

## Effect of irrigation with sewage wastewater on contamination and quality of corn silage

**Mohamad Hosein Hashemzadeh<sup>1</sup>, Mohamad Khorvash<sup>2</sup>, Amir Hosein Mahdavi<sup>3</sup>,  
Ali Jabarzareh<sup>1</sup>, Reihaneh Amini<sup>4</sup>, Hassan Rafiee<sup>5</sup>**

<sup>1</sup> PhD student in Department of Animal Sciences, Isfahan University of Technology

<sup>2</sup> Faculty member of Department of Animal Sciences (Retired), Isfahan University of Technology

<sup>3</sup> Faculty member of Department of Animal Sciences (Retired), Isfahan University of Technology

<sup>4</sup> MSc student in Molecular Cell Biology-Microbiology, Isfahan University

<sup>5</sup> Animal Science Research Department, Isfahan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Isfahan

### Article Info

**Article type:**  
Research Full Paper

**Article history:**  
Received: 01/22/2024  
Revised: 02/22/2024  
Accepted: 02/24/2024

**Keywords:**  
Corn silage  
Microbial factors  
Quality indicators  
Treated wastewater  
Volatile fatty acids

### ABSTRACT

**Background and Objectives:** As a result of the water scarcity, the use of unconventional water in the country, especially municipal wastewater, is inevitable. However, worries have always been existing about the possible contamination of these sources and the entry of these contaminants into the human food chain. Corn silage is regarded as one of the candidate products for irrigation with wastewater due to the possible reduction of microbial contamination resulting from various processing steps. The objective of this study was to investigate the quality and hygienic characteristics of corn silage irrigated by well water and treated wastewater.

**Materials and Methods:** For this purpose, information of 11 industrial dairy herds that provided their corn forage from lands located around the northern Isfahan water treatment plant were compared with 11 other dairy herds with source of purchased corn forage from lands irrigated with well water. The chemical composition of silage samples, including dry matter, ash, crude protein, and ether extract, were measured using the proximate analysis. Also, neutral detergent fiber and acid detergent fiber were measured based on the Van Soest method. Furthermore, the net energy for lactation and non-fiber carbohydrates were calculated using Adams' equation and the subtraction method, respectively. Volatile fatty acids were measured using gas chromatography, while microbial population were measured according to the instructions of microbiological tests. The comparison of the mean values of the two groups of corn silage irrigated with the well water and treated wastewater was performed using SAS statistical software and the T-test procedure.

**Results:** There was no significant difference between the two groups of corn silage in terms of dry matter, ether extract, neutral detergent fiber, acid detergent fiber, net energy for lactation and ash. However, the percentage of crude protein and the amount of acetic acid in the corn silage irrigated with treated wastewater were significantly lower than the control group ( $P<0.01$ ). In contrast,

---

samples irrigated with treated wastewater had higher levels of non-fiber carbohydrates, along with propionic and butyric acids, which ultimately decreased the pH of silage ( $P<0.01$ ). In terms of hygienic indicators, despite no significant difference in the amount of *E. coli* and *Salmonella* colonies between the two groups, the number of gram-negative bacteria, lactobacilli and the total bacterial count in the silage irrigated with treated wastewater were higher ( $P<0.05$ ).

**Conclusion:** When treated sewage wastewater is utilized for irrigating corn forage, it alters the type of fermentation that takes place in the corn silage, leading to an increase in the levels of propionic and butyric acids, while decreasing the levels of acetic acid. As a result, the pH of the corn silage decreases further. According to this research, using treated sewage wastewater can negatively impact the quality of corn silage fermentation. This can result in a reduction of crude protein levels and an increase in certain microbial components. Therefore, it is crucial to improve the urban wastewater treatment process by reducing the concentration of ammonium nitrogen.

---

**Cite this article:** Hashemzadeh, M.H. Khorvash, M., Mahdavi, A.h., Jabarzareh, A., Amini, R., Rafiee, H. (2024). Effect of irrigation with sewage wastewater on contamination and quality of corn silage. *Journal of Ruminant Research*, 12(3), 57-70.



© The Author(s).

DOI: 10.22069/ejrr.2024.22020.1928

Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

---

# پژوهش در نشخوار کنندگان

شایا چاپی: ۲۳۴۵-۴۲۶۱  
شایا الکترونیکی: ۲۳۴۵-۴۲۵۳



دانشگاه علوم پزشکی و تحقیقات پرورشی کلان

## تأثیر آبیاری با پساب فاضلاب تصفیه شده و آب چاه بر ترکیب شیمیایی و ویژگی های کیفی سیلاز ذرت

محمدحسین هاشم زاده<sup>۱</sup>، محمد خوروش<sup>۲</sup>، امیرحسین مهدوی<sup>۳</sup>، علی جبارزار<sup>۴</sup>،

ریحانه امینی<sup>۵</sup>، حسن رفیعی<sup>۶\*</sup>

- <sup>۱</sup> دانشجوی دکترای گروه علوم دامی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران، رایانame: mm-hashemzade72@yahoo.com
- <sup>۲</sup> عضو بازنیسته هیات علمی گروه علوم دامی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران، رایانame: khorvash@iut.ac.ir
- <sup>۳</sup> عضو هیات علمی گروه علوم دامی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران، رایانame: mahdavi@iut.ac.ir
- <sup>۴</sup> دانشجوی دکترای گروه علوم دامی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران، رایانame: ali.jabar1121@gmail.com
- <sup>۵</sup> دانشجوی کارشناسی ارشد زیست شناسی سلولی مولکولی- میکروبیولوژی، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران، رایانame: reihaneh.amini66@gmail.com
- <sup>۶</sup> عضو هیات علمی پخش تحقیقات علوم دامی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان اصفهان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، اصفهان، ایران، رایانame: harafiee@yahoo.com

### اطلاعات مقاله چکیده

|               |   |
|---------------|---|
| نوع مقاله:    | مقاله کامل علمی - پژوهشی  |
| ساقبه و هدف:  | با توجه به کمبود آب، استفاده از آب های نامتعارف در کشور به خصوص پساب فاضلاب تصفیه شده شهری برای آبیاری محصولات کشاورزی اجتناب ناپذیر می باشد. با این حال نگرانی هایی در زمینه آلودگی های احتمالی این منابع و ورود این آلودگی ها به زنجیره غذایی انسان وجود دارد. ذرت علوفه ای به دلیل احتمال کاهش آلودگی میکروبی در مراحل مختلف سیلو کردن، به عنوان یکی از محصولات مناسب برای آبیاری با پساب فاضلاب مطرح است. هدف از مطالعه حاضر، بررسی تأثیر آبیاری با پساب فاضلاب تصفیه شده و آب چاه بر ترکیب شیمیایی و ویژگی های کیفی سیلاز ذرت بود. |
| تاریخ دریافت: | ۱۴۰۲/۱۰/۰۲  |
| تاریخ ویرایش: | ۱۴۰۲/۱۲/۰۳  |
| تاریخ پذیرش:  | ۱۴۰۲/۱۲/۰۵  |

