

## اثر افزودنی باکتریایی و مواد جاذب رطوبت بر قابلیت تخمیر و ترکیب مواد مغذی سیلاژ تفال چغندر قند با استفاده از سیلوهای آزمایشگاهی

سعید صیدالی دولت‌آباد<sup>1</sup> - محمد خورش<sup>2\*</sup> - غلامرضا قربانی<sup>3</sup> - حمید محمدزاده<sup>4</sup>

تاریخ دریافت: 1393/04/03

تاریخ پذیرش: 1394/05/12

### چکیده

هدف از این مطالعه بررسی نقش افزودنی میکروبی تولید کننده اسید لاکتیک و همچنین جاذب‌های مختلف در کاهش پس‌آب و بهبود ویژگی‌های شیمیایی و تخمیری سیلاژ تفال چغندر قند تازه بود. در آزمایش اول تفال چغندر بصورت خالص یا به صورت مخلوط شده با 5 درصد کاه یا 5 درصد پیت بمدت 90 روز سیلو شد. در آزمایش دوم تفال چغندر با افزودنی میکروبی، پیت و یا مخلوط آنها سیلو شد. غلظت ماده خشک و دیواره سلولی در سیلاژهایی که کاه یا پیت دریافت کرده بودند بیشتر از تیمار شاهد بوده و پس‌آب تولیدی کاهش پیدا کرد ( $P < 0/01$ ). افزودن جاذب‌ها موجب کاهش غلظت اسید لاکتیک ( $P < 0/01$ ) و افزایش pH ( $P < 0/05$ ) و نیتروژن آمونیاکی ( $P < 0/01$ ) در سیلاژ تفال چغندر قند تازه گردید. اضافه کردن کاه و افزودنی میکروبی باعث افزایش غلظت اسید استیک و اسید بوتیریک و کاهش لاکتات ( $P < 0/01$ ) و نسبت لاکتات به اسیدهای چرب فرار شد. در مقابل، افزودن پیت باعث کاهش غلظت اسید استیک، اسید پروپیونیک و لاکتات ( $P < 0/01$ ) و افزایش نسبت لاکتات به اسیدهای چرب فرار ( $P < 0/01$ ) گردید. افزودنی میکروبی موجب کاهش pH و افزایش غلظت نیتروژن آمونیاکی و نسبت نیتروژن آمونیاکی از کل نیتروژن سیلاژ شد ( $P < 0/01$ ). بدلیل تخمیر با تولید بیشتر لاکتات، غلظت پائین تر نیتروژن آمونیاکی و تاثیر منفی کمتر بر قابلیت هضم سیلاژ در تیمار پیت نسبت به کاه و افزودنی میکروبی، توصیه می‌شود که تفال چغندر قند تازه با 5 درصد پیت سیلو گردد.

واژه‌های کلیدی: افزودنی‌های سیلاژ، پتاسیم سوربات، پیت، رطوبت، کاه، لاکتوباسیلوس پلانتاروم، مواد جاذب.

### مقدمه

این روش بعلت ماده خشک بسیار پایین این محصول، مقدار زیادی پس‌آب غنی از مواد مغذی تولید می‌شود که باعث هدر رفت مواد مغذی و در نتیجه کاهش ارزش غذایی سیلاژ حاصله می‌شود (34). یکی از راهکارهای کاهش تولید پس‌آب در سیلو استفاده از مواد جاذب الرطوبت است که با جذب پس‌آب تولیدی، مواد مغذی را در داخل سیلو نگهداری می‌کنند.

پس از تولید شکر از نیشکر، بخشی از مواد باقیمانده را مخلوطی از الیاف گیاهی شامل باگاس تشکیل می‌دهد که خود شامل یک بخش خشبی تر (دارای سلولز بیشتر) بنام باگاس بوده و بخش دیگر آن (بخش درونی ساقه) از الیاف نرمتری بنام پیت تشکیل شده است. بدلیل قابلیت هضم پائین پیت، معمولاً آن را با بخار آب فرآوری می‌کنند (9، 10 و 22). اگرچه سالانه مقدار زیادی پیت نیشکر در دنیا تولید می‌شود، اما با توجه به نیتروژن پائین، لیگنین بالا و قابلیت هضم کم، کمتر بعنوان خوراک در تغذیه دامها توجه شده است (27). با این حال غلظت اجزای دیواره سلولی در پیت زیاد بوده و ظرفیت

