ای ابتدا صاف‌شده و سپس باقی‌مانده گوارش نشده از فاز مایع جدا شد. درنهایت pH فاز مایع نمونه‌ها اندازه- گیری شد. بخش باقی‌مانده گوارش نشده هر ظرف شیشه‌ای جمع‌آوری و داخل کروزه‌های با وزن معین منتقل شد. کروزه‌ها در آون با دمای ٦۰ درجه سلسیوس به مدت ٤۸ ساعت قرارگرفت تا این‌که وزن خشک نمونه‌های حذف‌شده مشخص گردد و درنهایت به مدت ٦ ساعت کروزه‌های حاوی باقی- مانده مواد گوارش نشده در کوره با دمای ۵۵۰ درجه سلسیوس قرارگرفت. این عمل جهت به دست آوردن مقدار خاکستر خام مواد گوارش نشده باقی‌مانده در

[1] Metrohm
[2] Fleig Point

کروزه‌ها صورت گرفت. توده میکروبی تولیدشده با استفاده از معادله پیشنهادی Blummel و همکاران (۱۹۹۷) محاسبه گردید.

$$MB = GP(\text{میلی‌گرم}) \times PF - 2/2)$$

MB = توده میکروبی

GP=میزان تولید گاز خالص بعد از ۲٤ ساعت (میلی‌لیتر)

PF=عامل تفکیک (میلی‌گرم در میلی‌لیتر)

عامل تفکیک برابر با نسبت میلی‌گرم ماده آلی حقیقی حذف‌شده بر میلی‌لیتر حجم گاز خالص تولیدی می‌باشد. بازده از طریق تقسیم توده میکروبی تولیدشده بر مقدار ماده آلی حقیقی قابل تخمیر میزان توده میکروبی در پایان زمان انکوباسیون (۲٤ ساعت) محاسبه گردید. آنالیز داده‌های حاصل با رویه GLM نرم‌افزار آماری SAS (۲۰۰۳) نسخه۹/۱ در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. تجزیه‌وتحلیل آماری و مقایسه میانگین‌ها به‌روش دانکن انجام شد.

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

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

نتایج

تأثیر استفاده از افزودنی باکتری‌های مولد اسیدلاکتیک و اسید آلی بر ترکیب سیلاژ مخلوط بقایای کدو آجیلی و تفاله گوجه‌فرنگی در جدول ۱ نشان داده‌شده است. نتایج نشان داد که بین تیمارهای عمل‌آوری شده از نظر مقدار ماده خشک اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (P>۰/۰۵). فقط در تیمارهای روز ٤٥ پس از سیلو کردن اختلاف معنی‌داری مشاهده شد. با افزایش زمان پس از سیلو کردن، مقدار ماده خشک سیلاژها از روند خاصی تبعیت نمی‌کرد. مقدار پروتئین خام سیلاژها در بین تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (P>۰/۰۵) و تحت تأثیر تیمارها قرار نگرفت. با گذشت زمان مقدار پروتئین خام روند کاهشی داشت و بیش‌ترین کاهش در مقدار پروتئین خام، در گروه شاهد (۳/۷۵ درصد) مشاهده شد.

مقدار الیاف نامحلول در شوینده خنثی در بین تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (P>۰/۰۵). بااین‌حال با افزایش زمان پس از سیلو کردن مقدار الیاف نامحلول در شوینده خنثی روند کاهشی داشت، بالاترین و پایین‌ترین مقدار الیاف - نامحلول در شوینده خنثی در روز ۹۰ پس از سیلو کردن به ترتیب در تیمارهای شاهد و باکتری مشاهده گردید. مقدار الیاف نامحلول در شوینده اسیدی در بین تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (P>۰/۰۵). بااین‌حال با افزایش زمان پس از سیلو کردن مقدار الیاف نامحلول در شوینده - اسیدی روند کاهشی داشت. بالاترین و پایین‌ترین مقدار به ترتیب در تیمارهای اسید + باکتری و باکتری مشاهده گردید.

جدول۱- تأثیر استفاده از افزودنی باکتریایی و اسید استیک بر ترکیب شیمیایی (برحسب ماده خشک) در روزهای مختلف بعد از سیلو کردن

