



مقاله پژوهشی"

تأثیر افزودن سطوح مختلف اسانس بذر کتان به سیلاز یونجه روی ترکیبات شیمیایی و خصوصیات تخمیر آزمایشگاهی

مقصود بشارتی^۱، معصومه نیازی فر^۲، ذبیح الله نعمتی^۳، امیر کریمی^۴ و محمد رضا شیخلو^۵

۱- دانشیار دانشگاه تبریز، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی اهر، گروه علوم دامی (تویینده مسوول: m_besharati@hotmail.com)

۲- کارشناس ارشد تغذیه دام، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی اهر، گروه علوم دامی

۳- دانشیار و استادیار، دانشگاه تبریز، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی اهر، گروه علوم دامی

۴- تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۷/۲۶

۵- تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۲/۱۰

صفحه: ۴۸ تا

صفحه: ۵۵

چکیده

این آزمایش بهمنظور بررسی اثرات اسانس بذر کتان (صفر، ۶۰ و ۱۲۰ میلی گرم اسانس بهازای هر کیلوگرم) بر ترکیبات شیمیایی، پایداری هوایی و فراسنجه‌های تولید گاز سیلاز یونجه انجام گرفت. تیمارهای آزمایشی شامل یونجه بدون افزودنی (شاهد)، ۲. یونجه بهعلاوه ۶۰ میلی گرم در کیلوگرم اسانس بذر کتان، یونجه بهعلاوه ۱۲۰ میلی گرم در کیلوگرم اسانس بذر کتان بودند که بهمدت ۶۰ روز در دمای اتفاق سیلو شدند. پس از باز نمودن سیلوها اندازه‌گیری قابلیت تولید گاز با استفاده از روش درون آزمایشگاهی با ۵ تکرار در ساعتهای ۲، ۴، ۱۲، ۲۴، ۳۶، ۴۸، ۷۲، ۹۶ و ۱۲۰ انجام گرفت. داده‌های بدست آمده در قالب طرح آماری کاملاً تصادفی آنالیز شدند. افزودن اسانس بذر کتان در هردو سطح ۶۰ و ۱۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم به سیلاز یونجه میزان pH سیلاز را بهطور معنی‌داری ($p < 0.05$) نسبت به شاهد کاهش داد. افزودن اسانس به سیلاز یونجه بر میزان ماده‌خشک تاثیر گذاشت بهطوری که در تیمار مکمل شده با سطح ۱۲۰ میلی گرم، ماده‌خشک (%) نسبت به شاهد (۳۰/۴۳%) افزایش یافت. افزودن اسانس بذر کتان در سطح ۱۲۰ میلی گرم به سیلاز یونجه میزان پروتئین خام (۱۲/۳۶%) و کربوهیدرات‌های محلول در آب (۴/۶۱%) را افزایش داد ($p < 0.05$). افزودن اسانس بذر کتان در غلظت‌های ۶۰ و ۱۲۰ میلی گرم به سیلاز یونجه بهطور معنی‌داری ($p < 0.05$) نیتروژن آمونیاکی را نسبت به تیمار شاهد کاهش داد. هر دو سطح ۶۰ و ۱۲۰ میلی گرم اسانس بذر کتان موجب کاهش حجم تولید گاز نسبت به تیمار شاهد شد ($p < 0.05$). در کل داده‌های بدست آمده نشان‌دهنده اثر مثبت اسانس کتان بر کیفیت سیلاز یونجه و خصوصیات تخمیری آن است.

واژه‌های کلیدی: اسانس گیاهی، بذر کتان، پایداری هوایی، تولید گاز آزمایشگاهی، سیلاز یونجه

هوایی تقسیم شوند که اسانس‌های گیاهی با مهار رشد میکرواورگانیسم‌های نامطلوب، مواد مغذی سیلاز را حفظ می‌کند (۱۶). امروزه دانه‌های روغنی فرآورده‌های استراتژیک کشاورزی دنیا محسوب می‌شود (۳۷). اسانس کتان حاوی اسیدهای چربی به نام اسید الفالینولنیک و اسیدلینولنیک است که غنی‌ترین منبع اسیدهای چرب امگا-۳ در طبیعت است و حاوی بیشتر از دو برابر امگا-۳ موجود در روغن‌های ماهی است. در ازیماشی که توسط حجت‌پناه و همکاران (۱۹) انجام شد با بررسی اسانس‌های گیاهی مختلف برای تغییر دادن تخمیر سیلاز نشان دادند برخی از اسانس‌ها که به عنوان افزودنی سیلاز استفاده می‌شوند، اثرات مطلوبی روی ترکیبات شیمیایی سیلاز ذرت دارد. در خصوص تاثیر بذر کتان و اسانس گیاهی حاصل آن بر ترکیبات و خصوصیات شیمیایی و پایداری هوایی سیلاز یونجه اطلاعات تقریباً خیلی محدودی وجود دارد. بنابراین این آزمایش با هدف بررسی تاثیر اسانس کتان بر سیلاز یونجه انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

تهیه اسانس کتان: بذر سبز کتان با آسیاب خرد و الک شد. حدود ۲۰۰ گرم بذر کتان آسیاب شده با روش خیساندن و با استفاده از حلال ان-هگزان اسانس گیری گردید (۳۳). تهیه سیلاز: علوفه یونجه چین چهارم بهمدت ۲۴ ساعت رطوبت‌زدایی و توسط چاپر به اندازه‌های توربیکی ۵-۳ سانتی‌متر خرد گردید. اسانس بذر کتان در محلول اثانول با سطح ۱۲۰ میلی گرم بهازای هر کیلوگرم وزن تر بر روی