تفال چغندر قند باقیمانده الیافی است که بعد از استخراج قند از چغندر قند به دست می‌آید و بیشتر به صورت خشک یا پلت شده در جیره دام‌های نشخوار کننده مصرف می‌شود (31). اما خشک کردن تفال به انرژی زیادی احتیاج داشته و بسیار هزینه بر است چراکه میزان رطوبت آن بالا و حدود 85 تا 90 درصد است (13 و 34). سیلو کردن تفال چغندر که در سال‌های اخیر مورد توجه قرار گرفته است، می‌تواند یکی از راه‌های نگهداری و ذخیره تفال چغندر مرطوب باشد (31). یکی از معایب سیلو کردن تفال چغندر مرطوب این است که در

1- دانش آموخته کارشناسی ارشد علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان،

2- دانشیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان،

3- استاد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان،

4- استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز،

\* نویسنده مسئول: (khorvash@cc.iut.ac.ir)

با 5 درصد پیت و بصورت مخلوط شده با افزودنی میکروبی +5 درصد پیت سیلو شد. در این آزمایش نیز هر تیمار آزمایشی در 3 تکرار در سیلوهای آزمایشگاهی با ظرفیت تقریبی 3/5 کیلوگرم تهیه و بمدت 90 روز سیلو شدند. افزودنی باکتریایی استفاده شده در این تحقیق با نام تجاری اکوسایل حاوی لاکتوباسیلوس پلانترام بود که با مقدار توصیه شده آب توسط کارخانه سازنده مخلوط شده (برای تامین 10<sup>5</sup> واحد تشکیل دهنده کلنی به ازای هر گرم علوفه تازه) و به صورت اسپری بر روی علوفه سیلویی اضافه شد. جهت از بین بردن اثر آب بر تیمار، همان مقدار آب به سیلاژهای شاهد اضافه گردید.

پس از پایان دوره سیلو کردن و بلافاصله پس از باز کردن، pH سیلاژها با pH متر (HI8314, Hanna Instruments, Romania) اندازه‌گیری شده و تا انجام آزمایشات بعدی در فریز 18- نگهداری شدند.

بخشی از نمونه‌های تهیه شده در هنگام باز کردن سیلوها برای تعیین درصد ماده خشک در دمای 55 درجه سانتیگراد به مدت 72 ساعت خشک شدند. نمونه‌های خشک شده سپس توسط آسیاب چکشی با توری 1 میلی‌متری آسیاب شدند. دیواره سلولی و دیواره سلولی بدون همی سلولز با روش ون سوست و همکاران (37) اندازه‌گیری شدند. پروتئین خام نیز با روش ذکر شده در AOAC سال 2002 و به وسیله میکروکلدال تعیین گردید. شاخص فلیگ که یک روش برای ارزیابی کیفیت سیلاژ از روی ماده خشک و pH آن است، بر اساس معادله 1 محاسبه شد که در آن نمره 81 تا 100 برابر با امتیاز خیلی خوب، نمره 61 تا 80 برابر با امتیاز خوب، نمره 41 تا 60 برابر با امتیاز قابل قبول، نمره 21 تا 40 برابر با امتیاز متوسط و نمره 0 تا 20 برابر با امتیاز بد است (14):

معادله (1)

$$\text{Fleig point} = 220 + (2 \times \% \text{ dry matter} - 15) - 40 \times \text{pH}$$

مقدار 20 گرم از نمونه‌های سیلاژ به همراه 180 میلی لیتر آب مقطر به مدت 30 ثانیه در مخلوط کن مخلوط گردید و عصاره حاصله برای تعیین اسیدهای چرب فرار و اسید لاکتیک بوسیله دستگاه کروماتوگرافی گازی به کار گرفته شد (29). برای اندازه‌گیری نیتروژن آمونیاکی تیمارها از روش فیلیا (17) استفاده شد. کربوهیدرات محلول در آب نیز به روش فنل اسید سولفوریک و با استفاده از روش اسکپترفتومتری اندازه‌گیری شدند (6).

