تحقیقات تولیدات دامی

سال دهم/شماره اول/بهار ۱۴۰۰ (۴۹-۳۷)

Animal Production Research

دانشگاه گیلان

مقاله پژوهشی

تاثیر اندازه ذرات و تلقیح باکتری‌های تخمیرکننده همگن و ناهمگن در علوفه ذرت با رطوبت بالا بر کیفیت سیلاژ

محسن دهقانی[۱]، محمد مهدی شریفی حسینی[۲*]، امید دیانی[۳]، علی مداحیان[۴]

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، بخش علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان

۲- استادیار، بخش علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان

۳- استاد، بخش علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان

۴- استادیار، بخش علوم کشاورزی، دانشگاه پیام نور

(تاریخ دریافت: ۹۸/۰۷/۲۸ - تاریخ پذیرش: ۹۹/۰۴/۲۵)

چکیده

این آزمایش برای تعیین اثر اندازه ذرات سیلاژ ذرت و تلقیح مخلوط باکتری‌های تخمیرکننده همگن و ناهمگن بر ترکیب شیمیایی، ارزیابی حسی، پایداری هوازی و آزمون تولید گاز در ۳۰، ۴۵، ۶۰ و ۹۰ روز بعد از تهیه سیلاژها انجام شد. علوفه ذرت با دستگاه خردکن در دو اندازه درشت و ریز (به ترتیب ۱۶ و ۸ میلی‌متر) خرد و از آن‌ها در کیسه‌های نایلونی در اندازه ۴۵×۹۰ سانتی‌متر (۴۰۵۰ سانتی‌متر مربع)، سیلاژها تهیه شدند. در هنگام تهیه سیلاژ، تلقیح باکتریایی به ۵۰ درصد علوفه ذرت درشت و ریز افزوده شد. سیلوها در ۳۰، ۴۵، ۶۰ و ۹۰ روز بعد از تهیه، باز و نمونه‌برداری شدند. در ۹۰ روز بعد از تهیه سیلاژ، نمره کل ارزیابی حسی در سیلاژهای تلقیح شده بیشتر بود ($P<۰/۰۵$). در ۴۵ و ۶۰ روز بعد از تهیه سیلاژها، pH در سیلاژهای ریز، کم‌ترین (به ترتیب ۳/۷۷ و ۳/۸۰) بودند ($P<۰/۰۵$). ۹۰ روز بعد از تهیه سیلاژ، پروتئین خام در سیلاژ با اندازه درشت بیشتر از ریز بود ($P<۰/۰۵$، به ترتیب ۸/۴۵ و ۸/۳۸ درصد). ۳۰ روز بعد از تهیه سلاژ، الیاف نامحلول در شوینده خنثی در سیلاژ با اندازه درشت و تلقیح نشده بیشترین بود ($P<۰/۰۵$). ۴۵روز بعد از تهیه سیلاژ، پایداری هوازی در سیلاژ با اندازه درشت و تلقیح نشده بیشتر بود ($P<۰/۰۵$). همچنین، ۹۰ روز بعد از تهیه سیلاژ، پتانسیل تولید گاز (A+B) در سیلاژهای با اندازه ذرات ریز بیشترین بود. نتایج آزمایش نشان داد تاثیر اندازه ذرات بر کیفیت سیلاژ بیشتر از تلقیح باکتریایی بود، امّا تلقیح باکتریای سبب افزایش پایداری هوازی سیلاژها شد.

واژه‌های کلیدی: باکتری تخمیرکننده ناهمگن، باکتری تخمیرکننده همگن، تلقیح باکتریایی، سیلاژ ذرت

* نویسندهٔ مسئول: mmsharifi@uk.ac.ir

doi: 10.22124/ar.2021.14585.1453

مقدمه

سیلاژ ذرت با کیفیت بالا نقش مهمی در تامین انرژی نشخوارکنندگان و انرژی تخمیری مورد نیاز میکروارگانیسم-های شکمبه ایفاء کرده و در گاوهای شیری، تامین‌کننده الیاف نامحلول در شوینده خنثی با منشاء علوفه‌ای است (Ferraretto and Shaver, 2012). همچنین سیلاژ ذرت منبع مناسب و اقتصادی انرژی برای گاوهای پرواری است (Henrichs and Conrad, 1984). در ایران، سیلاژ ذرت تشکیل‌دهنده بخش مهم جیره نشخوارکنندگان است (Mafakher *et al*., 2010). بر اساس آمار، در سال زراعی ۱۳۹۷-۱۳۹۶، تولید ذرت علوفه‌ای در ایران معادل ده میلیون و ۷۰۰ هزار تن بود (احمدی و همکاران، ۱۳۹۸).

تلقیح باکتری‌های همگن در سیلاژهای ذرت، ضمن افزایش غلظت اسید لاکتیک و کاهش pH، سبب تهیه سیلاژهای مناسبی شده، امّا پایداری هوازی آن‌ها کم خواهد بود، زیرا اسید لاکتیک فاقد توانایی ضد قارچ و کپک است (Grant and Ferraretto, 2018). مدت زمانی که سپری می‌شود تا دمای سیلاژ به اندازه دو درجه بیشتر از دمای محیط شود پایداری هوازی نامیده می‌شود (Ranjit and Kung, 2001).

تلقیح باکتریایی *لاکتوباسیلوس بوشنری* (*Lactobacillus buchneri*)، یک باکتری تخمیرکننده ناهمگن، می‌تواند اسید لاکتیک و کربوهیدرات‌های محلول را تخمیر و اسید استیک تولید کند. در زمان باز شدن سیلو و ورود هوا به داخل آن، اسید استیک به علت تاثیر ضد قارچ و کپک، سبب پایداری هوازی مواد سیلویی می‌شود (Ranjit and Kung, 2001؛ Kung *et al*., 2000).

تلقیح سیلاژ با باکتری‌های همگن و ناهمگن، تاثیرات متفاوتی بر مصرف ماده خشک و انرژی در نشخوارکنندگان دارد. در یک پژوهش، سیلاژهای ذرت و جو تلقیح نشده و تلقیح شده با باکتری‌های تخمیرکننده همگن، تاثیر معنی‌داری بر مصرف ماده خشک گوساله‌های اخته شده نداشتند (Addah *et al*., 2011). امّا در یک تحقیق، تلقیح سیلاژ ذرت با مخلوط باکتری‌های همگن و ناهمگن شامل *انتروکوکوس فاسیوم* (*Enterococcus faecium*)، *لاکتوباسیلوس پلانتاریوم* (*Lactobacillus plantarum*) و *لاکتوباسیلوس برویس* (*Lactobacillus brevis*)، مصرف ماده خشک و انرژی هضمی در گاوهای گوشتی را به ترتیب ۶/۱۴ و ۲/۱۳ درصد افزایش داد (Acosta Aragon *et al*., 2012). گزارش شده در گاوهای شیرده، مصرف ماده خشک در سیلاژ ذرت تلقیح شده با تلقیح باکتری‌های همگن نسبت به گروه شاهد کم‌تر بود. کاهش مصرف ماده خشک می‌تواند به دلیل تخمیر گسترده‌تر (درصد بالاتر اسید لاکتیک) و کاهش pH در سیلاژ ذرت تلقیح شده باشد که مصرف خوراک را محدود و تولید شیر را کاهش می‌دهد (Kristensen *et al*., 2010).