مقدمه
علوفه جزء مهمی از جیره‌ی نشخوارکنندگان را تشکیل می‌دهد که در این میان خانواده لگومینوز از اهمیت ویژه‌ای برخوردار می‌باشد. از این خانواده یونجه حائز اهمیت بیشتری است. یکی از خصوصیات مهم یونجه، کیفیت بالای تغذیه‌ای آن برای دام‌ها است. در بسیاری از مناطق نگهداری علوفه جهت استفاده در درازمدت، زمانی از سال که علوفه تازه برای جیره نشخوارکنندگان در دسترس نمی‌باشد، ضروری است. در کشورهایی که فصل رشد محدود است علوفه خشک و سیلاز نقش مهمی در تأمین منابع غذایی نشخوارکنندگان دارد. سیلاز کردن یک روش برای حفظ محصول براساس تخمیر طبیعی اسیدلاکتیکی تحت شرایط بی‌هوایی است که می‌تواند علوفه را در طول سال به عنوان منبع اصلی تغذیه، با ارزش غذایی بالا برای نشخوارکنندگان فراهم کند. یکی از مشکلات اصلی در تهیه یک سیلاز با کیفیت، به پایین‌رساندن سریع pH سیلاز در مدت زمان کم است (۴). علوفه در زمان برداشت بین ۶ تا ۷ است و پس از سیلو شدن، با تخمیر مناسب pH می‌تواند مساوی یا کمتر از ۴ شود، که این کاهش pH در پی تولید اسیدلاکتیک و دیگر اسیدهای آلی به‌وسیله باکتری‌های تولیدکننده اسیدلاکتیک در حداقل کردن کاهش ارزش مواد غذایی اهمیت فراوان دارد (۱۷). افزودنی‌های سیلویی می‌توانند به محرك تخمیر و بازدارنده فساد مواد غذایی طبقه‌بندی شوند. بهعلاوه، بازدارنده‌های فساد می‌توانند به زیرگروه‌های بازدارنده‌های تخمیری و تقویت‌کننده پایداری

و ثبت میزان گاز تولیدی ناشی از تخمیر موادغذایی بهروش فدوراک (جایجاپی آب) در ساعت‌های ۲، ۴، ۸، ۱۲، ۲۴، ۳۶، ۴۸، ۷۲، ۹۶ و ۱۲۰ بعد از عمل انکوباسیون انجام گرفت. برای تخمین قابلیت هضم ماده آلی از حجم گاز تولیدی بر اساس ۲۰۰ میلی‌گرم ماده خشک در طول ۲۴ ساعت و رابطه زیر استفاده شد (۲۴).

$$\text{OMD} = 14.88 + 0.899\text{GP} + 0.45\text{CP} + 0.065\text{ASH}$$

OMD: قابلیت هضم ماده آلی (%)، GP: حجم گاز تولیدی تصحیح شده برای ۲۴ ساعت (میلی‌لیتر بر ۲۰۰ میلی‌گرم ماده خشک)، CP: پروتئین خام (بر حسب درصد)، ASH: خاکستر خام (گرم بر کیلوگرم ماده خشک). برآورده ماده آلی قابل هضم در ماده خشک (DOMD) با استفاده از رابطه زیر برآورد شد (۲۴).

$$\text{DOMD} = \text{OMD} \times \% \text{OM}$$

DOMD: ماده آلی قابل هضم در ماده خشک (بر حسب درصد)، OMD: قابلیت هضم ماده آلی (بر حسب درصد)، OM: ماده آلی نمونه (بر حسب درصد). برآورده انرژی قابل متابولیسم (ME): این پارامتر بر اساس رابطه زیر محاسبه گردید (۲۴).

$$\text{ME} = 2.20 + 0.136\text{GP} + 0.00574\text{CP}$$

ME: انرژی قابل متابولیسم (مگاژول در کیلوگرم ماده خشک)، GP: حجم گاز تولیدی در ۲۴ ساعت (میلی‌لیتر بر ۲۰۰ میلی‌گرم ماده خشک)، CP: پروتئین خام (گرم بر کیلوگرم ماده خشک).

برآورده اسیدهای چرب زنجیر کوتاه (SCFA): این پارامتر با استفاده از رابطه زیر محاسبه گردید:

$$\text{SCFA} = 0.00425 + 0.0222\text{GP}$$

SCFA: اسیدهای چرب کوتاه زنجیر، GP: حجم گازی تولیدی در ۲۴ ساعت (میلی‌لیتر بر ۲۰۰ میلی‌گرم ماده خشک). پایداری هوایی: میزان پایداری هوایی با استفاده از روش آدوسوگان و همکاران (۱) انجام گرفت. در این روش آدوسوگان ۲۰۰ گرم از هر تکرار را درون ظروف یکبار مصرف بدون درب ریخته و یک دما منج در مرکز هر توده سیلوبی و ۲ دما منج در نقطه مختلف اتاق قرار داده شد. زمانی که دمای توده سیلوبی به ۲ درجه بالاتر از دمای محیط رسید، سیلاز فاسد در نظر گرفته شد.

جهت تعیین مؤلفه‌های تولید گاز از معادله $P = b(1 - e^{-ct})$ برای تطبیق داده‌های تولید گاز استفاده شد، که در این معادله P تولید گاز در زمان t، b پتانسیل تولید گاز بخش محلول و غیر محلول، c نرخ تولید گاز و t زمان تخمیر است. پارامترهای تولید گاز با استفاده از رویه NLIN نرم‌افزار SAS (۳۲) برآورد شد.

تجزیه آماری

آنالیز آماری داده‌های بدست آمده از قالب طرح آماری کاملاً تصادفی برنامه آماری SAS (۳۲) با رویه GLM آنالیز شدن و آزمون دانکن برای مقایسه میانگین‌ها (در سطح ۰/۰۵) درصد) به کار برده شد. مدل آماری طرح بهصورت زیر بود:

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

علوفه اسپری شد و درون سیلوهای آزمایشگاهی با گنجایش وزنی ۲/۵ کیلوگرم که دارای شیر چهت خروج شیرابه‌های سیلوی در پایین هر سیلو می‌باشند، دستی فشرده شدند و به مدت ۶۰ روز در دمای محیط اتاق نگهداری گردیدند.

تعیین مؤلفه‌های شیمیایی: در پایان ۶۰ روز، سیلوها باز و بالا فاصله pH، ماده خشک و کربوهیدرات محلول نمونه‌ها اندازه‌گیری شد و باقی‌مانده نمونه‌ها برای اندازه‌گیری پروتئین خام (CP)، الیاف نامحلول در شوینده خنثی (NDF)، الیاف نامحلول در شوینده اسیدی (ADF)، خاکستر خام (Ash) در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد برای ۲۲ ساعت خشک شدند (۱۳). برای اندازه‌گیری خاکستر خام نمونه‌ها با استفاده از آسیاب با توری یک میلی‌متری آسیاب شدند. نمونه‌های آسیاب شده در دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ ساعت قرار گرفتند. NDF و ADF طبق روش ونسوست و همکاران (۳۶) اندازه‌گیری شد. پروتئین خام به وسیله میکروکلال تعیین گردید (۲). جهت استخراج عصاره سیلاز مقدار ۲۰ گرم نمونه در داخل یک مخلوط‌کن ریخته و به میزان ۱۸۰ سی‌سی آب مقطر به آن اضافه شد. مخلوط ایجاد شده از دو لایه صافی، عبور داده شد. عصاره صاف شده برای تعیین اسیدهای چرب فرار و نیتروژن آمونیاکی مورد استفاده قرار گرفت. برای اندازه‌گیری کربوهیدرات‌های محلول در آب از روش فتل سولفوریک استفاده شد (۱۱). به منظور اندازه‌گیری اسیدهای چرب فرار کل در سیلو از روش تقطیر شرح داده شده توسط مارخام (۲۵) استفاده شد. مقدار یک میلی‌لیتر اسید متاسفسفریک ۲۵ درصد (حجم / وزن) به ۵ میلی‌لیتر عصاره صاف شده جهت تعیین اسیدهای چرب فرار اضافه شد.

