



## تأثیر افزودن آب پنیر و لاکتوباسیلوس بوکتری به سیلاژ یونجه روی تولید گاز و تجزیه پذیری آزمایشگاهی

مقصود بشارتی<sup>۱</sup>، ذبیح اله نعمتی<sup>۲</sup> و رشید صفری<sup>۲</sup>

۱- استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی اهر، دانشگاه تبریز، ایران (نویسنده مسوول: m\_besharati@hotmail.com)

۲- استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی اهر، دانشگاه تبریز، ایران

تاریخ دریافت: ۹۸/۴/۲۷ تاریخ پذیرش: ۹۸/۷/۱۰

صفحه: ۵۶ تا ۶۳

### چکیده

سیلو کردن یونجه به دلیل داشتن محدودیت‌هایی مثل غلظت پایین کربوهیدرات محلول در آب و ظرفیت بافری بالا مشکل است. هدف از این مطالعه بررسی تأثیر افزودن سطوح مختلف آب پنیر تازه و افزودنی باکتریایی به علوفه یونجه قبل از تهیه سیلاژ روی فراسنجه‌های تولید گاز و تجزیه پذیری آزمایشگاهی بود. تیمارهای آزمایشی شامل سطوح متفاوت صفر، ۳۰، ۶۰ و ۹۰ گرم آب پنیر تازه با و بدون افزودن باکتریایی ( $3 \times 10^8$  cfu) به‌ازای هر گرم وزن تر یونجه) به علوفه یونجه بود. گاز تولیدی در ساعات ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۲، ۱۶، ۲۴، ۳۶، ۴۸، ۷۲، ۹۶ و ۱۲۰ ساعت بعد از عمل انکوباسیون اندازه‌گیری شد. داده‌های حاصل از این آزمایش با روش فاکتوریل  $2 \times 4$  در قالب طرح آماری کاملاً تصادفی تجزیه و تحلیل شدند. در پایان ۱۲۰ ساعت بیشترین حجم گاز تولیدی مربوط به تیمار یونجه همراه با ۹۰ گرم آب پنیر تازه و افزودنی باکتریایی و کمترین آن مربوط به تیمار یونجه پلاسیده همراه با افزودنی باکتریایی بود (به ترتیب  $147/93$  و  $133/54$  میلی لیتر به‌ازای گرم ماده خشک). افزودن آب پنیر تازه به همراه افزودنی باکتریایی در ۳ سطح مختلف در ساعات ۲، ۴ و ۲۴ انکوباسیون افزایش معنی‌داری در تجزیه پذیری ماده خشک نسبت به تیمار شاهد را داشت ( $p < 0.05$ ). افزودن آب پنیر تازه در سه سطح مختلف ۳۰، ۶۰ و ۹۰ گرم آب پنیر تازه، سبب افزایش بخش سریع تجزیه‌شونده ماده خشک نسبت به تیمار شاهد شد ( $p < 0.05$ ). پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون، آب پنیر به همراه افزودنی باکتریایی سبب افزایش میزان تجزیه‌پذیری پروتئین خام ( $43/88\%$ ) نسبت به تیمار شاهد شد ( $p < 0.05$ ). نتایج این تحقیق نشان داد که افزودن آب پنیر در سطوح مختلف سبب افزایش در بخش‌های با تجزیه‌پذیری سریع، تجزیه‌پذیری آهسته و تجزیه‌پذیری مؤثر ماده خشک شد.

واژه‌های کلیدی: آب پنیر تازه، افزودنی باکتریایی، تجزیه‌پذیری، سیلاژ یونجه

### مقدمه

قرار گرفتن سیلاژ در معرض هوا در زمان خوراک‌دهی سبب فساد سیلاژ می‌شود. مخمرهایی که قادر به متابولیسم کردن اسیدلاکتیک هستند اولین عامل بروز فساد محسوب می‌شوند که سبب افزایش pH می‌شوند (۱۱)، در ادامه، این تغییرات نیز محرک جهت رشد سایر میکروارگانیسم‌های مضر در سیلاژ می‌شود (۱۱، ۲۵)، که در نهایت سبب کاهش تولید دام به دلیل کاهش ارزش مواد غذایی یا بروز مسمومیت می‌شود. در سال ۱۹۹۶ برای اولین بار بیان شد که استفاده از لاکتوباسیلوس بوکتری سبب بهبود پایداری هوازی سیلاژ می‌شود (۱۱). از آن زمان تاکنون پژوهش‌های بسیاری توسط محققین بر روی این میکروارگانیسم صورت گرفته و اثبات شده که لاکتوباسیلوس بوکتری از طریق تبدیل غیرهوازی اسید لاکتیک به اسید استیک سبب افزایش مقاومت سیلاژ نسبت به فساد هوازی می‌شود (۱۷). با توجه به اینکه افزودن آب پنیر باعث تغییر در رطوبت علوفه در زمان سیلو کردن می‌شود و ممکن است باعث رشد باکتری‌های مضر گردد، بنابراین با افزودن باکتری تولیدکننده لاکتات می‌توان از این کار جلوگیری کرد.

هدف از این مطالعه بررسی تأثیر استفاده از سطوح متفاوت آب پنیر تازه و افزودنی باکتریایی لالسیل (لاکتوباسیلوس بوکتری ۴۰۷۸۸) در سیلاژ یونجه بر فراسنجه‌های تولید گاز و تجزیه‌پذیری آزمایشگاهی بود.

یونجه به دلیل داشتن مقدار پروتئین بالا و پتانسیل تولید زیاد آن در میان خانواده لگومینوز از اهمیت ویژه‌ای برخوردار می‌باشد. در برخی از مناطق جهان به دلیل داشتن آب و هوای گرم و مرطوب، مقدار بارندگی زیاد و فصل رشد محدود، سیلو کردن یک روش مناسب برای حفظ کمیت و کیفیت یونجه در تأمین علوفه نشخوارکنندگان شناخته شده است. یونجه به دلیل داشتن محدودیت‌هایی مثل غلظت پایین کربوهیدرات محلول در آب و ظرفیت بافری بالا باعث ایجاد مشکل در تولید سریع اسید لاکتیک و کاهش مقدار pH می‌شود. بنابراین برای رفع این مشکل از افزودنی‌های مختلفی از قبیل ماده تلقیحی باکتریایی، اسیدی‌کننده‌ها و فرمالدهیدها به منظور بهبود در کیفیت تخمیری سیلاژ یونجه استفاده می‌شود (۱۴، ۲۱). از حدود ۳۰ تا ۴۰ سال پیش افزودن منابع کربوهیدراتی و افزودنی باکتریایی برای بهبود کیفیت سیلاژ مورد مطالعه قرار گرفته است. در کشور ایران سالانه حدود ۱۰۷۵ هزار تن آب پنیر تازه تولید می‌شود که تقریباً معادل ۱۲۲ هزار تن ماده خشک می‌باشد. در حال حاضر میزان تولید آب پنیر در کشور ۲ الی ۳ میلیون تن تخمین زده می‌شود (۴). استفاده از این ماده در تغذیه دام علاوه بر اثرات مفید زیست محیطی و اقتصادی، به دلیل داشتن لاکتوز می‌تواند در جریان تهیه سیلاژ توسط میکروارگانیسم‌ها تولید اسید لاکتیک نموده و به کاهش pH کمک نماید.