سیلاژهایی که از علوفه ذرت با رطوبت بالا تهیه می‌شوند کیفیت مناسب نداشته و امکان رشد باکتری‌های کلستردیوم در آن‌ها وجود دارد (McDonald *et al*., 2011). تلقیح مخلوط باکتری‌های همگن و ناهمگن در این سیلاژها، ضمن افزایش تولید اسید لاکتیک (به دلیل تلقیح باکتری‌های همگن) و کاهش pH، از فعالیت کلستریدیوم‌ها جلوگیری می-کند. همچنین فعالیت باکتری‌های ناهمگن سبب افزایش غلظت استات در سیلاژ می‌شود (Yitbarek and Tamir, 2014). در زمان باز کردن سیلوها و استفاده از آن‌ها و همزمان با ورود هوا، غلظت بیشتر اسید استیک، سبب افزایش پایداری هوازی سیلاژها می‌شود (Kung *et al*., 2000). این تحقیق به منظور بررسی تاثیر دو سطح اندازه ذرات علوفه ذرت و دو سطح تلقیح باکتریایی در سیلاژ ذرت با رطوبت زیاد بر ترکیبات شیمیایی، مولفه‌های تولید گاز و پایداری هوازی در روزهای ۳۰، ۴۵، ۶۰ و ۹۰ بعد از تهیه سیلاژ انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

در مهرماه ۱۳۹۵ در حدود ۱۲۰۰ کیلوگرم ذرت علوفه‌ای از مزرعه دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید باهنر کرمان، با دستگاه خردکن در دو اندازه درشت و ریز (به ترتیب ۱۶ و ۸ میلی‌متر) با حدود ۲۲ درصد ماده خشک برداشت شد. در زمان تهیه سیلاژ، محلول تلقیح باکتریایی بایواستامبیل مایز - (Biomin biostabil mays, Austria) به ۵۰ درصد علوفه ذرت با اندازه درشت و ریز افزوده شد. بایواستابیل مایز محصولی حاوی باکتری آغازکننده، *انتروکوکوس فاسیوم* (*Enterococcus faecium*)، باکتری تخمیرکننده همگن،

لاکتوباسیلوس برویس (*Lactobacillus brevis*) و باکتری تخمیرکننده ناهمگن، *لاکتوباسیلوس پلانتاریوم* (*Lactobacillus plantarium*) بود. هر گرم از بایومین بایو استابیل مایز حاوی $۲/۵ \times ۱۰^{۱۰}$ واحد تشکیل کلنی (cfu) از مجموع باکتری‌های تشکیل‌دهنده بود. دوز مصرفی پودر تلقیح به ازای هر تن علوفه خرد شده، چهار گرم (معادل $۱۰^{۱۱}$ واحد تشکیل کلنی cfu) بود. برای تلقیح، پودر استابیل مایز در آب بدون کلر حل شد. محلول حاصل با آب‌فشان‌های دستی و در زمان تهیه سیلاژ در کیسه‌های نایلونی ضخیم ۴۵×۹۰ سانتی‌متری (۴۰۵۰ سانتی‌متر مربع)، روی علوفه خرد شده ذرت درشت و ریز افزوده شد. تیمارها عبارت بودند از: ۱- سیلاژ ذرت با اندازه ذرات درشت (۱۶ میلی‌متر) تلقیح شده (چهار گرم به ازای هر تن)، ۲- سیلاژ ذرت با اندازه ذرات درشت (۱۶ میلی‌متر) تلقیح نشده، ۳- سیلاژ ذرت با اندازه ذرات ریز (۸ میلی‌متر) تلقیح شده (چهار گرم به ازای هر تن) و ۴- سیلاژ ذرت با اندازه ذرات ریز (۸ میلی‌متر) تلقیح نشده.

ارزیابی ظاهری و نقطه فلیگ (Flieg point): ارزیابی حسی سیلاژها، بر اساس بو (حداکثر ۱۴ نمره)، ساختمان ظاهری (حداکثر ۴ نمره) و رنگ (حداکثر ۲ نمره) انجام گرفت (McDonald *et al*., 1991). نقطه فلیگ روشی مناسب برای بیان کیفیت سیلاژ است و با تلفیق دو عامل pH و ماده خشک سیلاژ و با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد (Denek and can, 2006).

نقطه‌فلیگ =۲۲۰+(pH-۱۵)-(DM×۴۰)

اندازه‌گیری pH سیلاژها: بلافاصله پس از نمونه‌برداری از نمونه‌های سیلاژ ذرت، به ازای ۲۰ گرم سیلاژ، ۲۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر افزوده شده و به مدت یک دقیقه کاملاً مخلوط شد و pH سیلاژ با دستگاه pH متر دیجیتالی (Elmetron مدل CP۱۰۳) اندازه‌گیری شد.

تعیین پایداری هوازی: در حدود ۴۵ روز بعد از تهیه سیلاژها، سه نمونه ۴۰۰ گرمی از هر چهار تیمار سیلاژ ذرت نمونه‌برداری و در سطل‌های پلاستیکی قرار داده شد. روی علوفه سیلاژ، دو لایه پارچه ململ پوشانیده شد تا از تبخیر آب از علوفه سیلاژ و در نتیجه از کاهش دمای آن جلوگیری نماید. آزمایش در اتاقی با دمای حدود ۲۵ درجه سلسیوس صورت گرفت. حسگرهای دماسنج‌های الکترونی در عمق ظروف حاوی علوفه سیلاژ قرار داده شد و به مدت یک هفته و در هر ۱۵ دقیقه، دمای نمونه علوفه ذرت سیلویی اندازه‌گیری شد. مدت زمانی که طول می‌کشید تا درجه حرارت سیلاژ دو درجه از دمای محیط بیشتر شود به عنوان پایداری هوازی در نظر گرفته شد (Addah *et al*., 2011).

تعیین مولفه‌های تولید گاز در نمونه‌های سیلاژ: برای انجام آزمون تولید گاز، نمونه‌ها در آون ۵۵ درجه به مدت ۷۲ ساعت خشک شدند. ۰/۳ گرم ماده خشک به ویال‌های ۱۰۰ میلی‌لیتری انتقال یافت و ۳۰ میلی‌لیتر مخلوط مایع شکمبه و بزاق مصنوعی نیز افزوده شد. سپس با تزریق گاز دی اکسید کربن، محیط کشت درون ویال‌ها بی‌هوازی شدند و درب آن‌ها پرس و به بن‌ماری ۳۸ درجه سلسیوس منتقل شدند. به منظور تصحیح گاز ناشی از فعالیت میکروبی در مایع شکمبه، دو ویال دارای ۳۰ میلی‌لیتر مخلوط مایع شکمبه و بافر بدون نمونه خوراکی در نظر گرفته شد و گاز تولید شده آن‌ها از ویال‌های دارای نمونه‌های آزمایشی کاسته شد. تولید گاز در ساعت‌های ۲، ۴، ۸، ۱۲، ۱۶، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ انکوباسیون به کمک دستگاه فشارسنج دیجیتال ثبت شد. با استفاده از یک رابطه رگرسیونی بین فشار و حجم گاز، حجم گاز تولید شده تعیین شد (Theodorou *et al*., 1994). برای تخمین مولفه‌های کنیتیک تولید گاز (a, b, c) از نرم‌افزار Fitcurve استفاده شد.

تجزیه شیمیایی نمونه‌های سیلاژ: در روزهای صفر، ۳۰، ۴۵، ۶۰ و ۹۰ پس از تهیه سیلاژها، برای انجام آزمایش‌ها از آن‌ها نمونه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری ماده خشک، نمونه‌ها با دو تکرار به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۶۵ درجه سلسیوس قرار داده شدند (AOAC, 2005). برای اندازه‌گیری پروتئین خام از روش کلدال و برای تعیین الیاف نامحلول در شوینده خنثی و اسیدی، از روش استاندارد استفاده شد AOAC, (2005).