اندازه‌گیری فراسنجه‌های تولید گاز: به منظور اندازه‌گیری تولید گاز از روش فدوراک و هرودی (۱۲) استفاده شد. در این روش ابتدا مواد خوارکی (همه تیمارهای آزمایشی) توسط آسیاب با قطر منفذ الک ۱ میلی‌متری به صورت یکنواخت آسیاب می‌شود. مقدار ۳۰۰ میلی‌گرم از هر تیمار آزمایشی آسیاب شده، با دقت توزین و به داخل شیشه‌های سرم استریل ۵۰ میلی‌لیتری منتقل گردید، برای هر نمونه ماده غذایی ۵ تکرار در نظر گرفته شد. مایع شکمبه ۲ ساعت بعد از وعده خوارک صحیح‌گاهی از ۳ راس گوسفند فیستولا شده تهیه و پس از صاف نمودن توسط پارچه توری چهار لایه در داخل فلاسک در دمای ۳۹ درجه سریعاً به آزمایشگاه منتقل شد. قبل از انتقال مایع شکمبه به داخل شیشه‌های سرم، با بافر تمیه شده به روش مکدوگال (۲۶) به نسبت ۱ به ۲ (یک قسمت مایع شکمبه و دو قسمت بافر) مخلوط شد.

در هر شیشه حاوی ۳۰۰ میلی‌گرم از هر تیمار آزمایشی، مقدار ۲۰ میلی‌لیتر مخلوط مایع شکمبه و بافر افزوده شد و بعد از بی‌هوایی نمودن داخل شیشه با تزریق گاز دی‌اکسید کربن درب شیشه‌ها توسط درپوش لاستیکی و درپوش فلزی، به طور محکم بسته شد. به منظور تصحیح گاز تولیدی با منشاء مایع شکمبه تعداد ۵ عدد شیشه بدون ماده غذایی (بلانک) و دارای مایع شکمبه در نظر گرفته شد. کل شیشه‌ها جهت اندازه‌گیری گاز تولیدی به داخل دستگاه انکوباتور شبکر با ۱۲۰ دور در دقیقه و دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد، منتقل شده و عمل قرائت

(۱۲۰ میلی‌گرم) میزان ازت‌آمونیاکی نسبت به شاهد پایین‌تر بود. فوسکولوس و همکاران (۱۴) کاهش در غلظت نیتروژن آمونیاکی را با استفاده از دوز بالای اسانس آویشن گزارش کردند. همچنین مکیتاش و همکاران (۲۷) نشان‌دادند که یک ترکیب تجارتی اسانس‌های گیاهی حاوی تیمول در شرایط برون‌تنی باعث کاهش می‌شود.

نتایج نشان داد که مقدار کربوهیدرات‌های محلول در آب به طور معنی‌داری در تیمار سطح ۱۲۰ میلی‌گرم نسبت به بقیه تیمارها افزایش یافته است. کربوهیدرات‌های محلول در آب منبع اصلی انرژی برای میکرووارگانیسم‌ها طی فرایند تخمیر در سیل‌اژ می‌باشد. کانکله و همکاران (۲۲) دریافتند که چنانچه مقدار کربوهیدرات‌های محلول در آب کمتر از ۸۰ گرم در کیلوگرم باشد، تهیه سیل‌اژ پایدار به سختی امکان‌پذیر است. اثر سطوح مختلف اسانس بذر کتان روی قابلیت تولید گاز آزمایشگاهی در زمان‌های انکوباسیون سیل‌اژ یونجه در جدول ۳ آورده شده است. افزودن هر دو سطح اسانس بذر کتان در ساعت‌های مختلف انکوباسیون باعث کاهش گاز تولیدی نسبت به تیمار شاهد گردید. در مطالعه‌ای استفاده از عصاره رازیانه، میخک و سیر (۲۹) و همچنین اسانس دارچین (۱۵) باعث کاهش تولید گاز در شرایط آزمایشگاهی شد. در یک مطالعه سطوح ۱۵ و ۲۵۰ میکرولیتر اسانس‌های رزماری، رازیانه و زنبان ثابت نرخ تولید گاز را افزایش دادند (۲۳). طالبزاده و همکاران (۳۵) با افزودن سطوح مختلف اسانس آویشن شیرازی (۰۰، ۱۵۰، ۳۰۰ و ۶۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) در شرایط آزمایشگاهی کاهش حجم گاز را در ساعت‌های مختلف انکوباسیون گزارش کردند. نتایج این آزمایش با نتایج آزمایش حجت‌پناه و همکاران (۱۹) و چاوز و همکاران (۷) موافق بود. اثرات استفاده از اسانس گیاهی آویشن به عنوان افزودنی برای تغییر تخمیر سیل‌اژ یونجه در نشخوارکنندگان به وسیله روش آزمایشگاهی نشان داد که اسانس آویشن میزان گاز تولیدی را نسبت به تیمار بدون افزودن کاهش داد (۵). کاهش در تولید گاز می‌تواند به دلیل خاصیت ضد میکروبی برخی اسانس‌های روغنی گیاه مورد مطالعه باشد که با محدود کردن فعالیت میکرووارگانیسم‌ها از تولید گاز جلوگیری می‌کند. این کاهش می‌تواند از جهت افزایش کارایی استفاده از خوارک مفید باشد زیرا اگرچه از یک سو نشان‌دهنده کاهش تخمیر مواد آلی است اما از سوی دیگر می‌تواند نشان‌دهنده حرکت مواد به سمت تولید پروتئین میکروبی باشد (۹، ۳۰). همچنین علاوه بر غلظت مصرف اسانس، نوع اسانس و نوع جیره نیز می‌تواند بر عملکرد اسانس بر میزان گاز تولیدی از شکمبه موثر باشد. اندازه گیری گاز تولید شده در شرایط برون‌تنی اطلاعات مفیدی را درباره سرعت و هضم خوارک فراهم می‌کند. منک و استینگاس (۲۸) گزارش کردند که همبستگی قوی بین مقدار انرژی متابولیسمی اندازه گیری شده، میزان گاز تولید شده در شرایط برون‌تنی با زمان‌های انکوباسیون ۴۸ ساعت و ترکیبات شیمیایی خوارک وجود دارد.

