نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد ۸، شماره ۴، زمستان ۱۳۹۵، ص. ۵۶۸-۵۵۳

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 8, No. 4, Winter 2017, p. 553-568

تأثیر استفاده از افزودنی‌های باکتریایی و اسانس رزماری، رازیانه و زنیان بر ترکیب شیمیایی، خصوصیات تخمیری، فراسنجه‌های تولید گاز و قابلیت هضم سیلاژ ذرت در شرایط برون‌تنی

فرشته مقصودلو[۱]- جواد بیات کوهسار[۲*]- فرزاد قنبری[۲]- فاختک طلیعی[۳]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۹/۱۹
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۰۴/۱۹

چکیده

مطالعه‌ای به منظور بررسی تأثیر استفاده از افزودنی باکتریایی و اسانس رزماری، رازیانه، زنیان در دو سطح ۱۲۵ و ۲۵۰ میکرولیتر بر کیلوگرم علوفه تازه بر ترکیب شیمیایی، قابلیت هضم برون‌تنی، فراسنجه‌های تولید گاز و ویژگی‌های تخمیر سیلاژ ذرت در قالب یک طرح کاملاً تصادفی انجام شد. علوفه‌های برداشت شده ذرت در سه تکرار در کیسه‌های پلاستیکی به صورت دستی فشرده و سیلو شدند. سیلوهای پر شده در دمای اتاق نگهداری و برای مدت ۳، ۷، ۲۱ و ۴۵ روز سیلو شدند. سیلاژهای ذرت تلقیح شده با افزودنی باکتریایی در روزهای ۳ و ۷ در مقایسه با تیمار شاهد دارای ماده خشک بالاتری بودند. غلظت کربوئیدرات‌های محلول در آب میان تیمارها مختلف بود. بالاترین و پایین‌ترین مقدار به ترتیب مربوط به تیمار رازیانه در سطح ۱۲۵ میکرولیتر بر کیلوگرم در روز ۳ و تیمار افزودنی باکتریایی در روز ۴۵ پس از سیلو کردن بود. در بین تیمارها، تیمار شاهد در روز ۳ پس از سیلو کردن و تیمار رازیانه ۲۵۰ میکرولیتر در روز ۷ پس از سیلو کردن به ترتیب دارای بالاترین و پایین‌ترین پتانسیل تولید گاز بودند. سیلاژهای عمل آوری شده با اسانس زنیان در سطح ۲۵۰ میکرولیتر و اسانس رازیانه در سطح ۱۲۵ میکرولیتر در روز ۲۱ به ترتیب بیشترین و کمترین توده میکروبی تولیدی را داشتند. به طور کلی، نتایج نشان داد که استفاده از اسانس‌ها در مقایسه با تیمار شاهد تأثیر قابل ملاحظه‌ای بر ارزش تغذیه‌ای سیلاژ ذرت نداشتند.

واژه‌های کلیدی: اسانس، ترکیب شیمیایی، تلقیح باکتریایی، تولید گاز، قابلیت هضم برون‌تنی.

مقدمه

نگهداری علوفه به صورت سیلاژ یکی از بهترین روش‌های محافظت از علوفه مرطوب در مدت زمانی از سال می‌باشد که علوفه تازه در دسترس نیست. سیلاژ به کمک فرآیند طبیعی تخمیر حاصل می‌شود (۲۸). اساس تخمیر در سیلو دست‌یابی به میزان کافی اسید لاکتیک به منظور جلوگیری از رشد میکروارگانیسم‌های نامطلوب موجود در توده گیاهی و همچنین ممانعت از فعالیت آنزیم‌های کاتابولیکی درون گیاهی می‌باشد که در نتیجه منجر به حداکثر رساندن حفظ مواد مغذی در سیلاژ می‌گردد (۶). برای به دست آوردن سیلاژ با کیفیت مطلوب و ماندگاری بالا، از افزودنی‌های مختلف سیلویی استفاده می‌شود.

افزودنی‌های سیلاژ به طور کلی شامل مواد خوراکی، اوره، ملاس، اسیدها و افزودنی‌های باکتریایی می‌باشد (۲۹). افزودنی‌های سیلاژ با هدف اولیه بهبود تخمیر و یا ثبات هوازی سیلاژ به بازار عرضه می‌شوند (۴ و ۳۵). مواد سیلو شده با ماده افزودنی مناسب pH پایین‌تر، کربوهیدرات محلول در آب و اسید لاکتیک بیشتر، اسید استیک و اتانول کمتری دارند. این عوامل سبب بهبود عملکرد دام تغذیه شده با این مواد سیلویی خواهد شد (۱۸). امروزه استفاده از افزودنی‌های شیمیایی و بیولوژیکی مختلف در حال توسعه می‌باشد.

روغن‌های اسانسی مخلوطی از متابولیت‌های ثانویه فرار گیاه می‌باشند که طی عصاره‌گیری به روش تقطیر به دست می‌آیند (۳۳). این ترکیبات سال‌های زیادی است که به‌عنوان طعم دهنده، خوشبوکننده و نگهدارنده استفاده می‌شوند (۱۴). اسانس‌های روغنی دارای دو ویژگی ضد میکروبی و ضد قارچی می‌باشند (۸ و ۱۶)، و برای مصرف انسان و حیوان بی‌خطر هستند و ویژگی ضد میکروبی آنها، علیه محدوده وسیعی از میکروارگانیسم‌ها شامل: باکتری‌ها، پروتوزوآها و قارچ‌ها اثبات شده است (۱۰، ۱۲ و ۳۲). فعالیت ضد میکروبی اسانس‌های روغنی و ترکیبات فعال آنها، برخی از دانشمندان

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم دامی، دانشگاه گنبد کاووس،
۲- استادیار گروه علوم دامی، دانشگاه گنبد کاووس،
۳- استادیار گروه گیاه شناسی، دانشگاه گنبد کاووس.
(*- نویسنده مسئول: Emai: javad_bayat@yahoo.coml)
DOI: 10.22067/ijasr.v2i1.52108

را برانگیخت تا این متابولیت‌های ثانویه گیاهی را جهت دستکاری و تعدیل تخمیر میکروبی شکمبه، به منظور بهبود بازدهی تولید در نشخوارکنندگان، آزمایش و بررسی کنند. تحقیقات انجام شده نشان دهنده اثرات اسانس‌های گیاهی بر بهبود فرآیندهای تخمیری در شکمبه می‌باشد (۹). تا به حال مطالعات اندکی در ارتباط با استفاده برخی از اسانس‌های گیاهی در جهت بهبود فرآیندهای تخمیری در سیلو انجام شده است. در مطالعه کانگ و همکاران (۲۰) اسانس گیاه کرینا (crina) شامل ترکیبات مؤثره تیمول، اوژنول، وانیلین و لیمونن به صورت ترکیب در سطوح مختلف صفر، ۴۰ و ۸۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم علوفه تازه به سیلاژ ذرت استفاده شد که تأثیری بر جمعیت میکروبی، فرآیند تخمیر و پایداری هوازی سیلاژ نداشت. چاوز و همکاران (۱۱) مشاهده کردند که اسانس دارچین، پونه و پرتقال موجب کاهش جمعیت مخمرها در هنگام اندازه‌گیری پایداری هوازی سیلاژ گیاه کامل جو گردید. لذا هدف از این مطالعه بررسی تأثیر استفاده از تلقیح باکتریایی و روغن‌های اسانسی رزماری، رازیانه و زنیان بر ترکیب شیمیایی، فراسنجه های تولید گاز و قابلیت هضم سیلاژ ذرت در شرایط برون‌تنی بود.