مدل آماری: برای تعیین تاثیر اندازه ذرات علوفه ذرت، تلقیح باکتریایی و زمان نمونه‌برداری بر ترکیبات شیمیایی و آزمون گاز در نمونه‌های سیلاژ از آزمایش فاکتوریل ۲×۲ با چینش

بلوک کامل تصادفی استفاده شد. مدل آماری طرح به صورت زیر بود:

$$y_{ijkl} = \mu + \alpha_i + ß_j + (\alpha \times ß)_{ij} + \gamma_k + e_{ijkl}$$

در این مدل، Y_{ijkl} مقدار هر مشاهده، μ، میانگین کل، α_i= اثر اندازه ذرات سیلاژ ذرت، $ß_j$= اثر سطح تلقیح باکتریایی، $(\alpha \times ß)_{ij}$= اثر متقابل اندازه ذرات سیلاژ ذرت با سطح تلقیح باکتریایی، γ_k= اثر زمان نمونه‌برداری و e_{ijkl}= مقدار باقیمانده یا خطای آزمایشی بود. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از رویه GLM نرم‌افزار SAS (2005) انجام شد. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون دانکن در سطح پنج درصد استفاده شد.

نتایج و بحث

ارزیابی حسی: جدول ۱ تاثیر اندازه ذرات سیلاژ ذرت و سطح تلقیح باکتریایی بر ارزیابی ظاهری سیلاژ ذرت را در ۳۰، ۴۵، ۶۰ و ۹۰ روز پس از تهیه سیلاژ نشان می‌دهد. تا روز ۶۰ بعد از تهیه سیلاژها، میانگین نمره‌های ارزیابی حسی سیلاژها تفاوت معنی‌داری با هم نداشتند، امّا در روز ۹۰ بعد از تهیه سیلاژها، اندازه ذرات بر کیفیت بو تاثیر معنی‌داری داشت (P=۰/۰۲)، و سیلاژهای ذرت درشت امتیاز بیشتری داشتند (P<۰/۰۵). همچنین امتیاز کلی سیلاژهای تلقیح شده بیشتر از تلقیح نشده بود (P<۰/۰۵)، زیرا افزودن میکروارگانیسم‌های تخمیرکننده همگن و ناهمگن تولیدکننده اسید لاکتیک سبب بهبود تخمیر در سیلاژ شد (Oliveira *et al*., 2016). میانگین نمرات سیلاژها در ۳۰، ۴۵، ۶۰ و ۹۰ روز بعد از تهیه سیلاژها مشخص-کننده کیفیت مناسب آن‌ها بود (Rajabi *et al*., 2017).

جدول ۱- اثر دو سطح اندازه ذرات سیلاژ ذرت و دو سطح تلقیح باکتریایی بر ارزیابی حسی در زمان‌های مختلف نمونه‌برداری[1]

Table 1. Effect of two levels of corn silage particle size and two levels of bacterial inoculation on sensory evaluation at different sampling times[1]

Particles size	Coarse		Fine		Main effect				SEM	*P*-value		
					Par[2]		Ino[3]					
Inoculant levels	+	-	+	-	Coarse	Fine	+	-		Par[2]	Ino[3]	Par× Ino[4]
30 days after silage preparation												
Smell quality	13.7	13.3	13.3	12.7	13.5	13.0	13.5	13.0	1.08	0.43	0.40	0.78
Structural quality	3.83	3.87	4.00	3.83	3.58	3.92	3.92	3.85	0.04	0.50	0.60	0.43
Color	1.50	1.50	1.73	1.50	1.50	1.62	1.62	1.50	0.02	0.15	0.14	0.15
Total	19.0	18.7	19.1	18.0	18.9	18.5	19.0	18.4	1.08	0.61	0.29	0.54
45 days after silage preparation												
Smell quality	13.0	14.0	14.0	12.7	13.5	13.3	13.5	13.3	0.58	0.71	0.71	0.03
Structural quality	3.90	3.83	4.00	3.83	3.86	3.91	3.95	3.83	0.05	0.70	0.38	0.71
Color	1.50	1.16	1.33	1.67	1.33	1.50	1.41	1.41	0.06	0.28	0.99	0.06
Total	18.4	19.0	19.3	18.2	18.7	18.8	18.9	18.6	1.06	0.90	0.65	0.17
60 days after silage preparation												
Smell quality	13. 7	12.8	13.3	12.5	13.2	12.9	13.5	12.7	0.75	0.20	0.13	0.99
Structural quality	3.77	2.83	4.00	4.00	3.80	4.00	3.88	3.92	0.04	0.10	0.67	0.77
Color	1.50	1.67	1.33	1.50	1.33	1.41	1.42	1.42	0.04	0.45	0.50	0.06
Total	18.9	17.8	18.7	18.0	18.4	18.3	18.8	17.9	0.89	0.92	0.14	0.70
90 days after silage preparation												
Smell quality	13.5	12.7	13.3	12.0	13.1[a]	12.7[b]	13.4	12.3	0.47	0.02	0.33	0.54
Structural quality	3.70	4.17	4.00	4.00	3.80	4.00	3.85	3.95	0.03	0.06	0.30	0.30
Color	1.50	1.33	1.33	1.50	1.42	1.42	1.41	1.41	0.04	0.99	0.99	0.19
Total	18.7	18.2	18.7	18.7	18.3	1.81	18.7[a]	17.7[b]	0.56	0.63	0.05	0.56

[a-b] Non-similar letters in each row indicates a significant difference (P<0.05).

[1] The effect of sampling time on the measured variables was not significant.

[2] Particle size

[3] Inoculant levels

[4] Interaction between particles size and inoculant levels

pH نمونه‌های سیلاژ ذرت: در تمام تیمارهای آزمایشی از روز ۳۰ تا روز ۹۰ بعد از تهیه سیلاژ، pH مناسب وجود داشت (جدول ۲)، زیرا در سیلاژهای ذرت با کیفیت مناسب، pH بین ۳/۷ تا ۴/۰ است (Kung *et al.*, 2018). در ۶۰ روز بعد از تهیه سیلاژ، اندازه ذرات علوفه ذرت بر pH تاثیر گذاشت و در سیلاژ با اندازه ریز از درشت کم‌تر بود ($P<۰/۰۵$). با کاهش اندازه ذرات سیلاژ، مقدار بیشتری شیره گیاهی از بافت گیاه رها شده و باکتری‌های تولیدکننده اسید لاکتیک بهتر می‌توانند فعالیت کنند. در نتیجه فعالیت بیشتر باکتری‌ها در محیط سیلو، pH به مقدار بیشتر کاهش می‌یابد (McDonald *et al.*, 2011). باکتری‌های تولیدکننده اسید لاکتیک بجای سوپر اکسیداسیون دیسموتاز، یون منگنز را به عنوان عامل حذف اکسیژن مورد استفاده قرار می‌دهند. لذا نیاز این باکتری‌ها به منگنز زیاد است و فقط در صورت آزاد شدن شیره گیاهی، منگنز به مقدار زیاد در اختیار باکتری‌های تولیدکننده اسید لاکتیک قرار می‌گیرد (Pahlow and Zimmer, 1985).

در۶۰ روز بعد از تهیه سیلاژ، تلقیح باکتریایی سبب کاهش pH در این سیلاژها شد ($P<۰/۰۱$)، زیرا باکتری‌های همگن تلقیح شده بر باکتری‌های موجود در علوفه ذرت غلبه کرده و مقدار بیشتری اسید لاکتیک تولید شد. تعداد باکتری تلقیح شده برای غلبه بر باکتری‌های موجود در علوفه، $۱۰^{۶}$ CFU به ازای هر گرم علوفه سیلو شده است (Yitbarek and Tamir, 2014) و افزایش تولید اسید لاکتیک سبب کاهش pH شد (صیدالی دولت آباد و همکاران، ۱۳۹۴). اثر متقابل بین سطوح اندازه ذرات و تلقیح باکتریایی معنی‌دار بود و کم‌ترین pH در سیلاژ ذرت با اندازه ریز تلقیح شده بود ($P<۰/۰۵$)، که نشان‌دهنده تاثیر همزمان کاهش اندازه ذرات علوفه ذرت و تلقیح باکتریایی بود. این امر سبب تولید مقادیر زیادتر اسید به ویژه اسید لاکتیک و در نتیجه کاهش pH شد.

