



بررسی اثرات مکمل‌سازی سیلاژ یونجه با افزودنی تفاله پرتقال، لاکتوباسیلوس بوچنری و ملاس روی قابلیت تجزیه‌پذیری ماده خشک، پروتئین خام و ماده آلی به روش کیسه‌های نایلونی

مقصود بشارتی^۱، نیلوفر شفیق‌پور^۲، ذبیح‌اله نعمتی^۳ و امیر کریمی^۳

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

۲- فارغ التحصیل کارشناسی ارشد تغذیه دام، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی اهر، دانشگاه تبریز

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

تاریخ دریافت: ۹۶/۱۲/۲۳ تاریخ پذیرش: ۹۷/۹/۷

صفحه: ۴۵ تا ۵۲

چکیده

هدف از این طرح بررسی اثرات مکمل‌سازی سیلاژ یونجه با افزودنی لاکتوباسیلوس بوچنری، تفاله پرتقال و ملاس روی قابلیت تجزیه‌پذیری ماده خشک، پروتئین خام و ماده آلی به روش کیسه‌های نایلونی بود. تیمارهای آزمایشی شامل: سیلاژ یونجه (تیمار شاهد)، سیلاژ یونجه فرآوری شده با افزودنی باکتریایی 3×10^8 cfu/g، مخلوط سیلاژ یونجه و تفاله پرتقال، مخلوط سیلاژ یونجه و تفاله پرتقال فرآوری شده با افزودنی باکتریایی 3×10^8 cfu/g، سیلاژ یونجه فرآوری شده با ۵ درصد ملاس و سیلاژ یونجه فرآوری شده با ۵ درصد ملاس و افزودنی باکتریایی 3×10^8 cfu/g بودند. علوفه یونجه در مرحله گلدهی برداشت و پس از ۲۴ ساعت پلاسیده شدن به همراه تفاله پرتقال با سطح ذکر شده لاسیل با نسبت وزنی ۲۱۰۰ گرم یونجه پلاسیده و ۷۶۰ گرم تفاله پرتقال به مدت ۹۰ روز سیلو گردید. پس از باز کردن سیلوه‌ها به منظور بررسی تجزیه‌پذیری ماده خشک، پروتئین خام و ماده آلی سیلاژها در ساعات ۰، ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۲، ۱۶، ۲۴، ۴۸، ۷۲، ۹۶ و ۱۲۰ از دو راس گوسفند نر بالغ فیستولا گذاری شده استفاده گردید. داده‌های به دست آمده در قالب طرح آماری کاملاً تصادفی با ۴ تکرار (۲ تکرار در هر گوسفند) آنالیز گردید. با افزودن ملاس، تفاله پرتقال و افزودنی باکتریایی به یونجه قابلیت ناپدید شدن ماده خشک و پروتئین خام به روش کیسه‌های نایلونی به طور معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد افزایش یافت ($p < 0.05$). به‌طور کلی می‌توان نتیجه گرفت که افزودنی باکتریایی، ملاس و تفاله پرتقال به تنهایی و در کنار هم، سیلاژی با کیفیت تخمیری بهتر تولید کرد و استفاده از ملاس و یا تفاله پرتقال به عنوان منبع کربوهیدراتی قابل استفاده برای جمعیت باکتریایی مفید در تهیه سیلاژ با کیفیت از یونجه، به‌دلیل کمبودهای این گیاه ارزشمند، موثر بود.

واژه‌های کلیدی: سیلاژ یونجه، تفاله پرتقال، ملاس، افزودنی باکتریایی، تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای

مقدمه

یونجه با نام علمی *Medicago Sativa* در اغلب مناطق جهان گسترش یافته و از آن به عنوان ملکه گیاهان علوفه‌ای نام برده می‌شود. بر اساس تحقیقات انجام شده میزان کاهش ماده خشک و ارزش غذایی یونجه از زمان برداشت تا مرحله مصرف در حدود ۵۴-۲۶ درصد متغیر گزارش شده است (۱۴). یکی از راه‌های جلوگیری از کاهش ارزش غذایی یونجه، سیلو کردن یونجه می‌باشد. تولید سیلاژ یونجه در سال‌های اخیر، بیشتر توجه دامداران را به خود جلب کرده است که دلیل آن به عواملی مثل کاهش از دست دادن برگ و مواد غذایی در مزرعه پس از برداشت، تاخیر کمتر در زمان انبار کردن به دلیل آب و هوای نامطلوب و در نهایت اینکه سیلاژ در دامداری‌های صنعتی خود را بهتر با شرایط مکانیزاسیون وفق داده، باز می‌گردد (۳). ذخیره و نگهداری به روش سیلو براساس ایجاد شرایط بی‌هوازی در pH پائین استوار است که نتیجه آن فرآیندهای میکروبیولوژیکی و بیوشیمیایی و تخمیر بی‌هوازی می‌باشد. میزان تخمیر بستگی به قابلیت استفاده مواد تخمیر شونده و ظرفیت بافری در علوفه سیلویی دارد. یونجه به دلیل داشتن کربوهیدرات محلول پایین و ساقه تو خالی، سیلو کردن آن با مشکلاتی همراه است (۴). از حدود ۳۰ تا ۴۰ سال پیش افزودن منابع