**مواد و روش ها:** برای این منظور، نمونه های سیلاز ۱۱ گله گاو شیری که علوفه ذرت موردنیاز خود را از مزارع واقع در محلوده تصفیه خانه شمال اصفهان تهیه می کردند، به همراه ۱۱ گله دیگر که منبع خرید علوفه ذرت آنها از مزارع تحت آبیاری با آب چاه بود، جمع آوری شدند. ترکیبات شیمیایی نمونه های سیلاز شامل ماده خشک، خاکستر، پروتئین خام و عصاره اتری با استفاده از روش تجزیه تقریبی و الیاف نامحلول در شوینده خشی و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی براساس روش ونسوست اندازه گیری شد. همچنین انرژی خالص شیردهی<sup>۱</sup> و کربوهیدرات های غیرالیافی<sup>۲</sup> به ترتیب با استفاده از معادله آدامز و روش تفریق محاسبه گردید. اسیدهای چرب فرار و جمعیت میکروبی به ترتیب با استفاده از دستگاه گاز کروماتوگرافی و روش های استاندارد میکروبیولوژی اندازه گیری شد. میانگین ترکیب شیمیایی و ویژگی های کیفی دو گروه سیلاز به وسیله نرم افزار آماری SAS و رویه Ttest مقایسه گردید.

### واژه های کلیدی:

اسیدهای چرب فرار  
پساب فاضلاب تصفیه شده  
سیلاز ذرت  
شاخص های کیفی  
عوامل میکروبی

<sup>1</sup> NEL, net energy for lactation

<sup>2</sup> NFC, non-fiber carbohydrates

یافته‌ها: تفاوت معنی‌داری در میزان ماده خشک، عصاره اتری، الیاف نامحلول در شوینده خشی، الیاف نامحلول در شوینده اسیدی، انرژی خالص شیردهی و خاکستر بین دو گروه سیلازهای ذرت آبیاری شده با پساب فاضلاب تصفیه شده و آب چاه مشاهده نشد. با این حال درصد پروتئین خام و مقدار اسید استیک موجود در سیلازهای ذرت آبیاری شده با پساب فاضلاب کمتر از گروه شاهد بود ( $P < 0.01$ ). در مقابل، نمونه‌های آبیاری شده با پساب فاضلاب دارای مقدار بیشتری کربوهیدرات غیر الیافی به همراه اسیدهای چرب فرار پروپیونیک و بوتیریک بودند که در نهایت باعث کاهش معنی‌دار pH گردید ( $P < 0.01$ ). از لحاظ شاخص‌های بهداشتی، علی‌رغم عدم مشاهده تفاوت معنی‌دار در مقدار کلی‌های اشتهاکی و سالمونلا بین دو گروه، تعداد باکتری‌های گرم منفی، لاکتوباسیل و کل شمارش باکتری در سیلاز آبیاری شده با پساب فاضلاب بیشتر بود ( $P < 0.05$ ).

نتیجه‌گیری: استفاده از پساب فاضلاب تصفیه شده برای آبیاری ذرت علوفه‌ای منجر به تغییر نوع تخمیر سیلاز ذرت و افزایش اسید پروپیونیک و بوتیریک و کاهش اسید استیک می‌شود که در نهایت منجر به کاهش بیشتر pH سیلو می‌گردد. بر اساس یافته‌های حاضر به نظر می‌رسد با توجه به اثرات مخرب استفاده از پساب فاضلاب تصفیه شده در کیفیت تخمیر، کاهش پروتئین خام و افزایش برخی از فاکتورهای میکروبی، بایستی تمهداتی جهت بهبود فرآیند تصفیه فاضلاب شهری به ویژه کاهش غلظت نیتروژن آمونیومی انجام گیرد.

استناد: هاشم‌زاده، محمدحسین؛ خوروش، محمد؛ مهلوی، امیرحسین؛ جبارزارع، علی؛ امینی، ریحانه؛ رفیعی، حسن. (۱۴۰۳). تأثیر آبیاری با پساب فاضلاب تصفیه شده و آب چاه بر ترکیب شیمیایی و ویژگی‌های کیفی سیلاز ذرت. پژوهش در نسخوارکنندگان، ۱۲(۳)، ۵۷-۷۰.

DOI: 10.22069/ejrr.2024.22020.1928



© نویسنده‌گان.

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

## مقدمه

انجام گرفته است (Haj Rasoliha و Safari Sanjani، ۲۰۰۱، Abbasi و همکاران، ۲۰۲۱). در تحقیقی اعلام گردید که استفاده از پساب فاضلاب می‌تواند باعث افزایش عملکرد تولید ذرت علوفه‌ای شود که این افزایش احتمالاً به علت وجود عناظر معدنی مانند نیتروژن، فسفر و پتاسیم در پساب فاضلاب است (Abbasi و همکاران، ۲۰۲۱). متأسفانه مطالعات اندکی در مورد تأثیر آبیاری با پساب فاضلاب بر کیفیت سیلائز ذرت انجام شده است. تنها مطالعه انجام گرفته در مورد اثرات استفاده از پساب تصفیه فاضلاب بر کیفیت و بهداشت سیلائز ذرت به تحقیق Weinberg و همکاران (۲۰۰۴) محدود می‌گردد. در این تحقیق بیان گردید که استفاده از پساب فاضلاب بر کیفیت سیلائز ذرت از لحاظ بهداشتی تأثیر منفی ندارد و این سیلائز می‌تواند در تغذیه گاوهای شیری پر تولید استفاده گردد. البته نکته قابل ذکر این است که کیفیت پساب فاضلاب بسته به سیستم تصفیه بسیار متفاوت است (Haruta و همکاران، ۲۰۰۸) که باعث به وجود آمدن تفاوت‌های بسیار در نتایج تحقیقات می‌شود. علاوه بر این، کیفیت خاک تحت تأثیر مدت استفاده از پساب بسیار متغیر است که می‌تواند اثرات متفاوتی بر کیفیت محصولات زراعی داشته باشد (Haj Rasoliha و Safari Sanjani، ۲۰۰۱).