## مواد و روش‌ها

علوفه یونجه (چین دوم) در مرحله گل‌دهی (۱۰ درصد مزرعه) برداشت و به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق (دمای ۲۵-۲۸ درجه سلسیوس) پلاسیده شد. علوفه پلاسیده شده توسط چاپر در اندازه‌های ۲ سانتی‌متر خرد گردید. آب پنیر از کارخانه پگاه استان آذربایجان شرقی تهیه و در سطوح صفر، ۳۰، ۶۰ و ۹۰ گرم در کیلوگرم یونجه مورد استفاده قرار گرفت. افزودنی باکتریایی (لاکتوباسیلوس بوکنری ۴۰۷۸۸) صورت پودری بود و برای محلول کردن آن از آب مقطر استفاده شد. تیمارهای آزمایشی شامل: ۱- علوفه یونجه بدون افزودنی (شاهد)، ۲- علوفه یونجه با افزودنی باکتریایی  $3 \times 10^8$  cfu بر گرم وزن تر یونجه (AB)، ۳- علوفه یونجه مکمل شده با ۳۰ گرم آب پنیر تازه در کیلوگرم وزن تر علوفه (AW1)، ۴- یونجه با ۳۰ گرم آب پنیر تازه + افزودنی باکتریایی  $3 \times 10^8$  cfu بر گرم وزن تر یونجه (AW1B)، ۵- علوفه یونجه با ۶۰ گرم آب پنیر تازه در کیلوگرم وزن تر علوفه (AW2)، ۶- علوفه یونجه با ۶۰ گرم آب پنیر تازه + افزودنی باکتریایی  $3 \times 10^8$  cfu بر گرم وزن تر یونجه (AW2B)، ۷- علوفه یونجه با ۹۰ گرم آب پنیر تازه در کیلوگرم وزن تر علوفه (AW3) و ۸- علوفه یونجه با ۹۰ گرم آب پنیر تازه + افزودنی باکتریایی  $3 \times 10^8$  cfu بر گرم وزن تر یونجه (AW3B) بودند. تمامی تیمارها درون سیلوهای آزمایشگاهی با عرض ۱۰ سانتی‌متر و طول ۷۵ سانتی‌متر با گنجایش وزنی ۲/۵ کیلوگرم و دارای شیر خروج شیرابه‌های سیلویی، بوسیله دست و اهرم فشرده شده و به مدت ۹۰ روز در دمای اتاق سیلو گردید. برای هر تیمار سه تکرار در نظر گرفته شد.

به منظور اندازه‌گیری تولید گاز از روش فدوراک و هرودی (۷) استفاده شد. در این روش ابتدا مواد خوراکی توسط آسیاب با قطر منافذ الک ۱ میلی‌متری به صورت یکنواخت آسیاب شدند. مقدار ۳۰۰ میلی‌گرم از هر ماده خوراکی آسیاب شده با دقت توزین و به داخل شیشه‌های سرم استریل ۵۰ میلی‌لیتری منتقل شد و برای هر نمونه ماده غذایی ۵ تکرار در نظر گرفته شد. مایع شکمبه ۲ ساعت بعد از وعده خوراک صبحگاهی از ۲ راس گوسفند نر فیستولا گذاری شده، توسط پارچه توری چهار لایه جمع‌آوری شد و در داخل فلاکس آبی با دمای ۳۹ درجه سلسیوس سریعاً به آزمایشگاه منتقل شد. قبل از انتقال مایع شکمبه به داخل شیشه‌های سرم، با بافر تهیه شده به روش مکدوگال (۱۵) به نسبت ۱ به ۲ (یک قسمت مایع شکمبه و دو قسمت بافر) مخلوط شد. در هر شیشه حاوی تیمار آزمایش مقدار ۳۰ میلی‌لیتر مخلوط مایع شکمبه و بافر افزوده شد و بعد از بی‌هوازی نمودن داخل شیشه با تزریق گاز دی‌اکسیدکربن درب شیشه‌ها توسط درپوش لاستیکی و پرس فلزی، به‌طور محکم بسته شد. به منظور تصحیح گاز تولیدی با منشأ مایع شکمبه تعداد ۵ عدد شیشه بدون آنکه ماده غذایی ریخته شود و فقط دارای مایع شکمبه و بافر بودند در نظر گرفته شدند. کل شیشه‌ها جهت اندازه‌گیری گاز تولیدی به‌داخل دستگاه انکوباتور شیکردار با دور ۱۲۰ دور در دقیقه و در دمای ۳۹ درجه سلسیوس، منتقل شده و عمل قرائت و ثبت میزان گاز تولیدی ناشی از تخمیر

تیمارهای آزمایشی به روش فدوراک و هرودی (۷) (حجم گاز) در ساعات ۲، ۴، ۸، ۱۲، ۱۶، ۲۴، ۳۶، ۴۸، ۷۲، ۹۶ و ۱۲۰ ساعت بعد از عمل انکوباسیون انجام گرفت. آزمایش تعیین تجزیه‌پذیری آزمایشگاهی نیز همانند آزمایش اندازه‌گیری تولید گاز انجام گرفت. با این تفاوت که در این آزمایش برای هر تیمار ۱۵ تکرار در نظر گرفته شد و در ساعات ۲، ۴، ۸، ۱۲ و ۲۴، سه تکرار از هر تیمار از انکوباتور خارج و تمامی محتویات شیشه‌ها به درون لوله‌های آزمایشگاهی از قبل خشک و وزن‌کشی شده انتقال داده شد. به‌منظور خروج کامل تمامی اجرام باکتریایی هر لوله آزمایشگاهی ۲ بار توسط دستگاه سانتریفیوژ در ۵۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۴ دقیقه در ۲۲ درجه سلسیوس سانتریفیوژ گردید و هر بار بعد از سانتریفیوژ مایع بالای به آرامی تخلیه و توسط ۱۰ میلی‌لیتر بافر فسفات ۷۰ درصد شستشو گردید. سپس لوله‌های آزمایشگاهی به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۶۵ درجه سلسیوس در آن خشک شد (۶). تجزیه شیمیایی باقیمانده نمونه‌های آزمایشی شامل ماده خشک، ماده آلی، پروتئین خام، دیواره سلولی و دیواره سلولی بدون همی‌سولوز انجام شد (۲، ۲۳).

داده‌های به‌دست آمده با روش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با استفاده از برنامه آماری SAS (۲۲) با رویه ANOVA آنالیز شدند و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون دانکن (در سطح ۰/۰۵ درصد) استفاده شد. مدل آماری طرح به‌صورت زیر بود:

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + B_j + (AB)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

در این مدل:

$Y_{ijk}$ : مقدار هر مشاهده،  $\mu$ : میانگین کل،  $A_i$ : اثر افزودنی باکتریایی،  $B_j$ : اثر آب پنیر،  $(AB)_{ij}$ : اثر متقابل سطح افزودنی باکتریایی و آب پنیر، و  $\varepsilon_{ijk}$ : خطای آزمایش. تجزیه‌پذیری مؤثر و فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری ( $a$ ) و  $b$  و  $c$  با استفاده از نرم‌افزار NEWAY و براساس معادله اورسکف و مکدونالد (۱۶) محاسبه شدند.

## نتایج و بحث

اثر افزودنی‌ها بر میزان تولید گاز در تیمارهای آزمایشی در جدول ۱ و شکل ۱ نشان داده شده است. افزودن آب پنیر تازه به علوفه یونجه از ساعت ۲ تا ۱۲۰ انکوباسیون سبب ایجاد اختلافات معنی‌دار و افزایش حجم گاز تولیدی نسبت به تیمار شاهد گردید ( $p < 0.05$ ). تیمارهای AW1، AWB1 و AB از ساعت ۲ تا آخر انکوباسیون اختلاف معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد از لحاظ تولید گاز نداشت ( $p > 0.05$ ). در پایان ۱۲۰ ساعت بیشترین حجم گاز تولیدی مربوط به تیمار یونجه همراه با ۹۰ گرم آب پنیر تازه و افزودنی باکتریایی و کمترین آن مربوط به تیمار یونجه پلاسیده همراه با افزودنی باکتریایی بود (به ترتیب ۱۴۷/۹۳ و ۱۳۳/۵۴ میلی‌لیتر به ازای گرم ماده خشک).