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

اثر متقابل تیمار و روز	اثر روز	اثر تیمار	میانگین انحراف معیار	تیمار Treatment				روزهای پس از سیلو کردن	صفات
T×D	D	T	SEM	باکتری و اسید (Bacterial +Acid)	اسید (Acid)	باکتری (Bacteria)	شاهد (Control)	Days after ensiling	Characteristics
				4	3	2	1		
0.0490	0.015	0.015	0.329	21.60^{a}	22.00^{a}	21.11^{b}	20.84^{b}	1	ماده خشک Dry Matter(%)
				21.20^{b}	21.60^{a}	20.67^{b}	21.73^{a}	3	
				20.95^{b}	21.35^{a}	20.01^{c}	20.91^{b}	7	
				21.48^{a}	21.87^{a}	20.93^{b}	21.76^{a}	21	
				23.91^{b}	24.38^{a}	23.43^{c}	22.05^{d}	45	
				22.25^{ab}	22.70^{a}	21.81^{a}	21.72^{b}	90	
0.9456	0.179	0.179	1.192	16.30	16.55	16.00	16.20	1	پروتئین‌خام Crude Protein(%)
				16.10	16.35	15.90	16.50	3	
				15.00	15.30	14.75	15.40	7	
				14.45	14.70	14.15	13.75	21	
				14.05	14.30	13.80	13.90	45	
				13.85	14.05	13.65	13.45	90	
0.9154	0.048	0.048	2.680	57.16^{a}	57.20^{a}	57.10^{a}	54.76^{b}	1	الیاف نامحلول در شوینده خنثی Neutral Detergent Fiber(%)
				56.57^{a}	56.61^{a}	56.40^{a}	54.15^{b}	3	
				55.51^{a}	55.77^{a}	55.40^{a}	53.60^{b}	7	
				52.91^{b}	54.13^{a}	52.60^{b}	52.80^{b}	21	
				51.89^{b}	52.45^{a}	51.50^{c}	51.95^{b}	45	
				52.31^{b}	52.50^{b}	52.15^{b}	53.20^{a}	90	
1.000	0.001	0.001	2.252	45.70^{a}	44.71^{b}	44.50^{b}	44.61^{b}	1	الیاف نامحلول در شوینده اسید Acid Detergent Fiber(%)
				45.13^{a}	43.65^{bc}	43.58^{c}	44.10^{b}	3	
				44.61^{a}	42.80^{b}	42.73^{b}	42.75^{b}	7	
				44.08^{a}	41.75^{b}	41.75^{b}	41.76^{b}	21	
				43.83^{a}	41.62^{b}	41.48^{b}	41.55^{b}	45	
				43.58^{a}	41.10^{b}	40.98^{b}	41.06^{b}	90	

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

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

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

باقی‌مانده گوجه‌فرنگی بعد از استحصال رب از آن حاوی ماده خشک حدود ۱۶/۵ درصد و pH حدود ٤/۸۵ بود. مقدار ماده خشک تفاله گوجه‌فرنگی و سیلاژ ضایعات کدو آجیلی در روز اول پس از سیلو کردن به ترتیب ۲۲/٦۰ و ۱۸/۵۰ درصد بود که با مخلوط این دو به ۲۰/۸٤ درصد رسید. مقدار ماده خشک یک سیلاژ باکیفیت خوب بایستی در دامنه ۳۵-۲۰ درصد باشد (Ergül، ۱۹۸۸) که ترکیب این دو ماده، تولید سیلاژی با ماده خشک نزدیک به دامنه مطلوب کرده است. در مطالعات گذشته مقدار ماده خشک سیلاژ تفاله کدو (Ulger و همکاران، ۲۰۱۸) را ۹/۳۳ درصد و برای سیلاژ تفاله گوجه‌فرنگی ۲٦/۹۰ درصد (Gallo و همکاران، ۲۰۱۷) گزارش کردند. به‌هرحال، استفاده از افزودنی‌های باکتریایی و اسید آلی تأثیر معنی‌داری بر مقدار ماده خشک سیلاژ مخلوط تفاله گوجه‌فرنگی و سیلاژ بقایای کدو آجیلی (به‌جز روز ٤۵ پس از سیلو کردن) نداشت ($P>0/05$)؛ که در توافق با نتایج Adesogan و همکاران (۲۰۰٤) بود. این محققین در پژوهش خود گزارش دادند که در اثر استفاده از افزودنی‌های باکتریایی در سیلاژ علوفه گرامینه تأثیری بر مقدار ماده خشک مشاهده نکردند. نتایج این مطالعه پیشنهاد می‌کند که مخلوط

سیلاژ تفاله گوجه‌فرنگی و سیلاژ ضایعات کدو آجیلی می‌تواند باعث افزایش مقدار ماده خشک بقایای کدو آجیلی شود. میزان تغییرات در ماده خشک در تیمارهای مختلف از روند خاصی تبعیت نمی‌کرد، بالاترین و پایین‌ترین میزان افزایش به ترتیب در گروه شاهد و باکتری + اسید آلی به ترتیب ۰/۸۸ و ۰/٦٥ واحد مشاهده شد. Kim و Adesogan، (۲۰۰٤) گزارش دادند در صورتی‌که سیلاژ ذرت به شکل مرطوب برداشت شود بر تخمیر تأثیر منفی داشته و افزایش دمای سیلو باعث کاهش نرخ اسیدلاکتیک و غلظت کربوهیدرات‌های محلول و هم‌چنین افزایش نیتروژن آمونیاکی، pH، پروتئولیز و تخمیر ثانویه شده است. لذا بر اساس گزارش Barzamini و همکاران (۲۰۱٤)، افزودن تفاله چغندرقند و تفاله خشک مرکبات منجر به افزایش ماده خشک و نیز بهبود کیفیت سیلاژ تفاله گوجه‌فرنگی می‌شود. سیلاژها درصورتی‌که ماده خشک آن‌ها در محدوده ۲۰ تا ۳۵ درصد باشد، کم‌تر تحت تأثیر فساد و تخمیر ثانویه ناشی از کلستریدیاها که باعث دکربوکسیلاسیون و دآمیناسیون آمینواسیدها و به دنبال آن پروتئین گیاه می‌شود قرار می‌گیرند (McDonald و همکاران، ۱۹۹۱). McDonald و همکاران (۱۹۹۱) گزارش کردند که سیلاژهای مرطوب نسبت به سیلاژهای خشک میزان pH پایین‌تری دارند، زیرا در سیلاژها با ماده خشک پایین‌تر میزان فشار اسمزی کم‌تر است و این فاکتور نهایتاً باعث مهار باکتری‌های مولد اسیدلاکتیک در سیلاژهای خشک می‌گردد. جهت تهیه سیلاژ استفاده از محصولات کشاورزی با رطوبت بالاتر از حد باعث تولید پس‌آب شده و مستعد افزایش دما و فساد در مقایسه با سیلاژهایی با رطوبت مناسب می‌باشد (Muck و Kung، ۲۰۰۷).Muck و Kung، (۲۰۰۷) گزارش کردند که افزایش بیش‌ازحد رطوبت باعث فشردگی سیلو و خروج پس‌آب می‌گردد. این مواد حاوی سطوح بالایی از مواد مغذّی سیلویی است که خروج آن مطلوب نمی‌باشد.