با توجه به اینکه بخش وسیعی از اراضی کشاورزی منطقه برخوار استان اصفهان توسط پساب فاضلاب خروجی تصفیه‌خانه شمال اصفهان آبیاری می‌گردد، انجام یک تحقیق میدانی مرتبط با اثرات پساب تصفیه‌شده فاضلاب بر کیفیت سیلائز ذرت ضروری بود. لذا هدف از این تحقیق بررسی دامنه وسیعی از خصوصیات کیفی و بهداشتی سیلائز ذرت آبیاری شده با پساب فاضلاب در اراضی کشاورزی برخوار اصفهان بود.

امروزه یکی از مهم‌ترین مباحث جهانی، تأمین مواد غذایی برای جمعیت در حال رشد، با توجه به منابع طبیعی محدود و کمترین آثار مخرب را روی محیط‌زیست می‌باشد، است (FAO، ۲۰۲۳). علاوه بر قابلیت دسترسی به این منابع، کیفیت آن‌ها نیز حائز اهمیت است؛ به طوری که کیفیت منابع طبیعی تحت تأثیر فعالیت‌های انسان (کشاورزی، صنعتی و شهری) بوده و در حال حاضر روند نگران‌کننده‌ای را طی می‌کند (Khoshravesh و همکاران، ۱۴۰۰).

کشور ایران یکی از کشورهای کمرنگ خشک کره زمین است که حدود ۶۰ درصد وسعت آن دارای آب و هوای کاملاً خشک بیابانی و ۳۵ درصد آن دارای آب و هوای نیمه‌خشک بوده و به طور کلی میانگین بارش در ایران (۲۲۸ میلی‌متر) کمتر از یک‌سوم میانگین بارش جهانی است (FAO، ۲۰۰۸). با توجه به این شرایط، استفاده از آب‌های نامتعارف در کشور به خصوص پساب فاضلاب شهری اجتناب‌ناپذیر است (Haj Rasoliha و Safari Sanjani، ۲۰۰۱).

همواره نگرانی‌هایی در زمینه آلودگی‌های احتمالی این منابع و ورود این آلودگی‌ها به زنجیره غذایی انسان وجود داشته است (Weinberg و همکاران، ۲۰۰۴). استفاده از پساب تصفیه‌شده فاضلاب برای محصولاتی که به طور مستقیم به مصرف انسان نمی‌رسند، به عنوان یکی از راهکارهای کاهش انتقال آلودگی به انسان عنوان شده است. در این میان، سیلائز ذرت به دلیل احتمال کاهش آلودگی میکروبی حاصل از طی نمودن مراحل مختلف فرآوری، به عنوان یکی از محصولات مناسب برای آبیاری با پساب فاضلاب مطرح است (Weinberg و همکاران، ۲۰۰۴).

تاکنون در ایران تحقیقات محدودی در زمینه اثرات آبیاری با پساب فاضلاب بر خصوصیات خاک و برخی از خصوصیات کیفی محصولات زراعی

پساب) و نوع مدیریت سیلاز (کوبش علوفه به وسیله لودر، پوشش کامل سیلو به وسیله برزن特 و پلاستیک و برداشت علوفه توسط لودر) متناسب با گله‌های اصلی باشند. بدین ترتیب برای هر کدام از سیلازهای آبیاری شده با آب چاه و یا پساب فاضلاب تصفیه شده ۱۱ نمونه سیلاز ذرت گرفته شد و به عنوان تکرار استفاده گردید. برخی از خصوصیات شیمیایی و بهداشتی پساب فاضلاب تصفیه شده در این تصفیه خانه به همراه اطلاعات میانگین ۵ چاه منتخب در منطقه شمال و شرق اصفهان در جدول ۱ نشان داده شده است.

## مواد و روش‌ها

در این پژوهش از اطلاعات ۱۱ گله گاو شیری صنعتی که علوفه ذرت موردنیاز خود را از مزارع منطقه برخوار شرقی استان اصفهان، واقع در محدوده تصفیه خانه شمال اصفهان تا منطقه حبیب‌آباد تهیه می‌کردند، استفاده گردید. علاوه بر این تعداد ۱۱ گله دیگر از سایر نقاط محدوده شهر اصفهان که منبع خرید علوفه ذرت آن‌ها از مزارع تحت آبیاری با آب چاه بود، به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. گله‌های شاهد طوری انتخاب شدند که از لحاظ تعداد دام مولد (بین ۴۰ تا ۸۵ رأس)، ساختمان سیلو (یک واحد سیلوی خندقی با شیب رو به درون و چاه ذخیره

جدول ۱- برخی از خصوصیات شیمیایی و بهداشتی پساب فاضلاب تصفیه شده در تصفیه خانه شمال اصفهان و آب چاه<sup>۱</sup>

Table 1. Some chemical and hygienic properties of treated wastewater in the treatment plant of north Isfahan and well water<sup>۱</sup>

| متغیر<br>Characteristics   | دستگاه اندازه‌گیری<br>Gauge           | آب چاه (خطای استاندارد)<br>Treated wastewater (خطای استاندارد) | پساب تصفیه شده فاضلاب<br>Well water (SE) |
|--|---------------------------------------|--|--|
| هدایت الکتریکی<br>Electrical conductivity ( $\text{ds m}^{-1}$ ) | Electrical Conductivity Ohm meter 644 | $6.48 \pm 0.57$  | $1.11 \pm 0.57$                          |
| pH   | pH meter 3330, Jenway                 | $7.20 \pm 0.67$  | $7.75 \pm 0.67$                          |
| نیتروژن آمونیومی (mg L <sup>-1</sup> )<br>nitrogen               | Elisa Reader                          | $9.10 \pm 2.03$  | $39.3 \pm 2.03$                          |
| نیتروژن نیتراتی (mg L <sup>-1</sup> )                            | Hatch DR6000                          | $5.18 \pm 0.96$  | $5.29 \pm 0.96$                          |
| سرب (ppm)<br>Lead (ppm)  | Atomic Absorption                     | $0.32 \pm 0.21$  | $0.56 \pm 0.21$                          |
| کادمیوم (ppm)  | Atomic Absorption                     | < DL   | < DL <sup>2</sup>                        |
| اشرشیاکلی (cfu mL <sup>-1</sup> )                                | Differential growth medium            | ND <sup>3</sup>  | $3.54 \pm 0.16$                          |
| سالمونела (cfu mL <sup>-1</sup> )                                | Differential growth medium            | ND   | $2.45 \pm 0.10$                          |
| لакتوبراسیل (cfu mL <sup>-1</sup> )                              | Differential growth medium            | ND   | $4.44 \pm 0.24$                          |
| گرم منفی (cfu mL <sup>-1</sup> )<br>bacteria                     | Differential growth medium            | $0.82 \pm 0.28$  | $4.71 \pm 0.28$                          |
| کل شمارش میکروبی (cfu mL <sup>-1</sup> )<br>bacterial count      | Differential growth medium            | $3.03 \pm 0.80$  | $6.51 \pm 0.80$                          |