مواد و روش‌ها

تهیه سیلو و تعیین ترکیبات شیمیایی و خصوصیات تخمیری

گیاه کامل ذرت علوفه‌ای با حدود ۳۰ درصد ماده خشک، ۹۵ درصد ماده آلی و تقریبا ۵ درصد پروتئین از مزرعه‌ای در اطراف شهرستان گنبد کاووس در مرحله خمیری دانه توسط چاپر (قطعات حدود ۵-۲ سانتی‌متر) برداشت شد. علوفه برداشت شده در سه تکرار در کیسه‌های پلاستیکی به صورت دستی فشرده و سیلو شدند. افزودنی‌ها در آب دیونیزه حل و با اسپری دستی به روی علوفه ذرت اسپری شدند. مقادیر مساوی از آب دیونیزه نیز برای تیمار شاهد به کار برده شد. سیلوهای پر شده با درب پلاستیکی کاملا بسته و در دمای اتاق نگهداری و برای مدت ۳، ۷، ۲۱ و ۴۵ روز نگهداری شدند. تیمارهای آزمایشی شامل: ۱) سیلاژ ذرت بدون هیچگونه افزودنی (شاهد)، ۲) سیلاژ ذرت + افزودنی باکتریایی اکوسایل[1] (لاکتوباسیلوس پلانتروم 8×10^{10} CFU در هر گرم)، ۳) سیلاژذرت + اسانس گیاهی رزماری در مقدار ۱۲۵ میکرولیتر ، ۴) سیلاژذرت + اسانس گیاهی رزماری در مقدار ۲۵۰ میکرولیتر، ۵) سیلاژذرت + اسانس گیاهی رازیانه در مقدار ۱۲۵ میکرولیتر، ۶) سیلاژذرت + اسانس گیاهی رازیانه در مقدار ۲۵۰ میکرولیتر، ۷) سیلاژذرت + اسانس گیاهی زنیان در مقدار ۱۲۵ میکرولیتر، ۸) سیلاژذرت + اسانس گیاهی زنیان در مقدار ۲۵۰ میکرولیتر بر کیلوگرم علوفه تازه بودند. بعد از سپری شدن زمان معین سیلو کردن، درب سیلوها باز و نمونه‌ها با هم مخلوط شدند. سپس از سطوح بالایی، میانی و پایینی هر ماده سیلوشده نمونه‌برداری شد. به‌منظور اندازه‌گیری pH نمونه‌های سیلاژ، ۵۰ گرم از هر نمونه با ۴۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر توسط یک مخلوط کن هموژنیزه شد. پس از صاف نمودن عصاره حاصل، pH آن بلافاصله با استفاده از دستگاه pH متر دیجیتال ثبت شد. برای تعیین نیتروژن آمونیاکی، مقدار ۱۰ میلی‌لیتر از نمونه عصاره صاف شده گرفته و معادل حجم آن اسید کلریدریک ۰/۲ نرمال افزوده و در فریزر با دمای ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری شد (۷) . مقدار ۱۰۰ گرم از هر نمونه جهت تعیین درصد ماده خشک در آون (دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد) به مدت ۴۸ ساعت قرار داده شد (۱۸). به منظور تهیه مخلوطی یکنواخت، نمونه‌های سیلو پس از خشک کردن با استفاده از آسیاب با توری یک میلی‌متر آسیاب شدند منک و استینگاس (۲۴). ترکیبات شیمیایی شامل مقدار ماده خشک، پروتئین خام، ماده آلی و خاکستر به روش AOAC (۲)، الیاف نامحلول در شوینده خنثی و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی طبق روش ون‌سوست و همکاران (۳۸) و کربوهیدرات‌های محلول براساس روش هچ و هوفریتر (۱۵) تعیین شد. میزان نیتروژن آمونیاکی نمونه‌ها با استفاده از روش فنل-هیپوکلریت تعیین گردید (۷). بدین منظور از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۳۰ نانومتر جهت قرائت جذب نوری استفاده شد.

تولید گاز در شرایط آزمایشگاهی

برای انجام آزمایش تولید گاز مایع شکمبه از ۳ راس گوسفند نر فیستول‌دار نژاد دالاق (۲/۵± ۴۵ کیلوگرم) از بخش‌های مختلف شکمبه و قبل از وعده تغذیه صبحگاهی جمع‌آوری شد. ذرات درشت مایع شکمبه با عبور دادن از چهار لایه پارچه متقال جدا شده و در یک بن ماری با دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. حیوانات در سطح نگهداری با جیره حاوی ۷۰ درصد علوفه (یونجه و سیلاژ ذرت به نسبت مساوی) و ۳۰ درصد کنسانتره (جو، کنجاله تخم پنبه، سبوس و مکمل) تغذیه شدند و حیوانات به آب آزادانه دسترسی داشتند. بزاق مصنوعی مطابق روش منک و همکاران (۲۳) تهیه و با شیرابه شکمبه با نسبت ۲:۱ مخلوط شد. ۳۰ میلی لیتر از این محلول به داخل ویال‌های شیشه‌ای حاوی ۲۰۰ میلی‌گرم نمونه خشک آسیاب شده (۳ تکرار) ریخته شد. تولید گاز در زمان های ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۲، ۲۴، ۳۶، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت انکوباسیون توسط دستگاه مبدل فشارسنج ثبت شد. حجم خالص گاز با کاستن میانگین گاز تولیدی ویال های بلانک از ویال‌های دارای نمونه حاصل شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها با کمک معادله ارسکوف مکدونالد (۲۷)

$$P=b\ (1-e^{-ct}) \qquad (۱)$$

1- Ecosyl

در این معادله، P حجم تولید گاز در زمان t بـه صـورت تجمعـی، cثابت نرخ تولید گاز، b گاز تولید شده از بخش قابل تخمیر و t مـدت زمان انکوباسیون می‌باشد.

اسیدهای چرب کوتاه زنجیر بـا اسـتفاده از معادلـه ۴ مکـار (۲۲)، قابلیت هضم ماده آلی (معادله ۲) طبق روش منک و همکاران (۲۳) و انرژی قابل متابولیسم (معادله ۳) طبق روش منک و اسـتینگاس (۲۴) تخمین زده شد.

$$OMD\ (\%) = 14.88 + 0.899GP + 0.45CP_1 + 0.065A \quad (۲)$$

$$ME\ (MJ/kg\ DM) = 2.20 + 0.136GP + 0.0574CP_2 \quad (۳)$$

$$SCFA\ (mmoL) = -0.00425 + 0.0222GP \quad (۴)$$

در این معادلات، GP تولید خالص گاز در ۲۴ ساعت (میلی‌لیتر به ازای ۲۰۰ میلی‌گـرم مـاده خشـک)، CP_1 پـروتئین خـام (بـر حسـب درصد)، A مقدار خاکستر و CP_2 پروتئین خام (گرم در کیلوگـرم مـاده خشک) می‌باشد.

داده‌های جمع‌آوری شده در قالب طرح کاملا تصادفی و با استفاده از نرم افزار آماری SAS (۳۱) ویرایش ۹/۱ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

اندازه‌گیری قابلیت هضم در شرایط برون‌تنی

اندازه‌گیری قابلیت هضم تیمارهای مختلف براساس روش کشـت بسته انجام شد (۳۶). روش تهیه بـزاق مصـنوعی و جمـع‌آوری مـایع شکمبه مطابق آنچه در آزمون تولید گاز شرح داده شد، صورت گرفت. pH مخلوط بافر و مایع شکمبه توسط دسـتگاه pH متـر الکترونیکـی (مدل ۶۹۱ شرکت Metrohm) کنترل و بـه ۶/۸ رسـانده شـد. ۵۰۰ میلی‌گرم ماده خشک نمونه‌های آسیاب شده به همـراه ۵۰ میلـی‌لیتـر بزاق مصـنوعی و مـایع شـکمبه صـاف شـده بـه نسـبت ۲ بـه ۱ در ویال‌های شیشه‌ای ۵۰ میلی‌لیتری ریخته و پس از درپوش گذاری، در بن ماری با دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. بعد از گذشت ۲۴ ساعت تمامی شیشه‌ها از بن ماری خارج و نمونه‌هـای موجـود در هـر ویال، با استفاده از پارچه متقال چهـار لایـه صـاف شـده و محتویـات هضم نشده از فـاز مـایع جـدا شـد. سـپس pH فـاز مـایع نمونـه‌هـا اندازه‌گیری شد. محتویات هضم نشده هـر ویـال جمـع آوری شـده و درون کروزه‌های با وزن مشخص انتقال یافت. کروزه‌ها بـه مـدت ۴۸ ساعت در آون با درجه حرارت ۶۰ درجه سانتی‌گـراد قـرار داده شـدند. سپس قابلیت هضم ظاهری محاسبه شد. کروزه‌های حاوی محتویـات هضم نشده به مدت ۶ ساعت در کوره با دمای ۵۴۰ درجـه سـانتیگراد قرار داده شدند. این کار به منظور تعیین مقدار خاکستر خام مواد هضم نشده موجود در کروزه‌ها صورت گرفت. بازده تولیـد گـاز[1] (GP_{24}) بـه صورت حجم گاز تولید شده پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون تقسـیم بـر مقدار ماده تجزیه شده واقعی (گرم) محاسبه شد (۱۳). جهت محاسـبه توده میکروبی تولید شده از معادله پیشنهاد شده بلومل و همکاران (۵) استفاده گردید.

$$MCP\ (mg) = GP \times (PF - 2.2) \quad (۵)$$

در این معادله، MCP تولید توده میکروبی، PF فاکتور تسـهیم و GP میلی‌لیتر گاز تولید شده در زمان ۲۴ ساعت می‌باشد.