برای اندازه‌گیری گوارش‌پذیری ظاهری از آنکوم و دستگاه DaisyII Incubator استفاده شد. بدین منظور 0/5 گرم از نمونه‌ها را درون کیسه‌های مخصوص دستگاه (F57) پر کرده و سپس درون شیشه‌های دستگاه قرار داده شد. در مرحله بعدی بافرهایی که بر اساس روش جورینگ و ون سوست (37) تهیه شده بود (شامل محلول‌های کاهنده، میکرومینرال و ماکرومینرال و محلول بافر شکمبه) به همراه مایع شکمبه صاف شده به شیشه‌های دستگاه اضافه

نگهداری آب بسیار خوبی نیز دارد بطوریکه بعنوان یک ماده جاذب رطوبت می‌تواند مطرح باشد (9 و 32). کاه نیز از جمله مواد جاذب الرطوبتی است که از دیرباز برای کاهش میزان پس‌آب تولیدی در سیلاژ ذرت استفاده می‌شده است.

تفاله چغندر تازه بدلیل میزان بالای قند، محیط کشت مناسبی برای باکتری‌های طبیعی موجود بر روی گیاه خصوصاً مخمرها، کپکها و باکتری‌هایی با منشا خاک است (16). لذا هنگام تخمیر تفاله چغندر مرطوب (15 تا 18 درصد ماده خشک)، احتمال تولید مقادیر زیادی از اسیدهای چرب فرار (خصوصاً استات و بوتیرات) و اتانول وجود دارد. این شرایط از لحاظ تولید سیلاژ مطلوب نخواهند بود چرا که هدف اصلی در سیلاژ تولید اسید لاکتیک است که در آن افت ماده خشک و انرژی خیلی کم بوده و همچنین میزان قدرت اسیدی بودن آن 10 مرتبه بیشتر از اسیدهای چرب فرار است. این امر باعث افت سریع pH و محافظت سیلاژ در مقابل میکروارگانیسمها خواهد شد (21). در سال‌های اخیر افزودن باکتری‌های مولد اسید لاکتیک به علوفه در زمان سیلو کردن به منظور تسهیل در کاهش pH طی مراحل اولیه تخمیر سیلاژ، حفظ کربوهیدرات‌های گیاه طی تخمیر و حفظ پروتئین گیاه از طریق کاهش پروتئولیز و دامیناسیون، و در نهایت اطمینان از تخمیر مطلوب در سیلاژ انجام می‌شود (21). معمولترین سویه از باکتری‌های مولد اسید لاکتیک، لاکتوباسیلوس پلانترام است که یک لاکتوباسیلوس با تخمیر ناهمگن اختیاری است (5 و 25). لذا هدف از پژوهش حاضر بررسی قدرت جاذب‌های مختلف در کاهش پس‌آب و بهبود ویژگی‌های شیمیایی و تخمیری سیلاژ تفاله چغندر قند مرطوب و همچنین بررسی نقش افزودنی میکروبی بر فراسنجه‌های تخمیری این سیلاژ است.

## مواد و روش‌ها

آزمایش اول بصورت طرح کاملاً تصادفی با 3 تیمار طراحی شد. تفاله چغندر بصورت خالص یا به صورت مخلوط شده با 5 درصد کاه یا 5 درصد پیت بمدت 90 روز هر کدام در 3 تکرار در سیلوهای آزمایشگاهی از جنس پی وی سی با ظرفیت تقریبی 3/5 کیلوگرم سیلو شدند. یک شیر در قسمت پایین این سیلوها به منظور خروج پساب تعبیه شده بود. مقدار پساب سیلوها در هفته اول به طور روزانه و در هفته‌های بعد به صورت هفته‌ای یکبار اندازه‌گیری شدند. با توجه به نتایج بدست آمده از آزمایش اول، آزمایش دوم بصورت آزمایش فاکتوریل 2×2 در قالب طرح کاملاً تصادفی با 4 تیمار طراحی شد. در این آزمایش تفاله چغندر بصورت شاهد، مخلوط شده با افزودنی میکروبی، مخلوط شده با پیت و یا مخلوط شده با افزودنی میکروبی و پیت سیلو شد. در تیمارهای 1 تا 4 تفاله چغندر به ترتیب بصورت شاهد، بصورت مخلوط شده با افزودنی میکروبی، بصورت مخلوط شده

شد. بعد از 48 ساعت انکوبه کردن نمونه‌ها در دستگاه در دمای 0/5 ± 39/5 درجه سانتیگراد، میزان گوارش‌پذیری ظاهری نمونه‌ها محاسبه شد. به منظور محاسبه قابلیت هضم واقعی ماده خشک در شرایط آزمایشگاهی، کیسه‌ها در محلول شوینده خنثی به مدت یک ساعت جوشانده شده و سپس به مدت حداقل 24 ساعت در آن 55 درجه سانتی‌گراد خشک و آنگاه وزن‌کشی شدند. سپس قابلیت هضم واقعی با استفاده از معادله 2 تعیین شد (18):