<sup>۱</sup>Average of five selected wells in the north and east of Isfahan

<sup>۱</sup>میانگین پنج چاه منتخب در شمال و شرق اصفهان

<sup>۲</sup>Detection Limit

<sup>۲</sup>زیر حد تشخیص

<sup>۳</sup>Not Detection

<sup>۳</sup>غیرقابل تشخیص

نقطه از عمق ۴۰ تا ۳۰ سانتی‌متری یک نمونه با وزن تقریبی ۳۵۰ گرم اخذ گردید. سپس نمونه‌ها درون کیسه‌های نایلونی قرار گرفتند و درب آن محکم بسته شد. پس از برداشت نمونه از نقطه مورد نظر، دمای

نمونه‌گیری از سیلاز در یک بازه دو ماهه و به روش استاندارد SR EN ISO ۱۶۰۹۰ انجام گرفت (Hutjens). در این روش از مقطع عمودی هر سیلو ۱۲ تا ۱۶ نقطه، بسته به ابعاد سیلو انتخاب شدند و در هر

داده شد و شمارش تعداد کلنی و محاسبه تعداد باکتری طبق دستور کار آزمون‌های میکروبیولوژی انجام گرفت (Mortazavi و همکاران، ۲۰۰۷). مقایسه میانگین دو گروه سیلاژ ذرت آبیاری شده با آب چاه و پساب فاضلاب، به وسیله نرم‌افزار آماری SAS و رویه آزمون Ttest انجام گرفت. قبل از هر بار مقایسه میانگین، ابتدا واریانس هر دو گروه سنجیده شد و سپس با توجه به مساوی و یا نامساوی بودن واریانس‌ها، از روش مناسب استفاده گردید. در این مورد هنگامی که واریانس دو تیمار اختلاف معنی‌داری نداشتند از واریانس ادغام شده<sup>۷</sup> استفاده گردید (Kaps و Lamberson، ۲۰۱۷). مدل استفاده شده به شرح زیر می‌باشد:

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

در این مدل  $\mu$  بیانگر میانگین کلی، Treat بیانگر اثر ثابت تیمار (آبیاری علوفه ذرت با پساب تصفیه شده فاضلاب و یا آب چاه) و  $e$  اثر تصادفی باقیمانده می‌باشد.

محل توسط دماسنجه الکلی ثبت گردید. نمونه‌های سیلاژ ذرت برای آزمایشات میکروبی به صورت جداگانه و با رعایت موازین بهداشتی با استفاده از دستکش لاتکس یکبار مصرف برداشته شدند و سپس داخل فلاکس حاوی یخ به آزمایشگاه منتقل شدند.

ترکیبات شیمیابی نمونه‌های سیلاژ شامل ماده خشک، خاکستر، پروتئین خام و عصاره اتری با استفاده از روش تجزیه تقریبی (Horwitz، ۱۹۷۵) و الیاف نامحلول در شوینده خشی و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی براساس روش ون‌سوست (Van Soest و Goering، ۱۹۷۰) اندازه‌گیری شد. همچنین انرژی خالص شیردهی<sup>۱</sup> و کربوهیدرات‌های غیرالیافی<sup>۲</sup> به ترتیب با استفاده از معادله آدامز (Adams و Moss، ۲۰۰۰) و روش تفریق<sup>۳</sup> محاسبه گردید. برای اندازه‌گیری اسیدهای چرب فرار شامل اسید استیک، اسید پروپیونیک و اسید بوتیریک، ابتدا عصاره سیلاژ با روش‌های استاندارد استخراج شد و سپس با دستگاه کروماتوگرافی گازی با سه تکرار اندازه‌گیری شد (Hutjens، ۲۰۰۹). برای اندازه‌گیری جمعیت میکروبی نمونه‌های سیلاژ، ابتدا مقدار ۹۰۰ میلی لیتر سرم فیزیولوژیک به ۱۰۰ گرم نمونه سیلاژ استریل اضافه گردید؛ سپس محتويات به مدت یک ساعت در شیکر نگهداری شدند. در ادامه ۹۰۰ میکرولیتر از محتويات به اپندورف حاوی ۱۰<sup>-۵</sup> ادامه پیدا کرد. در آخر ۱۰۰ میکرولیتر از میکرولیتر سرم فیزیولوژیک اضافه شد و رقیق‌سازی تا غلظت ۱۰<sup>-۵</sup> ادامه پیدا کرد. هر رقت در پلیت‌های حاوی محیط‌های MRS<sup>۴</sup>، EMB<sup>۵</sup> و XLD<sup>۶</sup> آگار به مدت ۴۸ ساعت کشت

<sup>1</sup> NEL, net energy for lactation

<sup>2</sup> NFC, non-fiber carbohydrates

<sup>3</sup> NFC = 100 – (NDF + CP + EE + ASH)

<sup>4</sup> Lactobacillus MRS Agar

<sup>5</sup> Eosin Methylene Blue

<sup>6</sup> Xylose lysine deoxycholate

## نتایج و بحث

این مطالعه به منظور ارزیابی کیفیت و سلامت سیلاژ ذرت آبیاری شده با پساب فاضلاب در استان اصفهان انجام شد. پساب فاضلاب ممکن است منبع میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا، فلزات سنگین و مواد شیمیابی مختلف باشد. میانگین تولید شیر سالیانه در گاوداری‌های صنعتی استان اصفهان بیش از ۱۱/۵ تن است (Nasre Esfahani، ۲۰۱۷) و بنابراین این گاوهای به هر گونه تغییر در کیفیت خوراک یا بهداشت حساس می‌باشند. به منظور ارزیابی وضعیت کیفیت و سلامت سیلاژ ذرت که با پساب فاضلاب آبیاری می‌شوند، جمعیت میکروارگانیسم‌های مختلف *Escherichia coli*.