جزءی: مقدار هر مشاهده، میانگین کل، T_j : اثر تیمار، p : خطای آزمایشی.

نتایج و بحث

خصوصیات و ترکیبات شیمیایی یونجه قبل از سیلو کردن در جدول ۱ آمده است. اثر افزودن سطوح مختلف اسانس بذر کتان بر ترکیبات شیمیایی سیل‌اژ یونجه در جدول ۲ نشان داده شده است. داده‌های بدست آمده نشان می‌دهد که با افزودن اسانس بذر کتان در هر دو سطح ۶۰ و ۱۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به سیل‌اژ یونجه میزان pH سیل‌اژ را به طور معنی‌داری ($p < 0.05$) نسبت به شاهد کاهش داد. این کاهش pH به دلیل وجود باکتری‌های اسید لاکتیکی می‌باشد که تولید اسید لاکتیک در سیل‌اژ را افزایش داده و منجر به کاهش تولید اسید استیک و بوتیریک می‌گردد (۳۱). کاهش pH موجب کاهش عمل پروتولیزها و آنزیمهای گیاهی یا آنزیم‌های تنفسی می‌گردد، که از فساد سیل‌اژ و تبدیل پروتئین به نیتروژن آمونیاکی جلوگیری می‌کند. اثرات اسانس‌های گیاهی بر ماده خشک می‌تواند با توجه به منبع اسانس، اثرات متقابل و یا عادت‌پذیری جمعیت‌های میکروبی به اسانس‌های گیاهی متغیر باشد.

بررسی میزان ماده خشک نشان می‌دهد افزودن اسانس بذر کتان به سیل‌اژ یونجه بر میزان ماده خشک به طور قابل توجهی تاثیر گذاشت به طوری که در هر دو تیمار تلقیح شده با اسانس بذر کتان ماده خشک نسبت به شاهد افزایش یافته است. بیشترین میزان ماده خشک مربوط به سطح ۱۲۰ می‌باشد. ماده خشک سطح ۶۰ میلی‌گرم نیز افزایش معنی‌داری ($p < 0.05$) نسبت به شاهد داشت. افزایش در محتوای ماده خشک احتملاً ناشی از محدود شدن رشد و توسعه گروه خاصی از میکرووارگانیسم‌ها در سیل‌اژ و در نتیجه هدر رفت کمتر مواد مغذی سیل‌اژ باشد (۳۲).

یک روند افزایش برای پروتئین خام در مقایسه با شاهد وجود دارد. بیشترین افزایش مربوط به سطح ۱۲۰ میلی‌گرم اسانس می‌باشد که با شاهد تفاوت معنی‌داری دارد ($p < 0.05$). چاوز و همکاران (۷) با افزودن اسانس‌های گیاهی تغییری در پروتئین خام مشاهده نکردند که احتمالاً به دلیل مقدار استفاده و نوع سیل‌اژ مربوط می‌شود (۱۸). برخی از پژوهش‌های پیشین اثرات بازدارنده‌ی برقی از اسانس‌های گیاهی از جمله پونه را بر رشد کلستریدیاهای گزارش کردند (۲۰). این امر می‌تواند توجیه کننده افزایش پروتئین خام در سیل‌اژ حاوی اسانس باشد. حجت‌پناه و همکاران (۲۰۱۹) بیان نمودند که اسانس‌های نعناع و پونه در ۲ سطح ۱۲۰ و ۲۴۰ میلی‌گرم در هر کیلوگرم سیل‌اژ یونجه میزان پروتئین خام را نسبت به تیمار شاهد افزایش داد که با یافته‌های این آزمایش مطابقت دارد.

افزودن اسانس بذر کتان به سیل‌اژ یونجه اثر معنی‌داری ($p < 0.05$) بر نیتروژن آمونیاکی نسبت به تیمار شاهد داشته است (جدول ۲). به طوری که در تیمار با سطح بالای اسانس

جدول ۱- خصوصیات و ترکیبات شیمایی یونجه قبل از سیلو کردن بر اساس صد ماده خشک
Table 1. Chemical composition of alfalfa before ensiling (%DM)

Item	ADF	NDF	WSC	ASH	CP	pH	DM
Alfalfa	۱۷±۱/۴۰	۲۴/۸±۱/۰۶	۲/۷۴±۰/۰۸۷	۱۱/۶±۰/۰۲۸	۱۹/۶±۰/۴۲۷	۶/۱۴±۰/۰۱۱	۲۲/۲±۰/۹۷۵

DM, dry matter; CP, crude protein; NDF, neutral detergent fiber; ADF, acid detergent fiber; WCS: water soluble carbohydrate

جدول ۲- اثر افزودن اسانس بذر کتان روی خصوصیات شیمایی سیلاز یونجه پس از ۶۰ روز سیلو کردن (%DM)
Table 2. Effect of flaxseed essential oil on chemical properties of alfalfa silage after 60 d of ensiling (%DM)

Treatments ¹	Chemical composition ²										
	DM	NDF	ADF	WSC	tVFA	NH ₃ -N	CA	CP	LA	pH	EE
control	۲۴/۴۳ ^c	۴۹/۰۶ ^a	۲۲/۵۶ ^a	۴/۰۸ ^b	۱۲/۶۳ ^a	۸۴/۹۳ ^a	۱۱/۴۰ ^b	۱۱/۶۲ ^c	۶۹/۳۷ ^c	۴/۶۵ ^a	۴/۲۷ ^a
FSEO60	۲۶/۱۷ ^b	۴۳/۱۶ ^b	۱۵/۳۳ ^b	۴/۰۵ ^b	۱۲/۳۶ ^b	۸۳/۵۳ ^a	۱۰/۸۰ ^c	۱۲/۲۲ ^b	۷۱/۲۱ ^b	۳/۷۳ ^b	۴/۰۴ ^{ab}
FSEO120	۳۰/۰۲ ^a	۴۵/۱۰ ^{ab}	۲۳/۶۶ ^a	۴/۶۱ ^a	۱۲/۶۰ ^a	۷۷/۸۰ ^b	۱۲/۴۱ ^a	۱۲/۲۶ ^a	۷۴/۱۳ ^a	۳/۸۲ ^b	۳/۵۳ ^b
SEM	۰/۱۷۲	۱/۱۴۸	۰/۷۴۵ ^a	۰/۲۳۸	۰/۰۳۱۹	۰/۰۴۵۷	۰/۱۱۱۳	۰/۰۴۵۰	۰/۰۷۳۵	۰/۰۵۴۵	۰/۱۳۳۲
p-value	</۰.۰۰۱	/۰.۳۹	/۰.۱۴۶	</۰.۰۰۱	</۰.۰۰۱	</۰.۰۰۱	</۰.۰۱۳	</۰.۰۰۱	</۰.۰۰۱	</۰.۰۰۱	/۰.۴۵۷

Treatment¹-control: alfalfa silage without additives, FSEO60: alfalfa silage with 60 ml flaxseed essential oil/kg DM, FSEO120: alfalfa silage with 120 ml flaxseed essential oil/kg DM.