عامل تفکیک[2] بنا به تعریف برابر با نسبت میلـی‌گـرم مـاده آلـی حقیقی هضم شده بر میلی‌لیتر حجم گـاز خـالص تولیـدی مـی‌باشـد. حداکثر مقدار توده میکروبی تولید شـده بـا در نظـر گـرفتن زمـانی از انکوباسیون که نرخ تولید گاز در آن زمان حـداکثر بـوده و بـا در نظـر گرفتن میلی‌گرم ماده آلی حقیقی هضـم شـده در آن زمـان محاسـبه گردید. بازده مقدار توده میکروبی و بازده حداکثر مقدار توده میکروبـی تولید شده با تقسیم توده و میکروب تولید شـده بـر مقـدار مـاده آلـی حقیقی قابل تخمیر در پایان زمان انکوباسیون و مقدار گاز تولید شـده محاسبه شد. آنالیز داده‌های حاصل با رویـه GLM نـرم افـزار آمـاری SAS نسخه (۹/۱) و در قالب طرح کاملا تصادفی انجـام شـد. رابطـه زیر مدل آماری طرح را نشان می‌دهد:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij} \quad (۶)$$

در این رابطه، Y_{ij} مقدار مشاهده شده در هـر صـفت، μ میـانگین کل، T_i اثر تیمار و e_{ij} اثر خطای آزمایش می‌باشد.

نتایج و بحث

تأثیر استفاده از افزودنی‌های باکتریایی و اسـانس گیـاهی بر ترکیب شیمیایی سیلاژ ذرت

تأثیر استفاده از افزودنی‌های باکتریایی و اسانس رزماری، رازیانه و زنیان بر ترکیب شیمیایی سیلاژ ذرت علوفه‌ای در جدول ۱ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که بین تیمارهـای آزمایشـی ازنظرترکیـب شیمیایی اختلاف معنی‌داری وجود داشـت ($P<0/05$). هـر چنـد بـین تیمارها از نظر خاکستر خام و ماده آلـی در روز ۳ و ۴۵ پـس از سـیلو کردن اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. زنیان ۱۲۵ میکرولیتـر در روز ۲۱ پس از سیلو کردن دارای بیشترین مقدار خاکستر خـام و کمتـرین ماده آلی بود. پایین‌ترین و بالاترین مقدار پروتئین خام در روز ۴۵ پس از سیلو کردن به ترتیب مربـوط بـه تیمـار دارای افزودنـی باکتریـایی (۶/۷۲ درصد) و تیمار زنیان ۲۵۰ میکرولیتر (۸/۹۲ درصد) بود. در این مطالعه، تیمار زنیان ۲۵۰ و رازیانه ۲۵۰ در روز ۷ پس از سـیلو کـردن به ترتیب دارای بالاترین و پایین‌ترین میزان الیاف نامحلول در شوینده اسیدی بودند. نتایج این آزمایش با نتایج چـاوس و همکـاران (۱۱) در تضاد بود که هیچ تأثیرمعنی‌داری از افزودن اسـانس‌هـای گیـاهی بـر

1- Gass Production

2- Partitioning Factor

الیاف نامحلول در شوینده خنثی، الیاف نامحلول در شوینده اسیدی، همی‌سلولز، خاکستر و پروتئین سیلاژ جو مشاهده نکردند. به طور کلی میزان pH و نیتروژن آمونیاکی سیلاژهای تلقیح شده با افزودنی باکتریایی و اسانس‌های گیاهی نسبت به pH علوفه تازه (۶/۰۲) با افزایش زمان پس از سیلو کردن با نرخ سریع‌تری کاهش یافت. انتظار می‌رود با کاهش سریع pH در طول مراحل اولیه سیلو، از رشد میکروارگانیسم‌های نامطلوب سیلویی مانند انتروباکترها و مخمرها جلوگیری شود. این نتایج نیز نتایج به دست آمده توسط چاوس و همکاران (۱۱) را تأیید کرد که گزارش کردند افزودن اسانس‌های گیاهی در مقدار ۱۲۰ میلی‌گرم به ازای کیلوگرم ماده خشک سیلاژ جو، باعث حفظ پایداری هوازی سیلاژ تا دو هفته نسبت به تیمار شاهد می‌شود. کانگ و ماک (۱۷) گزارش کردند که تلقیح باکتریایی pH را کاهش و نسبت اسید لاکتیک به اسید استیک را در بیش از ۶۰ درصد مطالعات انجام گرفته بین سال‌های ۱۹۹۰ تا ۱۹۹۵ بهبود داده است. کاهش pH به دلیل وجود باکتری‌های اسید لاکتیکی می‌باشد که تولید اسید لاکتیک در سیلو را افزایش داده و منجر به کاهش pH، تولید اسید استیک و بوتریک می‌گردند. افزودن تلقیح کننده‌های باکتریایی منجر به تحریک تولید اسید لاکتیک و در نتیجه کاهش pH سیلاژ می‌گردند (۴۰).

کاهش میزان نیتروژن آمونیاکی به دلیل اثرات ممانعت کنندگی اسانس‌های گیاهی بر پرتوولیز و دی آمیناسیون می‌باشد، احتمالا اثرات ممانعت کننده آنها بر فعالیت‌های پروتولیتیکی باعث کاهش تجزیه پروتئین سیلاژ ذرت شده و در نتیجه باعث کاهش نیتروژن آمونیاکی سیلاژ ذرت نیز می‌شود.

نتایج نشان داد که مقدار کربوهیدرات‌های محلول در آب به طور معنی‌داری در میان تیمارها متفاوت بود (P<۰/۰۵). تیمار رازیانه در دوز ۱۲۵ میکرولیتر بر کیلوگرم در روز ۳ پس از سیلو کردن دارای بالاترین میزان کربوهیدرات (۲۹/۱۲ درصد) و پایین‌ترین مقدار کربوهیدرات به تیمار افزودنی باکتریایی در روز ۴۵ پس از سیلو کردن (۸/۵۱ درصد) مربوط بود. نتایج نشان داد که با گذشت زمان، میزان کربوهیدرات‌های محلول در آب در بین تیمارها دارای روند کاهشی بود. کربوهیدرات‌های محلول در آب منبع اصلی انرژی برای میکروارگانیسم‌ها طی فرایند تخمیر در سیلو می‌باشد. وینبرگ و همکاران (۳۹) گزارش کردند که مقدار کربوهیدرات‌های محلول در آب برای ذرت با ماده خشک ۲۵ تا ۳۵ درصدی در دامنه ۸۰ تا ۳۱۰ گرم در کیلوگرم قرار دارد. کانکله و همکاران (۲۰) دریافتند که چنانچه مقدار کربوهیدرات‌های محلول در آب کمتر از ۸۰ گرم در هر کیلوگرم باشد، تهیه سیلاژ پایدار به سختی امکان پذیر است. در بین تیمارهای دارای اسانس نیز از نظر مقدار کربوئیدرات‌های محلول در آب اختلاف معنی‌داری وجود داشت. با این حال روند این تأثیرات دارای الگوی خاصی نبود. هدف استفاده از افزودنی باکتریایی، افزایش سریع‌تر جمعیت باکتریایی مطلوب جهت غلبه بر روند تخمیر و در نهایت حفظ مواد مغذی می‌باشد. به نظر می‌رسد عدم تأثیر اسانس‌ها و افزودنی باکتریایی بر فرآیند تخمیر سیلاژ ذرت می‌تواند مربوط به این باشد که در این مطالعه شرایط مطلوب سیلو کردن از نظر برداشت و مدیریت تهیه سیلو باشد. همچنین فشرده سازی در حین عملیات سیلو کردن به منظور خروج هوای محبوس در سیلاژ با نهایت دقت انجام شد.

جدول ۱- تأثیر استفاده از افزودنی‌های باکتریایی و اسانس رزماری، رازیانه و زنیان بر ترکیب شیمیایی (درصد) سیلاژ ذرت[1]

Table 1- Effect of bacterial inoculant and essential oils Rosemary, fennel and carum copticum additive on chemical composition of corn silage (%) [1]

روزهای سیلوکردن Days ensiling	تیمارها Treatments	DM[1] (%)	ASH (%)	CP[2] (%)	OM[3] (%)	NDF[4] (%)	ADF[5] (%)	WSC[6] (%)	pH	NH_3-N (mg/dl)
3	شاهد Control	29.50	5.97	7.87^{d}	94.02	56^{dc}	34^{c}	16.92^{g}	3.72	3.37^{a}
	افزودنی باکتریایی Bacterial inoculant	29.58	5.92	8.22^{b}	94.07	57.66^{bc}	32^{d}	25.09^{b}	3.71	3.21^{bc}
	رزماری ۱۲۵ Rosemary 125 µl/kg	30.25	5.68	7.87^{d}	94.31	56^{dc}	40^{b}	24.84^{c}	3.69	3.25^{ab}
	رزماری ۲۵۰ Rosemary 250 µl/kg	30.27	5.90	8.05^{c}	94.09	60^{b}	42^{a}	24.82^{d}	3.72	2.89^{d}
	رازیانه ۱۲۵ Fennel 125 µl/kg	30.08	5.67	7.75^{a}	94.33	66.33^{a}	40^{b}	29.11^{a}	3.68	3.16^{bc}