کربوهیدراتی و افزودنی باکتریایی برای بهبود کیفیت سیلاژ مورد بررسی قرار گرفته است. ملاس به‌عنوان یک منبع کربوهیدراتی قابل تخمیر برای سیلاژ به طور وسیعی در بیشتر مناطق دنیا استفاده می‌شود که باعث بهبود رشد باکتری‌های تولیدکننده اسید لاکتیک روی علوفه و تولید سیلاژی با کیفیت خوب می‌گردد (۲۱،۸). از طرفی تفاله مرکبات، تفاله گوجه‌فرنگی، تفاله سیب، تفاله چغندر قند و بقایای حاصل از پوست‌گیری پسته از جمله فرآورده‌های فرعی بخش صنایع تبدیلی و کشاورزی است که به‌عنوان منبع بالقوه‌ای جهت تغذیه دام معرفی می‌شوند. این مواد بسته به فصل تولید میوه در کارخانجات مربوطه تولید شده و عمدتاً بدون استفاده دور ریخته می‌شوند که موجب آلودگی محیط زیست می‌گردند (۱۸). تفاله مرکبات با دارا بودن کربوهیدراتی سهل الوصول بالا می‌تواند به عنوان افزودنی کربوهیدراتی در تهیه سیلاژ مورد استفاده قرار گیرد. تفاله مرکبات از نظر انرژی قابل متابولیسم نسبت به تفاله چغندر برتری داشته و در سطح جو می‌باشد، اما از نظر پروتئین خام به مانند جو و تفاله چغندر نمی‌باشد (۱۹). بنابراین تفاله مرکبات در تغذیه نشخوار کنندگان می‌تواند در سطح غذایی بین تفاله چغندر و جو ارزشیابی نمود (۱۹). هدف از این طرح بررسی اثرات مکمل‌سازی سیلاژ یونجه با افزودنی لاکتوباسیلوس بوچنری،

۱- تعداد کلنی تشکیل شده در هر گرم

تفاله پرتقال و ملاس بر قابلیت تجزیه پذیری ماده خشک، پروتئین خام و ماده آلی به روش کیسه های نایلونی بود.

مواد و روش ها

علوفه یونجه چین دوم (حدود ۱۰۰ کیلوگرم) در مرحله گلدهی برداشت و به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق پلاسیده شد. علوفه پلاسیده شده توسط چاپر به اندازه های ۲ سانتی متر خرد و سپس به ۶ قسمت مساوی تقسیم شد و همراه با تفاله پرتقال و ملاس در سطح ۵ درصد مورد استفاده قرار گرفت. تیمارهای آزمایشی شامل: علوفه یونجه پلاسیده (تیمار شاهد)، علوفه یونجه پلاسیده شده به همراه افزودنی باکتریایی 3×10^8 cfu/g^۱، علوفه یونجه پلاسیده شده به همراه تفاله پرتقال، علوفه یونجه پلاسیده شده به همراه تفاله پرتقال و افزودنی باکتریایی 3×10^8 cfu/g^۱، علوفه یونجه پلاسیده شده به همراه ۵ درصد ملاس و علوفه یونجه پلاسیده شده به همراه ۵ درصد ملاس و افزودنی باکتریایی 3×10^8 cfu/g^۱ بودند. مقدار ۲۱۰۰ گرم علوفه یونجه پلاسیده و ۷۶۰ گرم تفاله پرتقال مورد استفاده قرار گرفت که به مدت ۹۰ روز سیلو گردید. سیلوهای آزمایشی از جنس لوله های upvc با ارتفاع ۹۰ سانتی متر و به قطر ۱۰ سانتی متر و با گنجایش حجمی حدود ۳ کیلوگرم که در قسمت پایین سیلوه به منظور خروج پساب، یک شیر تعبیه شده بود استفاده گردید و پس از پر شدن سیلو به صورت دستی فشرده شدند سپس درب سیلوه محکم بسته شد و بدین نحو از نفوذ هوا به داخل سیلو جلوگیری شد. به منظور بررسی قابلیت هضم ماده خشک، پروتئین خام و ماده آلی سیلاژها به روش کیسه های نایلونی از دو رأس گوسفند نر بالغ فیستولاگذاری شده استفاده گردید. زمانهای انکوباسیون ۰، ۲، ۴، ۸، ۱۲، ۱۶، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت بود. گوسفند های فیستوله شده روزانه در ۲ نوبت با جیره حاوی ۶۰۰ گرم یونجه و ۴۰۰ گرم مخلوط جو و سویا تغذیه می شدند. نمونه ها (۵ گرم) پس از آسیاب شدن توسط الک ۱ میلی متری در داخل کیسه هایی از جنس پلی استر با اندازه 6×12 سانتیمتر و قطر منافذ ۴۵ میکرون پر شدند. به ازای هر تیمار، ۴ تکرار در هر ساعت (۲ تکرار در هر گوسفند) وجود داشت. قبل از وارد کردن کیسه ها به داخل شکمبه به مدت ۳۰ دقیقه در آب ۳۷ درجه سانتی گراد خیسانده شده و سپس به داخل شکمبه منتقل شدند. پس از سپری شدن زمان های انکوباسیون از شکمبه خارج و با آب سرد تا زمان خارج شدن آب شفاف و زلال شستشو شدند و در داخل آون به مدت ۴۸ ساعت قرار گرفتند و پس از خشک شدن قابلیت هضم اندازه گیری شد. برای تعیین تجزیه پذیری در زمان صفر کیسه های حاوی نمونه به مدت ۲۲ ساعت در آب ۳۹ درجه سانتی گراد انکوبه شده و سپس ۲۰ دقیقه زیر شیر آب شستشو شد (۲۳). تجزیه تقریبی باقیمانده کیسه ها و نمونه های آزمایشی شامل میزان ماده خشک، پروتئین خام، دیواره سلولی، و دیواره سلولی بدون همی سلولز انجام شد (۲،۲۲). برای اندازه گیری کربوهیدرات های محلول در آب از روش فنل سولفوریک استفاده شد (۵).

تجزیه و تحلیل آماری

داده های به دست آمده در غالب طرح آماری کاملاً تصادفی برنامه آماری SAS (۱۷) آنالیز شدند و آزمون دانکن برای مقایسه میانگین ها (در سطح ۰/۰۵ درصد) به کار برده شد. همچنین داده های حاصل از آزمایش تجزیه پذیری با استفاده از نرم افزار NEWAY و با کمک معادله $P = a + b(1 - e^{-ct})$ آنالیز گردید و مقادیر a ، b و c به دست آمد، که در این معادله، P ، میزان تجزیه پذیری در زمان t ، a میزان تجزیه پذیری بخش محلول، b میزان تجزیه پذیری بخش غیر محلول، c نرخ ثابت تجزیه پذیری، t زمان تجزیه پذیری و e عدد نپرین (۲/۷۱۸) است. برای محاسبه تجزیه پذیری مؤثر (ED) از فرمول زیر استفاده شد:

$$ED = a + (b \times c / c + k) \quad (۱)$$

که در این معادله، a : میزان تجزیه پذیری بخش محلول، b : میزان تجزیه پذیری بخش غیر محلول، c : نرخ ثابت تجزیه پذیری و k : نرخ عبور است.