Chemical composition²: DM, dry matter; CP, crude protein; EE, ether extract; CA, crude ash; NDF, neutral detergent fiber; ADF, acid detergent fiber; NH₃-N: ammonium nitrogen (% of total nitrogen); tVFA: total volatile fatty acid (mm), LA: Lactic Acid. WSC: water soluble carbohydrate.

Means within same column with different superscripts differ ($p<0.05$).

جدول ۳- اثر سطوح مختلف اسانس بذر کتان روی قابلیت تولید گاز آزمایشگاهی در زمان‌های انکوباسیون سیلاز یونجه (میلی لیتر بر گرم ماده خشک)
Table 3. The effect of different levels of flaxseed essential oil on *in vitro* gas production of alfalfa silage (ml/g DM)

Treatments ¹	Incubation times (h)											
	2	4	6	8	12	16	24	36	48	72	96	120
control	۱۷/۶۱ ^a	۳۲/۳۹ ^a	۴۰/۰۶ ^a	۵۱/۱۷ ^a	۶۵/۱۷ ^a	۸۲/۲۷ ^a	۱۰۳/۹۸ ^a	۱۱۱/۹۸ ^a	۱۲۳/۱۰ ^a	۱۳۰/۹۰ ^a	۱۳۴/۴۴ ^a	۱۳۶/۵۲ ^a
FSEO60	۱۴/۱۸ ^b	۲۷/۴۹ ^{ab}	۳۵/۰۵ ^b	۴۵/۲۲ ^b	۵۶/۰۱ ^b	۶۹/۱۸ ^b	۸۸/۶۹ ^b	۹۹/۵۵ ^b	۱۱۰/۲۸ ^b	۱۱۷/۷۳ ^b	۱۲۱/۸۰ ^b	۱۲۳/۴۳ ^b
FSEO120	۱۰/۹۹ ^c	۲۲/۸۰ ^b	۳۰/۰۵ ^b	۴۱/۹۲ ^b	۵۳/۰۵ ^b	۶۴/۴۲ ^b	۷۹/۲۳ ^c	۹۲/۵۹ ^c	۱۰۲/۷۸ ^b	۱۰۹/۵۱ ^c	۱۱۳/۷۱ ^c	۱۱۴/۸۰ ^c
SEM	۰/۰۸۹	۱/۶۲۵	۱/۱۴۸	۱/۰۵۰	۱/۵۵۵	۱/۷۴۰	۱/۸۴۹	۱/۹۳۷	۲/۵۷۵	۲/۶۴۸	۲/۴۰۵	۲/۴۰۶

Treatment¹-control: alfalfa silage without additives, FSEO60: alfalfa silage with 60 ml flaxseed essential oil/kg DM, FSEO120: alfalfa silage with 120 ml flaxseed essential oil/kg DM.

Means within same column with different superscripts differ ($p<0.05$).

جدول ۴- اثر سطوح مختلف اسانس بذر کتان روی فراسنجه‌های تولید گاز سیلاز یونجه
Table 4. The effect of different levels of cinnamon essential oil on gas production parameters of alfalfa silage

Treatments ¹	Items ²									
	pH	NE _L	SCFA	ME	OMD	DOMD	tVFA	NH ₃ -N	b	c
control	۶/۶۰	۱/۲۷ ^a	۰/۱۵۲ ^a	۳/۲۲ ^a	۲۷/۲۳ ^a	۲۴/۰۱ ^a	۸/۶۲ ^a	۴۱/۲۲ ^b	۱۳۳/۳۵ ^a	۰/۰۵۹۴ ^a
FSEO60	۶/۵۹	۱/۲۱ ^a	۰/۱۳۷ ^a	۳/۱۴ ^a	۲۶/۹۱ ^a	۲۴/۳۵ ^a	۳/۰۰ ^b	۴۷/۹۱ ^b	۱۲۱/۸۰ ^b	۰/۰۵۴۲ ^{ab}
FSEO120	۶/۵۹	۱/۰۷ ^b	۰/۱۰۷ ^b	۲/۹۵ ^b	۲۵/۷۴ ^b	۲۲/۵۸ ^b	۸/۱۰ ^a	۵۰/۶۸ ^a	۱۱۳/۱۰ ^b	۰/۰۵۲۲ ^b
SEM	۰/۰۴۷	۰/۰۳۲	۰/۰۰۷۵	۰/۰۴۶	۰/۰۳۰	۰/۰۲۵	۰/۰۴۵۷	۰/۰۱۳	۲/۵۹۲	۰/۰۰۲
p-value	۰/۰۹۸	۰/۰۰۳۵	۰/۰۰۳۵	۰/۰۰۳۸	۰/۰۱۱۸	۰/۰۰۰۸	</۰.۰۰۱	۰/۰۰۱۱	۰/۰۰۵	۰/۰۷۶۳

Treatment¹-control: alfalfa silage without additives, FSEO60: alfalfa silage with 60 ml flaxseed essential oil/kg DM, FSEO120: alfalfa silage with 120 ml flaxseed essential oil/kg DM.

²ME: metabolizable energy (MJ/Kg DM); SCFA: short chain fatty acid (mmol/ 0.2 g DM); DOMD: digestible organic matter in dry matter (%); NE_L: net energy lactation (MJ/Kg DM); tVFA: total volatile fatty acids (mmol/l); NH₃-N: ammonium nitrogen (mg/l); OMD: organic matter digestibility (%); b: Potential gas production (mL/g DM); c: Rate constant of gas production during incubation (mL/h).