<sup>7</sup> Pooled variance

تحقیقات نشان داده‌اند که غلظت بالای سطوح نیتروژن آمونیومی در خاک باعث اختلال در جذب مواد آلی و نیتروژن توسط گیاه می‌شود (Chen و همکاران، ۲۰۰۰؛ Marschner، ۱۹۹۵). با توجه به غلظت بالای نیتروژن آمونیومی در پساب فاضلاب تصفیه شده، کاهش پروتئین در سیلاژهای آبیاری شده با پساب را می‌توان توجیه کرد. علاوه بر این، جانشینی فلزهای سنگینی مانند سرب با فلزهای ضروری که در ساختار آنزیم‌ها و پروتئین‌ها نقش دارند، باعث اختلال در فرآیند تولید پروتئین در گیاه می‌گردد (Dirilgen، ۲۰۰۱). کاهش معنی‌دار سطح پروتئین و کاهش عددی سطح الیاف نامحلول در شوینده خشی در سیلاژ آبیاری شده با پساب تصفیه شده فاضلاب منجر به افزایش سطح کربوهیدرات غیرفیبری گردید.

میانگین دمای سطوح مختلف، پروفایل اسیدهای چرب فرار و pH سیلاژها در جدول ۳ بیان شده است. به طورکلی میانگین دمای سیلاژهای آبیاری شده با پساب فاضلاب نسبت به گروه شاهد تمایل به کاهش داشت ( $P=0.08$ ، در مقابل  $29/5$  درجه سانتی-گراد). با این حال مقدار دما در سطوح مختلف سیلاژ از الگوی متفاوتی پیروی می‌کرد. در این رابطه دمای لایه‌های فوقانی سیلاژهای آبیاری شده با پساب فاضلاب نسبت به گروه شاهد تفاوت معنی‌داری نداشت ( $P=0.10$ ، در مقابل  $32/5$  درجه سانتی-گراد) ولی در لایه‌های پایینی الگوی متفاوتی داشت به طوری که دمای سیلاژ ذرت آبیاری شده با پساب فاضلاب بیش از ۵ درجه سانتی-گراد کمتر از گروه شاهد بود ( $P<0.01$ ، در مقابل  $29/1$  درجه سانتی-گراد).

*E* و *Salmonella*) و پروفایل اسیدهای چرب بررسی شدند.

همانطور که در جدول ۱ مشاهده می‌شود میزان نیتروژن آمونیاکی و میزان باکتری‌های مختلف در پساب فاضلاب خیلی بیشتر از آب چاه می‌باشد. مشابه با نتایج ما Khoshravesh و همکاران (۱۴۰۰) بیان کردند که سطح سرب در پساب فاضلاب بیشتر از آب چاه می‌باشد. نکته قابل توجه در این است که با بررسی منابع مختلف مشخص می‌شود که ترکیب شیمیایی پساب فاضلاب تصفیه شده در مناطق مختلف کاملاً با هم متفاوت می‌باشد که این موضوع بیانگر این است که حتماً در زمان استفاده از پساب برای آبیاری محصولات کشاورزی باید آن را آزمایش کرد و براساس ترکیب شیمیایی در مورد استفاده یا عدم استفاده از آن تصمیم‌گیری کرد.

ترکیبات شیمیایی سیلاژهای آبیاری شده با پساب فاضلاب و آب چاه در جدول ۲ نشان داده شده است. تفاوت معنی‌داری در میزان ماده خشک، چربی خام، الیاف نامحلول در شوینده خشی، الیاف نامحلول در شوینده اسیدی، انرژی خالص شیردهی و خاکستر بین دو گروه سیلاژهای ذرت آبیاری شده با پساب فاضلاب تصفیه شده و آب چاه مشاهده نشد. با این حال پروتئین خام موجود در سیلاژهای ذرت آبیاری شده با پساب فاضلاب کمتر از گروه شاهد بود ( $P<0.01$ ، در مقابل  $8/98$  درصد). همچنین کربوهیدرات غیر الیافی در نمونه‌های سیلاژ آبیاری شده با پساب فاضلاب بیشتر از نمونه‌های آبیاری شده با آب چاه بود ( $P<0.05$ ، در مقابل  $19/42$  درصد).

## تأثیر آبیاری با پساب فاضلاب تصفیه شده و آب چاه... / محمدحسین هاشم‌زاده و همکاران

جدول ۲- مقایسه ترکیبات شیمیایی سیلاز ذرت آبیاری شده با پساب فاضلاب تصفیه شده و سیلاز ذرت آبیاری شده با آب چاه

Table 2. Comparison of chemical compositions in corn silages irrigated by treated wastewater and well water

| p-value | آب چاه                |                         | متغیر<br>Characteristics                          |  |
|---------|-----------------------|-------------------------|---|--|
|         | پساب فاضلاب تصفیه شده |                         |   |  |
|         | (خطای استاندارد)      | (خطای استاندارد)        |   |  |
|         | Well water (SE)       | Treated wastewater (SE) |   |  |
| 0.24    | 23.17 ± 0.63          | 22.10 ± 0.63            | ماده خشک (%)                                      |  |
| < 0.01  | 8.98 ± 0.29           | 7.05 ± 0.29             | پروتئین خام (%)                                   |  |
| 0.30    | 2.64 ± 0.16           | 2.89 ± 0.16             | عصاره اتری (%)                                    |  |
| 0.11    | 60.97 ± 1.48          | 57.47 ± 1.48            | الیاف نامحلول در شوینده خشک (%)                   |  |
| 0.80    | 34.76 ± 1.00          | 35.12 ± 1.00            | الیاف نامحلول در شوینده اسیدی (%)                 |  |
| 0.04    | 19.42 ± 1.52          | 24.08 ± 1.52            | کربوهیدرات‌های غیرالیافی <sup>۱</sup> (%)         |  |
| 0.29    | 7.97 ± 0.34           | 8.49 ± 0.34             | Non-fiber carbohydrates (%)                       |  |
| 0.81    | 1.34 ± 0.03           | 1.33 ± 0.03             | Ash (%)   |  |
|         |                       |                         | انرژی خالص شیردهی <sup>۲</sup>                    |  |
|         |                       |                         | Net energy for lactation (Mcal kg <sup>-1</sup> ) |  |

<sup>۱</sup> محاسبه شده با فرمول (٪ CP +٪ EE +٪ NDF +٪ Ash) - ۱۰۰ = کربوهیدرات‌های غیرالیافی.