در آزمایشات هاشم‌زاده و همکاران (۱۰)، مهلا و همکاران (۱۳) و لشکری و همکاران (۱۲) که اثر منابع مختلف کربوهیدراتی را بر روی سیلاژ علوفه‌های مختلف مورد بررسی

نمی‌گیرد، اما تغییر در فعالیت میکروبی مایع شکمبه نیز ممکن است روی نرخ تخمیر اثر بگذارد. بنابراین عواملی از جمله گونه گیاه، زمان برداشت، بلوغ گیاه، روش‌های فرآوری و دیگر عواملی که ترکیب شیمیایی ماده‌ی غذایی را تحت تأثیر قرار می‌دهند بر میزان گاز تولیدی اثر دارند.

در جدول ۲ اثر تیمارهای آزمایشی بر روی پارامترهای تخمینی تولید گاز آورده شده است. تیمار یونجه با ۹۰ گرم آب پنیر تازه (AW3) بیشترین انرژی متابولیسمی، انرژی خالص، قابلیت هضم ماده خشک، اسیدهای چرب کوتاه زنجیر و پروتئین میکروبی و تیمار یونجه به‌همراه ۹۰ گرم آب پنیر تازه و افزودنی باکتریایی (AWB3) در رتبه دوم قرار دارد ( $p < 0.05$ ) و کمترین آن هم مربوط به دو تیمار شاهد و یونجه به‌همراه ۳۰ گرم آب پنیر تازه و افزودنی باکتریایی (AWB2) است.

نسبت اسیدهای چرب فرار مختلف تولید شده در شکمبه نشخوارکنندگان نقش تعیین‌کننده‌ای در خصوصیات تولیدی دارد (۵). به‌نظر می‌رسد SCFA تولید شده در شکمبه از طریق ورید باب بر ماهیچه‌های روده اثر بگذارد و با افزایش جذب منجر به تولید بهتری گردد (۵). افزایش میزان اسیدهای چرب فرار تولیدی شکمبه می‌تواند باعث افزایش نگرانی‌ها در مورد pH شکمبه و ناهنجاری‌های مرتبط با آن و همچنین کاهش احتمالی تولید گردد (۱۸). با افزایش میزان ماده آلی قابل تخمیر، میزان انرژی قابل متابولیسم و به تبع آن میزان کل اسیدهای چرب فرار افزایش می‌یابد (۳). در آزمایش حاضر به‌دلیل بالاتر بودن میزان تولید گاز در تیمارهای ذکر شده، غلظت انرژی قابل متابولیسم، انرژی خالص شیردهی، اسیدهای چرب کوتاه زنجیر و درصد ماده آلی قابل هضم بالاتر از گروه شاهد بود.

قرار دادند، افزایش در تولید گاز در تیمارهای دریافت‌کننده منبع کربوهیدراتی نسبت به تیمار فاقد منابع کربوهیدرات گزارش شد.

نتایج نشان داد که افزودنی باکتریایی اثر معنی‌داری بر نرخ تولید گاز در برخی از تیمارها نداشت و آب پنیر تازه با سطوح بالا به‌دلیل وجود کربوهیدرات (لاکتوز) تولید گاز بیشتری داشت. پیدرسو (۱۹) با افزودنی باکتریایی لاکتو باسیلوس بونکری به مواد سیلاژ نیشکر با سطوح پایین اتانول، کاهش تولید گاز به میزان ۲۵٪ و همچنین افزایش ماده خشک به میزان ۱۵٪ گزارش کرد. در آزمایش فیلیا و همکاران (۸) از ۱۴ افزودنی باکتریایی بر چین اول یونجه استفاده کردند و نتایج نشان داد که دو نوع افزودنی باکتریایی تولید گاز مشابهی با تیمار شاهد در ساعت سوم انکوباسیون داشت و بقیه افزودنی‌های باکتریایی تولید گاز کمتری داشتند. حق پرور و همکاران (۹) که اثر اضافه نمودن ال-پالانتروم به سیلوی ذرت در ۳ مرحله از بلوغ گیاه را در یک دوره ۲۵ روزه سیلویی مورد بررسی قرار دادند، نتایج خود را برای حجم گاز تولیدی در تیمارهای آزمایشی نسبت به تیمار شاهد در شرایط آزمایشگاهی تا ۹۶ ساعت، افزایشی گزارش نمودند و بیان نمودند که در مراحل مختلف بلوغ گیاه، افزودنی ال-پالانتروم سبب افزایش نسبی گاز تولیدی و قابلیت هضم درون آزمایشگاهی ماده آلی گردید. با توجه به اینکه سیلاژ یونجه دارای مقدار زیادی ازت آمونیاکی می‌باشد با همزمان‌سازی آن با یک منبع کربوهیدرات محلول می‌توان از مقدار تولید پروتئین میکروبی و محصولات تخمیری حاصل از فعالیت‌های متابولیسمی میکروب‌ها استفاده بهینه نمود. با توجه به اینکه میزان گاز تولیدی تحت تأثیر هیچ عامل دیگری به‌جز ترکیبات شیمیایی و خصوصیات فیزیکی مواد غذایی قرار

جدول ۱- اثر تیمارهای آزمایشی روی قابلیت تولید گاز در ساعت‌های انکوباسیون (میلی‌لیتر به ازای گرم ماده خشک)

Table 1. Effect of experimental treatments on gas production at incubation times (ml/g DM)

تیمارها	ساعت‌های انکوباسیون											
	۱۲۰	۹۶	۷۲	۴۸	۳۶	۲۴	۱۶	۱۲	۸	۶	۴	۲
شاهد	۱۳۶/۶۱ <sup>cde</sup>	۱۳۹/۰۳ <sup>cde</sup>	۱۲۰/۱۵ <sup>cd</sup>	۱۰۶/۴۱ <sup>bc</sup>	۹۰/۴۶ <sup>bc</sup>	۶۴/۲۳ <sup>d</sup>	۴۱/۹۳ <sup>ab</sup>	۳۹/۱۶ <sup>abc</sup>	۱۶/۶۳ <sup>ab</sup>	۱۵/۱۷ <sup>ab</sup>	۱۱/۳۸ <sup>ab</sup>	۶/۱۳ <sup>cd</sup>
AB	۱۳۳/۵۴ <sup>e</sup>	۱۲۶/۳۶ <sup>e</sup>	۱۱۸/۰۸ <sup>d</sup>	۱۰۴/۲۸ <sup>c</sup>	۸۸/۵۳ <sup>c</sup>	۶۸/۰۲ <sup>bcd</sup>	۴۰/۷۳ <sup>ab</sup>	۲۸/۲۳ <sup>bc</sup>	۱۶/۵۶ <sup>ab</sup>	۱۴/۵ <sup>ab</sup>	۱۰/۹۸ <sup>cb</sup>	۶/۰۶ <sup>cd</sup>
AW1	۱۳۵/۰۱ <sup>de</sup>	۱۲۷/۶۹ <sup>e</sup>	۱۱۸/۹۵ <sup>d</sup>	۱۰۵/۲۱ <sup>c</sup>	۸۸/۸۶ <sup>c</sup>	۶۶/۰۰ <sup>cd</sup>	۳۸ <sup>bc</sup>	۲۶/۳۶ <sup>c</sup>	۱۴/۴۹ <sup>b</sup>	۱۲/۱ <sup>ab</sup>	۹/۱۱ <sup>c</sup>	۵/۴۶ <sup>d</sup>
AWB1	۱۳۵/۵۴ <sup>cde</sup>	۱۲۸/۴۲ <sup>de</sup>	۱۱۸/۸۱ <sup>d</sup>	۱۰۲/۶۱ <sup>c</sup>	۸۶/۳۳ <sup>c</sup>	۷۰ <sup>abc</sup>	۳۷/۲ <sup>bc</sup>	۳۷/۵۶ <sup>c</sup>	۱۷/۵۶ <sup>ab</sup>	۱۵/۵۷ <sup>ab</sup>	۱۱/۴۴ <sup>ab</sup>	۶/۷۳ <sup>bc</sup>
AW2	۱۴۰/۴ <sup>bc</sup>	۱۳۳/۶۹ <sup>bc</sup>	۱۲۴/۴۷ <sup>bc</sup>	۱۱۰/۲۷ <sup>a</sup>	۹۴/۵۳ <sup>ab</sup>	۷۰/۶۸ <sup>abc</sup>	۴۲/۱۳ <sup>ab</sup>	۳۹/۵۶ <sup>abc</sup>	۱۷/۳۶ <sup>ab</sup>	۱۵/۱ <sup>ab</sup>	۱۱/۷۸ <sup>ab</sup>	۶/۶۹ <sup>bc</sup>
AWB2	۱۳۹/۶۷ <sup>bcd</sup>	۱۳۲/۸۲ <sup>bcd</sup>	۱۲۲/۴۱ <sup>bcd</sup>	۱۰۵/۸۷ <sup>bc</sup>	۸۶/۸۷ <sup>c</sup>	۶۳/۴۹ <sup>d</sup>	۳۵/۶ <sup>c</sup>	۲۵/۵۶ <sup>c</sup>	۱۶/۳۶ <sup>ab</sup>	۱۴/۷ <sup>ab</sup>	۱۰/۶۴ <sup>bc</sup>	۶/۳۹ <sup>cd</sup>
AW3	۱۴۱/۸ <sup>b</sup>	۱۳۴/۴۲ <sup>b</sup>	۱۲۵/۴۱ <sup>ab</sup>	۱۱۲/۰۷ <sup>a</sup>	۹۶/۷۳ <sup>a</sup>	۷۵/۲۱ <sup>a</sup>	۴۵/۱۹ <sup>a</sup>	۳۳/۱۵ <sup>a</sup>	۱۸/۸۹ <sup>a</sup>	۱۶/۳۶ <sup>a</sup>	۱۲/۲۴ <sup>ab</sup>	۷/۵۹ <sup>ab</sup>
AWB3	۱۴۷/۹۳ <sup>a</sup>	۱۳۹/۹۵ <sup>a</sup>	۱۲۹/۱۴ <sup>a</sup>	۱۱۳/۸ <sup>a</sup>	۹۵/۱۳ <sup>ab</sup>	۷۳/۳۵ <sup>ab</sup>	۴۳/۴۶ <sup>a</sup>	۳۲/۱۶ <sup>ab</sup>	۱۹/۲۹ <sup>a</sup>	۱۷/۳۶ <sup>a</sup>	۱۳/۱۷ <sup>a</sup>	۷/۹۹ <sup>a</sup>
SEM	۱/۵۶	۱/۶	۱/۵۳	۱/۷	۱/۶۶	۱/۷۳	۱/۶۱	۱/۴۰	۱/۱۲	۱/۰۸	۰/۶۳	۰/۳۶