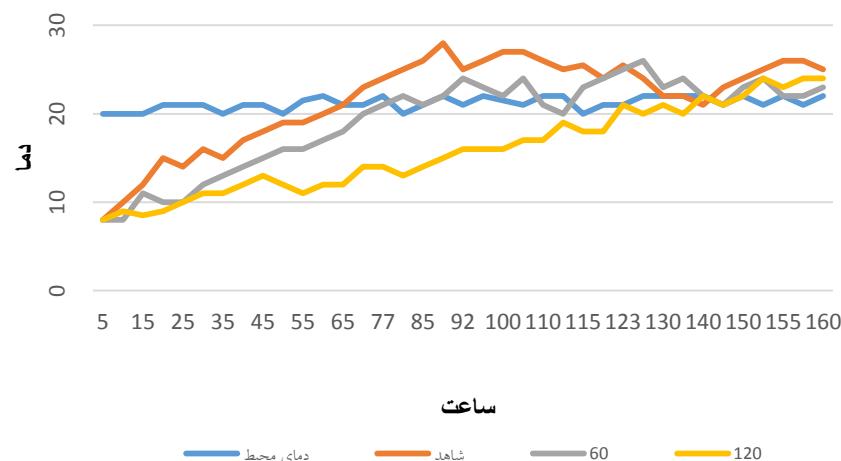
Means within same column with different superscripts differ ($p<0.05$).

۴۷/۹۱ میلی‌گرم کاهش پیدا می‌کند که نسبت به شاهد (۴۱/۲۲) افزایش پیدا کرده است. هارت و همکاران (۱۸) با استفاده از محیط کشت حاوی مجموعه‌ای از میکروگانیسم‌های شکمبه نشان دادند لیمونن، وانیلین، گویاکول و نیز عصاره پونه کوهی غلظت نیتروژن آمونیاکی شکمبه را کاهش دادند. بروچر (۴) نشان داد که افزودن تیمول به مایع شکمبه منجر به ایجاد اسیدهای آمینه و کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی گشت. وی پیشنهاد کرد که ترکیب فوق مانع از دی آمیناسیون اسیدهای آمینه توسط باکتری‌های شکمبه می‌گردد. به نظر مرسد که چون انسان‌های گیاهی اثرات مانع‌کننده بر پرتولیز و دی آمیناسیون دارند، احتمالاً اثرات مانع‌کننده آن‌ها بر

اثر سطوح مختلف اسانس بذر کتان روی فراسنجه‌های تولید گاز سیلاز یونجه در جدول ۴ نشان داده شده است. بیشترین و کمترین میزان اسیدهای چرب کوتاه زنجیر، ماده آئی قابل هضم در ماده خشک در بین تیمارهای دارای انسان، به ترتیب در سطح ۶۰ و سطح ۱۲۰ میلی‌گرم مشاهده شد. میزان اسیدهای چرب فرار کل به طور معنی‌داری در سطح ۱۲۰ نسبت به شاهد افزایش یافته است ولی در سطح ۶۰ میلی‌گرم در کیلوگرم کاهش پیدا کرده است (۰/۰۵). میزان نیتروژن آمونیاکی در این آزمایش با افزایش میزان سطح اسانس افزایش یافته است به طوری که در سطح ۱۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن تر یونجه ۵۰/۶۸ میلی‌گرم به ازای هر لیتر مایع شکمبه می‌باشد که در سطح ۶۰ میلی‌گرم به میزان

می‌تواند به دلیل فعالیت ضد میکروبی و اثر مهارکنندگی برخی از انسس‌ها که با مهار دامیناسیون و پروتولیز(۱۹) از فساد سیلاظر جلوگیری می‌کند، باشد. در معرض هوا قرار گرفتن سیلاظرها ممکن است منجر به فساد سیلاظر شود. افزایش دما، حاصل متابولیسم اسیدهای آلی و مواد مغذی باقیمانده توسط میکرووارگانیسم‌های هوایی می‌باشد. تغییرات در دما می‌تواند به عنوان شاخصی از توسعه فساد هوایی سیلاظرها باشد. انتظار می‌رود با کاهش سریع pH در طول مراحل اولیه سیلواشدن، از رشد میکرووارگانیسم‌های ناطلوب سیلولی مانند انترباکترها و مخمراها جلوگیری شود. چاوز و همکاران (۷) گزارش کردند که افزودن انسس‌های گیاهی با سطح ۱۲۰ میلی‌گرم بهازی کیلوگرم ماده خشک سیلاظر جو، باعث حفظ پایداری هوایی سیلاظر تا دو هفته نسبت به تیمار شاهد شد. در مطالعه‌ای با افزودن ۳ انسس گیاهی مختلف (برگ دارچین، پونه کوهی و پرتقال شیرین در سطح ۱۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ماده خشک) به سیلاظر جو باعث افزایش ثبات هوایی نسبت به تیمار شاهد گردید که موافق با داده‌های این آزمایش بود (۷). در آزمایش حجتپناه و همکاران (۱۹) با افزودن انسس‌های گیاهی مختلف (پونه، آویشن، زیره و دارچین) به سیلاظر ذرت افزایش میزان ثبات هوایی سیلاظرها را مشاهده کردند. در آزمایش دیگری افزودن یک ترکیب از انسس‌های گیاهی مختلف برای تغییر تخمیر سیلاظر ذرت تاثیری بر روی مخمر، قارچ و انترباکتریا نداشت در نتیجه ثبات هوایی نسبت به تیمار شاهد تغییری پیدا نکرد (۲۱). به طور کلی تاثیر افزودنی انسس را بر بهبود پایداری هوایی می‌توان توسط مهار رشد مخمر، قارچ و کپک و همچنین کاهش نرخ دامیناسیون توضیح داد.