نتایج و بحث

خصوصیات و ترکیبات شیمیایی یونجه پلاسیده شده و تفاله پرتقال قبل از سیلو کردن در جدول ۱ آورده شده است. داده های حاصل از آنالیز مواد خوراکی نشان دهنده پایین بودن میزان کربوهیدرات محلول در آب یونجه است که با نتایج هاشم زاده و همکاران (۶) مطابقت دارد. پروتئین خام تفاله پرتقال با مقدار گزارش شده توسط تیموری چمبهن و همکاران (۲۰) برابری می کند. میانگین ماده خشک تفاله پرتقال ۲۵ درصد بود که بیشتر از مقادیر گزارش شده توسط تیمور چمبهن (۲۰) و ویلنوا و همکاران (۲۴) است. اثر تیمارهای آزمایشی بر ناپدید شدن ماده خشک در جدول ۲ آورده شده است. پس از ۶ ساعت انکوباسیون رشد ۱۱ درصدی در میزان ناپدید شدن ماده خشک تیمار یونجه به همراه ملاس مشاهده شد (۲۰/۷۴ درصد) که بیشتر از میزان ناپدید شدن ماده خشک سایر تیمارها است و در ادامه انکوباسیون در داخل شکمبه پس از ۸ ساعت انکوباسیون رشد قابل ملاحظه ای در میزان ناپدید شدن ماده خشک یونجه به همراه ملاس صورت گرفته است (۳۱/۱۰ درصد)، ۱۲ ساعت پس از انکوباسیون تفاوت معنی داری بین همه تیمارها به جز تیمارهای یونجه به همراه تفاله پرتقال و افزودنی باکتریایی و همچنین تیمار یونجه به همراه ملاس و افزودنی باکتریایی مشاهده گردید ($p < 0/01$). در طول مدت زمان انکوباسیون شکمبه ای روند رو به رشد ناپدید شدن ماده خشک مواد خوراکی مشاهده می شود که احتمالاً به دلیل تغییر غلظت باکتری های شکمبه در طول تغذیه و افزایش نرخ رشد باکتری ها می باشد. در زمان ۹۶ ساعت انکوباسیون میزان ناپدید شدن ماده خشک تیمار یونجه به همراه ملاس با ۵۹/۱۰ درصد بیشترین مقدار را در بین تیمارهای آزمایشی داشت و تیمار تفاله پرتقال و یونجه با داشتن ۵۸/۱۵ درصد ناپدید شدن ماده خشک در رتبه دوم قرار دارد ($p < 0/01$).

امکان رشد میکروارگانیسم‌های تجزیه‌کننده دیواره سلولی به دلیل در دسترس بودن یک منبع غذایی به‌عنوان فاکتور رشد بیان کردند. به‌طور کلی افزایش تجزیه‌پذیری در سیلاژهای فرآوری‌شده با ملاس به دلیل شکسته‌شدن پیوندهای لیگنوسلولوزی بین ترکیبات ساختمانی و مقدار کربوهیدرات‌های محلول در این دسته از سیلاژها می‌باشد (۱۵).

کمترین میزان ناپدید شدن ماده خشک مربوط به تیمار یونجه به همراه ملاس و افزودنی باکتریایی بود (۴۵/۹۷). افزایش در هضم، همانند سایر تحقیقاتی که از منابع مختلف کربوهیدراتی استفاده کردند به دلیل میزان کربوهیدرات محلول بالاتر این تیمار منطقی به نظر می‌رسد (۱۱). در مطالعه‌ای افزودن ملاس به عنوان منبع کربوهیدراتی باعث افزایش ۱۳ درصدی تجزیه‌پذیری ماده خشک نسبت به سیلاژهای فاقد ملاس گردید و دلیل این افزایش را به صورت

جدول ۱- خصوصیات و ترکیبات شیمیایی یونجه، تفاله پرتقال قبل از سیلو کردن

Table 1. Chemical compositions of alfalfa and orange pulp before ensiling

ترکیبات شیمیایی (درصد ماده خشک)		الیاف نامحلول در شوینده اسیدی	الیاف نامحلول در شوینده خنثی	pH	ماده خشک (درصد)	
پروتئین خام	کربوهیدرات محلول	۲۹/۰۱	۳۰/۹	۶/۰۲	۳۲	یونجه پلاسیده شده
۱۷/۵۰	۳/۶±۰/۳	۲۳	۲۴/۵	۴/۸۵	۲۵	تفاله پرتقال
۶/۱۲	۵/۸±۰/۵					

میزان قابلیت هضم در افزودنی‌های باکتریایی، باکتری‌های تولیدکننده اسید لاکتیک همگن می‌باشد که انواعی از ایزومرهای e46 اسید لاکتیک را تولید می‌کنند اما ایزومر (+)L به نظر می‌رسد سودمندتر باشد زیرا سریع‌تر متابولیسم می‌گردد (۱۲). لاکتوباسیلوس یکی از سویه‌هایی است که بیشتر این ایزومر (L) را تولید می‌کند. در محیط شکمبه در روش کیسه‌های نایلونی با توجه به اینکه سوبسترا و انواعی متنوعی از میکروب‌ها وجود دارند، این نوع ایزومر اسید لاکتیک به شدت توسط میکروب‌ها مورد متابولیسم قرار گرفته و یا رقیق شده و از محیط کیسه خارج می‌شود (۷).