ثاقبی و همکاران (۱٤۰۲) هم‌سو با نتایج تحقیق حاضر گزارش دادند که افزودن قارچ *آسپرژیلوس اوریزا* به کاه گندم سبب کاهش الیاف نامحلول در شوینده خنثی و اسیدی گردید. در بین تیمارهای مختلف میزان پروتئین خام تفاوت آماری معنی‌داری مشاهده نشد (P>۰/۰۵). مقدار پروتئین خام تفاله گوجه‌فرنگی و سیلاژ بقایای کدو در روز اول پس از سیلو کردن در گروه شاهد به ۱٦/۲۰ درصد رسید. Niderkorn و Baumont (۲۰۰۹) مقدار پروتئین خام سیلاژ ضایعات کدو آجیلی را ۱٦/۵ درصد گزارش کرد که در تضاد با نتایج مطالعه حاضر بود. هرچند مقدار پروتئین خام با افزایش زمان پس از سیلو کردن به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر تیمارها قرار نگرفت ولی از روند کاهشی برخوردار بود. در بسیاری از مطالعات در نتیجه استفاده از افزودنی‌های باکتریایی و اسیدی باعث کاهش (Gallo و همکاران، ۲۰۱۷) و یا عدم تأثیر (Kizilsimsek و همکاران، ۲۰۰۷) در مقدار پروتئین خام گزارش‌شده است هم‌زمان با بالا رفتن زمان بعد از سیلو کردن، کاهش پروتئین خام به خاطر کم بودن ظرفیت بافری می‌تواند در تهیه سیلاژ به‌عنوان یک مزیت محسوب شود (Miron و همکاران، ۲۰۰۵). با این‌حال کم‌ترین افت در مقدار پروتئین خام مربوط به تیمار دارای افزودنی باکتریایی بود؛ و بیش‌ترین افت در مقدار پروتئین خام مربوط به گروه شاهد بود. در بسیاری از مطالعات درنتیجه استفاده از افزودنی اسید آلی کم‌ترین کاهش در مقدار پروتئین خام گزارش‌شده است (Baytok و همکاران، ۲۰۰۵). بیش‌ترین فعالیت‌های پروتئولتیک در روزهای آغازین سیلو کردن اتفاق می‌افتد که کاهش سریع اسیدیته در ابتدای سیلو کردن از فعالیت آنزیم‌های گیاهی و میکروارگانیسم‌های هوازی جلوگیری کرده و سبب حفظ پروتئین در سیلاژ می‌گردد

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

سیلاژ شاهد پایین‌ترین مقادیر الیاف نامحلول در شوینده خنثی را داشت. مقدار الیاف نامحلول در شوینده خنثی و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی در طی زمان‌های پس از سیلو کردن روند کاهشی داشت. در این مطالعه استفاده از افزودنی باکتریایی، اسید آلی و ترکیب آن‌ها تأثیر معنی‌داری بر غلظت دیواره سلولی نداشتند که در تضاد با نتایج (Xing و همکاران، ۲۰۰۹) بود. در مطالعاتی که از آنزیم‌های - فیبرولایتیک به‌عنوان افزودنی استفاده‌شده است کاهش در مقادیر الیاف نامحلول در شوینده اسیدی و الیاف - نامحلول در شوینده خنثی را گزارش کردند (Xing و همکاران، ۲۰۰۹)؛ اما در مقابل، هم‌سو با نتایج حاضر، افزودنی‌های باکتریایی تأثیری بر غلظت دیواره سلولی سیلاژ نداشتند (Kent و همکاران، ۱۹۸۸). Kizilsimsek و Kung (۲۰۰۶) نیز گزارش کردند که افزودنی حاوی *لاکتوباسیلوس بوخنری و پدیوکوکوس پنتوزاسئوس* درصد الیاف نامحلول در شوینده اسیدی و الیاف نامحلول در شوینده خنثی را در سیلاژ ذرت با ۳۷ درصد ماده خشک در روزهای ۱۴، ۲۸، ۴۲، ۵۶، ۷۰، ۲۸۲ و ۳۶۱ پس از سیلو کردن تحت تأثیر قرار نداد. با این‌که بین تیمارهای آزمایشی از نظر غلظت دیواره سلولی در زمان‌های مختلف پس از سیلو کردن اختلاف معنی‌داری وجود نداشت، اما شاید بتوان روند کاهشی از نظر عددی با افزایش زمان پس از سیلوکردن را به کاهش pH نسبت داد. همی‌سلولز در شرایط اسیدی به دلیل این‌که به کاهش اسیدیته حساس بوده سریعاً تجزیه می‌شود (Kung و همکاران، ۲۰۰۰). در سیلاژ، استفاده از افزودنی اسیدی یا افزودنی‌هایی که سبب تولید اسیدلاکتیک می‌شود، باعث افزایش تجزیه همی‌سلولز شده است (Hristov و McAllister، ۲۰۰۲). در سیلوهای علوفه‌ای محدوده الیاف نامحلول در شوینده خنثی از ۵۰۰ تا ۶۵۰ گرم در کیلوگرم ماده خشک متغیر است. مقدار الیاف نامحلول در شوینده خنثی با بالا رفتن نسبت کدو آجیلی در سیلوها کاهش یافت (Vahedi و همکاران، ۲۰۱۱). در سیلوی کدو آجیلی با نسبت ۱۵:۸۵ کاه گندم و بقایای کدو آجیلی مقدار الیاف - نامحلول در شوینده خنثی ۶۰/۷۵ درصد گزارش شد (Abassi و Mokhtarpur، ۱۹۹۴). در تحقیق Keramandli و همکاران (۲۰۱۴) الیاف نامحلول در شوینده اسیدی تأثیری مشابه با الیاف نامحلول در شوینده خنثی در اثر افزودن سطوح مختلف کاه گندم داشت که مشابه نتایج تحقیق حاضر می‌باشد. تأثیر استفاده از افزودنی باکتری‌های مولد اسیدلاکتیک و اسید آلی بر فراسنجه‌های تخمیر سیلاژ مخلوط بقایای کدو آجیلی و تفاله گوجه‌فرنگی در جدول ۲ نشان داده‌شده است. نتایج نشان داد که میزان ازت آمونیاکی در بین تیمارهای مختلف در تمامی زمان‌های پس از سیلو کردن اختلاف معنی‌داری (به‌جز روز ۴۵ام) وجود داشت ($P<0/05$). هم‌چنین میزان pH در بین تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ($P>0/05$) و میزان pH در بین تیمارهای مختلف در