در ۹۰ روز بعد از تهیه سیلاژ، اندازه ذرات علوفه و تلقیح باکتریایی بر pH سیلاژها تاثیر معنی‌داری نداشتند. بر اساس نتایج یک تحقیق، ممکن است تا ۹۰ روز بعد از تهیه سیلاژ به دلیل تجزیه مختصر سلولز و همی‌سلولز، مقداری از قندها قابل استفاده باشند (Bagheripour *et al.*, 2008). در تحقیق حاضر نیز به نظر می‌رسد قابلیت دسترسی میکروارگانیسم‌ها به قندهای محلول در تمام سیلاژها به نحوی بود که ۹۰ روز بعد از تهیه سیلاژها، pH در چهار سیلاژ آزمایشی تفاوت معنی‌داری نداشتند. اما به طور معمول، pH در حدود چهار موجب کاهش فعالیت باکتری‌های اسید لاکتیک شده و از تولید اسید لاکتیک کاسته می‌شود (McDonald *et al.*, 2011).

ماده خشک سیلاژها: ماده خشک سیلاژهای آزمایشی در ۳۰، ۴۵، ۶۰ و ۹۰ روز بعد از تهیه سیلاژها، تحت تاثیر اندازه ذرات سیلاژها و سطح تلقیح باکتریایی و زمان بعد از تهیه سیلاژ قرار نگرفت (جدول ۳). این نتیجه با نتایج Soita *et al.* (2000) در تناقض بود. در آن تحقیق، ماده خشک

جدول ۲- اثر دو سطح اندازه ذرات سیلاژ ذرت و دو سطح تلقیح باکتریایی بر pH سیلاژها در زمان‌های مختلف نمونه‌برداری[1]

Table 2. Effect of two levels of corn silage particle size and two levels of bacterial inoculation on pH of silage at different sampling times[1]

Particles size	Coarse		Fine		Main effect Par[2]		Main effect Ino[3]		SEM	*P*-value		
Inoculant levels	+	-	+	-	Coarse	Fine	+	-		Par[2]	Ino[3]	Par× Ino[4]
Days after silage preparation												
30	4.18	3.73	3.72	3.72	3.76	3.72	3.75	3.74	0. 002	0.30	0.44	0.43
45	4.20	3.84	3.76	3.77	3.82[a]	3.77[b]	3.78	3.71	0.001	0.23	0.03	0.45
60	3.82[bc]	3.96[a]	3.78[c]	3.83[b]	3.89[a]	3.80[b]	3.80[b]	3.89[a]	0.001	<0.01	<0.01	<0.01
90	3.60	3.75	3.82	3.80	3.67	3.80	3.67	3.83	0.007	0.36	0.85	0.67

[a-b] Non-similar letters in each row indicates a significant difference ($P<0.05$).
[1] The effect of sampling time on the measured variables was not significant.
[2] Particle size
[3] Inoculant levels
[4] Interaction between particles size and inoculant levels

سیلاژ جو درشت به دلیل تبخیر کمتر (قبل از تهیه سیلاژ)، کم‌تراز ریز بود. دلیل احتمالی عدم تاثیر اندازه ذرات بر ماده خشک سیلاژها، سرعت عمل در فرآیند تهیه سیلاژ از علوفه خرد شده بود، که طی مدت کمتر از شش ساعت انجام شد. تلقیح با باکتری‌های تخمیرکننده همگن سبب تبدیل یک مولکول قند هگزوز به دو مولکول لاکتات شده و در نتیجه ماده خشک سیلاژها بهبود می‌یابد (Oney *et al*., 2018). امّا در تخمیر باکتری‌های ناهمگن، بازده تخمیر کامل نبوده و گاز هیدروژن و یا دی اکسید کربن تولید می‌شود و در نتیجه، از درصد ماده خشک سیلاژ کاسته می‌شود (McDonald *et al*., 2011). در این تحقیق از تلقیح مخلوط باکتری‌های همگن و ناهمگن استفاده شد و در نتیجه اتلاف ماده خشک در سیلاژهای تلقیح شده و نشده تفاوت معنی-داری نداشت.

نقطه فلیک سیلاژ ذرت: نقطه فلیگ تمامی سیلاژها در تمام زمان‌های نمونه‌برداری مناسب بود (جدول ۴). مناسب بودن نقطه فلیک به دلیل سرعت عمل در فرایند تهیه سیلاژ از علوفه خرد شده ذرت و دقت در تهیه و نگهداری مطلوب سیلاژها بود. در تمام زمان‌های نمونه‌برداری، نقطه فلیگ تیمارها در دامنه ۱۰۰-۸۵ قرار داشت که نشان‌دهنده کیفیت عالی سیلاژها بود، زیرا دامنه ۸۰-۶۰ کیفیت مناسب، ۶۰-۵۵ کیفیت متوسط و ۴۰-۲۵ نشان‌دهنده کیفیت رضایت‌بخش است (Denek and Can, 2006). اندازه ذرات سیلاژ و سطح تلقیح باکتریایی و زمان تاثیری بر نقطه فلیک سیلاژها نداشتند، زیرا از روز ۳۰ تا ۹۰ بعد از تهیه سیلاژها، مقدار ماده خشک و pH آن‌ها تحت تاثیر اندازه ذرات سیلاژها و سطح تلقیح باکتریایی قرار نگرفتند (به‌جز pH در ۶۰ روز بعد از تهیه سیلاژها).

جدول ۳- اثر اندازه ذرات و تلقیح باکتریایی بر ماده خشک سیلاژ ذرت در زمان‌های مختلف نمونه‌برداری[۱]

Table 3. Effect of particle size and bacterial inoculation on dry matter of corn silage at different sampling times[1]

Particles size	Coarse		Fine		Main effect Par[2]		Main effect Ino[3]		SEM	*P*-value		
Inoculant levels	+	-	+	-	Coarse	Fine	+	-		Par[2]	Ino[3]	Par× Ino[4]
Days after silage preparation												
30	21.5	21.9	21.4	21.8	21.7	21.6	21.4	21.6	0.31	0.73	0.33	0.92
45	21.8	22.5	21.4	21.8	21.1	21.6	21.6	22.1	2.93	0.65	0.67	0.92
60	21.7	22.5	21.4	21.8	21.1	21.6	21.6	21.1	1.23	0.30	0.48	0.92
90	20.9	22.0	21.4	21.6	21.4	21.4	21.0	21.8	0.15	0.83	0.06	0.35

[1] The effect of sampling time on the measured variables was not significant.
[2] Particle size
[3] Inoculant levels
[4] Interaction between particles size and inoculant levels

جدول ۴- اثر اندازه ذرات سیلاژ ذرت و سطح تلقیح باکتریایی بر نقطه‌ی فلیک در زمان‌های مختلف نمونه‌برداری[۱]

Table 4. Effect of corn silage particle size and bacterial inoculation level on flake point at different sampling times[1]

Particles size	Coarse		Fine		Main effect Par[2]		Main effect Ino[3]		SEM	*P*-value		
Inoculant levels	+	-	+	-	Coarse	Fine	+	-		Par[2]	Ino[3]	Par× Ino[4]
Days after silage preparation												
30	89.9	92.7	91.9	92.9	91.3	92.4	90.9	92.8	5.94	0.55	0.34	0.62
45	89.6	89.3	90.3	90.8	89.5	90.5	90.0	90.1	8.69	0.64	0.96	0.87
60	88.8	84.3	88.9	87.6	86.8	88.3	88.9	86.2	3.39	0.32	0.11	0.35
90	92.0	91.9	88.2	88.5	91.5	88.4	90.1	90.2	9.3	0.31	0.98	0.94