<sup>۱</sup> Calculated by NFC = 100 - (NDF + CP + EE + ASH) equation

<sup>۲</sup> محاسبه شده با فرمول: ۱.۰۴۴-۱.۲۴\*ADF)\*2.2 = انرژی خالص شیردهی.

<sup>۲</sup> Calculated by NEL = (1.044-1.24\*ADF)\*2.2

با پساب فاضلاب نسبت به گروه شاهد دارای pH پایین‌تری بود ( $P < 0.01$ ). ۳/۶۹ در مقابل (۳/۸۶).

کمتر بودن pH سیلازهای آبیاری شده با پساب فاضلاب نسبت به سیلازهای آبیاری شده با آب چاه می‌تواند ناشی از کمتر بودن سطح پروتئین و بالاتر بودن میزان کربوهیدرات‌های غیرالیافی باشد که منجر به قدرت بافی کمتر و تخمیر بیشتر و در نهایت کاهش بیشتر pH است (Hutjens, ۲۰۰۹). مقدار pH سیلاز ذرت مطلوب باید در محدوده ۳/۸ تا ۴/۲ باشد (Hutjens, ۲۰۰۹) که از این لحاظ سیلازهای ذرت آبیاری شده با پساب فاضلاب خارج از این دامنه قرار داشتند. مقدار اسید استیک سیلازهای آبیاری شده با پساب فاضلاب به طور معنی‌داری کمتر از گروه شاهد بود که این مورد نشان‌دهنده تخمیر نامناسب در این گروه از سیلازها است. دلیل احتمالی تخمیر نامناسب در سیلازهای آبیاری شده با پساب فاضلاب می‌تواند ناشی از فعالیت گستره انتروباکترها مانند لاکتوپاسیل و تبدیل قندهای محلول به اسیدهای

به‌طورکلی باقی ماندن پساب سیلاز در قسمت‌های پایینی ساختمان سیلو باعث کاهش دما در این قسمت می‌شود؛ علاوه بر این افزایش سطح اسید بوتیریک با کاهش دمای سیلاز ارتباط تنگاتنگی دارد (Hutjens, ۲۰۰۹). با توجه به اینکه درصد ماده خشک بین دو تیمار مورد بررسی از لحاظ آماری معنی‌دار نشد، احتمالاً اختلاف دما در لایه‌های زیرین دو گروه از سیلاز به تفاوت در سطح اسید بوتیریک مربوط است. الگوی اسیدهای چرب در دو گروه سیلاز مورد مقایسه متفاوت بود (جدول ۳). مقدار اسید استیک در سیلاز آبیاری شده با پساب فاضلاب کمتر از نمونه‌های آبیاری شده با آب چاه بود ( $P < 0.01$ ). درصد در مقابل ۳/۰۹ درصد). اسید پروپیونیک و اسید بوتیریک در سیلازهای آبیاری شده با آب چاه تشخیص داده نشد و این در حالی بود که مقدار این دو اسید چرب در سیلاز آبیاری شده با پساب فاضلاب به ترتیب برابر با ۰/۵۵ و ۰/۴۴ (P=۰/۰۳) و ۰/۴۴ (P=۰/۰۸) درصد بود. به‌طورکلی سیلاز آبیاری شده

تأثیر منفی می‌گذارد. اسید بوتیریک بالا گاهی اوقات باعث ایجاد کتوز در گاوهاش شیرده شده است و به دلیل پایین بودن ارزش انرژی سیلو، مصرف خوراک و تولید شیر ممکن است آسیب بییند (Queiroz و Kung همکاران، ۲۰۱۸؛ Shaver و Kung، ۲۰۰۱).

با توجه به این نتایج می‌توان بیان کرد که استفاده از پساب فاضلاب برای آبیاری ذرت علوفه‌ای منجر به تغییر نوع تخمیر سیلاز ذرت و افزایش اسید پروپیونیک و بوتیریک و کاهش اسید استیک می‌شود که درنهایت منجر به کاهش بیشتر pH سیلو می‌گردد، و این نکته‌ای است که کارشناسان تغذیه هنگام استفاده از این نوع سیلاز ذرت باید مدنظر داشته باشند. با این حال احتمالاً این تغییر پروفایل اسیدهای چرب منجر به افزایش سلامت هوایی و ماندگاری بیشتر آن می‌گردد (Kung و همکاران، ۲۰۱۸).

چرب فرار دیگری نظیر اسید پروپیونیک و اسید بوتیریک باشد (Hutjens، ۲۰۰۹). سطح رایج اسید پروپیونیک در سیلاز ذرت کمتر از ۰/۱ درصد است و اسید بوتیریک نباید تشخیص داده شود (Kung و همکاران، ۲۰۱۸). غلظت بالای اسید بوتیریک (بیشتر از ۰/۵ درصد) نشان می‌دهد که سیلو احتمالاً تحت تخمیر کلستریدیایی قرار گرفته است که یکی از ضعیف‌ترین تخمیرها است. سیلوهای حاوی اسید بوتیریک بالا معمولاً ارزش غذایی پایینی دارند و سطوح الیاف نامحلول در شوینده خشی و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی بالاتری دارند زیرا بسیاری از مواد مغذی محلول تجزیه شده‌اند. چنین سیلوهایی همچنین ممکن است دارای غلظت بالایی از پروتئین‌های محلول باشند و ممکن است حاوی ترکیبات پروتئینی کوچکی به نام آمین باشند که گاهی اوقات نشان داده شده است که بر عملکرد حیوانات

جدول ۳. مقایسه میانگین دمای سطوح مختلف، پروفایل اسیدهای چرب فرار و pH سیلاز ذرت آبیاری شده با پساب فاضلاب تصفیه شده و سیلاز ذرت آبیاری شده با آب چاه

Table 3. Comparison of average temperature, volatile fatty acid profile, and pH of corn silages irrigated by treated wastewater and well water

| p-value | پساب فاضلاب تصفیه شده   |                         | متغیر                    |
|---------|-------------------------|-------------------------|--------------------------|
|         | آب چاه (خطای استاندارد) | (خطای استاندارد)        |                          |
|         | Well water (SE)         | Treated wastewater (SE) |                          |
| 0.09    | 29.5 ± 0.58             | 28.1 ± 0.58             | میانگین دما (Celsius)    |
| 0.10    | 30.5 ± 1.23             | 32.5 ± 1.23             | دما قسمت بالا (Celsius)  |
| 0.15    | 28.9 ± 1.14             | 27.3 ± 1.14             | دما قسمت وسط (Celsius)   |
| < 0.01  | 29.1 ± 1.01             | 23.8 ± 1.01             | دما قسمت پایین (Celsius) |
| < 0.01  | 3.09 ± 0.33             | 1.44 ± 0.33             | اسید استیک (%)           |
| 0.03    | ND <sup>1</sup>         | 0.55 ± 0.001            | اسید پروپیونیک (%)       |
| 0.08    | ND                      | 0.44 ± 0.001            | اسید بوتیریک (%)         |
| < 0.01  | 3.86 ± 0.03             | 3.69 ± 0.03             | pH                       |