تمامی زمان‌های پس از سیلوکردن اختلاف معنی‌داری وجود داشت (P<۰/۰۵)

جدول۲- تأثیر استفاده از افزودنی باکتریایی و اسید آلی بر فراسنجه‌های تخمیری در روزهای مختلف بعد از سیلو کردن.

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

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

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

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

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

بین تیمارهای آزمایشی در تمامی زمان‌های پس از سیلو کردن از نظر میزان نیتروژن آمونیاکی تفاوت آماری معنی‌داری مشاهده شد (P<۰/۰۵) که هم‌سو با نتایج Hassanat و همکاران (۲۰۱۷) بوده است. میزان نیتروژن آمونیاکی با افزایش روزهای پس از سیلو کردن، روند افزایشی داشت که هم‌سو با روند کاهشی مقدار پروتئین خام بود. از این نظر پایین‌ترین مقدار افزایش در میزان نیتروژن آمونیاکی در گروه شاهد و بالاترین مقدار افزایش در میزان نیتروژن آمونیاکی در تیمار عمل‌آوری شده با باکتری مشاهده شد که دلیل بالاتر بودن ازت آمونیاکی در تیمار باکتری را می‌توان بیش‌تر بودن غلظت پروتئین خام در این افزودنی دانست. ازت آمونیاکی شاخصه‌ای از تجزیه پپتیدها و آمینواسیدها است و ملاکی برای درصد مرغوبیت سیلو و اندازه‌گیری میزان فعالیت کلستریدیوم‌ها می‌باشد (McDonald و همکاران، ۱۹۹۱). در تضاد با نتایج مطالعه حاضر، در یک بررسی فرا تحلیلی روی یافته‌های ٤٦ مطالعه نشان داده‌شده که افزودنی‌های باکتریایی تأثیری بر غلظت نیتروژن آمونیاکی ندارند (Keady و Steen، ۱۹۹٦). در مطالعه Hassanat و همکاران (۲۰۱۷) مشاهده شد که تا روز ٤ پس از سیلو کردن، پروتئین خام محلول و نیتروژن غیرپروتئینی در تمام سیلاژهای فرآوری شده به دلیل تجزیه زیاد و سریع پروتئین در فاز اولیه سیلو شدن، افزایش یافت. بالاترین مقدار نیتروژن آمونیاکی در روز اول پس از سیلو کردن مربوط به گروه شاهد بود (۰/٤٥ میلی‌مول بر لیتر). کاهش در غلظت نیتروژن - آمونیاکی در مطالعات مختلفی درنتیجه استفاده از

افزودنی باکتریایی (Adesogan و همکاران، ۲۰۰٤) و اسید آلی (Alikhani و همکاران، ۲۰۰۵) نشان داده‌شده است. به‌نظر می‌رسد تیمارهای دارای افزودنی با کاهش سریع pH از فعالیت آنزیم‌های گیاهی و میکروارگانیسم‌های هوازی ممانعت کرده و با کاهش فعالیت‌های دی‌آمیناسیون و پروتئولیز در سیلو سبب کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی شده‌اند (Muck، ۱۹۸۸). Ayoubi far و همکاران (۲۰۲۱) هم‌سو با نتایج تحقیق حاضر افزایش میزان ازت آمونیاکی را در زمان‌های پس از سیلو کردن گزارش کردند. در تضاد با نتایج مطالعه حاضر، کاهش در غلظت نیتروژن-آمونیاکی در تیمارهای دارای افزودنی باکتریایی بیانگر غلبه جمعیتی باکتری‌های اسیدلاکتیکی در محیط سیلو می‌باشد (Filya و همکاران، ۲۰۰۰).