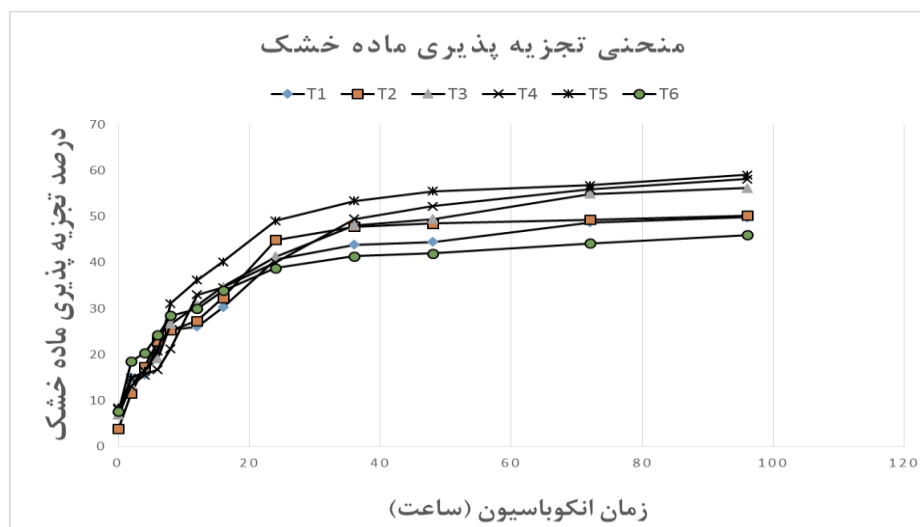
صادقی و همکاران (۱۶) نیز با بررسی اثر سطوح ۵، ۱۰ و ۱۵ درصد تفاله پرتقال بر سیلاژ علوفه نی، افزایش قابلیت تجزیه‌پذیری ماده خشک و تجزیه‌پذیری موثر نسبت به تیمار شاهد را بیان کردند. پس از ۹۶ ساعت انکوباسیون در میزان تجزیه‌پذیری ماده خشک تیمار یونجه به همراه ملاس نسبت به ساعت صفر رشد ۵۱ درصدی دیده می‌شود. پس از تیمار یونجه به همراه ملاس (۵۹/۱۰ درصد) بیشترین میزان تجزیه‌پذیری ماده خشک مربوط به تیمار یونجه به همراه تفاله پرتقال با ۵۸/۱۵ و کمترین میزان مربوط به تیمار یونجه به همراه ملاس و افزودنی باکتریایی بود. علت کمتر بودن

جدول ۲- اثر افزودنی باکتریایی و ملاس همراه با تفاله پرتقال بر ناپدید شدن ماده خشک به روش کیسه‌های نایلونی (درصد ماده خشک)

Table 2. Effect of bacterial additive and molasses with orange pulp on in situ DM disappearance (%)

تیمار	زمان انکوباسیون (ساعت)											
	۰	۲	۴	۶	۸	۱۲	۱۶	۲۴	۳۶	۴۸	۷۲	۹۶
شاهد	۷/۱۶ ^{bc}	۱۵/۰۵ ^b	۱۵/۶۰ ^d	۲۲/۱۰ ^b	۲۵/۴۳ ^d	۲۶/۰۲ ^e	۳۰/۲۳ ^e	۴۰/۷۳ ^c	۴۳/۸۹ ^d	۴۴/۴۹ ^e	۴۸/۷۱ ^e	۴۹/۸۴ ^e
AB	۳/۹۰ ^d	۱۱/۵۹ ^c	۱۷/۲۷ ^b	۲۲/۸۲ ^b	۲۵/۳۰ ^d	۲۷/۳۴ ^d	۳۲/۳۳ ^d	۴۴/۹۶ ^b	۴۷/۷۷ ^c	۴۸/۴۸ ^d	۴۹/۳۰ ^d	۵۰/۲۰ ^d
AO	۶/۸۰ ^c	۱۳/۴۱ ^{bc}	۱۶/۵۱ ^c	۱۹/۱۶ ^d	۲۶/۶۶ ^c	۳۰/۷۱ ^c	۳۴/۷۵ ^b	۴۱/۳۲ ^c	۴۸/۱۲ ^c	۴۹/۴۹ ^c	۵۴/۹۰ ^c	۵۶/۱۹ ^c
ABO	۸/۱۱ ^a	۱۳/۱۰ ^{bc}	۱۵/۵۱ ^d	۱۶/۷۰ ^e	۲۱/۲۹ ^e	۳۳ ^b	۳۴/۶۰ ^{bc}	۴۰/۰۱ ^d	۴۹/۴۳ ^b	۵۲/۲۷ ^b	۵۵/۹۷ ^b	۵۸/۱۵ ^b
AM	۸/۳۵ ^a	۱۴/۸۶ ^b	۱۶/۳۷ ^c	۲۰/۷۳ ^c	۳۱/۱۰ ^a	۳۶/۱۸ ^a	۴۰/۲۰ ^a	۴۹/۱۲ ^a	۵۳/۳۹ ^a	۵۵/۵۳ ^a	۵۶/۱۰ ^a	۵۹/۱۰ ^a
AMB	۷/۵۵ ^b	۱۸/۵۶ ^a	۲۰/۳۳ ^a	۲۴/۲۱ ^a	۲۸/۴۷ ^b	۲۹/۹۳ ^c	۳۳/۸۸ ^c	۳۸/۷۹ ^e	۴۱/۳۸ ^e	۴۱/۹۵ ^f	۴۴/۱۶ ^f	۴۵/۹۷ ^f
SEM	۰/۱۵۵	۰/۷۷۴	۰/۱۶۴	۰/۲۸۴	۰/۴۰۶	۰/۳۰۷	۰/۲۸۴	۰/۲۷۶	۰/۱۵۰	۰/۱۶۶	۰/۲۰۹	۰/۱۲۴
P-value	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱

شاهد: سیلاژ یونجه (تیمار شاهد)، AB: سیلاژ یونجه فرآوری شده با افزودنی باکتریایی 3×10^8 cfu/g، AO: مخلوط سیلاژ یونجه و تفاله پرتقال، ABO: مخلوط سیلاژ یونجه و تفاله پرتقال فرآوری شده با افزودنی باکتریایی 3×10^8 cfu/g، AM: سیلاژ یونجه فرآوری شده با ۵ درصد ملاس، AMB: سیلاژ یونجه فرآوری شده با ۵ درصد ملاس و افزودنی باکتریایی 3×10^8 cfu/g. اعداد با حروف غیر مشابه در هر ستون بیانگر معنی‌داری در سطح احتمالی ۰/۰۵ می‌باشد.