ادامه جدول ۱

Continuation of table 1

	رازیانه ۲۵۰ Fennel 250 µl/kg	30.85	5.68	7.87^{d}	94.31	54^{d}	42^{a}	18.49^{e}	3.69	3.11^{bc}
	زنیان ۱۲۵ Carum copticum 125 µl/kg	30.48	6.04	7.87^{d}	93.95	55^{dc}	40^{b}	18.29^{f}	3.69	3.19^{bc}
	زنیان ۲۵۰ Carum copticum 250 µl/kg	30.34	5.75	7.87^{d}	94.24	53^{d}	34^{c}	16.6^{h}	3.72	3.08^{c}
	SEM	0.993	0.397	0	0.397	1.035	0	0	0.023	0.051
	p-value	00.98	0.993	<0.0001	0.993	<0.0001	<0.0001	<0.0001	0.845	0.0005
	شاهد Control	29.63^{a}	6.26^{a}	7.87^{f}	93.73^{b}	68.33^{bc}	46^{b}	15.60^{g}	3.54	2.99^{b}
	افزودنی باکتریایی Bacterial inoculant	29.83^{a}	6.12^{ab}	8.05	93.87^{ab}	68.66^{b}	40^{d}	23.38^{b}	3.54	3.44^{ab}
	رزماری ۱۲۵ Rosemary 125 µl/kg	29.88^{a}	5.99^{ab}	7.87^{f}	94^{ab}	66^{c}	36^{f}	20.43^{d}	3.56	3.31^{ab}
	رزماری ۲۵۰ Rosemary 250 µl/kg	30.09^{ab}	5.89^{ab}	8.75^{a}	94.10^{ab}	73^{a}	32^{g}	21.99^{c}	3.56	3.73^{a}
7	رازیانه ۱۲۵ Fennel 125 µl/kg	30.06^{ab}	6.19^{a}	8.22^{d}	93.80^{b}	66^{c}	38^{e}	25.45^{a}	3.53	3.66^{a}
	رازیانه ۲۵۰ Fennel 250 µl/kg	30.82^{a}	5.88^{ab}	8.05^{e}	94.11^{ab}	66	28^{h}	17.52^{e}	3.55	3.48^{ab}
	زنیان ۱۲۵ Carum copticum 125 µl/kg	30.33^{ab}	5.66^{b}	8.57^{b}	94.33^{a}	62^{d}	42^{c}	12.54^{h}	3.53	3.45^{b}
	زنیان ۲۵۰ Carum copticum 250 µl/kg	30.24^{ab}	5.61^{b}	8.40^{c}	94.38^{a}	68^{bc}	50^{a}	15.8^{f}	3.56	3.15^{b}
	SEM	0.306	0.170	0	0.170	0.882	0	0	0.016	0.167
	p-value	0.263	0.134	<0.0001	0.134	<0.0001	<0.0001	<0.0001	0.802	0.094
	شاهد Control	30.01^{bc}	5.64^{b}	8.40^{b}	94.35^{a}	61.33^{c}	44^{b}	12.52^{g}	3.56	2.85
	افزودنی باکتریایی Bacterial inoculant	29.57^{c}	5.57^{b}	^{c}۸8.22	94.42^{a}	62^{c}	36^{d}	21.28^{a}	3.57	2.70
	رزماری ۱۲۵ Rosemary 125 µl/kg	29.92^{ab}	5.88^{b}	8.22^{c}	94.11^{a}	68^{ab}	46^{a}	14.65^{f}	3.58	2.76
	رزماری ۲۵۰ Rosemary 250 µl/kg	29.94^{ab}	6.60^{ab}	8.57^{a}	93.39^{b}	62^{c}	34^{e}	21.02^{b}	3.58	2.73

ادامه جدول ۱

Continuation of table 1

21	رازیانه ۱۲۵ Fennel 125 µl/kg	30.05^{ab}	6.15^{ab}	8.57^{a}	93.84^{ab}	73^{a}	34^{e}	20.43^{c}	3.57	2.57
	رازیانه ۲۵۰ Fennel 250 µl/kg	30.45^{ab}	5.88^{b}	8.22^{c}	94.11^{a}	63.33^{bc}	40^{c}	14.85^{e}	3.57	2.40
	زنیان ۱۲۵ Carum copticum 125 µl/kg	30.34^{ab}	6.61^{ab}	8.22^{c}	93.38^{b}	60.26^{c}	32^{f}	10.01^{h}	3.56	2.37
	زنیان ۲۵۰ Carum copticum 250 µl/kg	29.80^{bc}	5.76^{b}	8.57^{a}	94.23^{a}	62^{c}	46^{a}	16.27^{d}	3.58	2.81
	SEM	0.238	0.214	0	0.214	1.927	0	0	0.018	0.215
	p-value	0.280	0.016	<0.0001	0.016	0.004	<0.0001	<0.0001	0.981	0.774
	شاهد Control	29.54^{bc}	5.41	8.57^{b}	94.58	65^{a}	38^{d}	9.05^{g}	3.41^{b}	2.93
	افزودنی باکتریایی Bacterial inoculant	28.99^{c}	5.47	6.72^{g}	94.52	52^{d}	40^{c}	8.51^{h}	3.45^{ab}	3.04
	رزماری۱۲۵ Rosemary 125 µl/kg	29.82^{ab}	5.78	8.40^{c}	94.21	61^{b}	32^{f}	10.76^{d}	3.42^{ab}	2.68
	رزماری ۲۵۰ Rosemary 250 µl/kg	29.69^{ab}	5.95	8.22^{d}	94.04	63^{ab}	36^{e}	17.23^{b}	3.44^{ab}	2.68
45	رازیانه ۱۲۵ Fennel 125 µl/kg	29.79^{ab}	5.48	8.05^{e}	94.51	64^{ab}	44^{b}	18.01^{a}	^{ab}۳3.42	2.83
	رازیانه ۲۵۰ Fennel 250 µl/kg	29.93^{ab}	5.59	8.40^{c}	94.40	56^{c}	32^{f}	9.27^{f}	3.47^{a}	2.65
	زنیان ۱۲۵ Carum copticum 125 µl/kg	29.51^{bc}	5.61	7.52^{f}	94.38	65^{a}	32^{f}	9.91^{e}	3.43^{ab}	2.65
	زنیان ۲۵۰ Carum copticum 250 µl/kg	30.18^{a}	5.71	8.92^{a}	94.28	65^{a}	46^{a}	15.08^{c}	3.47^{ab}	2.73
	SEM	0.195	0.232	0	0.239	1.243	0	0	0.019	0.169
	p-value	0.025	0.767	<0.0001	0.767	<0.0001	<0.0001	<0.0001	0.383	0.540

[۱] میانگین‌های هر ردیف با حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند (P<0.05).

[1] Means within same row with different superscripts differ (P<0.05).
[2] Dry matter
[3] Crud protein
[4] Organic matter
[5] Neutral detergent fiber
[6] Acid detergent fiber
[7] Water soluble carbohydrates

تأثیر استفاده از افزودنی‌های باکتریایی و اسانس‌های گیاهان داروئی بر تولید گاز و فراسنجه‌های تخمینی سیلاژ ذرت در شرایط برون‌تنی

مقدار و نرخ تولید گاز و پارامترهای تخمینی سیلاژ ذرت در نتیجه استفاده از افزودنی باکتریایی و روغن‌های اسانسی در جدول ۲ نشان داده شده است. نتایج نشان داد بین تیمارها از نظر پتانسیل و حجم گاز تولیدی در زمان‌های مختلف اختلاف معنی‌داری وجود داشت (P<۰/۰۵). تلقیح باکتریایی سیلاژهای ذرت تأثیر معنی‌داری بر تولید گاز داشت و سیلاژهای تلقیح شده با افزودنی باکتریایی در مقایسه با تیمار شاهد (به جز روز ۳ پس از سیلو کردن) تولید گاز بالاتری داشتند. تیمار شاهد در مقایسه با تیمارهای دارای افزودنی در روز ۳ پس از سیلو کردن بالاترین میزان گاز تولیدی را به خود اختصاص داد. تیمارهای تلقیح شده با افزودنی باکتریایی به‌ترتیب بالاترین و پایین‌ترین پتانسیل تولید گاز را در سیلوهای روز ۳ و ۴۵ داشت. بین تیمارهای آزمایشی از نظر پارامترهای تخمینی اختلافات معنی‌داری وجود داشت (P<۰/۰۵). بیشترین قابلیت هضم ماده خشک در تمام دوره‌ها مربوط به تیمار شاهد در روز ۳ پس از سیلو کردن (۵۵/۹۶ درصد) و کمترین مقدار آن مربوط به تیمار دارای افزودنی باکتریایی در روز ۷ پس از سیلوکردن (۳۵/۰۷ درصد) بود. بیشترین و کمترین میزان اسیدهای چرب کوتاه زنجیر، ماده آلی قابل هضم در ماده خشک و قابلیت هضم ماده خشک در بین تیمارهای دارای اسانس، در تیمار رازیانه ۲۵۰ میکرولیتر به ترتیب در روز ۳ پس از سیلو کردن و روز ۷ پس از سیلو کردن مشاهد شد. از نظر روند تولید گاز در افزودنی باکتریایی و اسانس‌های روغنی (شکل ۱) در زمان‌های مختلف پس از انکوباسیون اختلاف معنی‌داری وجود داشت (P<۰/۰۵). روند تولید گاز در ۲۴ ساعت اول انکوباسیون برای همه‌ی تیمارها از سرعت بالاتری برخوردار بود که با نتایج بیات کوهسار و همکاران (۳) در توافق بود.