معادله (2)  $IVTDDM\% = 100 - (W - W1) \times 100/W2$  که در آن:  
 $W1 =$  وزن کیسه خالی،  
 $W2 =$  وزن نمونه کاملاً خشک،  
 $W3 =$  وزن کیسه و نمونه بعد از گذاشتن در انکوباتور و محلول شوینده خنثی (NDS) و خشک شدن در آن.

داده‌های بدست آمده با استفاده از رویه Mixed نرم افزار آماری SAS ورژن 9/1 آنالیز و در سطح 1 و 5 درصد مقایسه شدند.

## نتایج و بحث

سیلاژ تفاله چغندر قند یا سیلاژ تفاله چغندر قند مخلوط شده با کاه یا پیت تفاوتی در میزان خاکستر، کربوهیدرات محلول در آب و پروتئین خام با یکدیگر نداشتند. با این حال افزودن کاه و پیت (خصوصاً پیت) تمایل به کاهش میزان پروتئین خام سیلاژ حاصله داشت که این امر بدلیل پروتئین خام کمتر کاه و پیت نسبت به تفاله چغندر است. در آزمایش حاضر غلظت پروتئین خام پیت و کاه بترتیب 3/3 ± 0/8 و 3/5 ± 0/6 درصد از ماده خشک بود که بسیار پائین تر از تفاله چغندر است (26 و 34).

بیشترین میزان گوارش‌پذیری ظاهری و واقعی در تیمار شاهد و کمترین آن در سیلاژ حاوی کاه مشاهده شد (P<0/05). دلیل این مشاهدات احتمالاً غلظت بالاتر الیاف نامحلول در شوینده اسیدی و غلظت عددی پائین تر پروتئین خام در تیمارهای حاوی کاه و پیت و وجود همبستگی منفی بین الیاف نامحلول در شوینده اسیدی تیمارها و گوارش‌پذیری مربوط می‌شود (34).

افزودن جاذبها موجب کاهش غلظت اسید لاکتیک (P<0/01) در سیلاژها گردید (جدول 2). دلیل این امر به افزایش ماده خشک سیلاژ و اثر ممانعت‌کنندگی ماده خشک بالا بر باکتری‌های تولیدکننده اسید لاکتیک با تخمیر همگن بر میگردد (8، 23 و 24). گوردون و همکاران (19) نیز نتایج مشابهی در ارتباط با مقدار اسید لاکتیک و محدود شدن تخمیر در تیمارهای با ماده خشک بالا یافتند. موافق با این نتایج دنیز و همکاران (15) گزارش کردند که با افزایش مقدار ماده خشک تفاله چغندر نسبت به تیمار شاهد سطوح اسید لاکتیک، استیک و بوتیریک به طور معنی‌داری کاهش یافت. همچنین افزودن کاه یا پیت میزان pH را در سیلاژها افزایش داد (P<0/05) که دلیل آن کاهش لاکتات در این سیلاژها می‌باشد.

بخش عمده‌ای از ساکارز موجود در تفاله چغندر قند در یکی دو هفته اول به مونوساکاریدها تبدیل می‌شود که آنها نیز به نوبه خود به اسیدهای آلی از جمله اسید لاکتیک و اسید استیک تبدیل می‌شوند (20). لذا تفاله چغندر قند بدلیل قند بالا، ظرفیت بافری پائین و رطوبت زیاد، مستعد تخمیر توسط میکروارگانیسم‌های طبیعی غیر مفید خصوصاً مخمرها، کپک‌ها و باکتری‌های خاک می‌باشد (16). این امر موجب می‌شود که در هنگام سیلو کردن تفاله چغندر مرطوب، تولید اسیدهای چرب فرار (عمدتاً استات و بوتیرات) و اتانول زیاد بوده و همچنین میزان زیادی متانول تولید می‌شود (16). لذا در آزمایش حاضر غلظت اسیدهای چرب فرار بالا بود. با این حال افزودن کاه

ترکیب شیمیایی و گوارش‌پذیری سیلاژ تفاله چغندر قند بصورت خالص یا مخلوط شده با 5 درصد کاه یا پیت در جدول 1 نشان داده شده است. همانطور که انتظار می‌رفت غلظت ماده خشک در سیلاژهایی که جاذب دریافت کرده بودند بیشتر از تیمار شاهد بود (P<0/01). این امر به دلیل غلظت بالاتر ماده خشک در پیت و کاه نسبت به تفاله بر می‌گردد (26 و 34). بعلا افزایش ماده خشک سیلاژها به دلیل اضافه کردن کاه و پیت و همچنین بعلا قدرت آبیگری بالای کاه و پیت (8)، پس‌آب تولیدی بشدت کاهش پیدا کرد (P<0/01).