شکل ۱- اثر تیمارهای آزمایشی بر ناپدید شدن ماده خشک به روش کیسه‌های نایلونی
Figure 1. Effect of experimental treatments on in situ DM disappearance

T1: سیلاژ یونجه، T2: سیلاژ یونجه فرآوری شده با افزودنی باکتریایی 3×10^8 cfu/g، T3: مخلوط سیلاژ یونجه و تفاله پرتقال، T4: مخلوط سیلاژ یونجه و تفاله پرتقال فرآوری شده با افزودنی باکتریایی 3×10^8 cfu/g، T5: سیلاژ یونجه فرآوری شده با ۵ درصد ملاس، T6: سیلاژ یونجه فرآوری شده با ۵ درصد ملاس و افزودنی باکتریایی 3×10^8 cfu/g

اندازه‌گیری قابلیت تجزیه‌پذیری درون آزمایشگاهی ماده خشک به مدت ۲۴ ساعت مورد ارزیابی قرار گرفتند. در سیلوی گندم در سطح صفر نشاسته، ۵ افزودنی سبب افزایش و ۵ افزودنی سبب کاهش قابلیت تجزیه‌پذیری درون آزمایشگاهی ماده خشک شدند. در سطح ۱:۲ (سیلوی گندم: نشاسته)، اثر ۳ افزودنی بی‌تاثیر، یک افزودنی کاهش و ۶ افزودنی افزایشی گزارش گردید و در سطح ۲:۱ (سیلوی گندم: نشاسته)، اثر ۶ افزودنی افزایشی، یک افزودنی بی‌تاثیر و ۳ افزودنی کاهش بی‌تاثیر و در سیلوی ذرت در سطح صفر نشاسته، یک افزودنی بی‌تاثیر، ۵ افزودنی سبب افزایش و ۴ افزودنی سبب کاهش قابلیت تجزیه‌پذیری درون آزمایشگاهی ماده خشک شدند. در سطح ۱:۲ (سیلوی گندم: نشاسته)، اثر یک افزودنی بی‌تاثیر و ۹۶ افزودنی افزایشی گزارش گردید و در سطح ۲:۱ (سیلوی گندم: نشاسته)، اثر هر ۱۰ افزودنی افزایشی بیان گردید. در پایان وینبرگ و همکاران (۱۷) نتیجه نهایی خود را این گونه بیان کردند که برخی از افزودنی‌های باکتریایی توانایی افزایش قابلیت تجزیه‌پذیری ماده خشک را تا ۲۴ ساعت دارند ولی بعد از آن هیچ کدام از افزودنی‌ها تأثیری بر قابلیت تجزیه‌پذیری ماده خشک نداشتند.

در جدول ۳ اثر تیمارهای آزمایشی بر ناپدید شدن پروتئین خام به روش کیسه‌های نایلونی گزارش شده است. با توجه به نتایج گزارش شده در زمان صفر ساعت انکوباسیون بیشترین میزان ناپدید شدن پروتئین خام مربوط به تیمار یونجه به همراه ملاس و افزودنی باکتریایی (۱۸/۹۶ درصد) و در رتبه دوم بیشترین میزان ناپدید شدن مربوط به تیمار یونجه به همراه تفاله پرتقال و افزودنی باکتریایی (۱۸/۲۲ درصد) و کمترین مقدار مربوط به تیمار شاهد گزارش گردیده است که اختلاف معنی‌داری بین تمام تیمارها با تیمار شاهد مشاهده

صادقی و همکاران (۱۶) 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 ۶ روز تا نمونه‌های روز ۹۰ سیلویی سبب کاهش قابلیت تجزیه‌پذیری ماده خشک نسبت به تیمار شاهد گردید. این محقق دلیل کاهش در تجزیه‌پذیری را فعالیت بالاتر افزودنی باکتریایی تجاری در pH پایین نسبت به جمعیت اپی‌فایتیک موجود در تیمار شاهد نسبت دادند. عبداللهی‌پناه (۱) که اثر ۳ سطح متفاوت از افزودنی باکتریایی لاسیل (ال-پلانتروم و پروپیونی باکتریوم اسیدی پروپیونسی) را بر سیلاژ ذرت در یک دوره ۶۰ روزه سیلویی مورد بررسی قرار داد، بیان نمود که هیچ کدام از سطوح استفاده شده از افزودنی باکتریایی سبب ایجاد اختلاف معنی‌داری در بخش‌های c و (a+b) ماده خشک نگردید ($p < 0.05$). جالک و همکاران (۱۰،۹) در مطالعه‌ای اثر ۳ افزودنی ال-پلانتروم، ال-فرمنتوم و انتروکوکوس فاسیوم را بر سیلاژ گراس و ذرت طی یک دوره سیلویی ۱۰۵ روزه مورد بررسی قرار دادند. نتایج این آزمایش نشان داد که ۲ افزودنی (ال-فرمنتوم و انتروکوکوس فاسیوم) در سیلاژ گراس سبب کاهش معنی‌دار و افزودنی ال-پلانتروم سبب افزایش معنی‌دار قابلیت تجزیه‌پذیری درون آزمایشگاهی ماده خشک گردید. در سیلاژ ذرت نیز هر ۳ افزودنی باکتریایی استفاده شده را بی‌تاثیر بر قابلیت تجزیه‌پذیری درون آزمایشگاهی ماده خشک گزارش کردند. وینبرگ و همکاران (۲۶) اثر ۱۰ سویه مختلف باکتریایی را بر سیلاژ گندم و ذرت به مدت ۶۰ روز مورد بررسی قرار دادند. در این آزمایش سیلاژها با ۳ سطح مختلف از نشاسته جهت

پروتیین داشت و در طی این ساعات به ترتیب برابر با ۴۰، ۴۰/۹۱، ۵۰/۴۰ و ۵۵/۰۵ درصد بود و همه اختلاف معنی داری با تیمار شاهد داشتند ($p < 0.01$). ۴۸ ساعت پس از انکوباسیون شکمبه‌ای کمترین میزان ناپدید شدن پروتیین خام مربوط به تیمار یونجه به همراه تفاله پرتقال (۳۰/۵۳ درصد) و بیشترین میزان ناپدید شدن مربوط به تیمار یونجه به همراه ملاس و افزودنی باکتریایی (۶۲/۹۷) بود. ۹۶ ساعت پس از انکوباسیون شکمبه‌ای بیشترین میزان ناپدید شدن ماده خشک مربوط به تیمار یونجه به همراه ملاس و افزودنی باکتریایی (۷۹/۷۳ درصد) و کمترین میزان ناپدید شدن مربوط به تیمار یونجه و افزودنی باکتریایی (۳۷ درصد) مشاهده گردید.