جدول ۲- تأثیر استفاده از افزودنی‌های باکتریایی و اسانس‌های گیاهی بر فراسنجه‌های تولید گاز سیلاژ ذرت[1]

Table 2- Effect of bacterial inoculant and essential oils additive on gas production parameters of corn silage[1]

روزهای سیلوکردن Days ensiling	تیمارها Treatments	(a+b)[2] (ml/gDM)	c[3] (ml/gDM)	SCFA[4] (mmol)	ME[5] (MJ/Kg)	OMD[6] (% DM)
3	شاهد Control	378/6±3.67	0.040±0.001	1.02[a]	13[a]	55.96[a]
	افزودنی باکتریایی Bacterial inoculant	367.7±4.97	0.035±0.001	0.95[b]	12.77[a]	53.14[b]
	رزماری۱۲۵ Rosemary 125 µl/kg	323.4±2.96	0.038±0.008	0.85[c]	11.98[b]	49.29[c]
	رزماری ۲۵۰ 250 Rosemary µl/kg	336.7±4.09	0.037±0.001	0.85[c]	12.10[b]	49.44[c]
	رازیانه ۱۲۵ Fennel 125 µl/kg	277±5.69	0.039±0.002	0.69[d]	11.53[dc]	43.07[d]
	رازیانه ۲۵۰ Fennel 250 µl/kg	325.6±3.92	0.040±0.001	0.86[c]	12.02[b]	49.59[c]
	زنیان ۱۲۵ Carum copticum 125 µl/kg	317.1±4.68	0.039±0.001	0.83[c]	11.84[bc]	48.40[c]

ادامه جدول ۲

Continuation of table 2

	زنیان ۲۵۰ Carum copticum 250 µl/kg	301±3.98	0.034±0.001	0.74[d]	11.32[d]	44.99[d]
	SEM	-	-	0.018	0.113	0.743
7	شاهد Control	241.2±20.39	0.021±0.003	0.49[e]	9.78[d]	34.92[e]
	افزودنی باکتریایی Bacterial inoculant	264.6±22.67	0.019±0.003	0.49[e]	9.90[dc]	35.07[e]
	رزماری۱۲۵ Rosemary 125 µl/kg	284.7±25.65	0.021±0.003	0.58[ab]	10.30[b]	38.32[ab]
	رزماری ۲۵۰ Rosemary 250 µl/kg	278.2±22.40	0.021±0.003	0.56[ab]	10.71[a]	37.74[ab]
	رازیانه ۱۲۵ Fennel 125 µl/kg	253.5±21.48	0.023±0.004	0.55[bc]	10.34[b]	37.29[bc]
	رازیانه ۲۵۰ Fennel 250 µl/kg	212.8±17.16	0.026±0.004	0.55[de]	9.99[c]	35.66[de]
	زنیان ۱۲۵ Carum copticum 125 µl/kg	244.1±20.51	0.023±0.004	0.53[dc]	10.43[b]	36.55[dc]
	زنیان ۲۵۰ Carum copticum 250 µl/kg	260.8±22.30	0.023±0.001	0.58[a]	10.62[a]	38.48[a]
	SEM	-	-	0.093	0.052	0.374
21	شاهد Control	225.4±3.17	0.034±0.001	0.58[e]	10.60[d]	38.33[e]
	افزودنی باکتریایی Bacterial inoculant	265.8±5.69	0.036±0.001	0.73[bc]	11.45[b]	44.55[bc]
	رزماری۱۲۵ Rosemary 125 µl/kg	274.9±5.19	0.037±0.001	0.77[ab]	11.70[b]	46.18[ab]
	رزماری ۲۵۰ Rosemary 250 µl/kg	270.3±3.11	0.042±0.001	0.81[a]	12.13[a]	47.66[a]
	رازیانه ۱۲۵ Fennel 125 µl/kg	253.7±3.90	0.042±0.001	0.73[bc]	11.65[b]	44.55[bc]

ادامه جدول ۲

Continuation of table 2

	رازیانه ۲۵۰ Fennel 250 µl/kg	255.9±4.83	0.039±0.001	0.73^{bc}	11.48^{b}	44.70^{bc}
	زنیان ۱۲۵ Carum copticum 125 µl/kg	232.3±3.24	0.046±0.001	0.65^{d}	10.98^{c}	41.44^{d}
	زنیان ۲۵۰ Carum copticum 250 µl/kg	253.9±4.94	0.037±0.001	0.71^{c}	11.52^{b}	43.66^{c}
	SEM	-	-	0.018	0.110	0.722
45	شاهد Control	257.8±3.55	0.033±0.001	0.62^{dc}	10.94^{b}	39.93^{dc}
	افزودنی باکتریایی Bacterial inoculant	248.6±5.50	0.042±0.002	0.67^{ab}	10.28^{d}	42.20^{ab}
	رزماری۱۲۵ 125 Rosemary µl/kg	258.6±3.05	0.039± 0.001	0.70^{a}	11.37^{a}	43.39^{a}
	رزماری ۲۵۰ Rosemary 250 µl/kg	254.7±4.97	0.037±0.001	0.64^{bc}	10.89^{bc}	40.93^{bc}
	رازیانه ۱۲۵ Fennel 125 µl/kg	261.5±3.03	0.038±0.001	0.69^{ab}	11.10^{ab}	42.92^{ab}
	رازیانه ۲۵۰ Fennel 250 µl/kg	241.9±3.48	0.047±0.001	0.69^{ab}	11.28^{a}	42.77^{ab}
	زنیان ۱۲۵ Carum copticum 125 µl/kg	256.4±4.49	0.038±0.001	0.66^{abc}	10.60^{dc}	41.64^{abc}
	زنیان ۲۵۰ Carum copticum 250 µl/kg	225.5±2.96	0.038±0.001	0.58^{d}	10.94^{b}	38.60^{d}
	SEM	-	-	0.017	0.106	0.697

[۱] میانگین‌های هر ردیف با حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند ($P<0.05$)

[1] Means within same row with different superscripts differ ($P<0.05$).