pH شاخص مهم در ارزیابی سیلاژ بوده که با اندازه‌گیری آن می‌توان به میزان تولید اسیدلاکتیک و کیفیت فرآیند تخمیر پی برد. در بسیاری از مطالعات درنتیجه استفاده از افزودنی اسید آلی و باکتری عدم - تأثیر بر pH در سیلاژ ذرت گزارش‌شده است (Higginbotham و همکاران، ۱۹۹٦). در این مطالعه سرعت کاهش در pH تا روز ۷ پس از سیلو کردن در گروه دارای باکتری بالاتر از بقیه بود. علاوه بر این pH نهایی در روز ۹۰ پس از سیلو کردن در تیمارهای - دارای افزودنی در مقایسه با شاهد پایین‌تر بود. علت آن احتمالاً مربوط به افزودن اسید و باکتری‌های مولد اسیدلاکتیک می‌باشد که باکتری‌ها با تولید آنزیم سلولاز باعث تجزیه دیواره سلولی به قندهای محلول در آب شده در نهایت کاهش سریع‌تر pH شده است. کاهش سریع‌تر در pH سیلو به‌ویژه در فاز تخمیر می-تواند از طریق غیرفعال کردن پروتئاز گیاهی باعث جلوگیری از رشد میگروارگانیسم‌های نامطلوب مانند مخمر شوند (Kung و همکاران، ۲۰۰٤).

باکتری‌های به‌کاررفته در تهیه افزودنی باکتریایی در این مطالعه از نوع همگن بودند که نشان داده‌شده است که این دسته از باکتری‌ها سرعت اسیدی کردن سیلو را بالابرده و باعث افت pH پایانی و پروتئولیز در سیلو و کاهش ریسک تخمیر کلستریدیومی در سیلاژ می‌شوند (Keady و Murphy، ۱۹۹۵). به‌طورکلی، چون فرآیند تجزیه به‌شدت تحت تأثیر دسترسی کربوهیدرات‌های قابل‌تجزیه و باکتری‌های غالب طی فرآیند سیلو کردن می‌باشد، زمانی‌که pH سیلو تغییر پیدا نکند، تخمیر لاکتات توسط کلستریدیا باعث تولید اسید بوتیریک و تجزیه آمینواسیدها به محصولاتی کم ارزش می‌شوند. برای تهیه سیلو، جهت کم کردن ریسک ناشی از رشد میکروارگانیسم‌های مضر مثل قارچ، کلستریدیا و انتروباکتریاها دستیابی به یک pH پایین در مراحل اولیه فرآیند سیلو کردن بسیار مهم است (McDonald و همکاران، ۱۹۹۱). کاهش pH درنتیجه افزودنی باکتری احتمالاً به دلیل غالبیت جمعیتی باکتری‌های تولیدکننده اسیدلاکتیک در مراحل اول سیلو کردن می‌باشد. در مطالعه McAllisterو همکاران (۱۹۹۸) افزودنی میکروبی باعث افزایش سرعت کاهش pH طی سیلو کردن علوفه‌های گرامینه و مخلوط گرامینه و لگومینوز شد. در مطالعه‌ای استفاده از اسید آلی فرمیک (Naghel و Brodrick، ۱۹۹۲) در سیلاژ یونجه کاهش بیش‌تری در pH را در مقایسه با گروه شاهد باعث شد.

تأثیر استفاده از افزودنی باکتریایی و اسید آلی بر قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی و فراسنجه‌های تخمیری سیلاژ مخلوط تفاله گوجه‌فرنگی و تفاله کدو در جدول ۳ نشان داده‌شده است. استفاده از افزودنی‌های باکتریایی و اسید آلی تأثیر معنی‌داری بر قابلیت هضم ماده خشک و آلی، عامل تفکیک، توده میکروبی و بازده تولید گاز نداشت (P>۰/۰۵)، هرچند به‌طور عددی در مقایسه با گروه شاهد از قابلیت هضم بالاتری برخوردار بودند. بالاترین مقدار عامل تفکیک ٤/۵۷ میلی‌گرم در میلی‌لیتر، تولید پروتئین میکروبی ۱۱۹/۷۸، بازده تولید پروتئین میکروبی ۰/۵٤ و تولید

پروتئین میکروبی ۱۱۹/۷۸، مربوط بـه تیمـار دارای - افزودنـــــــــــی بـــــــــــاکتری بـــــــــــود.

جدول۳- تأثیر استفاده از افزودنی باکتریایی و اسید آلی بر قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی و فراسنجه‌های تخمیری.

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

تیمار Treatment	قابلیت هضم ماده خشک[1] Dry matter digestibility	قابلیت هضم ماده آلی[2] Organic matter digestibillity	عامل تفکیک[3] Parssing factor	تولید پروتئین میکروبی[4] Microbial protien production	بازده تولید پروتئین میکروبی Microbial protien production efficiency	بازده تولید گاز[5] Gaz production efficiency	pH	ازت آمونیاکی[6] N-NH3
شاهد Control	45.80	47.89	4.38	110.60	0.495^{c}	224.77	6.64^{a}	0.58^{a}
باکتری Bacteria	55.10	51.12	4.57	119.78	0.54^{a}	204.26	6.43^{ab}	0.30^{c}
اسید Acid	48.60	48.59	4.49	115.22	0.50^{bc}	212.11	6.35^{b}	0.57^{a}
باکتری+اسید Bacterial+Acid	52.05	49.95	4.52	117.35	0.52^{ab}	210.05	6.36^{b}	0.42^{b}
SEM	5.11	4.36	0.07	10.18	0.01	10.51	0.042	0.0083
p-value	0.80	0.80	0.35	0.81	0.04	0.59	0.038	0.0001