می‌گردد ($p < 0.025$). این تفاوت می‌تواند ناشی از تنوع در میزان پروتیین محلول باشد. در طول مدت زمان انکوباسیون شکمبه‌ای روند رو به رشد ناپدید شدن پروتیین خام مواد غذایی مشاهده می‌شود که احتمالاً به دلیل تغییر غلظت باکتری‌های شکمبه در طول تغذیه و افزایش سرعت رشد باکتری‌ها است. ۸ ساعت پس از انکوباسیون رشد ۱۷ درصدی در میزان تجزیه‌پذیری پروتیین خام در تیمار یونجه به همراه ملاس و افزودنی باکتریایی (۳۵/۲۳ درصد) مشاهده گردید که می‌تواند به دلیل داشتن پروتیین غیر محلول ولی دارای پتانسیل تجزیه‌پذیری در شکمبه باشد. در طی ساعات ۱۲، ۱۶، ۲۴ و ۳۶ ساعت پس از انکوباسیون شکمبه‌ای بیشترین میزان ناپدید شدن مربوط به تیمار یونجه به همراه ملاس و افزودنی باکتریایی بود که رشد ۳۶ درصدی در میزان تجزیه‌پذیری

جدول ۳- اثر افزودنی باکتریایی و ملاس همراه با تفاله پرتقال بر ناپدید شدن پروتیین خام به روش کیسه‌های نایلون (درصد ماده خشک)
Table 3. Effect of bacterial additive and molasses with orange pulp on in situ crude protein disappearance (%)

تیمار	۰	۲	۴	۶	۸	۱۲	۱۶	۲۴	۳۶	۴۸	۷۲	۹۶
شاهد	۱۱/۶۶ ^f	۱۳/۰۵ ^e	۱۵/۲۹ ^f	۱۸ ^f	۲۱ ^e	۲۴/۶۲ ^d	۲۸/۸۲ ^d	۳۵/۲۳ ^c	۴۰ ^c	۴۵/۹۱ ^c	۵۰/۴۰ ^c	۵۵/۰۵ ^c
AB	۱۷/۳۳ ^c	۱۸/۹۶ ^b	۲۰/۵۰ ^c	۲۲/۲۶ ^c	۲۴/۳۱ ^c	۲۶/۸۵ ^c	۲۹/۷۶ ^c	۳۲/۳۲ ^d	۳۵/۲۳ ^d	۳۸ ^d	۴۵/۹۱ ^d	۴۷/۴۰ ^d
AO	۱۵/۳۱ ^e	۱۷/۳۳ ^d	۱۷/۷۶ ^e	۱۹/۲۵ ^e	۲۰/۳۴ ^f	۲۱/۴۰ ^e	۲۲/۵۳ ^f	۲۵/۰۸ ^f	۲۷/۷۰ ^f	۳۰/۵۳ ^f	۳۲/۵۴ ^f	۳۷ ^f
ABO	۱۸/۲۲ ^b	۲۰/۷۳ ^a	۲۳/۲۳ ^b	۲۷/۱۱ ^b	۳۲/۳۳ ^b	۳۸ ^b	۴۳/۷۶ ^b	۴۷/۴۰ ^b	۵۳/۰۵ ^b	۶۰/۹۹ ^b	۶۸/۳۰ ^b	۷۵/۶۹ ^b
AM	۱۶/۲۴ ^d	۱۸/۰۶ ^c	۱۸/۹۶ ^d	۲۰/۵۲ ^e	۲۲/۲۶ ^d	۲۴/۳۱ ^d	۲۶/۸۵ ^e	۲۹/۷۶ ^e	۳۲/۳۲ ^e	۳۵/۰۳ ^e	۳۸ ^e	۴۵/۹۱ ^e
AMB	۱۸/۹۶ ^a	۲۱ ^a	۲۴/۶۲ ^a	۲۸/۸۲ ^a	۳۵/۲۳ ^a	۴۰ ^a	۴۵/۹۱ ^a	۵۰/۴۰ ^a	۵۵/۰۵ ^a	۶۲/۹۷ ^a	۷۰/۶۳ ^a	۷۹/۷۳ ^a
SEM	۰/۱۵۰	۰/۱۰۵	۰/۰۹۹	۰/۱۴۴	۰/۱۸۲	۰/۱۰۲	۰/۱۴۸	۰/۱۷۸	۰/۲۰۱	۰/۱۲۵	۰/۱۲۷	۰/۱۴۷
P-value	۰/۰۲۵	۰/۰۰۱	۰/۰۲۲	۰/۰۲۳	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۲۷	۰/۰۱۷	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۱۵	۰/۰۴۱

شاهد: سیلاژ یونجه (تیمار شاهد)، AB: سیلاژ یونجه فراوری شده با افزودنی باکتریایی 3×10^8 cfu/g، AO: مخلوط سیلاژ یونجه و تفاله پرتقال، ABO: مخلوط سیلاژ یونجه و تفاله پرتقال فراوری شده با افزودنی باکتریایی 3×10^8 cfu/g، AM: سیلاژ یونجه فراوری شده با ۵ درصد ملاس، AMB: سیلاژ یونجه فراوری شده با ۵ درصد ملاس و افزودنی باکتریایی 3×10^8 cfu/g اعداد با حروف غیر مشابه در هر ستون بیانگر معنی داری در سطح احتمالی ۰/۰۵ می‌باشد.