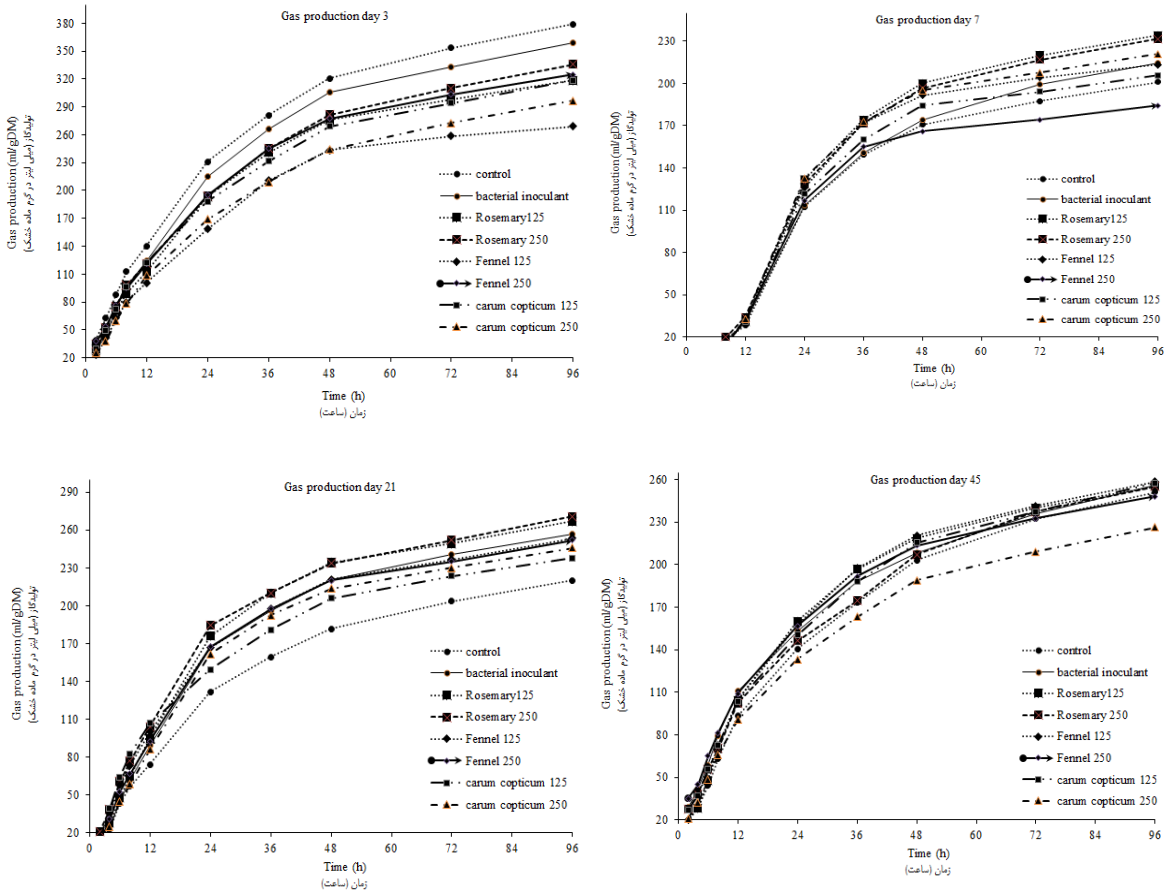
[2] Gas production potential

[3] Gas production rate

[4] Short chain fatty acid

[5] Metabolizable energy

[6] Organic matter digestibility



شکل ۱- منحنی تولید گاز در زمان‌های مختلف پس از سیلو کردن

Figure 1- Gas production curves at different times after ensiling

اندازه‌گیری گاز تولید شده در شرایط برون‌تنی اطلاعات مفیدی را درباره سرعت و میزان هضم خوراک فراهم می‌کند. به کار گیری این تکنیک به منظور تجزیه‌پذیری خوراک‌های الیافی به اثبات رسیده است (۲۴). بلومل و همکاران (۵) گزارش کردند که حجم گاز در بافر بیکربنات در شرایط برون‌تنی، بازتابی از تولید اسیدهای چرب فرار کوتاه زنجیر (SCFA) است که مطابق با آزمایش ماهری سیس و همکاران (۲۱) است. بنابراین، افزایش مقدار اسیدهای چرب کوتاه زنجیر، منجر به افزایش تولید گاز می‌شود که برآمدی از افزایش در قابلیت هضم و ارزش انرژی است (۲۱). حجم گاز فراسنجه خوبی برای تخمین قابلیت هضم، فرآورده‌های نهایی هضم و سنتز پروتئین میکروبی در شرایط برون‌تنی می‌باشد (۳۴). منک و استینگاس (۲۴) گزارش کردند که همبستگی قوی بین مقدار انرژی متابولیسمی اندازه گیری شده، میزان گاز تولید شده در شرایط برون‌تنی با زمان انکوباسیون ۴۸ ساعته و ترکیبات شیمیایی خوراک‌ها وجود دارد. تفاوت در مقدار فراسنجه‌های تولید گاز در بین انواع تیمارها به تفاوت در ترکیب شیمیایی آنها بر می‌گردد. به نظر می‌رسد که تأثیر استفاده از دو سطح ۱۲۵ و ۲۵۰ میکرولیتر بر فراسنجه‌های تولید گاز از روند خاصی تبعیت نمی‌کند. به طور کلی استفاده از افزودنی‌های مختلف در تهیه سیلاژ با اهداف دستکاری فرایند مطلوب تخمیر صورت می‌گیرد. تا به حال، مطالعات اندکی درخصوص استفاده از اسانس گیاهان دارویی به عنوان افزودنی در تهیه سیلاژ صورت گرفته است. هر چند در این مطالعه استفاده از اسانس‌ها در روز ۳ پس از سیلو کردن در مقایسه با تیمار شاهد تأثیر چندانی نداشت، اما در روزهای ۷ و ۲۱ کاملا تأثیر داشت که احتمالا ممکن است به خاطر زمان بر بودن تأثیرات اسانس‌ها بر فرآیندهای تخمیری باشد.

تأثیر افزودنی‌های باکتریایی و اسانس‌های رزماری، رازیانه و زنیان بر قابلیت هضم و فراسنجه‌های تخمیری شکمبه‌ای در شرایط برون‌تنی

تأثیر افزودن تلقیح باکتریایی و اسانس‌های گیاهی بر قابلیت

هضم ماده خشک، ماده آلی، فراسنجه‌های تخمیری و تولید توده میکروبی سیلاژ ذرت در شرایط آزمایشگاهی در جدول ۳ نشان داده شده است. در این مطالعه، بین تیمارهای تلقیح باکتریایی و اسانس رزماری، رازیانه و زنیان از نظر قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی در ۲۴ ساعت انکوباسیون در روز ۲۱ پس از سیلو کردن اختلاف معنی‌داری وجود داشت (P<۰/۰۵). تیمارهای سیلاژ روز ۴۵ در مقایسه با سیلاژ روز ۲۱ قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی پایین‌تری داشتند. تیمار دارای اسانس زنیان در سطح ۲۵۰ میکرولیتر (روز ۲۱ پس از سیلو کردن) و تیمار شاهد (روز ۴۵ پس از سیلو کردن) به ترتیب بالاترین و پایین‌ترین ماده آلی قابل هضم را داشتند. آدسوگان و همکاران (۱) گزارش کردند که تلقیح باکتریایی موجب افزایش در قابلیت هضم ماده خشک، ماده آلی، الیاف نامحلول در شوینده خنثی و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی شد. سلام و همکاران (۳۰) کاهش قابلیت هضم برون‌تنی ماده خشک و ماده آلی در اثر استفاده از برخی روغن‌های اسانسی گزارش کردند.

بین تیمارهای تلقیح باکتریایی و روغن‌های اسانسی از لحاظ میزان pH در روز ۲۱ پس از سیلو کردن اختلافات معنی‌دار بود (P<۰/۰۵)، اما در روز ۴۵ پس از سیلو کردن هیچ گونه اختلاف معنی‌داری در بین تیمارها مشاهده نشد.

نتایج آزمایش نشان داد که pH محیط کشت (به جز تیمار زنیان ۱۲۵ میکرولیتر در روز ۴۵ پس از سیلو کردن) با افزایش زمان انکوباسیون در مقایسه با تیمار شاهد دارای روند کاهشی بود. تلقیح باکتریایی در مقایسه با اسانس‌های روغنی در روز ۲۱ پس از سیلو کردن به طور معنی‌داری pH بالاتری داشت (P<۰/۰۵). افزایش pH احتمالاً به دلیل کاهش غلظت کل اسیدهای چرب فرار است که در دیگر مطالعات نیز نشان داده شده است.

در بین تیمارهای دارای اسانس بالاترین میزان pH مربوط به تیمار زنیان ۱۲۵ میکرولیتر در روز ۴۵ پس از سیلو کردن بود. به طورکلی افزودنی باکتریایی و اسانس‌های گیاهی باعث کاهش pH محیط کشت در مقایسه با تیمار شاهد شدند.

جدول ۳- تأثیر افزودنی باکتریایی و اسانس‌های روغنی بر قابلیت هضم، فراسنجه‌های تخمیری و تولید توده میکروبی سیلاژ ذرت پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون[1]

Table 3- Effect of bacterial and essential oils additives on digestibility, fermentation characteristics and microbial biomass production of corn silage After 24 hours of incubation[1]

روزهای سیلوکردن Days ensiling	تیمارها Treatments	IVDMD[2] (%DM)	IVOMD[3] (%DM)	pH (24 h)	NH3-N (mg/dl)	Gas yield (ml/24h)	PF[4] (mg/ml)	MCP[5] (mg)	EMCP[6] (mg)
21	شاهد Control	68^{a}	71^{ab}	6.66^{a}	2.59^{d}	164.90^{d}	5.99^{a}	214.20^{ab}	0.63^{a}
	افزودنی باکتریایی Bacterial inoculant	66^{ab}	71^{ab}	6.62^{a}	2.76^{bc}	205.90^{ab}	4.94^{dc}	188.10^{bc}	0.55^{cd}
	رزماری ۱۲۵ Rosemary 125 µl/kg	67^{ab}	70^{ab}	6.44^{b}	2.76^{b}	193.06^{bc}	5.13^{c}	190.90^{abc}	0.57^{bcd}
	رزماری ۲۵۰ Rosemary 250 µl/kg	65^{ab}	69^{b}	6.42^{b}	2.78^{b}	212.31^{a}	4.66^{dc}	171.17^{c}	0.52^{de}
	رازیانه ۱۲۵ Fennel 125 µl/kg	64^{b}	67^{b}	6.37^{b}	3.03^{a}	220.83^{a}	4.47^{d}	160.43^{c}	0.50^{e}
	رازیانه ۲۵۰ Fennel 250 µl/kg	64^{b}	68^{b}	6.41^{b}	2.63^{dc}	206.24^{ab}	4.92^{dc}	179.12^{bc}	0.55^{cd}
	زنیان ۱۲۵ Carum copticum 125 µl/kg	68^{ab}	72^{ab}	6.42^{b}	2.66^{bcd}	189.04^{c}	5.25^{bc}	195.77^{abc}	0.58^{bc}
	زنیان ۲۵۰ Carum copticum 250 µl/kg	67^{ab}	78^{a}	6.42^{b}	2.79^{b}	188.13^{c}	5.81^{ab}	228.53^{a}	0.61^{ab}
	SEM	0.015	0.026	0.029	0.042	5.244	0.220	12.853	0.014