۱) قابلیت هضم ماده خشک پس از ۲٤ ساعت در شرایط آزمایشگاهی، ۲) قابلیت هضم ماده آلی پس از ۲٤ ساعت در شرایط آزمایشگاهی ، ۳) عامل تفکیک (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)، ٤) پروتئین میکروبی تولیدشده (میلی‌گرم بر گرم ماده خشک)، ٥) تولید گاز (میلی‌لیتر)، ٦) نیتروژن آمونیاکی (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر).
SEM میانگین خطای استاندارد.:P -value سطح احتمال معنی‌داری.
میانگین‌های هر ردیف با حروف غیرمشترک دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند (P<۰/۰٥).

1) Digestibility of dry matter after 24 hours in in-vitro, 2) Digestibility of organic matter after 24 hours in *in-vitro* 3) Parsing factor (mg.ml), 4) Microbial protein produced (mg per gram of dry matter), 5) Gas production (milli liter), 6) Ammonia nitrogen (mg per deci liter).
SEM: Mean Standard Error. P-value: level of significant probability.
The averages of each row with non-common letters have a significant difference (P<0.05).

سیلاژ به کمک فرآیند طبیعی تخمیر و از طریـق تولید اسیدلاکتیک بـه دسـت مـی‌آیـد (McDonald و همکاران، ۱۹۹۱). هدف از استفاده از افزودنی‌ها کمک به بهبود فرآیند سیلو کـردن و حفـظ مـواد مغـذی آن می‌باشد (McDonald و همکـاران، ۱۹۹۱). افزودنـی باکتریایی از طریق افزایش سـرعت تخمیـر و کـاهش سریع pH، موجـب پایـداری سـیلو گردیـد و ضـمن کاهش پروتئولیز، اتلاف قندهای محلول و دیگر مـواد مغذی را کـاهش مـی‌دهنـد (Muck، ۲۰۱۰). در ایـن مطالعه قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی در گـروه دارای افزودنی باکتریایی در مقایسه با گروه شاهد به‌طور غیر معنی‌داری بهبود یافـت (P>۰/۰٥). بـه نظـر می‌رسد که استفاده از افزودنی باکتریایی و اسـیدی در مقایسه با شاهد، مـواد مغـذی بـیش‌تـری را در سـیلو حفظ کرده باشد. بااین‌حال، عدم معنـی‌داری را شـاید نتوان به عدم تـأثیر افزودنـی‌هـا در سـیلو نسـبت داد. چراکه محیط سیلو نیز می‌تواند تأثیرات افزودنی‌هـا را متأثر سازد. در سیلاژهای دارای افزودنی سرعت افـت در pH در مقایسه با سـیلاژهای فاقـد افزودنـی بالـاتر بوده و احتمالاً سریع‌تر به مرحله تثبیت وارد می‌شوند. از این‌رو می‌توان گفت که افزودنی‌ها فرصت کم‌تـری برای هیدرولیز الیاف و سایر پیوندها دارند. لـذا مـی‌تواند بر مقدار کربوهیدرات‌های ساختمانی تأثیر داشته باشد. در مطالعـه‌ای اسـتفاده از افزودنـی باکتریـایی و آنزیمی به‌طور معنی‌داری پتانسیل تولید گاز را افزایش دادند. در برخی از مطالعـات هـم تلقـیح آنـزیم‌هـای

فیبرولایتیک و باکتری‌های اسیدلاکتیک در شرایط آزمایشگاهی قابلیت هضم سیلو را بهبود نبخشید (Dehghaniو همکاران، ۲۰۱۲). عامل تفکیک در حقیقت مبین نسبت تجزیه واقعی سوبسترا به حجم گاز تولیدشده در دوره زمانی انکوباسیون (۲٤ یا ٤۸ ساعت) بوده (Oliviera، ۱۹۹۸) و شاخصی از بهره‌وری سنتز توده میکروبی در شرایط آزمایشگاهی می‌باشد (Blummel و همکاران، ۱۹۹۷). در این مطالعه گروه دارای افزودنی باکتری از عامل تفکیک بالاتری برخوردار بود و ماده آلی بیش‌تری وارد ساختار میکروبی و تولید توده میکروبی شده که خود نشان‌دهنده بالا بودن بازده سنتز میکروبی می‌باشد.

نتیجه‌گیری کلی

به‌طورکلی، از نظر ترکیبات شیمیایی بالاترین ماده خشک در تیمار اسید و باکتری + اسید (به ترتیب ۲٤/۳۸ و ۲۳/۹۱)، بالاترین پروتئین خام در تیمار اسید و اسید + باکتری (به ترتیب ۱٦/۵۵ و ۱٦/۳۰)، بالاترین الیاف نامحلول در شوینده اسیدی در تیمار اسید + باکتری (٤۵/۷۰)، پایین‌ترین ازت آمونیاکی در تیمار اسید و اسید + باکتری (به ترتیب ۰/۲۰ و ۰/۲۱) و پایین‌ترین pH در تیمار باکتری و اسید + باکتری (به ترتیب ۳/۸۵ و ۳/۹۰) مشاهده گردید و نهایتاً این‌که تیمارهای حاوی افزودنی مخصوصاً تیمار اسید + باکتری نسبت به سایر تیمارها شرایط بهتری داشت. به‌طورکلی با توجه به نتایج کلی این پژوهش، استفاده از افزودنی‌های مختلف در مقایسه با گروه شاهد تأثیر قابل‌ملاحظه‌ای بر ارزش تغذیه‌ای سیلاژ مخلوط تفاله گوجه‌فرنگی و ضایعات کدو آجیلی نداشتند و با توجه به هزینه افزودنی‌ها توصیه می‌شود تفاله گوجه‌فرنگی و بقایای کدو آجیلی بدون افزودن هرگونه افزودنی مصرف گردد.