جدول ۴- اثر افزودنی باکتریایی و ملاس همراه با تفاله پرتقال بر بخش‌های a، b و c تجزیه‌پذیری پروتیین خام به روش کیسه‌گذاری
Table 4. Effect of treatments on in situ crude protein digestibility parameters

تیمار	a	b	C	ED
شاهد	۱۰/۹۵ ^e	۴۶/۰۰ ^b	۰/۰۲۶ ^{ab}	۳۶/۹۵ ^b
AB	۱۸/۰۵ ^{bc}	۳۲/۹۰ ^c	۰/۰۲۳ ^{cd}	۳۵/۲۸ ^b
AO	۱۶/۳۰ ^d	۲۲/۹۶ ^d	۰/۰۲۳ ^{cd}	۲۸/۳۳ ^c
ABO	۱۸/۶۹ ^{ab}	۵۸/۴۴ ^a	۰/۰۲۵ ^{abc}	۵۱/۱۶ ^a
AM	۱۷/۲۵ ^c	۳۱/۹۵ ^c	۰/۰۱۹ ^d	۳۲/۸۳ ^c
AMB	۱۹/۲۳ ^a	۵۶/۸۹ ^a	۰/۰۳۰ ^a	۵۳/۳۶ ^a
SEM	۰/۲۹۴	۱/۵۱۳	۰/۰۰۲	۱/۱۲۲
P-value	۰/۰۰۱	۰/۰۳۶	۰/۰۰۱	۰/۰۴۰

شاهد: سیلاژ یونجه (تیمار شاهد)، AB: سیلاژ یونجه فراوری شده با افزودنی باکتریایی 3×10^8 cfu/g، AO: مخلوط سیلاژ یونجه و تفاله پرتقال، ABO: مخلوط سیلاژ یونجه و تفاله پرتقال فراوری شده با افزودنی باکتریایی 3×10^8 cfu/g، AM: سیلاژ یونجه فراوری شده با ۵ درصد ملاس، AMB: سیلاژ یونجه فراوری شده با ۵ درصد ملاس و افزودنی باکتریایی 3×10^8 cfu/g اعداد با حروف غیر مشابه در هر ستون بیانگر معنی داری در سطح احتمالی ۰/۰۵ می‌باشد. ED = a+(bc/(c+k))، ED: تجزیه‌پذیری موثر.

کمترین میزان مربوط به تیمار یونجه و پرتقال (۷۶/۲۴ درصد) و بیشترین میزان مربوط به تیمار یونجه و پرتقال و باکتری (۸۱/۲۹ درصد) است که تفاوت معنی داری بین تمام تیمارها با تیمار شاهد وجود دارد و رشد ۳۰ درصدی نسبت به ساعت صفر انکوباسیون مشاهده می شود.

افزودن تفاله پرتقال و ملاس به یونجه پلاسیده شده سبب افزایش قابلیت هضم نسبت به تیمار شاهد گردید. افزودنی باکتریایی و ملاس و تفاله پرتقال به تنهایی و در کنار هم، سیلاژی با کیفیت تخمیری بهتر تولید کرد و استفاده از ملاس و یا تفاله پرتقال به عنوان منبع کربوهیدراتی قابل استفاده برای جمعیت باکتریایی مفید و یا افزودنی های باکتریایی در تهیه سیلاژ با کیفیت از یونجه، به دلیل کمبودهای این گیاه ارزشمند، مفید است.

در جدول ۵ اثر ملاس، تفاله پرتقال و افزودنی باکتریایی بر میزان ماده آلی به روش کیسه های نایلونی گزارش شده است. با توجه به نتایج گزارش شده در زمان صفر ساعت انکوباسیون میزان ماده آلی تیمار یونجه و پرتقال کمترین (۵۱/۵۶ درصد) و بیشترین میزان مربوط به تیمار یونجه و ملاس (۵۸/۵۵ درصد) گزارش گردیده است و تفاوت معنی داری بین تمام تیمارها مشاهده گردید ($p < 0.001$). در ساعات ۲۴، ۳۶ و ۴۸ انکوباسیون بیشترین میزان مربوط به تیمار یونجه و ملاس ۷۵/۱۸، ۷۶/۲۵ و ۷۶/۵۸ درصد است و کمترین میزان مربوط به تیمار یونجه و پرتقال ۶۹/۱۶، ۷۰/۰۹ و ۷۲/۵۸ درصد می باشد. در ساعت ۷۲ انکوباسیون تیمار یونجه و پرتقال با (۷۲/۲۵ درصد) کمترین و بیشترین میزان مربوط به تیمار شاهد (۷۷/۷۷ درصد) است و در ساعت ۹۶ انکوباسیون