ادامه جدول ۳

Continuation of table 3

45	شاهد Control	48	51	6.52	2.96[a]	202.89[bcd]	5.01[ab]	136.28[ab]	0.55[ab]
	افزودنی باکتریایی Bacterial inoculant	50	53	6.49	2.92[a]	232.33[abc]	4.32[bc]	123.95[ab]	0.48[bcd]
	رزماری ۱۲۵ Rosemary 125 µl/kg	55	56	6.52	2.14[c]	239.40[ab]	4.07[c]	122.97[ab]	0.45[dc]
	رزماری ۲۵۰ Rosemary 250 µl/kg	51	54	6.50	2.38[bc]	265.08[a]	3.82[c]	109.17[b]	0.42[d]
	رازیانه ۱۲۵ Fennel 125 µl/kg	48	52	6.49	2.47[bc]	256.64[a]	3.94[c]	108.80[b]	0.44[d]
	رازیانه ۲۵۰ Fennel 250 µl/kg	54	56	6.51	2.28[bc]	193.53[dc]	5.09[ab]	150.63[a]	0.56[a]
	زنیان ۱۲۵ Carum copticum 125 µl/kg	52	55	6.54	2.29[bc]	186.19[d]	5.50[a]	157.08[a]	0.59[a]
	زنیان ۲۵۰ Carum copticum 250 µl/kg	54	55	6.49	2.53[b]	208.89[bcd]	4.59[bc]	136.40[ab]	0.52[abc]
	SEM	0.027	0.025	0.023	0.126	14.278	0.258	12.799	0.025

[۱] میانگین‌های هر ردیف با حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند (P<0.05)

[1] Means within same row with different superscripts differ (P<0.05).
[2] *In vitro* Dry matter digestibility
[3] *In vitro* Organic matter digestibility
[4] partitioning factor
[5] Micobial crude protein
[6] efficiency micobial crude protein.

بین تیمارها از نظر فراسنجه‌های تخمینی قابلیت هضم (عامل تفکیک، توده میکروبی تولید شده و بازده تولید میکروبی) اختلافات معنی‌داری وجود داشت (P<۰/۰۵). تیمار رازیانه ۱۲۵ میکرولیتر (روز ۲۱ پس از سیلو کردن) دارای پایین‌ترین و تیمار زنیان ۱۲۵ میکرولیتر (روز ۴۵ پس از سیلو کردن) دارای بالاترین میزان عامل تفکیک، توده میکروبی تولید شده و بازده تولید میکروبی بودند. هر اندازه مقدار ضریب تفکیک بالا باشد نشان دهنده این است که ماده آلی تجزیه شده بیشتر به سمت تولید توده میکروبی رفته تا تولید اسیدهای چرب فرار (۵). بالا بودن ضریب تفکیک و کم بودن توده میکروبی احتمالاً به این دلیل است که سوبسترای تخمیری تا حدی حل شده است، بدون اینکه مورد استفاده میکروارگانیسم‌ها قرار گرفته و تبدیل به اسید چرب بشود.

گاز تولید شده از تخمیر بی‌هوازی یک محصول فرعی فرآیند تخمیر بوده و در واقع اتلاف انرژی است و باعث کاهش بازده تخمیر می‌شود. در واقع با کاهش تولید گاز متان بازده تخمیر خوراک نیز افزایش پیدا می‌کند. عامل تفکیک که به‌عنوان شاخصی از راندمان ساخت توده میکروبی در شرایط برون‌تنی می‌باشد (۵)، به صورت نسبتی از سوبسترای تجزیه شده به صورت حقیقی بر حسب میلی‌گرم به حجم گاز تولید شده در طول مدت انکوباسیون (۲۴ یا ۴۸ ساعت) تعریف می‌شود (۲۶). خوراک‌های با عامل تفکیک بالا به این معنی است که نسبت بیشتری از ماده تجزیه شده به داخل توده میکروبی وارد شده است. برای خوراک‌های فاقد تانن یا متعارف دامنه عامل تفکیک بین ۲/۷۴ تا ۴/۶۵ میلی‌گرم در هر میلی‌لیتر گزارش شده است (۵). گازها، اسیدهای چرب فرار و توده میکروبی محصولات

نهایی هضم شکمبه‌ای هستند. هر محصول نهایی که در پایان تخمیر اندازه‌گیری شده مستقیما به توده مواد هضم شده بستگی دارد (۲۳). تولید گاز با تولید خالص اسیدهای چرب فرار (۲۵) و سنتز توده میکروبی (۳۷) رابطه خطی دارد. هر چند حجم خالص گاز تولید شده به ازای هر واحد سوبسترا هضم شده نشان‌دهنده متابولیسم میکروبی است، اما نمی‌توان به تولید تجمعی‌گاز به‌عنوان یک شاخص برای پتانسیل رشد میکروبی یک خوراک اتکاء کرد. با توجه به اینکه بین میزان تولید گاز و تولید توده میکروبی همبستگی منفی وجود دارد (۵) که در این مطالعه این رابطه برقرار بود. در روز ۲۱ پس از سیلو کردن میزان تولید گاز تیمارهای تلقیح باکتریایی و اسانس‌های گیاهی نسبت به تیمار شاهد افزایش یافت اما توده میکروبی تولید شده کاهش یافت. این پدیده می‌تواند به این دلیل باشد که ماده آلی تجزیه شده به جای اینکه بیشتر به سمت تولید توده میکروبی پیش رود باعث تولید اسید چرب و گاز بیشتر می‌شود.

نتیجه گیری کلی

به طور کلی از دلایلی که می‌توان برای عدم تأثیر تلقیح باکتریایی و روغن‌های اسانسی رزماری، رازیانه و زنیان بر سیلاژ ذرت ذکر کرد این است که در مرحله برداشت و خرد کردن ذرت نهایت دقت به عمل آمده بلافاصله پس از آن محصول سیلو گردید. همچنین فشرده سازی در حین عملیات سیلو کردن به منظور خروج هوای محبوس در سیلاژ با نهایت دقت انجام شد. شاید عدم رعایت این موارد بتواند به‌عنوان جایگاهی مناسب برای رشد قارچ و تأثیر تلقیح باکتریایی و روغن‌های اسانسی محسوب شود.

منابع

1- Adsogan, D. J., B. N. Ziogas, and M. G. Polissiou. 2000. GC-MS analysis of essential oils from Greek aromatic plants and their fungitoxicity on *Penicillum digitatum*. Journal of Agriculture Food Chemistry, 48: 2576–2581.
2- AOAC .2003. Official Methods of Analysis. 15th edn. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC. USA.
3- Bayatkouhsar, J., R. Valizade., A. A. Naseriyan, and A. M. Tahmasebi., and R. Safari. 2009. Determine the nutritional value of citrus pulp using gas production. Third Congress of Animal Science, Ferdowsi University of Mashhad. (In Persian).
4- Benchhaar, C., H. V. Petie, R. Berthiaume, D. R. Ouellet, J. Chiquette, and P. Y. Chouinard. 2007. Effects of essential oils on digestion, ruminal fermentation, rumen microbial populations, milk production, and milk composition in dairy cows fed alfalfa silage on corn silage. Journal of Dairy Science, 90: 886-897.
5- Blummel, M., H. P. S. Makkar, and K. Becker. 1997. *In vitro* gas production: a technique revisited. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 77: 34-24.
6- Bolsen, K. K., D. R. Bonilla., G. L. Huck., M. A. Young, and R. A. Hart-Thakur. 1996. Effect of a propionic acid bacterial inoculant on fermentation and aerobic stability of whole-plant corn silage. Journal of Animal Science, 74 (1): 78-81.
7- Broderick, G.A., J.H. Kung. 1980. Automated simultaneous determination of ammonia and total amino acids in ruminal fluid and *in vitro* media. Journal of Animal Science, 63:64–75.
8- Burt, S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods– a review. Internatinal Journal of Food Microbiology, 94:223–253.
9- Calsamiglia, S., L. Castillejos, and M. Busquet. 2006. Alternatives to antimicrobial growth promoters in cattle. Pages 129–167 in Recent Advances in Animal Nutrition. P. C. Garnsworthy, and Journal of Wiseman, ed. Nottingham University Press, Nottingham, UK.
10- Chao, S. C. and D. G. Young. 2000. Screening for inhibitory activity of essential oils on selected bacteria, fungi and viruses. Journal of Essential Oil Research, 12: 639–649.
11- Chaves, A. V., J. Baah., Y. Wang., T. A. McAllistera, and C. Benchaar. 2012. Effects of cinnamon leaf, oregano and sweet orange essential oils on fermentation and aerobic stability of barley silage. Journal of Science Food Agriculther, 92: 906–915.
12- Deans, S. G. and G. Ritchie. 1987. Antibacterial properties of plant essential oils. Internatinal Journal of Food Microbioligy, 5:165-180.
13- Getachew, G., E. J. Depiters, and P. H. Robinson. 2002. In vitro gas production provides effective method for assessing ruminant feeds. California Agriculther, 58: 54-58.
14- Guenther, E. 1948. The essential Oils. D. Van Nostrand, New York.
15- Hedge, J. E., B. T. Hofreiter. 1962. Carbohydrate Chemistry 17. R. L. Whistle and J. N. Be Miller, Ed. Academic