فعالیت‌های پروتولایتیکی باعث کاهش تجزیه پروتئین سیلاظر شده و در نتیجه باعث کاهش نیتروژن آمونیاکی نیز می‌شود. قابلیت هضم ماده آلی، اسیدهای چرب کوتاه زنجیر و انزیم قابل متابولیسم به وسیله سطح ۱۲۰ میلی‌گرم انسس بذر کتان کاهش پیدا کرده‌اند. میزان pH در طی انکوباسیون با افزایش سطح انسس کاهش یافته است. فعالیت ضد میکروبی انسس‌های گیاهی در مقابل طیف وسیعی از میکرووارگانیسم‌ها، شامل باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی نشان داده شده است که به تعدادی از ترکیبات فنولیک و ترپنوتید (۶) اجزای شیمیایی و گروه‌های ساختاری موجود در انسس‌های گیاهی، نسبت‌های موجود در آنها و اثرات متقابل بین آنها، مربوط می‌شود (۱۰). انسس‌های گیاهی، به علت ماهیت هیدروفوپویک‌شان (آبگریزشان)، نزدیکی بالایی به لیپیدهای غشای سلول باکتریایی دارند و ویژگی‌های ضد باکتریایی آنها احتمالاً به ماهیت هیدروفیلیک (چربی دوست) آنها برمی‌گردد. این مکانیسم به ویژگی‌های لیبوفیلیک اجزای تشکیل دهنده انسس‌های گیاهی و توانایی گروه عاملی آنها بستگی دارد (۱۰). انسس‌های گیاهی به طور انتخابی از عمل تعدادی از پروتوزوئرها جلوگیری می‌کنند و تولید گاز متان را کاهش می‌دهند، به دلیل اینکه پروتوزوئرهای شکمبه محیط مناسبی را برای متابولیزهایی که در شکمبه زیست می‌کنند، فراهم می‌کنند (۳). نتایج نشان داده شده در نمودار ۱ نشان می‌دهد تیمارهای تلقیح شده با انسس بذر کتان در سطح ۱۲۰ با ۱۵۲/۶۶ ساعت به طور معنی‌داری در مقایسه با شاهد (۷۷ ساعت) زمان طولانی‌تری برای افزایش ۲ درجه سانتی‌گرادی در دمای اولیه سیلاظر داشت. افزایش میزان پایداری هوایی در تیمارهای افزوده شده انسس گیاهی



شکل ۱- اثر انسس بذر کتان بر پایداری هوایی سیلاظر یونجه.
Figure 1. Effects of flaxseed essential oil on aerobic stability of alfalfa silage

کربوهیدرات‌های محلول در آب را افزایش داد. افزودن انسس بذر کتان باعث کاهش تولید گاز گردید. در کل داده‌های بدست آمده از این تحقیق نشان داد که انسس بذر کتان بر کیفیت سیلاظر و خصوصیات تخمیری آن اثر مثبت دارد.

انسس بذر کتان تاثیر معنی‌داری بر روی ازت آمونیاکی و پروتئین خام داشت، به طوری که باعث کاهش میزان ازت آمونیاکی و افزایش پروتئین خام نسبت به شاهد می‌شود. سطوح مختلف انسس میزان pH را به طور قابل توجهی کاهش داد، همچنین میزان اسیدهای چرب فرار را کاهش و

منابع

- Adesogan, A.T., N. Krueger, M.B. Salawu, D.B. Dean and C.R. Staples. 2004. The influence of treatment with dual purpose bacterial inoculants or soluble carbohydrates on the fermentation and aerobic stability of Bermuda grass. *Journal of Dairy Science*, 87: 3407-3416.
- Association of offical Analytic chemists (AOAC). 2002. Official method of analytic. 17 thed. AOAC, Arlington, VA, 1: 120-155.
- Benchaar, C., T.A. McAllister and P.Y. Chouinard. 2008. Digestion, ruminal fermentation, ciliate protozoal populations and milk production from dairy cows fed *Cinnamaldehyde*, *Quebracho Condensed Tannin*, or *Yucca schidigera Saponin* Extracts. *Journal of Dairy Science*, 91: 4765-4777.
- Brochers, R. 1965. Proteolytic activity of rumen fluid in vitro. *Journal of Animal Science*, 24: 1033-1038.
- Calsamiglia, S., M. Busquet, P.W. Cardozo, L. Castillejos and A. Ferret. 2007. Invited Review: Essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. *Journal of Dairy Science*, 90: 2580-2595.
- Chaves, A.V., K. Stanford, E.R. Dugan, L.L. MGibson, T.A. McAllister, F. Van Herk and C. Benchaar. 2008. Effects of cinnamaldehyde, garlic and juniper berry essential oils on rumen fermentation, blood metabolites, growth performance, and carcass characteristics of growing lambs. *Livestock Production Science*, 117: 215-224.
- Chaves, A.V., J. Baah, Y. Wang, T.A. McAllister and C. Benchaar. 2012. Effects of cinnamon leaf, oregano and sweet orange essential oils on fermentation and aerobic stability of barley silage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92: 906-915.
- Curtis, J.L. 1996. Effect of variety on the forage yield, ensiling characteristics, and nutritive value of alfalfa and effects of cutting, stage of maturity, and silage additives on the preservation and nutritive value of alfalfa silage. a dissertation. Kansas state university. Department of animal Sci and industry collage of agriculture.
- Davidson, P.M. and A.S. Naidu. 2000. Phyto-phenols. In *Natural Food Antimicrobial Systems*. A.S. Naidu, ed. CRC Press, Boca Raton, FL, 265-293.
- Dorman, H.J.D. and S.G. Deans. 2000. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*, 88: 308-316.
- Dubios, A., M.K.A. Giles, J.K. Hamilton, P.A. Ronerts and F. Smith. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances, *Analytical Chemistry*, 28: 350-356.
- Fedorak, P.M. and D.E. Hurdy. 1983. A simple apparatus for measuring gas production by methanogenic cultures in serum bottles. *Environmental Technology leu*, 4: 425-432.
- Filya, I. 2003. 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.
- Foskolos, A., S. Cavini, M. Rodriques-Prado, A. Ferret and S. Calsamiglia. 2010. A screening test of the use of essential oils compounds on ryegrass silage for preventing nitrogen losses in sustainable dairy production systems. 3rd EAAP international symposium on energy and protein metabolism and nutrition. Parma, Italy, 451-452.
- Fraser, G.R., A.V. Chaves, Y. Wang, T.A. McAllister, K.A. Beauchemin and C. Benchaar. 2007. Assessment of the effects of cinnamon leaf oil on rumen microbial fermentation using two continuous culture systems. *Journal of Dairy Science*, 90: 2315-2328.
- Gershenson, J. and R. Croteau. 1991. Terpenoids. In *Herbivores: Their interactions with secondary metabolites*. Vol. 1. G. A. Rosenthal, and M. R. Berenbaum, ed. Academic Press, San Diego, CA, 1: 165-219.
- Guler, T. 2001. Silage and use of animal nutrition. Conferences. Firat University Veterinary Faculty Publication. Elazig, TURKEY, 27-36.
- Hart, K.J., D.R. Yanez-Ruiz, S.M. Duval, N.R. McEwan and C.J. Newbold. 2008. Plant extracts to manipulate rumen fermentation. *Animal Feed Science and Technology*, 147: 8-35.
- Hodjatpanah-Montazeri, M., N. Danesh Mesgaran and A. Vakili. 2016. Effect of essential oils of various plants as microbial modifier to alter corn silage fermentation and in vitro methane production. *Iranian Journal of Applied Animal Science*, 6(2): 269-276 (In Persian).