<sup>1</sup>Not Detection

اغیر قابل تشخیص

ذرت آبیاری شده با پساب فاضلاب و آب چاه مشاهده نشد (جدول ۴). میزان کل شمارش میکروبی P=۰/۰۵، ۶/۸۲ کلنی در میلی لیتر در مقابل ۴/۵۱ کلنی در میلی لیتر)، باکتری‌های گرم منفی (P=۰/۰۴)،

با توجه به اینکه تمام سطوح میکروبی موردسنجش در این آزمایش در نمونه‌های پساب فاضلاب بیشتر از آب چاه بود (جدول ۱)، با این حال این الگو به صورت کامل در نمونه‌های سیلازهای

سالمونلا نداشت. آن‌ها گزارش دادند فرآیند سیلو کردن به علت کاهش pH باعث کاهش اشرشیاکلی و سالمونلا در سیلاز می‌شود. در تحقیق حاضر تعداد کلی‌های اشرشیاکلی موجود در هر دو گروه سیلازهای آبیاری شده با پساب فاصلاب و آب چاه بیشتر از آب پساب فاصلاب و آب چاه بودند. به نظر می‌رسد این میکروارگانیسم از منابعی غیر از علوفه ذرت مانند ماشین‌آلات و تجهیزات برداشت سیلاز از محیط پیرامون به داخل سیلو نفوذ می‌نمایند.

افزایش تعداد باکتری‌های لاکتوباسیل و گرم منفی منجر به افزایش تعداد کل باکتری‌های سیلاز ذرت آبیاری شده با پساب فاصلاب گردید. انتروباکتری‌ها باکتری‌های گرم منفی بی‌هوای اختیاری هستند که در سیلوهای ضعیف نگهداری شده یافت می‌شوند. برخی از گونه‌های گروه انتروباکتری‌ها می‌توانند پروتئین‌ها را تجزیه کرده و آمونیاک و آمین‌های بیوژنیک تولید کنند که در سیلاز نامطلوب هستند. این‌ها برخی از مشکلات مربوط به رشد انتروباکتری‌ها در سیلاز هستند (Carvalho و Ávila, ۲۰۲۰). همچنین یک مطالعه نشان داد که برخی از جنس‌های انتروباکتری‌ها با pH همبستگی منفی دارند (Ogunade و همکاران, ۲۰۱۷). درباره غلظت عناصر سنگین سرب و کادمیوم به نظر می‌رسد که در حال حاضر مشکل جدی در سیلازهای آبیاری شده با پساب فاصلاب وجود نداشته باشد. با این حال در طول زمان، تجمع این عناصر درون خاک ممکن است در آینده چالش‌برانگیز شود.

۶/۴۴ کلی در میلی‌لیتر در مقابل ۴/۷۱ کلی در میلی‌لیتر) و لاکتوباسیل ( $P=0/04$ , ۶/۴۵ کلی در میلی‌لیتر در مقابل ۲/۴۷ کلی در میلی‌لیتر) در سیلاز آبیاری شده با پساب فاصلاب بیشتر از گروه شاهد بود، اما این اختلاف در مورد اشرشیاکلی و سالمونلا مشاهده نگردید.

در مورد فلزات سنگین علی‌رغم بیشتر بودن غلظت سرب در نمونه‌های سیلاز آبیاری شده با پساب فاصلاب، این اختلاف معنی‌دار نبود ( $P=0/45$ ). سطوح غلظت کادمیوم در هر دو تیمار موردنبررسی زیر سطح تشخیص بود (جدول ۴). Safari Sanjani و Haj Rasoliha (۲۰۰۱) در یک تحقیق میدانی بر روی خاک‌های منطقه برخوار اصفهان، اعلام نمودند استفاده از پساب فاصلاب باعث تبدیل خاک‌های شور و سدیمی به خاک مناسب برای کشاورزی شده‌اند. علاوه بر این استفاده از پساب فاصلاب توانسته است مواد آلی، ظرفیت تبادل کاتیونی، نیتروژن کل و فسفر کل این خاک‌ها را افزایش دهد. با این حال تحقیق آن‌ها حاکی از افزایش غلظت عناصر سنگین به ویژه سرب و نیکل بود، به‌طوری‌که نیکل این خاک‌ها به مرز بحرانی این عنصر در خاک رسیده بود.

تأثیر اشرشیاکلی و سالمونلا بر سلامت گاوها شیرده چندان مشخص نیست، اما بیان شده است که این میکروارگانیسم‌ها می‌توانند باعث بیماری در گاوها شوند (Sheinbaum و Tromp, ۱۹۸۲) و حتی به انسان نیز انتقال یابند (Russell و همکاران, ۲۰۰۰). مشابه با نتایج ما، Weinberg و همکاران (۲۰۰۴) نیز بیان کردند که آبیاری سیلاز ذرت و سورگوم با پساب فاصلاب تأثیری در افزایش میزان اشرشیاکلی و

جدول ۴. مقایسه شمارش میکروبی (کلی در میلی لیتر) و غلظت عناصر سنگین (قسمت در میلیون) در سیلاز ذرت آبیاری شده با پساب فاضلاب تصفیه شده و سیلاز ذرت آبیاری شده با آب چاه

Table 4. Comparison of microbial factors and concentration of heavy elements (parts per million) in the corn silage irrigated by treated wastewater and well water

| p-value | آب چاه           |  | متغیرها  |
|---------|------------------|--|--|
|         | (خطای استاندارد) | پساب فاضلاب تصفیه شده (خطای استاندارد) |  |
|         | Well water (SE)  | Treated wastewater (SE)                |  |
| 0.65    | 4.76 ± 0.77      | 5.12 ± 0.77                            | <i>E.coli</i> (cfu mL <sup>-1</sup> )          |
| -       | ND               | ND <sup>1</sup>                        | Salmonella (cfu mL <sup>-1</sup> )             |
| 0.04    | 2.47 ± 1.54      | 6.45 ± 1.54                            | <i>lactobacilli</i> (cfu mL <sup>-1</sup> )    |
| 0.04    | 4.71 ± 0.68      | 6.44 ± 0.68                            | Gram-negative Bacteria (cfu mL <sup>-1</sup> ) |
| 0.05    | 4.51 ± 0.97      | 6.82 ± 0.97                            | Total bacterial count (cfu mL <sup>-1</sup> )  |
| 0.45    | 0.68 ± 0.23      | 0.99 ± 0.23                            | Lead (ppm)                                     |
| -       | < DL             | < DL <sup>2</sup>                      | Cadmium (ppm)                                  |