[1] The effect of sampling time on the measured variables was not significant.
[2] Particle size
[3] Inoculant levels
[4] Interaction between particles size and inoculant levels

پروتئین *خام سیلاژ ذرت:* در روز ۳۰ بعد از تهیه سیلاژ، تاثیر تلقیح باکتریایی بر پروتئین خام علوفه‌های سیلو شده معنی‌دار بود (*P*=۰/۰۱، جدول ۵)، و در سیلاژهای تلقیح شده کم‌تر از تلقیح نشده بود (*P*<۰/۰۵). به طور معمول تلقیح باکتریایی ضمن افزایش فعالیت باکتری‌ها، سبب تولید اسید لاکتیک بیشتر می‌شود و در نتیجه کاهش pH، از فعالیت آنزیم‌های پروتئولتیک گیاهی و باکتریایی در سیلاژ کاسته شده و مقدار پروتئین خام کاهش نخواهد یافت (Yitbarek and Tamir, 2014)، امّا در این آزمایش، باکتری همگن تلقیح شده، باکتری *لاکتوباسیلوس برویس* بود که معمولاً در مراحل اولیه تخمیر سیلاژ فعالیت کرده (Xu *et al*., 2017) و دارای فعالیت پروتئولتیک بوده و سبب افزایش تولید آمونیاک و کاهش پروتئین در علوفه سیلو می‌شود (Silveira Rabêlo, 2016). امّا در یک تحقیق، تلقیح باکتریایی *لاکتوباسیلوس بوشنری*، *لاکتوباسیلوس‌پلانتاریم* (*Lactobacillus plantarum*) و *پدیوکوکوس اسیدی-لاکتوسی* (*Pediococcus acidilactici*) در سیلاژ ذرت با رطوبت زیاد در دو سطح و نمونه‌برداری در سه زمان ۳۰، ۶۰ و ۱۲۰ روز انجام شد. دو سطح تلقیح باکتریایی، تاثیر معنی‌داری بر پروتئین سیلاژها نداشتند، امّا در روز ۹۰ بعد از تهیه سیلاژ، پروتئین خام به صورت معنی‌داری از روز ۳۰ کم‌تر بود، زیرا قسمتی از پروتئین خام علوفه‌های سیلو شده به آمونیاک تبدیل شد (McDonald *et al*., 2011). امّا تفاوت پروتئین خام در روزهای ۹۰ و ۱۲۰ بعد از تهیه سیلاژها معنی‌دار نبود (Oney *et al*., 2018).

در ۴۵ و ۶۰ روز بعد از تهیه سیلاژها، اندازه ذرات و تلقیح باکتریایی بر پروتئین چهار سیلاژ آزمایشی تاثیر معنی‌داری نداشتند. مقدار pH کم‌تر از چهار در این دو سیلاژ سبب شده بود که فعالیت پروتئولتیک در تمام سیلاژها به حداقل خود برسد و لذا اندازه ذرات و تلقیح باکتریایی بر پروتئین سیلاژها تاثیر نداشتند. در روز ۹۰ بعد از تهیه سیلاژ، پروتئین خام فقط تحت تاثیر اندازه ذرات سیلاژ ذرت قرار گرفت (*P*<۰/۰۱)، و در سیلاژ درشت بیشتر از ریز بود (*P*<۰/۰۵)، زیرا با کاهش اندازه ذرات علوفه سیلاژ شده به سطح تماس باکتریایی افزوده شد و لذا افزایش فعالیت باکتری‌ها سبب افزایش تولید آمونیاک و کاهش پروتئین خام سیلاژها می‌شود (McDonald *et al*., 2011). درصد پروتئین سیلاژهای مختلف تحت تاثیر زمان نمونه‌برداری قرار نگرفت و تفاوت‌ها معنی‌دار نبود.

الیاف نامحلول در شوینده خنثی: در روز ۳۰ بعد از تهیه سیلاژها، الیاف نامحلول در شوینده خنثی تحت تاثیر اندازه ذرات سیلاژ و سطح تلقیح قرار گرفت (*P*<۰/۰۵، جدول ۶)، و در سیلاژهای ریز و تلقیح شده کم‌تر از سیلاژهای درشت و تلقیح نشده بود (*P*<۰/۰۵). کم‌ترین مقدار الیاف نامحلول در شوینده خنثی در سیلاژ تلقیح شده ریز بود (*P*<۰/۰۵).

جدول ۵- اثر اندازه ذرات و سطح تلقیح باکتریایی بر پروتئین خام (درصد) سیلاژ ذرت در زمان‌های مختلف نمونه‌برداری[1]

Table 5. Effect of particle size and bacterial inoculation level on crude protein (%) of corn silage at different sampling times[1]

Particles size	Coarse		Fine		Main effect				SEM	*P*-value		
					Par[2]		Ino[3]					
Inoculant levels	+	-	+	-	Coarse	Fine	+	-		Par[2]	Ino[3]	Par× Ino[4]
Days after silage preparation												
30	8.13	9.10	7.81	9.02	8.62	8.41	7.97[b]	9.06[a]	0.17	0.51	0.02	0.69
45	8.88	8.80	8.46	8.41	8.84	8.43	8.67	8.60	0.34	0.63	0.93	0.99
60	8.93	8.78	8.23	8.19	8.86	8.26	8.63	8.49	0.50	0.18	0.71	0.98
90	8.04	8.50	7.43	7.33	8.45[a]	7.38[b]	7.92	7.92	0.05	<0.01	0.99	0.60

[a-b] Non-similar letters in each row indicates a significant difference (*P*<0.05).

[1] The effect of sampling time on the measured variables was not significant.

[2] Particle size

[3] Inoculant levels

[4] Interaction between particles size and inoculant levels

باکتری‌های همگن و ناهمگن تولیدکننده اسید لاکتیک فقط کربوهیدرات‌های محلول را تخمیر کرده، امّا نمی‌توانند ترکیبات دیواره سلولی را تخمیر نمایند (Yitbarek and Tamir, 2014). ممکن است به دلیل شرایط اسیدی (pH پایین) حاکم بر علوفه سیلو شده و تجزیه مختصر همی‌سلولز تا روز ۹۰ بعد از تهیه سیلاژ، مقداری قند از دیواره سلولی جدا شود (Bagheripour *et al*., 2008). تجزیه سلولز به مقدار اندک در تمام سیلاژهای آزمایشی وجود داشت، اما احتمالاً در سیلاژ ریز و تلقیح شده بیشتر از سیلاژ درشت و تلقیح نشده بود. لذا ۳۰ روز بعد از تهیه سیلاژها، غلظت الیاف نامحلول در شوینده خنثی در سیلاژهای ریز و تلقیح شده کم‌تر بود (Yahaya *et al*., 2002). همچنین هیدرولیز سلولز در سیلاژهای تلقیح شده بیشتر از نوع تلقیح نشده بود. در یک تحقیق، زمان نمونه‌برداری در ۳۰ و ۹۰ روز بعد از تهیه سیلاژ بر غظت الیاف نامحلول در شوینده خنثی در سیلاژ ذرت با رطوبت معمولی و سیلاژ ذرت با رطوبت زیاد تاثیر معنی‌داری داشت و از غلظت آن کاسته شد، اما در مقایسه سیلاژ با رطوبت زیاد، زمان ۹۰ و ۱۲۰ روز بعد از تهیه سیلاژ، بر الیاف نامحلول در شوینده خنثی تاثیر معنی‌داری نداشت (Oney *et al*., 2018).