شاهد: یونجه پلاسانده شده (فاقد افزودنی). AB: یونجه پلاسانده شده + افزودنی باکتریایی  $3 \times 10^8$  cfu بر گرم وزن تر یونجه. AW1: یونجه پلاسانده شده + ۳۰ گرم آب پنیر بر کیلوگرم وزن تر یونجه. AWB1: یونجه پلاسانده شده + ۳۰ گرم آب پنیر + افزودنی باکتریایی  $3 \times 10^8$  cfu بر گرم وزن تر یونجه. AW2: یونجه پلاسانده شده + ۶۰ گرم آب پنیر بر کیلوگرم وزن تر یونجه. AWB2: یونجه پلاسانده شده + ۶۰ گرم آب پنیر + افزودنی باکتریایی  $3 \times 10^8$  cfu بر گرم وزن تر یونجه. AW3: یونجه پلاسانده شده + ۹۰ گرم آب پنیر بر کیلوگرم وزن تر یونجه. AWB3: یونجه پلاسانده شده + ۹۰ گرم آب پنیر + افزودنی باکتریایی  $3 \times 10^8$  cfu بر گرم وزن تر یونجه. اعداد با حروف غیر مشابه در هر ستون بیانگر معنی‌داری در سطح احتمال ۰/۰۵ می‌باشد.

جدول ۲- اثر تیمارهای آزمایشی روی فراسنجه‌های تخمینی تولید گاز

Table 2. Effect of experimental treatments on gas production parameters

تیمار	تولید گاز (ml/0.2 g DM)	انرژی قابل متابولیسم (MJ/kg DM)	انرژی خالص (MJ/kg DM)	قابلیت هضم ماده آلی در ماده خشک (g/kg DOM)	اسیدهای چرب فرار کوتاه زنجیر (mmol/0.2 g DM)	پروتئین میکروبی (gr/kg DOM)
شاهد	۱۲/۸۴ <sup>d</sup>	۳/۵۹ <sup>d</sup>	۱/۷۷ <sup>d</sup>	۲۸/۱۹ <sup>d</sup>	۰/۱۹ <sup>d</sup>	۵/۴۳ <sup>d</sup>
AB	۱۳/۶۰ <sup>bca</sup>	۴/۰۵ <sup>bca</sup>	۱/۸۵ <sup>bca</sup>	۲۸/۷۹ <sup>bca</sup>	۰/۳ <sup>bca</sup>	۵/۵۶ <sup>bca</sup>
AW1	۱۳/۳ <sup>ca</sup>	۴ <sup>ca</sup>	۱/۸۱ <sup>ca</sup>	۲۸/۴۳ <sup>ca</sup>	۰/۲۹ <sup>ca</sup>	۵/۴۹ <sup>ca</sup>
AWB1	۱۴ <sup>abc</sup>	۴/۱ <sup>abc</sup>	۱/۸۸ <sup>abc</sup>	۲۹/۱۵ <sup>abc</sup>	۰/۳۱ <sup>abc</sup>	۵/۶۳ <sup>abc</sup>
AW2	۱۴/۱۳ <sup>abc</sup>	۴/۱۱ <sup>abc</sup>	۱/۹ <sup>abc</sup>	۲۹/۲۷ <sup>abc</sup>	۰/۳۱ <sup>abc</sup>	۵/۶۵ <sup>abc</sup>
AWB2	۱۲/۷ <sup>d</sup>	۳/۹۳ <sup>d</sup>	۱/۷۶ <sup>d</sup>	۲۷/۹۸ <sup>d</sup>	۰/۲۸ <sup>d</sup>	۵/۴ <sup>d</sup>
AW3	۱۵/۰۴ <sup>a</sup>	۴/۲۵ <sup>a</sup>	۱/۹۸ <sup>a</sup>	۳۰/۰۹ <sup>a</sup>	۰/۳۳ <sup>a</sup>	۵/۸۱ <sup>a</sup>
AWB3	۱۴/۶۷ <sup>ab</sup>	۴/۲ <sup>ab</sup>	۱/۹۵ <sup>ab</sup>	۲۹/۷۶ <sup>ab</sup>	۰/۳۳ <sup>ab</sup>	۵/۷۴ <sup>ab</sup>
SEM	۰/۲۵	۰/۲۶/۰	۰/۱۸/۰	۱۹/۰	۰/۰۴/۰	۰/۰۳۲

شاهد: یونجه پلاسانده شده (فاقد افزودنی). AB: یونجه پلاسانده شده + افزودنی باکتریایی  $3 \times 10^8$  cfu بر گرم وزن تر یونجه. AW1: یونجه پلاسانده شده + ۳۰ گرم آب پنیر بر کیلوگرم وزن تر یونجه. AWB1: یونجه پلاسانده شده + ۳۰ گرم آب پنیر + افزودنی باکتریایی  $3 \times 10^8$  cfu بر گرم وزن تر یونجه. AW2: یونجه پلاسانده شده + ۶۰ گرم آب پنیر بر کیلوگرم وزن تر یونجه. AWB2: یونجه پلاسانده شده + ۶۰ گرم آب پنیر + افزودنی باکتریایی  $3 \times 10^8$  cfu بر گرم وزن تر یونجه. AW3: یونجه پلاسانده شده + ۹۰ گرم آب پنیر بر کیلوگرم وزن تر یونجه. AWB3: یونجه پلاسانده شده + ۹۰ گرم آب پنیر + افزودنی باکتریایی  $3 \times 10^8$  cfu بر گرم وزن تر یونجه. اعداد با حروف غیر مشابه در هر ستون بیانگر معنی‌داری در سطح احتمال ۰/۰۵ می‌باشد.