20. Ismaiel, A. and M. D. Pierson. 1990. Inhibition of growth and germination of *C. botulinum* 33A, 40B, and 1623E by essential oil of species. *Journal of Food Science*, 55: 1676-1678.
21. Kung, Jr.L., P. Williams, R.J. Schmidt and W. Hu. 2008. A blend of essential plant oils used as an additive to alter silage fermentation or used as a feed additive for lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 91: 4793-4800.
22. Kunkle, W.E., C.G. Chambliss, A.T. Adesogan and M.B. Adjei. 2006. Silage harvesting, Storing and Feeding. University of Florida Online. Available: <http://edis.ifas.ufl.edu/publication.html>.
23. Maghsoudloo, F., J. Bayatkouhsar, F. Ghanbari and F. Taliea. 2017. Effect of Bacterial Inoculation and Essential Oils of Rosemary, Fennel and Carum Copticum as Additive on Fermentation Process, Microbial Population and Nutritional Value of Corn Silage. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 8(4): 553-568 (In Persian).
24. Makkar, H.P.S. 2004. Recent advances in the in vitro gas method for evaluation of nutritional quality of feed resources. Assessing quality and safety of animal feeds. FAO Animal Production and Health Series, 160: 55-88.
25. Markham, R. 1942. A steam distillation apparatus suitable for micro-Kjeldahl analysis. *Biochemistry Journal*, 36: 790.
26. McDougall, E.E.I. 1984. The composition and output of sheep in salvia. *The Biochemical Journal*, 43(1): 99-109.
27. McIntosh, F.M., P. Williams, R. Losa, R.J. Wallace, D.A. Beever and C.J. Newbold. 2003. Effects of essential oils on ruminal microorganisms and their protein metabolism. *Applied Environmental Microbiology*, 69: 5011-5014.
28. Menke, K.H.L. and H.H. Steingass. 1988. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. *Journal of Animal Research and Development*, 28: 7-55.
29. Patra, K., D.N. Kamra and N. Agarwal. 2006. Effect of plant extracts on *in vitro* methanogenesis, enzyme activities and fermentation of feed in rumen liquor of buffalo. *Animal Feed Science and Technology*, 128: 276-291.
30. Reuter, H.D., J.P. Koch and L. Lawson. 1996. Therapeutic effects and applications of garlic and its preparations. Pages 135–212 in Garlic: The Science and Therapeutic Application of *Allium sativum* L. and Related Species. H.P. Koch and L.D. Lawson. Ed. Williams & Wilkins, Baltimore, MD.
31. Rowghani, E.I., M.J. Zamiri, M. Khorvash and A.I. Abdollahipanah. 2008. The effects of *Lactobacillus plantarum* and *Propionibacterium acidipropionici* on corn silage fermentation, ruminal degradability and nutrient digestibility in sheep. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 7: 263-267.
32. SAS. 2002. Statistical Analysis Systems. Version 9. SAS Institute, Cary, NC, USA.
33. Sayyah, M., S. Moaied and M. Kamalinejad. 2005. Anticonvulsant activity of *Heracleum persicum* seed, *J. Ethnopharmacol.* Apr 8; 98(1-2): 209-11.
34. Selwet, M. 2009. Effect of propionic and formic acid mixtures on the fermentation, fungi development and aerobic stability of maize silage. *Polish Journal of Agronomy*, 1: 37-42.
35. Talebzadeh, R., D. Alipour, M.J. Saharkhiz, A. Azarfarr and M. Malecky. 2012. Effect of essential oils of *Zataria multifloraon* *in vitro* rumen fermentation, protozoal population, growth and enzyme activity of anaerobic fungus isolated from Mehraban sheep. *Animal Feed Science Technology*, 172: 115-124.
36. Van Soest, P.J., J.B. Robertson and B.A. Lewis. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, 74: 3583.
37. Woods, V.B. and A.M. Fearon. 2009. Dietary sources of unsaturated fatty acids for animals and their transfer into meat, milk and eggs: a review. *Livestock Science*, 126(1-3): 1-20.

The Effect of Adding Different Levels of Flaxseed Essential Oil to Alfalfa Silage on Chemical Composition and *In Vitro* Fermentation Characteristics

**Maghsoud Besharati¹, Maasoumeh Niazifar², Zabihollah Nemati³, Amir Karimi⁴
and Mohammadreza Sheikhlou⁴**

1- Associate Professor Professor, University of Tabriz, Ahar Faculty of Agriculture and Natural Resources,
Department of Animal Science (Corresponding author: m_besharati@hotmail.com)

2- MSc. of Animal Nutrition, University of Tabriz, Ahar Faculty of Agriculture and Natural Resources, Department
of Animal Science

3 and 4- Associate Professor and Assistant Professor, University of Tabriz, Ahar Faculty of Agriculture and Natural
Resources, Department of Animal Science

Received: October 18, 2019 Accepted: February 29, 2020

Abstract

This experiment was conducted to investigate the effects of flaxseed essential oil (0, 60 or 120 mg/kg) on chemical composition, aerobic stability, and *in vitro* gas production of alfalfa silage. Experimental treatments include: alfalfa treatment without additive (control), alfalfa with 60 mg/kg flaxseed oil and alfalfa with 120 mg/kg flaxseed essential oil, which were kept at room temperature for 60 days. After opening the silos, gas production was measured by *in vitro* method with 5 replications at 2, 4, 6, 8, 12, 16, 24, 36, 48, 72, 96 and 120 hours. The data were analyzed in a completely randomized design. Addition of flaxseed essential oil at both levels (60 and 120 mg/kg) to alfalfa silage significantly reduced silage pH compared to control ($p<0.05$). Addition of essential oil to alfalfa silage had a significant effect on the dry matter content, so that in the supplemented treatment with 120 mg/kg, dry matter was increased (30.02%) compared to the control (24.43%). Adding flaxseed essential oil (120 mg/kg) to alfalfa silage increased crude protein (12.36%) and water soluble carbohydrate (4.61%) contents ($p<0.05$). Addition flaxseed essential oil at 60 and 120 mg concentrations to alfalfa silage significantly reduced ($p<0.05$) ammonia nitrogen compared to control treatment. Both levels of 60 and 120 mg of flaxseed essential oil reduced gas production volume compared to control ($p<0.05$). Overall, the data indicate a positive effect of flaxseed essential oil on alfalfa silage quality and its fermentation properties.

Keywords: Aerobic Stability, Alfalfa Silage, Essential Oils, Flaxseed, *In Vitro* Gas Production