منابع

1. Abdollahipناه, 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. Vol. 1. 17th ed. AOAC, Arilington, VA. 120-155 p.
3. 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 science and industry collage of agriculture.
4. Delavar, M.H. and M. Danesh Mesgaran. 2004. Chemical and digestive (ruminal and intestinal) components of treated alfalfa silage with urea and sulfuric acid and their effects on milk production and composition of dairy cows. Journal of Agricultural industries and sciences, 17(2): 231-219 (In Persian).
5. Dubois, M., K.A. Giles, J.K. Hamilton, P.A. Rebes and F. Smith. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Analytical Chemistry, 28: 350-356.
6. 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.
7. Hashemzadeh-Cigari, F., M. Khorvash, G.R. Ghorbani, E. Ghasemi, A. Taghizadeh, S. Kargar and W.Z. Yang. 2014. Interactive effects of molasses by homofermentative and heterofermentative inoculants on fermentation quality, nitrogen fractionation, nutritive value and aerobic stability of wilted alfalfa (*Medicago Sativa* L.) silage. Journal of Animal Physiology and Nutrition, 98: 290-299.
8. Islam, M., O. Enishi, A. Purnomoadi, K. Higuchi, N. Takusari and F. Terada. 2001. Energy and protein utilization by goats fed Italian ryegrass silage treated with molasses, urea, cellulase or cellulase + lactic acid bacteria. Small Ruminant Research, 42: 49-60.
9. Jalč, D., A. Lauková and S. Kišidayová. 2010. Effect of inoculants on fermentation parameters and chemical composition of grass and corn silages. Czech Journal of Animal Science, 43(3): 141-146.
10. Jalč, D., A. Lauková, M. Simonová, Z. Váradyová and P. Homolka. 2009. The use of bacterial inoculants for grass silage: their effects on nutrient composition and fermentation parameters in grass silages. Czech Journal of Animal Science, 54:83-90.
11. Karimi, M., M. Besharati, A. Taghizadeh and R. Safari. 2017. Effects of lactobacillus inoculants on characteristics and composition of alfalfa wilted by orange pulp silage. Animal Production Research, 6(1): 27-37.
12. Marcillaud, S., F. Schelcher and J.P. Braun. 1999. D-lactic acid and D-lactic acidosis in humans and domestic animals: a review. Rev. Méd. Vét. 150: 233-240.
13. Neghabi, N., G. Jalilvand, M.Y. Elahi and K. Shojaeian. 2016. Effect of yeast (*Saccharomyces Cerevisia*) and molasses on the digestibility of atriplex lentiformis with method in situ. Research on Animal Production, 6(12): 123-130.
14. Nikkhhah A. and H. Amanlou. 1996. Livestock feeds and feeding. Jahade- Daneshgahi Publishers (In Persian).
15. Ronaghi, E. and M.J. Zamiri. 2007. The effects of a microbial inoculant and formic acid as silage additives on chemical composition, ruminal degradability and nutrient digestibility of corn silage in sheep. Iranian Journal of veterinary Research, Shiraz University, 10(2): 27.
16. Sadeghi, K., M. Khorvash, G.R. Ghorbani, M.A. Forouzmad, M. Boroumand and F. Hashemzadeh-cigari. 2012. Effects of homo-fermentative bacterial inoculants on fermentation characteristics and

- nutritive value of low dry matter corn silage. Iranian Journal of Veterinary Research, Shiraz University, 13(4): 41.
17. SAS. 2002. SAS User's Guide. Statistics. Version 8.2 Edition. SAS Inst., Inc., Cary NC.
 18. Seyed Momen, S.M. 2003. Study the effects of different levels of pistachio by-product and tannins on the body growth and the production of fluff Rainey fluff goat. Animal Science Master's thesis. Islamic Azad University of Karaj (In Persian).
 19. Sinclair, W.B. 1984. biochemistry and physiology of the lemon and other citrus fruits. Food and Agriculture Organization of the United Nations.
 20. Teimoury Chamebon, A., A. Teimori Yanesari, Y. Chashnidel and A. Gafary Sayadi. 2017. Study of chemical composition, quality and ruminal degradability parameters of silaged orange pulp with wheat straw and urea. Research on Animal Production, 8(15): 84-95.
 21. Touqir, N.S.A., M. Ajmal Khan, M. Sarwar, M. Nisa, W.S. Lee, H.J. Lee and H.S. Kim. 2007. Asian-Australian Journal of Animal Science, 20: 887-893.
 22. 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.
 23. Vanzant, E.S., R.C. Cochran and E.C. Titgemeyer. 1998. Standardization of *in situ* techniques for ruminant feedstuff evaluation. Journal of Animal Science, 76: 2717-2729.
 24. Villanueva, Z.M., A. Ibarra, P. Zárate, F. Briones, O.S. Escamilla, A. González and E. Gutiérrez. 2013. Productive performance of hair lambs fed fresh orange (*Citrus sinensis*) residues substituting sorghum (*Sorghum vulgare*) grains. Cuban. Journal of Agriculture Science, 47: 27-31.
 25. Weinberg, Z.G., G. Ashbell, Y. Hen, A. Azrieli, G. Szakacs and I. Filya. 2002. Ensiling whole-crop wheat and corn in large containers with *Lactobacillus plantarum* and *L. buchneri*. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology, 28: 7-11.
 26. Weinberg, Z.G., O. Shatz, Y. Chen, E. Yosef, M. Nikbahat, D. Ben-Ghedalia and J. Miron. 2007. Effect of lactic acid bacteria inoculants on *in vitro* digestibility of wheat and corn silages. Journal of Dairy Science, 90: 4754-4762.

Effect of Supplementation of Alfalfa Silage with *Lactobacillus Buchneri* Additive, Orange Pulp and Molasses on Dry Matter, Crude Protein and Organic Matter Degradability by Nylon Bags

Maghsoud Besharati¹, Niloufar Shafipour², Zabihollah Nemati³ and Amir Karimi³

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

2- M.Sc. Graduate in Animal Nutrition, Department of Animal Science, Ahar Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Tabriz

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

Received: March 14, 2018 Accepted: November 28, 2018

Abstract

The purpose of this study was to investigate the effects of supplementation of alfalfa silage with *Lactobacillus buchneri* additive, orange pulp and molasses on dry matter, crude protein and organic matter degradability by nylon bags. The treatments included: alfalfa silage (control treatment), alfalfa silage processed with bacterial additive, 3×10^8 cfu/g, alfalfa and orange pulp silage, alfalfa and orange pulp silage processed with bacterial additive (3×10^8 cfu/g), alfalfa silage processed with 5% molasses, and alfalfa silage processed with 5% molasses and bacterial additive 3×10^8 cfu/g. The alfalfa was harvested at flowering stage and after 24 hours, it was ensiled with orange pulp and Lalsil with a weight ratio of 2100 g of alfalfa and 760 g of orange pulp for 90 days. After opening the silos in order to investigate the dry matter, crude protein and organic matter degradability of silage at 0, 2, 4, 6, 8, 12, 16, 24, 48, 72, 96 and 120 hours, two adult fistulated male sheep be used. Data were analyzed in a completely randomized design with four replications. By adding molasses and bacterial additive to alfalfa, the *in situ* dry matter disappearance significantly increased ($p < 0.05$). In general, it can be concluded that the bacterial additive, molasses and orange pulp alone and in combination produced a better fermented silage and the use of a carbohydrate source such as molasses or orange pulp as useful resources for bacterial populations and bacterial additives in the preparation of high quality silage from alfalfa, due to the deficiencies of this valuable plant, is essential.

Keywords: Alfalfa silage, Bacterial additive, Degradability, Molasses, Orange pulp