Press, New York.
16- Kalemba, D., A. Kunicka. 2003. Antibacterial and Antifungal Properties of Essential Oils. Current Medicinal Chemistry, 10: 813-829.
17- Kung, J. L. and R. E. Muck. 1997. Animal response to silage additives. Pages 200–210 in Proceedings of the Silage: Field to Feedbunk, North American Conference, Hershey, PA USA.
18- Kung, J. L., M. R. Stokes, and C. J. Lin. 2004. Silage additives. Pages 305–360 in Silage Science and Technology (Agronomy Series No. 42). D. R. Buxton, R. E. Muck, and H. J. Harrison, ed. American Society of Agronomy, Madison, WI.
19- Kung, J. L., P. Williams., R. J. Schmidt, and W. Hu. 2008. A blend of essential plant oils used as an additive to alter silage fermentation or used as a feed additive for lactating dairy cows. Journal of Dairy Science, 91: 4793–4800.
20- Kunkle, W. E., C. G. Chambliss., A. T. Adesogan, and M. B. Adjei. 2006. Silage harvesting, Storing and Feeding. University of Florida Online. Available: http://edis. Ifas.ufl.edu./publication.html.
21- Maherri-Ciss, N. 2008. Effect of Thyme essential oils (Thymus hyemalis and Thymus zygis) and Monensin on in vitro ruminal degradation and volatile fatty acid production. Journal of Agriculther and Food Chemistery, 54: 6598-6602.
22- Makkar, H. P. S. 2005. *In vitro* gas methods for evaluation of feeds containing phytochemicals. Animal Feed Science and Techmology, 123: 291-302.
23- Menke, K. H., L. Raab., A. Solewski., H. H. Steingass., D. Fritz, and W. Schneider. 1979. The estimation of the digestibility and metabolisable energy content of ruminant feeding stuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor *in vitro*. Journal of Agriculture science, 93: 217-222.
24- Menke, K. H. L. and H. H. Steingass. 1988. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. Journal of Animal Research and Development, 28: 7–55.
25- O'Hara, M. and K. Ohki. 1973. Studies of the mode of gas production in an artificial rumen and its application to the evaluation of feedstuffs. III. The mode of volatile fatty acid production, and its relation to the gas production rate. Japanese Journal of Zootechnology and Science, 44: 432-439.
26- Olivera, M. P .1998. Use of *in vitro* gas production technique to assess the contribution of both soluble and insoluble fraction on the nutritive value of forage. MSc Thesis. University of Aberdeen, Scotland.
27- Ørskov, E. R, and I. McDonald. 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. Journal of Agriculture Science, 92: 499-503.
28- Rew, R. H. 1988. Stack Ensilage, Walter Scott, London.
29- Rowghani, E. and M. J. Zamiri. 2009. 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 Animal Science Research, 10: 2-27. (In Persian).
30- Sallam, S. M. A., S. M. A. Abdelgaleil., I. C. S. Bueno., M. E. A. Nassera., R. C. Araujo, and A. L. Abdalla. 2011. Effect of some essential oils on in vitro methane emission. Archives of Animal Nutrition, 65: 203–214.
31- SAS Institute. 2000. SAS User's Guide: Statistics, Version 9.1 Edition. Cary, NC, USA.
32- Sivropoulou, A., E. Papanikolaou., C. Nikolaou., S. Kokkini., T. Lanaras, and M. Arsenakis. 1996. Antimicrobial and cytotoxic activities of *Origanum essential* oils. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 44: 1202–1205.
33- Soltani Poor, M.A., M.B. Rezaee, and A. Moradshahi. 2004. Study on antimicrobial effects of essential oil of zhumeria majdae Rech. F & Wendelbo. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 20: 277-289. (In Persian).
34- Sommart, K., D. S. Parker., P. Rowlinson, and M. Wanapat. 2000. Fermentation characteristics and microbial protein synthesis in an *in vitro* system using cassava, rice straw and dried ruzi grass as substrates. Asian- Aust. Journal of Animal Science, 13: 1084-1093.
35- Taylor, C. C., N. J. Ranjit., J. A. Mills., J. M. Neylon, and J. L. Kung. 2002. The effect of treating whole-plant barley with *Lactobacillus buchneri* 40788 on silage fermentation, aerobic stability, and nutritive value for dairy cows. Journal of Dairy Science, 85: 1793–1800.
36- Theodorou, M. K., B. A. Williams. M .S. Dhanoa. A. B. McAllan, and J. France. 1994. A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. Animal Feed Scince and Technology, 48: 185–197.
37- Van Soest, P. J. and J. B. Robertson. 1979. Systems of analyses for evaluation of fibrous feed. Pages 49–60 in Proceedings of the International Workshop on Standardization of Analytical Methodology for Feeds W. J. Pigden., C. C. Baich and M. Graham, Eds. International Development Research Center, Ottawa, Canada.
38- Weinberg, Z. G., G. Szakacs., G. Ashbell, and Y. Hen. 2001. The effect of lactobacillus buchneri and lactobacillus

plantarum, applied at ensiling on the ensiling fermentation and aerobic stability of wheat and sorghum silage. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology, 23: 218–222.

39- Wheeler, J. L. and C. Mulcahy. 1989. Consequences for animal production of cyanogenesis in sorghum and hay. Tropical Grasslands, 23: 193-202.

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 8, No. 4, Winter 2017, p. 553-568

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد ۸، شماره ۴، زمستان ۱۳۹۵، ص. ۵۶۸-۵۵۳

Effect of Bacterial Inoculation and Essential Oils of Rosemary, Fennel and Carum Copticum as Additive on Fermentation Process, Microbial Population and Nutritional Value of Corn Silage

F. Maghsoudloo[1]- J. Bayatkouhsar[2]- F. Ghanbari[2]- F. Taliea[3]

Received: 10-12-2015
Accepted: 09-07-2016

Introduction In recent years the use of herbal products to prevent disease-causing agents including viruses, bacteria, fungi Pistaciavera are widely considered. They have a wide range of antimicrobial activity and a willingness to use them escalated. The aim of this study was to evaluate the effect of bacterial inoculation and essential oils of rosemary, fennel and carum copticum on chemical composition, gas production parameters and fermentation characteristics of corn silage *in vitro*.

Materials and Methods Whole corn plants were harvested at the medium dough stage of maturity (30% DM) and chopped with a conventional forage harvester under farm conditions to 3-5 cm of lengths. Representative forage samples (3 kg) of inoculated and untreated corn silage were packed manually, in triplicate, into plastic bags. Bacterial inoculants and essential oil diluted in deionized water and applied with a hand held sprayer while forage samples were stirred manually. A similar quantity of deionized water was sprayed on the control forage. The filled silos were stored at ambient temperature and allowed to ensile for 3, 7, 21 and 45 days. After designated ensiling times, silos were opened and the ensiled forage was mixed thoroughly and then were dried at a 60°C in oven for 48 h and then ground to pass through a 2 mm screen for later analysis.

Results and Discussion The chemical composition of samples was affected by different treatments ($P<0.05$). Bacterial inoculation and essential oil had no effect (except for the forty fifth day) on pH. On days 3 and 7, Corn silages treated with bacterial inoculation had higher Dry matter (DM) compared with control. Water soluble carbohydrates (WSC) concentration was different among treatments ($P<0.05$). The highest and lowest amount was observed in fennel (125 µl/Kg, on day 3) and bacterial inoculation (on day 45) respectively. Bacterial inoculation and essential oils of Rosemary, fennel and carum copticum had significant effects on gas production rate and potential ($P<0.05$). Among the treatments, control (on 3 days after ensiling) and fennel (250 µl/Kg, on 7 days after ensiling) had the highest and lowest gas production potential respectively. *In vitro* digestibility of DM and organic matter (OM) was different among the treatments ($P<0.05$). Microbial mass production showed significant difference among treatments ($P<0.05$). Silages treated with carum copticum (125µl/Kg) and fennel (125 µl/Kg) on day 21 had the highest and lowest microbial mass production respectively.

Conclusion Overly, the results showed that using essential oils compared with control, had no significant effect on nutritional value of corn silage.

Keywords: Chemical composition, Bacterial inoculation, Gas production, Essential oils, *in vitro* digestibility.

1- Former MSc. Student of Animal Science Department, Fculty of Agriculture Science and Natural Resources, Ganbad Kavous Universty, Iran,
2- Assistant Professor of Animal Science Department, Faculty of Agriculture Science and Natural Resources, Gonbad Kavous University, Iran,
3- Assistant Professor of Botany Department, Faculty of Agriculture Science and Natural Resources, Gonbad Kavous University, Iran.
(*- Corresponding Author Email: bayat@yahoo.com)