تجزیه‌پذیری درون آزمایشگاهی ماده خشک شدند. وینبرگ و همکاران (۲۴) نتیجه نهایی خود را این گونه بیان نمودند که برخی از افزودنی‌های باکتریایی توانایی افزایش قابلیت تجزیه‌پذیری ماده خشک را تا ۲۴ ساعت دارند ولی بعد از این زمان هیچ کدام از افزودنی‌ها تاثیری بر قابلیت تجزیه‌پذیری ماده خشک ندارند.

در جدول ۴ اثر تیمارهای آزمایشی بر بخش‌های *a*، *b* و *c* تجزیه‌پذیری ماده خشک به‌روش درون آزمایشگاهی گزارش شده است. با توجه به نتایج گزارش شده میزان قابلیت تجزیه‌پذیری ماده خشک در تیمارهای افزودنی باکتریایی و تیمارهای آب‌پنیر تازه در سه سطح مختلف (۳۰، ۶۰ و ۹۰ گرم آب‌پنیر تازه) در بخش سریع تجزیه‌شونده (*a*) افزایش معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد مشاهده گردید ( $p < 0.05$ ). میزان قابلیت تجزیه‌پذیری ماده خشک در بخش‌های قابل هضم با گذشت زمان (*b*) در تیمارهای افزودنی باکتریایی نسبت تیمار شاهد تفاوت معنی‌داری مشاهده نگردید اما در تیمارهای آب‌پنیر تازه در تیمار ۶۰ گرم آب‌پنیر تازه افزایش معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد داشت ( $p < 0.05$ )، اما دو تیمار ۳۰ و ۹۰ گرم آب‌پنیر تازه نسبت به تیمار شاهد تفاوت معنی‌داری مشاهده نگردید. ثابت نرخ تجزیه‌پذیری (*c*) تحت تاثیر افزودنی باکتریایی قرار نگرفت، اما در تیمارهای آب‌پنیر تازه دو سطح ۶۰ و ۹۰ گرم آب‌پنیر تازه باعث کاهش معنی‌دار نسبت به تیمار شاهد شدند ( $p < 0.05$ ). از لحاظ میزان قابلیت هضم موثر (ED) در تیمارهای افزودنی باکتریایی هیچ تفاوت معنی‌داری مشاهده نگردید. میزان قابلیت هضم موثر (ED) در تیمارهای آب‌پنیر تازه سه سطح ۳۰، ۶۰ و ۹۰ گرم آب‌پنیر تازه افزایش معنی‌داری نسبت به شاهد مشاهده گردید ( $p < 0.05$ ).

اثر تیمارهای آزمایشی روی تجزیه‌پذیری ماده خشک در جدول ۳ نشان داده شده است. افزودن آب پنیر تازه به یونجه پلاسانده شده در ۳ سطوح مختلف AW1، AW2 و AW3 از ساعت ۲ تا ۲۴ سبب افزایش تجزیه‌پذیری ماده خشک به روش درون آزمایشگاهی نسبت به تیمار شاهد گردید ( $p < 0.05$ ). دلیل افزایش تجزیه‌پذیری ماده خشک در این تیمارها را می‌توان با افزایش الیاف نامحلول در شوینده اسیدی توجیه کرد. افزودن آب‌پنیر تازه به‌همراه افزودنی باکتریایی در ۳ سطح مختلف AWB1، AWB2 و AWB3 در ساعات ۲، ۴ و ۲۴ انکوباسیون سبب افزایش معنی‌داری در تجزیه‌پذیری ماده خشک نسبت به تیمار شاهد داشت ( $p < 0.05$ ). صادقی و همکاران (۲۰) نیز در مطالعه‌ای قابلیت تجزیه‌پذیری درون آزمایشگاهی ماده خشک را در سیلاژ ذرت با ماده خشک پایین تیمار شده با ۲ افزودنی باکتریایی مختلف در روزهای ۳، ۶، ۱۲، ۱۶، ۲۱ و ۹۰ بعد از سیلو کردن مورد ارزیابی قرار دادند، که هر ۲ افزودنی باکتریایی در تمام نمونه‌های روز ۶ تا نمونه‌های روز ۹۰ سیلویی سبب کاهش قابلیت تجزیه‌پذیری ماده خشک نسبت به تیمار شاهد گردید. این محققین دلیل کاهش در تجزیه‌پذیری را فعالیت بالاتر افزودنی باکتریایی تجاری در pH پایین نسبت به جمعیت اپی‌فایتیک موجود در تیمار شاهد نسبت دادند. وینبرگ و همکاران (۲۴) اثر ۱۰ سوبه مختلف باکتریایی را بر سیلاژ گندم و ذرت به‌مدت ۶۰ روز مورد بررسی قرار دادند. در این آزمایش سیلاژها با ۳ سطح مختلف از نشاسته جهت اندازه‌گیری قابلیت تجزیه‌پذیری درون آزمایشگاهی ماده خشک به‌مدت ۲۴ ساعت مورد ارزیابی قرار گرفتند. در سیلوی گندم در تیمار شاهد، ۵ افزودنی سبب افزایش و ۵ افزودنی سبب کاهش قابلیت تجزیه‌پذیری درون آزمایشگاهی ماده خشک شدند. در سیلوی ذرت در تیمار شاهد نشاسته، یک افزودنی بی‌تاثیر، ۵ افزودنی سبب افزایش و ۴ افزودنی سبب کاهش قابلیت

جدول ۳- اثر آب پنیر و افزودنی باکتریایی بر قابلیت تجزیه پذیری ماده خشک به روش درون آزمایشگاهی

Table 3. Effect of whey and bacterial additive on *in vitro* DM degradability

زمان انکوباسیون (ساعت)					
تیمار	۲	۴	۸	۱۲	۲۴
شاهد	۱۴/۶۶ <sup>c</sup>	۱۸/۶۰ <sup>e</sup>	۲۵/۹۳ <sup>e</sup>	۳۸/۹۸ <sup>cde</sup>	۵۰/۵۳ <sup>ef</sup>
AB	۱۷/۲ <sup>c</sup>	۲۱/۴۶ <sup>d</sup>	۲۷/۵۸ <sup>de</sup>	۳۷/۰۳ <sup>e</sup>	۴۹/۵۷ <sup>f</sup>
AW1	۲۰/۵ <sup>a</sup>	۲۵/۳۳ <sup>a</sup>	۳۳/۲۴ <sup>a</sup>	۴۴/۳۴ <sup>a</sup>	۶۰/۸ <sup>a</sup>
AWB1	۲۰ <sup>a</sup>	۲۳/۰۶ <sup>bc</sup>	۳۰/۵۴ <sup>b</sup>	۳۹/۳۱ <sup>cd</sup>	۵۲/۳۳ <sup>c</sup>
AW2	۱۸/۲۲ <sup>bc</sup>	۲۲/۲۱ <sup>dc</sup>	۲۶/۹۲ <sup>e</sup>	۳۹/۰۹ <sup>cde</sup>	۵۲/۷۴ <sup>cd</sup>
AWB2	۲۰/۱۱ <sup>a</sup>	۲۴/۱۱ <sup>a</sup>	۳۰/۳۲ <sup>bc</sup>	۴۱/۸۲ <sup>b</sup>	۵۶/۴۸ <sup>b</sup>
AW3	۱۸/۶۷ <sup>b</sup>	۲۳/۷ <sup>b</sup>	۲۸/۱۹ <sup>cde</sup>	۳۸/۳۹ <sup>de</sup>	۵۲/۸۳ <sup>cd</sup>
AWB3	۲۰/۰۹ <sup>a</sup>	۲۴/۸۲ <sup>a</sup>	۲۹/۴۷ <sup>de</sup>	۴۱/۱۶ <sup>bc</sup>	۵۴/۷۳ <sup>bc</sup>
SEM	۰/۳۹	۰/۳۱	۰/۷۱	۰/۶۸	۰/۶۷