<sup>1</sup>Detection Limit

<sup>1</sup> زیر حد تشخیص

<sup>2</sup>Not Detection

<sup>2</sup> غیر قابل تشخیص

نامتعارف جهت آبیاری محصولات کشاورزی غیرخوارکی برای دام و انسان می‌تواند از دیگر راه‌کارهای پیشنهادی باشد. همچنین تحقیقات طولانی مدت برای بررسی تأثیر استفاده از سیلاز ذرت آبیاری شده با پساب فاضلاب تصفیه شده بر عملکرد و سلامت گاوها شیری موردنیاز است.

بر اساس یافته‌های حاضر، به نظر می‌رسد که با توجه به اثرات مخرب استفاده از پساب فاضلاب در کیفیت تخمیر، کاهش پروتئین خام و افزایش برخی از فاکتورهای میکروبی، بایستی تمهداتی جهت بهبود فرآیند تصفیه فاضلاب شهری بهویژه کاهش غلظت نیتروژن آمونیومی انجام گیرد. استفاده از این منبع

## References

- Abbasi, P., Babazadeh, H., Yargholi, B. & Bakhoda, H. (2021). The effect of treated municipal wastewater usage on corn yield and yield component under deficit irrigation management (Case Study: Marvdasht, Fars Province). *Iranian Journal of Irrigation and Drainage*, 15: 402–413. (In Persian).
- Adams, M.R. & Moss, M.O. (2000). Food microbiology. 2nd Edition, The Royal Society of Chemistry, London.
- Ávila, C.L.S. & Carvalho, B.F. (2020). Silage fermentation-updates focusing on the performance of microorganisms. *Journal of Applied Microbiology*, 128: 966–984.
- Chen, C.Y., Stemberger, R.S., Klaue, B., Blum, J.D., Pickhardt, P.C. & Folt, C.L. (2000). Accumulation of heavy metals in food web components across a gradient of lakes. Wiley Online Library, 45: 1525–1536.
- Dirilgen, N. (2001). Accumulation of heavy metals in freshwater organisms: Assessment of toxic interactions. *Turkish Journal of Chemistry*, 25: 173–179.
- FAO. (2023). The State of Food Security and Nutrition in the World. The State of Food Security and Nutrition in the World; FAO; IFAD; UNICEF; WFP; WHO.
- Goering, H.K. & Van Soest, P.J. (1970). Forage fibre analysis (apparatus, reagent, procedure and some applicants). Agricultural Research Service, USDA. P.20.
- Haruta, S., Chen, W., Gan, J., Šimůnek, J., Chang, A.C. & Wu, L. (2008). Leaching risk of N-nitrosodimethylamine (NDMA) in soil receiving reclaimed wastewater. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 69: 374–380.
- Horwitz, W. (1975). Official methods of analysis (Vol. 222). Association of Official Analytical

- Chemists Washington, DC.
- Hutjens, M. (2009). Forage Management for Dairy. W. D. Hoard & Sons. Jebely, J. 1999. Global experiences of using wastewater in irrigation. *Environmental Aspects of Using Wastewater in Irrigation*, 28: 35–52.
- Kaps, M. & Lamberson, W.R. (2017). Biostatistics for animal science. 3<sup>rd</sup> Edition. CABI Pub.
- Khoshravesh, M., Erfanian, F. & Pourgholam-Amiji, M. (2021). Effect of irrigation with treated magnetic effluent on yield and yield components of maize. *Water Management in Agriculture*, 8: 115-128. (In Persian).
- Kung, L., Shaver, R.D., Grant, R.J. & Schmidt, R.J. (2018). Silage review: Interpretation of chemical, microbial, and organoleptic components of silages. *Journal of Dairy Science*, 101: 4020–4033.
- Kung, L. and Shaver, R. 2001. Interpretation and use of silage fermentation analysis reports. Focus on Forage, 13: 20-28.
- Marschner, H. (1995). Mineral nutrition of higher plants. Universitat of Hohenheim, Germany.
- Mortazavi, A., Khanipour, E. & Hosseini parvar, H. (2007). Atlas of food microbiology. Ferdowsi University of Mashhad. (In Persian).
- Nasre Esfahani, E. (2017). Estimate of sensitivity of economic efficiency to changes in production, reproduction performances and culling rate in dairy herds of Isfahan. *Journal of Animal Production*, 19: 533–543. (In Persian).
- Ogunade, I.M., Jiang, Y., Pech Cervantes, A.A., Kim, D.H., Oliveira, A.S., Vyas, D., Weinberg, Z.G., Jeong, K.C. & Adesogan, A.T. (2017). Bacterial diversity and composition of alfalfa silage as analyzed by Illumina MiSeq sequencing: effects of *Escherichia coli* O157:H7 and silage additives. *Journal of Dairy Science*, 101: 1–12.
- Queiroz, O.C.M., Ogunade, I.M., Weinberg, Z. & Adesogan, A.T. (2018). Silage review: Foodborne pathogens in silage and their mitigation by silage additives. *Journal of Dairy Science*, 101: 4132–4142.
- Russell, J.B., Diez-Gonzalez, F. & Jarvis, G.N. (2000). Potential effect of cattle diets on the transmission of pathogenic *Escherichia coli* to humans. *Microbes and Infection*, 2: 45–53.
- Safari Sanjani, A.A. & Haj Rasoliha, S. (2001). Effects of irrigation with secondary effluent of north Isfahan sewage refinery on some chemical properties of Borkhar region soils. *Iranian Journal of Agriculture Science*, 32: 79–88. (In Persian).
- Sheinbaum, M. and Tromp, A. (1982). Diseases during cattle breeding. *Agricultural Encyclopedia*, 4 301–341.
- Weinberg, Z.G., Ashbell, G., Chen, Y., Gamburg, M. & Sela, S. (2004). The effect of sewage irrigation on safety and hygiene of forage crops and silage. *Animal Feed Science and Technology*, 116: 271–280.