پایداری هوازی: در روز ۴۵ بعد از تهیه سیلاژها، پایداری هوازی (ساعت یا روز) سیلاژ ذرت تحت تاثیر اندازه ذرات سیلاژ و تلقیح باکتریای قرار گرفت (جدول ۷، $P<۰/۰۱$)، و در سیلاژهای درشت و تلقیح شده بیشترین بود ($P<۰/۰۵$). سیلاژهای درشت دیرتر در معرض فساد هوازی قرار گرفتند، ولی احتمال تولید اسید لاکتیک در سیلاژ ریز بیشتر بود، زیرا با کاهش اندازه ذرات علوفه خرد شده، سطح تماس با باکتری‌های همگن و ناهمگن بیشتر شده و در نتیجه فعالیت بیشتر باکتری‌ها، اسید لاکتیک بیشتری تولید شد (McDonald *et al*., 2011). به همین علت در روزهای ۴۵ و ۶۰ بعد از تهیه سیلاژها، pH سیلاژ ریز نسبت به درشت کاهش یافت (جدول ۲). در زمان باز کردن سیلو و ورود هوا به آن، در سیلاژهایی دارای pH کمتر و لاکتات بیشتر، مصرف لاکتات به وسیله میکروارگانیسم‌های هوازی، سبب افزایش pH و فساد هوازی شد، زیرا اسید لاکتیک سوبسترای کپک‌ها بوده و در زمان باز نمودن سیلوها، مصرف اسید لاکتیک به وسیله میکروارگانیسم‌های هوازی سبب افزایش فساد هوازی می‌شود (Yitbarek and Tamir, 2014; Oliveira *et al*., 2016).

سیلاژهای تلقیح شده نسبت به سیلاژهای تلقیح نشده کمتر در معرض فساد هوازی بودند ($P<۰/۰۵$)، زیرا باکتری‌های تخمیرکننده ناهمگن موجود در مواد تلقیح شده، سبب تولید اسید استیک بیشتری شدند که فعالیت ضد قارچ و کپک دارند (Acosta Aragon *et al*., 2012). *لاکتو باسیلوس بوشنری* (تخمیرکننده ناهمگن) می‌تواند در مراحل نهایی از اسید لاکتیک، اسید استیک تولید کرده و در زمان باز شدن سیلو، پایداری هوازی را افزایش دهد (Grant and Ferraretto, 2018; Ranjit and Kung 2001)، زیرا مولکول‌های اسید استیک به داخل دیواره سلولی میکروارگانیسم‌های نامطلوب نفوذ می‌نمایند و عملکرد سلولی آن‌ها را مختل می‌کنند.

جدول ۶- اثر اندازه ذرات سیلاژ و سطح تلقیح باکتریایی بر الیاف نامحلول در شوینده خنثی در زمان‌های مختلف نمونه‌برداری[1]

Table 6. Effect of silage particle size and bacterial inoculum surface on neutral detergent fiber at different sampling times[1]

Particles size	Coarse		Fine		Main effect				SEM	*P*-value		
					Par[2]		Ino[3]					
Inoculant levels	+	-	+	-	Coarse	Fine	+	-		Par[2]	Ino[3]	Par× Ino[4]
Days after silage preparation												
30	57.7[a]	53.5[a]	38.8[b]	57.3[a]	55.6[a]	48.1[b]	48.1[b]	48.3[a]	0.001	<0.05	<0.05	<0.05
45	53.8	48.6	37.6	40.7	51.2	39.1	45.7	44.6	0.007	0.11	0.87	0.55
60	42.8	44.0	44.0	48.2	43.4	43.4	43.4	46.1	0.002	0.54	0.54	0.71
90	51.1	37.8	39.1	57.0	34.4	46.1	43.4	46.1	0.003	0.37	0.64	0.20

[a-b] Non-similar letters in each row indicates a significant difference ($P<0.05$).

[1] The effect of sampling time on the measured variables was not significant.

[2] Particle size

[3] Inoculant levels

[4] Interaction between particles size and inoculant levels

نتایج این پژوهش با ادعای کارخانه تولیدکننده بایواستابیل مایز مبنی بر تاثیر مواد تلقیحی بر متعادل کردن فرآیند تولید اسید لاکتیک و اسید استیک در سیلاژ ذرت و همچنین افزایش پایداری هوازی هم‌خوانی داشت، اما بر خلاف ادعای سازنده، تخمین پایداری هوازی تا مدت هفت روز محقق نشد.

در آزمایش جاری، با توجه به رطوبت بالای سیلاژ ذرت که حداقل ۵ تا ۱۰ درصد بالاتر از حد مطلوب تهیه سیلاژ بود، به نظر می‌رسد که پایداری هوازی باید کمتر از مقادیر برآورد شده باشد، چون دمای ویژه آب نسبت به دمای ویژه ماده خشک علوفه سیلاژ بسیار بالاتر است. لذا برای افزایش دمای یک گرم علوفه با رطوبت ۸۰ درصد، نسبت به همین مقدار علوفه سیلویی با رطوبت ۷۰ درصد، به کالری بیشتری نیاز است. در مجموع ظرفیت حرارتی ویژه مواد گیاهی با افزایش میزان رطوبت افزایش می‌یابد (ولی‌زاده و همکاران، ۱۳۸۲).

تولید گاز از بخش با قابلیت تخمیر کند (b): در روز ۴۵ بعد از تهیه سیلاژ ذرت، اندازه ذرات علوفه سیلو شده بر بخش قابل تخمیر نامحلول در آب (b) تاثیر معنی‌داری داشت (P<۰/۰۵، جدول ۸). بیشترین تولید گاز در سیلاژ درشت بود (P<۰/۰۵)، زیرا به علت کاهش اندازه ذرات علوفه در سیلاژ ریز، سطح تماس افزایش یافته و تخمیر میکروبی بیشتر بود و احتمالاً اسید لاکتیک بیشتری تولید شد. به همین علت در این آزمایش، در روز ۴۵ بعد از تهیه سیلاژ، pH در سیلاژهای ریز کم‌تر از درشت بود (جدول ۲). ترکیبات تخمیری که در فرآیندهای تهیه سیلاژ تولید شده‌اند در شکمبه دوباره تخمیر نمی‌شوند (McDonald *et al*., 2011). لذا در سیلاژ درشت که دارای تولیدات تخمیری کم‌تری بود، تولید گاز در مقایسه با سیلاژ ریز افزایش یافت. در روز ۹۰ بعد از فرآیند تهیه سیلاژ ذرت، اثر متقابل اندازه ذرات سیلاژ ذرت و تلقیح باکتریایی معنی‌دار بود (P<۰/۰۱)، زیرا تولید گاز در سیلاژ درشت تلقیح شده و نشده از نظر آماری تفاوت معنی‌داری نداشتند، اما تولید گاز در سیلاژ ریز تلقیح شده از سیلاژ ریز تلقیح نشده، بیشتر بود (P<۰/۰۵). در سیلاژ ریز تلقیح شده، احتمالاً فعالیت میکروبی بیشتر سبب تجزیه مقادیر بیشتری از دیواره سلولی شد و شکنندگی دیواره سلولی افزایش یافت. در یک تحقیق پیشنهاد شد رابطه مثبتی بین قابلیت هضم الیاف نامحلول در شوینده خنثی در آزمایشگاه و شکنندگی وجود دارد (Grant, 2010). فعالیت میکروبی بیشتر سبب افزایش تولید گاز در این سیلاژ شد.

پتانسیل تولید گاز (a+b): پتانسیل تولید گاز در ۳۰، ۴۵ و ۶۰ روز بعد از تهیه سیلاژ تحت تاثیر تلقیح باکتریایی قرار نگرفت (جدول ۹). اما در روز ۹۰ پس از تهیه سیلاژها، پتانسیل تولید گاز در سیلاژ ذرت تحت تاثیر اندازه ذرات سیلاژ قرار گرفت و کم‌ترین توانایی تولید گاز مربوط به سیلاژ ذرت درشت بود (P<۰/۰۵). در سیلاژ ذرت درشت، به علت کاهش سطح تماس باکتریایی نسبت به سیلاژ ریز، تولید گاز کاهش یافت (Adesogan *et al*., 2019).