شاهد: یونجه پلاسانده شده (فاقد افزودنی). AB: یونجه پلاسانده شده + افزودنی باکتریایی  $3 \times 10^8$  cfu بر گرم وزن تر یونجه. AW1: یونجه پلاسانده شده + ۳۰ گرم آب پنیر بر کیلوگرم وزن تر یونجه. AWB1: یونجه پلاسانده شده + ۳۰ گرم آب پنیر + افزودنی باکتریایی  $3 \times 10^8$  cfu بر گرم وزن تر یونجه. AW2: یونجه پلاسانده شده + ۶۰ گرم آب پنیر بر کیلوگرم وزن تر یونجه. AWB2: یونجه پلاسانده شده + ۶۰ گرم آب پنیر + افزودنی باکتریایی  $3 \times 10^8$  cfu بر گرم وزن تر یونجه. AW3: یونجه پلاسانده شده + ۹۰ گرم آب پنیر بر کیلوگرم وزن تر یونجه. AWB3: یونجه پلاسانده شده + ۹۰ گرم آب پنیر + افزودنی باکتریایی  $3 \times 10^8$  cfu بر گرم وزن تر یونجه. اعداد با حروف غیر مشابه در هر ستون بیانگر معنی داری در سطح احتمال ۰/۰۵ می باشد.

تجزیه پذیری (c) در تیمارهای افزودنی باکتریایی هیچ تفاوت معنی داری نسبت به تیمار شاهد نداشت. اما در تیمارهای آب پنیر تازه دو تیمار ۶۰ و ۹۰ گرم آب پنیر تازه نسبت به تیمار شاهد تفاوت معنی داری مشاهده نگردید. میزان قابلیت هضم موثر (ED) در تیمارهای افزودنی باکتریایی نسبت به تیمار شاهد کاهش معنی داری مشاهده گردید ( $p < 0.05$ ) و تیمارهای آب پنیر تازه در سه سطح ۳۰، ۶۰ و ۹۰ گرم آب پنیر تازه نسبت به تیمار شاهد افزایش معنی داری مشاهده گردید ( $p < 0.05$ ). در مطالعه عبداللهی پناه (۱۳۷۵) که اثر ۳ سطح متفاوت از افزودنی باکتریایی لالسیل (ال-پلانتروم و پروپیونی باکتریوم اسیدی پروپیونسی) را بر سیلاژ ذرت در یک دوره ۶۰ روزه سلویی مورد بررسی قرار داد، بیان نمود که هیچ کدام از افزودنی باکتریایی سبب ایجاد اختلاف معنی داری در بخش های a، b و c ماده خشک در شرایط درون آزمایشگاهی نشده است.

در جدول ۵ اثر تیمارهای آزمایشی بر قابلیت تجزیه پذیری بخش های a، b و c ماده آلی به روش درون آزمایشگاهی گزارش شده است. با توجه به نتایج گزارش شده میزان قابلیت تجزیه پذیری ماده آلی در تیمارهای افزودنی باکتریایی در بخش سریع تجزیه شونده (a) تفاوت معنی داری نسبت به تیمار شاهد مشاهده نگردید، اما در تیمارهای آب پنیر تازه در بخش سریع تجزیه شونده (a) در دو تیمار ۶۰ و ۹۰ گرم آب پنیر تازه نسبت به تیمار شاهد افزایش معنی داری مشاهده گردید ( $p < 0.05$ )، ولی در تیمار ۳۰ گرم آب پنیر تازه نسبت به تیمار شاهد تفاوت معنی داری مشاهده نگردید. بخش های میزان قابل هضم با گذشت زمان (b) در تیمارهای افزودنی باکتریایی نسبت به تیمار شاهد تفاوت معنی دار مشاهده نگردید، اما در تیمارهای آب پنیر تازه در تیمار ۹۰ گرم آب پنیر تازه نسبت به تیمار شاهد افزایش معنی داری داشت ( $p < 0.05$ )، ولی دو تیمار ۳۰ و ۶۰ گرم آب پنیر تازه نسبت به تیمار شاهد تفاوت معنی داری مشاهده نگردید. ثابت نرخ

جدول ۴- اثر افزودنی باکتریایی و آب پنیر تازه بر پارامترهای تجزیه پذیری ماده خشک به روش درون آزمایشگاهی

Table 4. Effect of whey and bacterial additive on *in vitro* DM degradability parameters

پارامترهای تجزیه پذیری	افزودنی باکتریایی		آب پنیر تازه				سطح معنی داری		
	۰	$3 \times 10^8$ cfu	SEM	۰	۳۰	۶۰	۹۰	اثر آب پنیر تازه	اثر باکتریایی
a	۱۱/۹۹ <sup>b</sup>	۱۴/۳۸ <sup>a</sup>	۰/۰۹	۱۰/۱۱ <sup>b</sup>	۱۳/۷۶ <sup>a</sup>	۱۴/۱۳ <sup>a</sup>	۱۴/۷۵ <sup>a</sup>	< ۰/۰۰۰۱	< ۰/۰۰۰۱
b	۷۰/۳۳	۷۰/۲۴	۰/۷۶	۶۵/۹۴ <sup>b</sup>	۶۵/۶۴ <sup>b</sup>	۷۷/۸۷ <sup>a</sup>	۷۱/۶۸ <sup>ab</sup>	۰/۰۱۰۸	۰/۰۱۰۸
c	۰/۰۴	۰/۰۳۵	۰/۰۰۰۶	۰/۰۴۳ <sup>a</sup>	۰/۰۴۳ <sup>a</sup>	۰/۰۳۱ <sup>b</sup>	۰/۰۳۳ <sup>b</sup>	۰/۰۲۱۱	۰/۰۳۷۴
ED	۵۸/۵۲	۵۷/۶۷	۰/۳۵	۵۳/۵۷ <sup>b</sup>	۵۸/۱۳ <sup>ab</sup>	۶۱/۳۴ <sup>a</sup>	۵۹/۳۳ <sup>a</sup>	۰/۰۳۳۳	۰/۰۶۲۵۰

SEM: خطای استاندارد میانگین داده ها، a: بخش سریع تجزیه شونده، b= بخش قابل هضم با گذشت زمان، c: ثابت نرخ تجزیه پذیری ED: هضم موثر در نرخ عبور اعداد با حروف غیر مشابه در هر ردیف بیانگر معنی داری در سطح احتمال ۰/۰۵ می باشد.

جدول ۵- اثر تیمارهای افزودنی باکتریایی و آب‌پنیر تازه بر پارامترهای تجزیه‌پذیری ماده آلی به‌روش درون آزمایشگاهی

Table 5. Effect of whey and bacterial additive on *in vitro* OM degradability parameters

پارامترهای تجزیه‌پذیری	افزودنی باکتریایی		آب پنیر تازه				سطح معنی‌داری		اثر متقابل	
	۰	۳×۱۰ <sup>۸</sup> cfu	SEM	۰	۳۰	۶۰	۹۰	SEM		اثر آب پنیر تازه
a	۲۴/۴۶	۲۳/۹۴	۰/۱۹	۲۲/۲۵ <sup>b</sup>	۲۰/۸۲ <sup>b</sup>	۲۶/۸ <sup>d</sup>	۲۷/۶۳ <sup>d</sup>	۰/۳۹	۰/۰۰۰۴	۰/۵۹۵۱
b	۳۱/۱۱	۲۸/۵۱	۰/۲۷	۲۸/۵۸ <sup>b</sup>	۲۶/۵۶ <sup>b</sup>	۲۸/۷۵ <sup>b</sup>	۲۵/۳۴ <sup>a</sup>	۰/۵۳	۰/۰۰۱۳	۰/۰۶۵۴
c	۰/۱۱	۰/۰۷۳	۰/۰۰۵۲	۰/۱ <sup>ab</sup>	۰/۳ <sup>a</sup>	۰/۰۷ <sup>d</sup>	۰/۰۳ <sup>d</sup>	۰/۰۱	۰/۰۰۶۴	۰/۱۲۵۵
ED	۴۶/۷۶ <sup>a</sup>	۴۳/۵۹ <sup>d</sup>	۰/۱۲	۴۲/۲۶ <sup>c</sup>	۴۴/۱ <sup>c</sup>	۴۶/۳ <sup>d</sup>	۴۸/۰۴ <sup>a</sup>	۰/۲۳	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱

SEM: خطای استاندارد میانگین داده‌ها، a: بخش سریع تجزیه‌شونده، b: بخش قابل هضم با گذشت زمان، c: ثابت نرخ تجزیه‌پذیری ED، هضم موثر در نرخ عبور اعداد با حروف غیرمشابه در هر ردیف بیانگر معنی‌داری در سطح احتمال ۰/۰۵ می‌باشد.