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 incubation soluble carbohydrates on the fermentation and aerobic stability of Bermuda grass. *Journal of Dairy Science*, 87: 3407–3416.

Aiubifar, M., Gharehbash, A.M, Bayat. and Farivar, F. 1400. Effect of different additives on chemical composition, fermentation parameters, digestibility and gas production of Gundelia tournefortii silage. *Journal of Ruminant Research*, 9(3), 1-24.

Alikhani, M., Alamooti, A.A., Ghorbani, G.R. and Sadeghi, N. 2005. Effect molasses, urea. and bacterial inoculation on the chemical composition and degradability of dry matter of ensiled sunflower. *Journal of Agricultural Sciences and Techniques and Natural Resources*, 3: 171–182.

Bampidis, V. A. and Robinson, P. H. 2006. Citrus by-products as ruminant feeds: A review. *Journal of Animal Feed Science and Technology*, 128:175-217.

Barzamini, H. 2014. The effect of adding sugar beet pomace and dry citrus pomace on chemical composition. Fermentation properties. Gas production and digestibility of tomato pomace silage. Master's thesis in animal nutrition. Faculty of Agriculture, Gonbad Kavos University.

Baytok, E., Aksu, T., Karsli, M.A. and Muruz, M. 2005. The effects of formic acid, molasses and inoculants as silage additives on corn silage composition and ruminal fermentation characteristics in sheep. *Turk Journal of Veterinary Animal Science*, 29: 469-474.

Blummel, M., Steingass, H. and Becker, K. 1997. The relationship between *in vitro* gas production, *in vitro* microbial biomas yield and 15N incorporation and its implications for the prediction of voluntary feed intake of roughages. *British Journal of Nutrition*, 77: 911-921.

Broderick, G.A. 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.

Buxton, R., Muck, R. E. and Harrison, F. 2003. Silage Science and Technology. American society
of agronomy. Madison. Wiscosin. USA.

Dehghani, M.R., Weisbjerg, M.R., Hvelplund, T. and Kristensen, N.B. 2012. Effect of enzyme addition to forage at ensiling on silage chemical composition and NDF degradation characteristics. *Livestock. Science*, 150: 51-58.

Ergül, M. 1988. Replacement of fishmeal by brewer's yeast in broiler rations with high levels of cottonseed meal and sunflower seed meal. *Landbauforschung Vlkenrode*, 38:211-219.

Filya, I., Ashbell, G., Hen, Y. and Weinberg, Z.G. 2000. The effect of bacterial inoculants on the fermentation and aerobic stability of whole crop wheat silage. *Animal Feed Science and Technology*, 88(1): 39-46.

Flork, S., Purwin, C., Mainakowski, D., Stanek, M. and Tredowicz, M. 2004. The influence of formic acid additives A. Use of phytogenic products feed on the quality of silage from different plant material. *Journal of Veterinary Ir zootechnike*, 26: 1392- 2130.

Gallo, J., Fernye, C., Orosz, S., Katona, K. and Szemethy, L. 2017. Tomato pomace silage as apotential new supplementary food for game species. *Journal of Agriculture and Food Science*, 26: 80-90.

Grasser, L. A., Fadel, J. G., Garnett, I. and DePeters, E. J. 1995. Quantity and economic importance of nine selected by products used in California dairy rations. *Journal of Dairy Science*, 78:962–971.

Hassanat, F., Gervais, R. and Benchaar, C. 2017. Methane production, ruminal fermentation characteristics, nutrient digestibility, nitrogen excretion, and milk production of dairy cows fed conventional or brown midrib corn silage. *Journal of Dairy Science*. 4: 2625-2636.

Higginbotham, G.E., DePeters, E.J. and Muellr, S.C. 1996. Effect of propionic acid producing bacteria on corn silage fermentation. *Journal of Professional Animal Science*, 12:176-180.

Hristov, A.N. and McAllister, T.A. 2002. Effect of inoculants on whole-crop barley silage fermentation and dry matter disappearance *in situ*. *Journal of Animal Science*, 80:510–516.

Keady, T.W.J. and Murphy, J.J. 1996. Effects of inoculant treatment on ryegrass silage fermentation, digestibility, rumen fermentation, intake and performance of lactating dairy cattle. *Grass Forage Science*, 51:232-241.

Keady, T.W.J. and Steen, R.W.J. 1995. The effects of treating low dry-matter, low dry –mater, and low digestibility grass with bacterial inoculants on the intake and performance of beef cattle, and studies on its mode of action. *Grass Forage Science*, 50:217-226.

Kent, B., Arambel, A. and Winsryg, J.L. 1988. Effect of bacterial inoculant on alfalfa haylage: ensilag characteristics and milk production response when fed to dairy cows in early lactation. *Journal Dairy Scienc*, 71: 2457-2561.