همچنین اثر متقابل اندازه ذرات سیلاژ ذرت و سطح تلقیح معنی‌دار بود. توانایی تولید گاز از سیلاژ ذرت درشت تلقیح نشده و سیلاژ ذرت ریز تلقیح شده از سیلاژ ذرت درشت تلقیح شده بیشتر بود.

جدول ۷- اثر اندازه ذرات سیلاژ و سطح تلقیح باکتریایی بر پایداری هوازی در روز ۴۵ بعد از تهیه سیلاژ

Table 7. Effect of silage particle size and bacterial inoculum level on aerobic stability at 45 days after silage preparation

Particles size	Coarse		Fine		Main effect				SEM	*P*-value		
					Par[1]		Ino[2]					
Inoculant levels	+	-	+	-	Coarse	Fine	+	-		Par[1]	Ino[2]	Par× Ino[3]
Hours	59.1	50.8	54.7	41.1	54.9[a]	47.9[b]	56.9[a]	45.9[b]	6.60	<0.01	<0.01	<0.10
Days	2.46	2.12	2.28	1.71	2.29[a]	1.99[b]	2.37[a]	1.91[b]	0.28	<0.01	<0.01	<0.10

[a-b] Non-similar letters in each row indicates a significant difference (P<0.05).

[1] Particle size

[2] Inoculant levels

[3] Interaction between particles size and inoculant levels

جدول ۸- اثر اندازه ذرات سیلاژ، سطح تلقیح باکتریایی و زمان بر تولید گاز از بخش قابل تخمیر (میلی‌لیتر در گرم ماده خشک)

Table 8. Effect of silage particle size, bacterial inoculum level and time[1] on gas production from slow fermentable fraction (b, mL/g dry matter)

Particles size	Coarse		Fine		Main effect Par[2]		Main effect Ino[3]		SEM	*P*-value		
Inoculant levels	+	-	+	-	Coarse	Fine	+	-		Par[2]	Ino[3]	Par× Ino[4]
Days after silage preparation												
30	42.1	41.6	44.6	46.6	41.8	45.6	43.3	44.1	5.90	0.40	0.85	0.77
45	48.9	50.4	44.2	41.8	49.6[a]	43.0[b]	46.5	46.1	3.21	<0.05	0.85	043
60	44.4	43.4	41.3	60.2	43.9	50.7	42.8	51.8	8.50	0.30	0.19	0.15
90	43.7[ab]	48.8[a]	52.9[a]	43.1[b]	46.2	48.0	48.2	15.9	2.27	0.30	020	<0.01

[a-b] Non-similar letters in each row indicates a significant difference (P<0.05).
[1] The effect of sampling time on the measured variables was not significant.
[2] Particle size
[3] Inoculant levels
[4] Interaction between particles size and inoculant levels

جدول ۹- اثر اندازه ذرات و سطح تلقیح باکتریایی بر پتانسیل تولید گاز (میلی‌لیتر در گرم ماده خشک) در زمان‌های بعد از تهیه سیلاژ

Table 9. Effect of silage particles size and bacterial inoculation level on gas production potential (a+b, mL/g DM) at different sampling times[1]

Particles size	Coarse		Fine		Main effect Par[2]		Main effect Ino[3]		SEM	*P*-value		
Inoculant levels	+	-	+	-	Coarse	Fine	+	-		Par[2]	Ino[3]	Par× Ino[4]
Days after silage preparation												
30	45.3	43.6	46.2	51.1	44.4	48.7	45.7	47.3	6.07	0.36	0.72	0.47
45	53.8	52.4	47.7	47.2	53.1[a]	47.8[b]	50.8	49.8	3.32	0.05	0.68	0.84
60	48.9	45.5	46.7	64.49	47.7	55.6	47.8	55.0	8.08	0.19	0.25	0.11
90	46.4[b]	51.8[a]	55.8[a]	50.6[ab]	49.1[b]	53.2[a]	51.1	51.2	2.01	0.02	0.90	0.01

[a-b] Non-similar letters in each row indicates a significant difference (P<0.05).
[1] The effect of sampling time on the measured variables was not significant.
[2] Particle size
[3] Inoculant levels
[4] Interaction between particles size and inoculant levels

در سیلاژ درشت تلقیح نشده که احتمالاً دارای تولیدات تخمیری کم‌تری بود، نسبت به سیلاژ با اندازه ذرات درشت تلقیح شده، تولید گاز بیشتر بود. اما در سیلاژ تلقیح شده ریز به سبب افزودن باکتری‌های جدید و نیز افزایش سطح تماس و شکنندگی در دیواره سلولی (Grant, 2010)، ترکیبات الیاف نامحلول در شوینده خنثی به مقدار بیشتری تجزیه شد. لذا با افزایش پتانسیل هضم به وسیله باکتری-های شکمبه، تولید گاز افزایش یافت.

نتیجه‌گیری کلی

احتمالاً سیلاژ ریز تلقیح شده در شکمبه، انرژی تخمیری قابل سوخت و ساز بیشتری نسبت به سیلاژ ریز تلقیح نشده فراهم می‌کند. اما در سیلاژهای درشت احتمالاً فراهمی انرژی قابل سوخت و ساز تخمیری در شکمبه در سیلاژ تلقیح نشده از تلقیح شده بیشتر بود. برای تائید این موضوع به آزمایشات بیشتری در حیوان نیاز است. تلقیح باکتریایی سبب افزایش پایداری هوازی سیلاژها شد، اما تاثیر فرآیند تلقیح بر کیفیت سیلاژ کم‌تر از تاثیر اندازه ذرات بود. سیلاژ ذرت ریز، کیفیت مناسب‌تری نسبت به سیلاژ درشت داشت.

فهرست منابع

احمدی ک.، عباد زاده ح. ر.، حاتمی ف.، عبدشاه ه.، و کاظمیان آ. ۱۳۹۸. آمارنامه کشاورزی سال زراعی۹۷-۱۳۹۶ جلد اول: محصولات زراعی. تهران: مرکزفناوری اطلاعات و ارتباطات، معاونت برنامه ریزی و اقتصادی، وزارت جهاد کشاورزی.

صیدالی دولت آباد س.، خوروش م.، قربانی غ. ر.، و محمدزاده ح. ۱۳۹۴. اثر افزودنی باکتریایی و مواد جاذب رطوبت بر قابلیت تخمیر و ترکیب مواد مغذی سیلاژ تفاله چغندرقند با استفاده از سیلوهای آزمایشگاهی. پژوهشهای علوم دامی ایران، ۷(۴): ۴۲۱-۴۱۳.

مکاری ف.، بیات کوهسار ج.، قنبری ف.، و فلاحی ح. ع. ۱۳۹۶. اثر استفاده از افزودن باکتریایی، اسیدهای آلی و اوره بر ترکیب شیمیایی، خصوصیات تخمیری، فراسنجه‌های تولید گاز و گوارش‌پذیری علوفه سیلو شده تریتیکاله در شرایط برون‌تنی. تحقیقات تولیدات دامی، ۶(۲): ۱۳-۲۷.

ولی‌زاده ر.، ناصریان ع. ع.، اژدری فرد ا.، و صادقی ا. ۱۳۸۲. بیوشیمی سیلاژ. انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد. ۴۱۶ صفحه.

Acosta Aragon Y., Jatkauskas J. and Vrotniakien V. 2012. The effect of a silage inoculant on silage quality, aerobic stability, and meat production on farm scale. Veterinary Science, 2012: 1-6.

Addah W., Baah j., Groenewegen P., Okine E. K. and McAllister T. A. 2011. Comparison of the fermentation characteristics, aerobic stability and nutritive value of barley and corn silages ensiled with or without a mixed bacterial inoculant. Canadian Journal of Animal Science, 91: 133-146.