و کمترین میزان ناپدید شدن پروتئین خام مربوط به تیمارهای شاهد، AB و AW2 به‌ترتیب با ۱۳/۳۳٪، ۱۳/۱۱٪ و ۱۲/۰۳٪ مشاهده شد. در ۸ ساعت پس از انکوباسیون تیمار یونجه به‌همراه ۳۰ گرم آب‌پنیر تازه (AW1) با ۳۲/۶۷٪ بیشترین میزان تجزیه‌پذیری پروتئین خام را در بین تیمارها داشت و کمترین میزان ناپدید شدن پروتئین خام در دو تیمار یونجه (شاهد) و تیمار یونجه به‌همراه افزودنی باکتریایی به‌ترتیب ۲۱/۰۶٪ و ۱۹/۹۹٪ گزارش گردید. در ۱۲ ساعت پس از انکوباسیون کمترین میزان ناپدید شدن پروتئین خام مربوط به تیمار یونجه به‌همراه افزودنی باکتریایی (AB) با ۲۱/۹۸٪ و بیشترین میزان ناپدید شدن پروتئین خام مربوط به تیمار یونجه به‌همراه ۳۰ گرم آب‌پنیر تازه (AW1) با ۳۲/۰۲٪ مشاهده شد. در ۲۴ ساعت پس از انکوباسیون بیشترین میزان ناپدید شدن پروتئین خام مربوط به تیمارهای AW1، AWB1، AW2 و AWB2 با ۴۴/۰۹٪، ۴۴/۲۸٪، ۴۳/۸۸٪ و ۴۲/۰۹٪ مشاهده شد.

در جدول ۶ اثر تیمارهای آزمایشی بر ناپدید شدن پروتئین خام به روش درون آزمایشگاهی گزارش شده است. با توجه به نتایج گزارش شده در ۲ ساعت انکوباسیون بیشترین میزان ناپدید شدن پروتئین خام مربوط به تیمار یونجه به‌همراه ۹۰ گرم آب‌پنیر تازه و افزودنی باکتریایی (AWB3) با (۲۰٪) و تیمار یونجه پلاساده شده با ۳۰ گرم آب‌پنیر تازه (AW1) و تیمار یونجه با ۹۰ گرم آب‌پنیر تازه به‌ترتیب با ۱۸/۶۶٪ و ۱۶/۷٪ در رتبه دوم قرار دارد و کمترین میزان ناپدید شدن پروتئین خام مربوط به تیمارهای شاهد، AB، AWB1، AW2 و AWB2 به‌ترتیب با ۱۱/۱۷، ۱۱/۰۶، ۹/۹۷، ۹/۱ و ۱۰/۴۴ درصد گزارش گردید. این تفاوت معنی‌داری می‌تواند به‌دلیل تنوع در میزان پروتئین محلول باشد. پس از ۴ ساعت انکوباسیون درون آزمایشگاهی بیشترین میزان ناپدید شدن پروتئین خام مربوط به دو تیمار یونجه به‌همراه ۹۰ گرم آب‌پنیر تازه و افزودنی باکتریایی (AWB3) با ۲۲/۵۸٪ و تیمار یونجه به‌همراه ۳۰ گرم آب‌پنیر تازه (AW1) با ۲۱/۸۳٪

جدول ۶- اثر تیمارهای آزمایشی بر ناپدید شدن پروتئین خام به‌روش درون آزمایشگاهی

Table 6. Effect of whey and bacterial additive on *in vitro* CP degradability

تیمار	ساعت انکوباسیون			
	۲	۴	۸	۱۲
شاهد	۱۱/۱۷ <sup>c</sup>	۱۳/۳۳ <sup>d</sup>	۲۱/۰۶ <sup>d</sup>	۲۴/۳ <sup>d</sup>
AB	۱۱/۰۶ <sup>c</sup>	۱۳/۱۱ <sup>d</sup>	۱۹/۹۹ <sup>d</sup>	۲۱/۹۸ <sup>c</sup>
AW1	۱۸/۶۶ <sup>ab</sup>	۲۱/۸۳ <sup>a</sup>	۳۲/۶۷ <sup>a</sup>	۳۹/۰۲ <sup>a</sup>
AWB1	۹/۹۷ <sup>c</sup>	۱۶/۶۶ <sup>c</sup>	۲۲/۹۵ <sup>bc</sup>	۳۶/۶۸ <sup>d</sup>
AW2	۹/۱ <sup>c</sup>	۱۲/۰۳ <sup>d</sup>	۲۲/۲۳ <sup>cd</sup>	۲۴/۹۷ <sup>d</sup>
AWB2	۱۰/۴۴ <sup>c</sup>	۱۵/۴ <sup>c</sup>	۲۴/۴۷ <sup>bc</sup>	۲۶/۰۱ <sup>d</sup>
AW3	۱۶/۷ <sup>d</sup>	۱۹/۴۶ <sup>d</sup>	۲۴/۳۳ <sup>bc</sup>	۳۷/۳۵ <sup>ab</sup>
AWB3	۲۰ <sup>a</sup>	۲۲/۵۸ <sup>a</sup>	۲۵/۹۵ <sup>d</sup>	۳۲ <sup>c</sup>
SEM	۰/۷۹	۰/۶۶	۰/۸۶	۰/۵۸

شاهد: یونجه پلاساده شده (فاقد افزودنی). AB: یونجه پلاساده شده + افزودنی باکتریایی ۳×۱۰<sup>۸</sup> cfu بر گرم وزن تر یونجه. AW1: یونجه پلاساده شده + ۳۰ گرم آب‌پنیر بر کیلوگرم وزن تر یونجه. AWB1: یونجه پلاساده شده + ۳۰ گرم آب‌پنیر + افزودنی باکتریایی ۳×۱۰<sup>۸</sup> cfu بر گرم وزن تر یونجه. AW2: یونجه پلاساده شده + ۶۰ گرم آب پنیر بر کیلوگرم وزن تر یونجه. AWB2: یونجه پلاساده شده + ۶۰ گرم آب پنیر + افزودنی باکتریایی ۳×۱۰<sup>۸</sup> cfu بر گرم وزن تر یونجه. AW3: یونجه پلاساده شده + ۹۰ گرم آب‌پنیر بر کیلوگرم وزن تر یونجه. AWB3: یونجه پلاساده شده + ۹۰ گرم آب‌پنیر + افزودنی باکتریایی ۳×۱۰<sup>۸</sup> cfu بر گرم وزن تر یونجه. اعداد با حروف غیر مشابه در هر ستون بیانگر معنی‌داری در سطح احتمال ۰/۰۵ می‌باشد.

افزودنی مثل ملاس و اسیدهای آلی بسیار کم و گران‌قیمت هستند، بنابراین می‌توان از آب‌پنیر تازه به‌عنوان جایگزین مناسب برای تهیه سیلاژ استفاده نمود.