Keramandli, T., Gharehbash, A.M., Bayat Koohsar, J. and Mohajer, M. 2014. Investigating the nutritional value (chemical compounds, digestibility and gas production) of pumpkin and watermelon waste silage. Master's thesis, Gonbad Faculty of Agriculture and Natural Resources. 73.

Karimi.1990. Cultivation and Improvement of Fodder Plants. Tehran University Publications, Iran 428 pp.

Kim, S.C. and Adesogan, A.T. 2006. Influence of ensiling temperature, simulated rainfall, and delayed sealing on fermentation characteristics and aerobic stability of corn silage. *Journal of Dairy Science.*,89: 3122-3132.

Kizilsimsek, M., Schmidt, R.J. and Kung, L. 2007. Effects of a mixture of lactic Acid bacteria applied as a freeze-dried or fresh culture on the fermentation of alfalfa silage. *Journal of Dairy Science*, 90:5698-5705.

Kleinschmit, D.H. and Kung, J.R.L. 2006. The effects of *lactobacillus buchneri* 40788 and *pediococcus pentosaceus* R1094 on the fermentation of corn silage. *Journal of Dairy Science*, 89:3999-4004.

Kung, J.R., Myers, C.L., nylon, J.M., Taylor, C.C., Mills, J.A. and Whiter, A.G. 2004. The effects of buffered propionic acid-based additives alone or combined with microbial inoculation on the fermentation of the high moisture corn and whole-crop barley. *Journal of Dairy Science*, 87: 1310-1316.

Kung, J.R., Robinson, J.R., Ranjit, N.K., Chen, J.H., Golt, C.M. and Pesek, J.D. 2000. Microbial population fermentation end products and aerobic stability of corn silage treated with ammonia or a propionic acid based preservative. *Journal of Dairy Science*, 83: 227-234.

McAllister, T.A., Reniuk, R., Mir, Z., Mir, P., Selinger, S.B. and Cheng, K.J. 1998. Inoculants for ahfalfa silage: effects on aerobic stability, digestibility and the growth performance of feedlot streets. *Journal of Livestock Production Science*, 53: 171- 181.

McDonald, P., Henderson, A.R. and Heron, S.J.E. 1991. The Biochemistry of Silage (2nded), Chalcombe, U.K. 184p.

Menke, K.H., Raab, L., Salewski, A., Steingass, H., Fritz, D. and Schneider, W. 1979. The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feeding stuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor *in vitro*. *Journal of Agriculture Science*, 93: 217-222.

Miron, J., Ephraim, Z., Dgnit, S. and Gabriel, A. 2005. Yield, composition, *in vitro* digestibility of new forage sorghum varieties and their ensilage characteristics. *Animal Feed Science and Tecnology*, 120: 17-32.

Mokhtarpur, G. and Abbasi, A. 1994. Selection of the best silage preparation method of pumpkin waste, Final Report of the Research Project, Natural Resources Research Center of Golestan Province.

Muck, R.E. 1988. Factors influencing silage quality and their implications for management. *Journal of Dairy Science*, 71(11), 2992-3003.

Muck, R.E. 2010. Silage Additives and Management Issues. Idaho Alfalfa and Forage Conference Proceedings, Burley, ID, Feb. 16-17. p. 49-55.

Muck, R.E. and Kung, L.J.R. 2007. Silage Production. Pages 617-633 in Forages: The Science of Grassland Agriculture. Vol. II. 6th ed. R. F.

Muck, R.E. and Kung, L.Jr. 1997. Effects of silage additives on ensiling. Pro. Form the Silage: Field to Feedbunk North American Conference. 99: 187-199.

Mussatto, S. I., Dragone, G. and Roberto, I. C. 2006. Brewer's spent grain: generation, characteristics and potential applications. *Journal of Cereal Science*, 43(1), 1-14.

Naghel, G.A. and Brodrick, J.H. 1992. Automated simultaneous determination of ammonia and total amino acids in ruminal fluid and *in vitro* media. *Journal of Dairy Science*, 6: 64-75.

Niderkorn, V. and Baumont, R. 2009. Associative effects between forages on feed intake and digestion in ruminants. *Animal Journal*, 3:7, 951-960, https://doi.org/10.1017/S1751731109004261.

Saghebi, M., Khalil Vandi Behroozyar, H., Pirmohammadi, R. and Donyadoust-Chelan, M. 2023. Evaluation the effects of biological processing of wheat straw by *Aspergillus oryzae* on rumen fermentation parameters and fiber degradability in ruminants. *Journal of Ruminant Research*, (4) 10, 1-20. DOI: 10.22069/ejrr.2022.19674.1818.

Slottner, D. and Bertilsson, J. 2006. Effect of ensiling technology on protein degradation during ensiling. *Journal of Animal Feed Science and Technology*, 127: 101-111.

Theodorou, M.K., Williams, B.A., Dhanoa, M.S., McAllan, A.B. and France, J. 1994. A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. *Journal of Animal Feed Science and Tecnology*, 48 (3-4): 185-197.

Ulger, I., Kaliber, M., Ayahan, T. and Küçük, O. 2018. Chemical composition, organic matter digestibility and energy content of apple pomace silage and its combination with corn plant, sugar beet pulp and pumpkin pulp. *South African Journal of Animal Science*, 48:497–503.

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

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