پیشنهاد شده است که برای تولید سیلاژ با کیفیت، ماده خشک توده سیلویی بایستی بین 25 تا 35 درصد باشد چرا که رطوبت بالاتر منجر به تولید پساب، هدرروی مواد مغذی و تخمیر اسید بوتیریکی در سیلاژ می‌شود (7 و 21). با توجه به اینکه در آزمایش حاضر متوسط میزان ماده خشک سیلاژها خیلی پایین و در حدود 13 درصد بود، لذا میزان زیادی پس‌آب تولید شد. اگرچه پس‌آب تولیدی در تیمار حاوی کاه کمتر از تیمار پیت بود، با این حال بین جاذبها در کاهش میزان پس‌آب تفاوتی وجود نداشت. تولید پس‌آب کمتر در سیلاژ تفاله چغندر دریافت‌کننده جاذب می‌تواند باعث حفظ مواد مغذی در داخل سیلاژ و کاهش آلودگی محیط زیست گردد (30).

در آزمایش حاضر غلظت الیاف نامحلول در شوینده خنثی در پیت و کاه بترتیب 55 ± 2/3 و 75 ± 1/9 درصد از ماده خشک بود. در نتیجه، غلظت دیواره سلولی و دیواره سلولی بدون همی سلولز در سیلاژهایی که جاذب دریافت کرده بودند بیشتر از تیمار شاهد بود

سیلاژ را افزایش دادند ( $P < 0/01$ ) که این امر احتمالاً به غلظت پائین تر اسید لاکتیک و میزان pH بالاتر در این سیلاژها و در نتیجه کاهش اثر ممانعت‌کنندگی اسیدیته پائین بر پروتئولیز برمی‌گردد. در بین دو جاذب استفاده شده، تیمار پیت نسبت به تیمار کاه دارای مقادیر کمتری نیتروژن آمونیاکی و نسبت پائین‌تری از نیتروژن آمونیاکی از کل نیتروژن سیلاژ بود. این نتایج احتمالاً به دلیل فعالیت پروتئولیتیکی میکروارگانیسم‌های مضر موجود بر سطح کاه (عمدتاً کلستری‌دیوم‌ها) است. همچنین مقدار عددی بیشتر ماده خشک در تیمار پیت نسبت به تیمار کاه و اثر مهارکنندگی ماده خشک بالا بر پروتئولیز، می‌تواند دلیل پائین تر بودن نیتروژن آمونیاکی در تیمار پیت نسبت به تیمار کاه باشد (1 و 23).

شاخص فلیگ اگرچه تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای دریافت‌کننده جاذب نداشت، با این حال از لحاظ عددی در تیمار حاوی کاه نسبت به تیمار پیت و شاهد کمتر بود که این امر نشان‌دهنده کیفیت پائین تر سیلاژ کاه نسبت به دو تیمار دیگر است. با این حال تمام سیلاژهای حاصل از آزمایش اول امتیاز قابل قبولی (بین 40 تا 60) در مقیاس فلیگ کسب کردند (14).

باعث افزایش غلظت اسید استیک و اسید بوتیریک ( $P < 0/01$ ) و افزودن پیت باعث کاهش غلظت اسید استیک ( $P < 0/01$ ) و اسید پروپیونیک ( $P < 0/05$ ) نسبت به تیمار فاقد جاذب گردیدند. افزودن پیت باعث افزایش نسبت لاکتات به اسیدهای چرب فرار ولی افزودن کاه بدلیل کاهش لاکتات و افزایش اسیدهای چرب فرار، باعث کاهش این نسبت شد ( $P < 0/05$ ). این امر نشان‌دهنده تخمیر همگن تر در سیلاژ حاوی پیت نسبت به تیمار شاهد و تخمیر ناهمگن تر در سیلاژ حاوی کاه نسبت به تیمار شاهد است. این یافته‌ها احتمالاً بدلیل جمعیت بالای میکروارگانیسم‌های بی‌هوازی غیر مفید طبیعی موجود بر روی کاه است که بجای تولید اسید لاکتیک، تمایل به تولید بیشتر اسیدهای چرب فرار دارند (21). اما پیت بدلیل تیمار حرارتی که دریافت کرده است، احتمالاً میزان پائین تری از این باکتری‌های غیر مفید و مضر را خواهد داشت که این امر شانس لاکتوباسیلوسها را در غالب شدن در سیلاژ و وقوع تخمیر همولاکتیک افزایش می‌دهد.