نتایج این تحقیق نشان‌داد که افزودن آب‌پنیر در سطوح مختلف سبب افزایش در بخش‌های با تجزیه‌پذیری سریع، تجزیه‌پذیری آهسته و تجزیه‌پذیری مؤثر ماده خشک شد. با توجه به این که در برخی از مناطق جهان دسترسی به مواد

## منابع

1. Abdollahpanah, A. 2008. Effects of *Lactic acid* producing bacteria on corn silage chemical composition, degradability and nutrient digestibility. MSc Thesis, University of Shiraz (In Persian).
2. Association of official Analytic chemists (AOAC). 2002. Official method of Analytic. 17 thed. AOAC, Arilington, 1: 120-155.
3. Araba, A., F.M. Byers and F. Guessous. 2002. Patterns of rumen fermentation in bulls fed barley/molasses diets. *Animal Feed Science and Technology*, 97(1): 53-64.
4. Bayat, A.R., R. Valizadeh and A.A. Nasserian. 2003. Replacement of water by liquid whey and its influence on performance of Holstein steers. *Agricultural Sciences and Technology*, 17(2): 112-125 (In Persian).
5. Baytok, E., T. Aksu, M.A. Karliandand and H. Muruz. 2005. The effects of formic acid, molasses and inoculant as silage additives on corn silage composition and ruminal fermentation characteristics in sheep. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 29(2): 469-474.
6. Besharati, M. 2007. Determine the nutritional value of some agricultural by-products using in vivo, in situ and in vitro methods. M.Sc. Thesis, University of Tabriz (In Persian).
7. Fedorak, P.M. and S.E. Hrudey. 1983. A simple apparatus for measuring gas production by methanogenic cultuvesin serum bottles. *Environmental Technology Letters*, 4: 425-435.
8. Filya, I., R.E. Muck and F.E. Contreras-govea. 2007. Inoculant effects on alfalfa silage: Fermentation products and nutritive value. *Journal of Dairy Science*, 90: 5108-5114.
9. Haghparvar, R., K. Shojaian, E. Rowghani, S. Parsaei and M. Yousef Ellahi. 2012. The effects of lactobacillus plantarum on chemical composition, rumen degradability, in vitro gas production and energy content of whole-plant corn ensiled at different stages of maturity. *Iranian Journal of Veterinary Research*, Shiraz University, 13(1): 8-15.
10. Hashemzadeh-Cigari, F., M. Khorvash, G.R. Ghorbani and A. Taghizadeh. 2011. The effects of wilting, molasses and inoculants on the fermentation quality and nutritive value of lucerne silage. *South African Journal of Animal Science*, 41(4): 377-388.
11. Kleinschmit, D.H. and L. Jr. Kung. 2006. A meta-analysis of the effects of *Lactobacillus buchneri* on the fermentation and aerobic stability of corn and grass and small-grain silages. *Journal of Dairy Science*, 89(10): 4005-13.
12. Lashkari, S., A. Taghizadeh, J. Seifdavati and A.Z.M. Salem. 2014. Qualitative haracteristics, microbial populations and nutritive values of orange pulp ensiled with nitrogen supplementation. *Slovak Journal of Animal Science*, 47: 90-99.
13. Mahla, A.G. and I.M. Khalifa. 2007. The effect of molasses on quality of sorghum (*sorghum bicolor*) silage. *Research. Journal of Animal and Veterinary Science*, 2: 43-46
14. McAllister, T.A., R. Feniuk, Z. Mir, P. Mir, L.B. Selinger and K.J. Cheng. 1998. Inoculants for alfalfa silage: Effects on aerobic stability, digestibility and the growth performance of feedlot steers. *Livestock Production Science*, 53: 171-181.
15. McDougall, E.I. 1948. The composition and output of sheep in saliva. *Biochemistry Journal*, 43: 99-109.
16. Orskov, E.R.I. and I.M. McDonald. 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *Journal of Agriculture Science (Cambridge)*, 92: 499-503.
17. Oude Elferink, S.J., J. Krooneman, J.C. Gottschal, S.F. Spoelstra, F. Faber and F. Driehuis. 2001. Anaerobic conversion of lactic acid to acetic acid and 1, 2-propanediol by *Lactobacillus buchneri*. *Applied Environmental Microbiology*, 67(1): 125-32.
18. Parand, A. and A. Taghizadeh. 2010. Effects of treating method of barley grain on gas production. *Research on Animal Science*, 20(2): 1-13 (In Persian).
19. Pedrso, A.F. 2003. Chemical and microbil Adities on the control of losses and sugarcane silage quality. *Tese de Doutorado-USP/ESALQ, Piracicaba,SP, Brazil*, 120 pp.
20. Sadeghi, K. 2007. Study the effect of two types of microbial additive on agronomic process and nutritional value of sesame silage with high moisture content. MSc Thesis, University of Shiraz (In Persian).
21. Santos, G.T., R.L. Oliveira, H.V. Petit, U. Cecato, L.M. Zeoula, L.P. Rigolon, J.C. Damasceno, A.F. Branco and V. Bett. 2000. Effect of tannic acid on composition and ruminal degradability of bermudagrass and alfalfa silages. *Journal of Dairy Science*, 83: 2016-2020.
22. SAS. 2002. Statistical Analysis Systems. Version 9. SAS Institute, Cary, NC, USA.
23. 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: 35-83.
24. Weinberg, Z.G., O. Shatz, Y. Chen, E. Yosef, M. Nikbahat, D. Ben-Ghedalia and J. Miron. 2007. Effects of lactic acid bacteria inoculants on vitro digestibility of wheat and corn silages. *Journal of Dairy Science*, 90: 4754-4762.
25. Woolford, M.K. 1990. The detrimental effects of air on silage. *Journal of Applied Bacteriology*, 68: 101-112.

## The Effect of Adding Whey and *L. Buchneri* to Alfalfa Silage on *In Vitro* Gas Production and Degradability

Maghsoud Besharati<sup>1</sup>, Zabihollah Nemati<sup>2</sup> and Rashid Safari<sup>2</sup>

1- Assistant Professor, Department of Animal Science, Ahar Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Tabriz, Iran (Corresponding author: m\_besharati@hotmail.com)

2- Assistant Professor, Department of Animal Science, Ahar Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Tabriz, Iran

Received: July 18, 2019

Accepted: October 2, 2019

### Abstract

Ensiling alfalfa is difficult due to some restrictions such as low water soluble carbohydrate concentration and high buffering capacity. This study was conducted to document the effects of supplementation of alfalfa silage with fresh whey and bacterial additive on gas production, dry matter, organic matter and crude protein degradabilities by *in vitro* method. Experimental treatments included the levels of 0, 30, 60 and 90 g fresh whey per kg of fresh alfalfa were added to the alfalfa silage with and without bacterial additive ( $3 \times 10^8$  cfu per g fresh alfalfa). The gas production was measured at 2, 4, 6, 8, 12, 16, 24, 36, 48, 72, 96 and 120 h after incubation. The data were analyzed using a factorial  $2 \times 4$  in a completely randomized design. After 120 h incubation, the highest amount of gas production was related to alfalfa treatment with 90 g of fresh whey and bacterial additive and the lowest was for alfalfa treated with bacterial additive (147.93 and 133.54 ml/g DM,  $p < 0.05$ ). Adding fresh whey with bacterial additive at 3 different levels at 2, 4 and 24 h incubation increased the dry matter degradability compared to control ( $p < 0.05$ ). Add fresh whey at three different levels of 30, 60 and 90 g fresh whey, increased the fraction (a) dry matter degradability compared to the control ( $p < 0.05$ ). After 24 hours of incubation, adding whey with bacterial additive increased the crude protein degradability compared to control ( $p < 0.05$ ). The results of this study showed that the addition of whey at different levels increased rapidly degradable, slowly degradable fractions and effective degradability of dry matter.

**Keywords:** Alfalfa Silage, Bacterial Additive, Degradability, Whey