Adesogan A. T., Arriola K. G., Jiang Y., Oyebade A., Paula E. M., Pech-Cervantes A. A., Romero J. J., Ferraretto L. F. and Vyas D. 2019. Symposium review: Technologies for improving fiber utilization. Journal of Animal Science, 102: 5726-5755.

AOAC. 2005. Official Methods of Analysis of AOAC International, Maryland, USA.

Bagheripour E., Rouzbehan Y. and Alipour, D. 2008. Effects of ensiling, air-drying and addition of polyethylene glycol on *in vitro* gas production of pistachio by-products. Animal Feed Science and Technology, 146: 216-226.

Biomin Biostabil Mayas. 2018. Get more out of your corn silage with Biomin Biostabil Mayas: https://www.biomin.net/en/articles/get-more-out-of-your-corn-silage-with-biostabilr-mays/.

Denek N. and Can A. 2006. Feeding value of wet tomato pomace ensiled with wheat straw and wheat grain for Awassi sheep. Small Ruminant Research, 65: 260-265.

Ferraretto l. and Shaver R. 2012. What's New with Corn Silage for Dairy Cattle? Tri-State Dairy Nutrition Conference, pp. 67-74.

Grant R. J. and Ferraretto L. F. 2018. Silage review: Silage feeding management: Silage characteristics and dairy cow feeding behavior. Journal of Dairy Science, 101: 4111-4121.

Grant R. 2010. Forage fragility, fiber digestibility, and chewing response in dairy cattle. Tri state dairy conference, pp. 27-40.

Henrichs A. J. and Conrad H. R. 1984. Fermentation characteristics and feeding value of ammonia-treated corn silage. Journal of Dairy Science, 67: 82-87.

Kristensen N. B., Sloth K. H., Hojberg O., Spliid N. H., Jensen C. and Thogersen R. 2010. Effects of microbial inoculants on corn silage fermentation, microbial contents, aerobic stability, and milk production under field conditions. Journal of Dairy Science, 93: 3764-3774.

Kung Jr J., Robinson J. R., Ranjit N. K., Chen J. H., Golt C. M. and Pesek J. D. 2000. Microbial population fermentation end products, and aerobic stability of corn silage treated with ammonia or propionic acid-based preservative. Journal of Dairy Science, 83: 1479-1486.

Kung Jr J., Shaver R. D., Grant R. J. and Schmidt R. J. 2018. Silage review: Interpretation of chemical, microbial, and organoleptic components of silages. Journal of Dairy science, 101: 4020-4033.

Mafakher E., Meskarbashee M., Hassibi P. and Mashayekhi M. R. 2010. Study of chemical composition and quality characteristics of corn, sunflower and corn-sunflower mixture silages. Asian Journal of Animal and Veterinary Advances, 5: 175-179.

McDonald P., Edward R. A., Greenhalgh J. F. D., Morgan C. A. and Mikinson R. G. 2011. Animal Nutrition. 7th Ed. Longman, UK.

McDonald P. A., Henderson R. and Heren S. J. E. 1991. The biochemistry of silage. 2nd Ed. Chalcombe Pub. Abersyth. UK.

Oliveira A. S., Weinberg Z. G., Ogunade I. M., Cervantes A. A. P., Arriola K. G., Jang Y., Gonalves M. C. M., Vyas D. and Adesogan A. T. 2016. Meta-analysis of effects of inoculation with homofermentative and facultative heterofermentative lactic acid bacteria on silage fermentation, aerobic stability, and the performance of dairy cows. Journal of Dairy Science, 100: 4587-4603.

Oney C. R., Gramkow J. L., Watson A. K., Erickson G. E. and MacDonald J. C. 2018. The Effect of Inoculants on nutrient losses of corn silage and high-moisture corn stored in mini silos. university of Nebraska-Lincoln, Animal Science Department.

Pahlow G. and Zimmer E. 1985. Effect of a lactobacillus inoculant on fermentation and aerobic stability of grass silage. Proceedings of the XV Int. Grassland. Congress, Kyoto, Japan. 8: 24-31.

Rajabi R. Tahmasbi R., Dayani O. and Khezri A. 2017. Chemical composition of alfalfa silage with waste date and its feeding effect on ruminal fermentation characteristics and microbial protein synthesis in sheep. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 101: 466-474.

Ranjit N. K. and Kung L. 2001. The effect of *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus plantarum* as a chemical preservative on the fermentation and aerobic stability of corn silage. Journal of Dairy Science, 83: 526-533.

SAS. 2005. SAS User's Guide. SAS Institute Inc. Version 9. 1. Cary, NC, USA.

Soita H. W., Christensen D. A. and McKinnon J. J. 2000. Influence of Particle Size on the Effectiveness of the Fiber in Barley Silage. Journal of Dairy Science, 83: 2295-2300.

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

Silveira Rabêlo C. H. 2016. Effect of Lactobacillus and *Bacillus subtilis* on the fermentative process of corn silage and performance of beef cattle and sheep. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

Xu Z., He H., Zhang S. and Kong J. 2017. Effects of inoculants *Lactobacillus brevis and Lactobacillus parafarraginis* on the fermentation characteristics and microbial communities of corn stover silage. Scientific Reports, 7: 1-9.

Yahaya M. S., Kawai M. and Takahashi J. 2002. The effects of different moisture content and ensiling time on silo degradation of structural carbohydrate of orchardgrass. Asian-Australasian Journal of Animal Science, 15: 213-217.

Yitbarek M. B. and Tamir B. 2014. Silage Additives: Review. Open Journal of Applied Sciences, 4: 258-274.

Animal Production Research

Vol. 10, No. 1, 2021 (37-49)

University of Guilan

Research paper

Effect of particle size and inoculation of homofermentative and heterofermentative bacteria in high moisture corn forage on the silage quality

M. Dehghani[1], M. M. Sharifi Hosseini[2*], O. Dayni[3], A. Maddahian[4]

1. Graduated MSc, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran
2. Assistant Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran
3. Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran
4. Assistant Professor, Agricultural Sciences Department, Payam Noor University, Iran

(Received: 20-10-2019 – Accepted: 15-07-2020)

Abstract

This experiment was conducted to determine the effect of corn silage particle size, homofermentative and heterofermentative fermenting bacteria inoculation on chemical compounds, sensory evaluation, aerobic stability, and gas production on days 30, 45, 60, and 90 after silage preparation. The corn forage was harvested in coarse and fine sizes (16 and 8 mm, respectively), and the silage was prepared in nylon bags with a size of 90×45 cm (4050 cm^2). During the preparation of the silage, bacterial inoculation was added to 50 percent of coarse and fine corn forage. Silages were sampled at 30, 45, 60, and 90 days after the preparation of silage. On the 90^{th} day after silage preparation, the score of total sensory evaluation of silages was higher in inoculated silage (P<0.05). On the 45^{th} and 60^{th} days after silage preparation, pH was the highest in fine silage (3.77 and 3.80, respectively) (P<0.05). The crude protein content of silage was higher in fine silage only on day 90. The percentage of the neutral detergent fiber was the highest in coarse and non-inoculated silages on day 30 after the preparation of silage (P<0.05). Aerobic stability was higher in coarse and inoculated silages on day 45 (P<0.05). The gas production potential (A+B) in fine silages was the greatest on day 90 after the preparation of silage. The results of the experiment showed that the effect of particle size on the quality of silage was greater than bacterial inoculation, but inoculation of bacteria increased the aerobic stability of silages.

Keywords: Heterofermentative bacteria, Homofermentative bacteria, Bacterial inoculum, Corn silage

[*]Corresponding author: mmsharifi@uk.ac.ir

doi: 10.22124/ar.2021.14585.1453