pH پائین از فعالیت پروتئازهای گیاهی و میکروبی ممانعت می‌کند و هر چه افت pH در سیلاژ سریعتر باشد این اثر ممانعت‌کنندگی شدیدتر خواهد بود (8 و 21). در آزمایش حاضر جاذب‌ها غلظت نیتروژن آمونیاکی و نسبت نیتروژن آمونیاکی از کل نیتروژن

جدول 1- اثر کاه یا پیت بر ترکیب شیمیایی (درصد از ماده خشک)، تولید پس‌آب و گوارش‌پذیری ماده خشک (درصد) سیلاژ تفاله چغندر<sup>1</sup>

Table 1- The effects of pith on chemical composition (% Dry matter), effluent production and digestibility (%) of sugar beet pulp silage<sup>1</sup>

صفات Parameters	تیمارهای آزمایشی <sup>2</sup> Treatments <sup>2</sup>			SEM	P-value
	SB	SBS	SBP		
ماده خشک Dry matter	10.71 <sup>b</sup>	13.65 <sup>a</sup>	14.19 <sup>a</sup>	0.367	0.0001
خاکستر Ash	12.41	11.17	10.83	1.213	0.3707
پروتئین خام Crude protein	10.60	9.65	9.81	0.410	0.0610
دیواره سلولی Neutral detergent Fiber	33.45 <sup>c</sup>	53.22 <sup>a</sup>	44.24 <sup>b</sup>	3.300	0.0010
دیواره سلولی بدون همی سلولز Acid detergent Fiber	23.61 <sup>b</sup>	34.37 <sup>a</sup>	30.79 <sup>a</sup>	2.340	0.0037
کربوهیدرات محلول در آب Water soluble carbohydrates	2.07	2.59	1.41	0.496	0.0702
گوارش‌پذیری ظاهری Apparent digestibility	76.29 <sup>a</sup>	58.95 <sup>c</sup>	66.24 <sup>b</sup>	3.351	0.0210
گوارش‌پذیری واقعی True digestibility	87.02 <sup>a</sup>	69.80 <sup>c</sup>	75.83 <sup>b</sup>	2.100	0.0164
پس‌آب (میلی لیتر به ازای کیلوگرم علوفه تر) Effluent (ml per kg fresh forage)	309.17 <sup>a</sup>	219.00 <sup>b</sup>	240.00 <sup>b</sup>	29.008	0.0098

<sup>1</sup> میانگین‌های هر ردیف با حروف غیر مشابه دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند ( $P < 0.05$ ).

<sup>2</sup> تیمارهای آزمایشی عبارتند از: SB= سیلاژ تفاله چغندر قند، SBS= سیلاژ تفاله چغندر قند بعلاوه 5 درصد کاه، SBP= سیلاژ تفاله چغندر قند بعلاوه 5 درصد پیت

<sup>1</sup> Means within same row with different superscripts differ ( $P < 0.05$ ).

<sup>2</sup> Treatments are: SB= Sugar beet pulp silage, SBS= Sugar beet pulp +5% straw silage, SBP= Sugar beet pulp +5% pith silage

**جدول 2-** اثر کاه یا پیت بر ویژگی‌های تخمیری (درصد از ماده خشک) سیلاژ تفاله چغندر قند<sup>1</sup>  
**Table 2-** The effects of pith on fermentation characteristics (% Dry matter) of sugar beet pulp silage<sup>1</sup>

صفات Parameters	تیمارهای آزمایشی <sup>2</sup> Treatments <sup>2</sup>			SEM	P-value
	SB	SBS	SBP		
اسید لاکتیک Lactic acid	18.71 <sup>a</sup>	14.20 <sup>b</sup>	14.89 <sup>b</sup>	0.538	0.0001
اسید استیک Acetic acid	6.33 <sup>b</sup>	7.19 <sup>a</sup>	3.39 <sup>c</sup>	0.378	0.0001
اسید پروپیونیک Propionic acid	0.503 <sup>a</sup>	0.385 <sup>ab</sup>	0.179 <sup>b</sup>	0.118	0.0399
اسید بوتیریک Butyric acid	1.219 <sup>b</sup>	2.321 <sup>a</sup>	0.926 <sup>b</sup>	0.304	0.0031
کل اسیدهای چرب فرار Total volatile fatty acids	8.055 <sup>b</sup>	9.894 <sup>a</sup>	4.498 <sup>c</sup>	0.321	0.0001
نیتروژن آمونیاکی Ammonia-N	0.136 <sup>c</sup>	0.243 <sup>a</sup>	0.182 <sup>b</sup>	0.021	0.0022
نسبت نیتروژن آمونیاکی از کل نیتروژن Ratio of ammonia-N to total N	8.02 <sup>c</sup>	15.79 <sup>a</sup>	11.63 <sup>b</sup>	1.671	0.0038
pH	4.25 <sup>a</sup>	4.44 <sup>b</sup>	4.40 <sup>b</sup>	0.0164	0.0206
نسبت لاکتات به استات Ratio of lactate to acetate	2.95 <sup>b</sup>	1.98 <sup>c</sup>	4.45 <sup>a</sup>	0.401	0.0008
نسبت لاکتات به استات و پروپیونات Ratio of lactate to acetate+propionate	2.74 <sup>b</sup>	1.88 <sup>b</sup>	4.26 <sup>a</sup>	0.490	0.0028
نسبت لاکتات به اسیدهای چرب فرار Ratio of lactate to volatile fatty acids	2.32 <sup>b</sup>	1.44 <sup>b</sup>	3.46 <sup>a</sup>	0.551	0.0117
شاخص فلیگ Fleig point	56.56	54.83	57.51	4.401	0.7611

<sup>1</sup> میانگین‌های هر ردیف با حروف غیر مشابه دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند ( $P < 0.05$ ).

<sup>2</sup> تیمارهای آزمایشی عبارتند از: SB= سیلاژ تفاله چغندر قند، SBS= سیلاژ تفاله چغندر قند بعلاوه 5 درصد کاه، SBP= سیلاژ تفاله چغندر قند بعلاوه 5 درصد پیت

<sup>1</sup> Means within same row with different superscripts differ ( $P < 0.05$ ).

<sup>2</sup> Treatments are: SB= Sugar beet pulp silage, SBS= Sugar beet pulp +5% straw silage, SBP= Sugar beet pulp +5% pith silage

پروتئین خام می‌گردد (28). چنین وضعیتی در سیلاژهای با ماده خشک بالا ایجاد نمی‌شود چرا که اگر مخمرها مهار شوند، بدلیل ماده خشک بالا و کربوهیدرات محلول پائین، فرصتی برای رشد کلسترییدیومها ایجاد نخواهد شد (8). با توجه به نقش پیت در افزایش ماده خشک سیلاژ و کاهش لاکتات، کمترین غلظت لاکتات در تیمار دریافت کننده هر دو افزودنی اندازه‌گیری شد ( $P < 0/01$ ).

از آنجا که هم افزودن پیت ( $P < 0/01$ ) و هم افزودنی باکتریایی ( $P < 0/05$ ) باعث کاهش پروتئین خام در سیلاژ تفاله چغندر قند شدند، لذا کمترین میزان پروتئین خام در سیلاژهای دریافت کننده هر دو افزودنی مشاهده شد. اما با توجه به نقش پیت در کاهش ازت آمونیاکی ( $P < 0/01$ ) و نقش افزودنی میکروبی در افزایش آن ( $P < 0/01$ )، بیشترین غلظت ازت آمونیاکی و بیشترین نسبت ازت آمونیاکی از کل پروتئین مربوط به تیماری بود که افزودنی میکروبی را بنتهایی دریافت کرده بود ( $P < 0/01$ ). کاهش فعالیت آنزیم‌های پروتئاز باکتریایی و گیاهی و در نتیجه غلظت نیتروژن آمونیاکی، میتواند پروتئین خام را بصورت پروتئین حقیقی با ارزش بیشتر برای دام

بر خلاف انتظار، نتایج آزمایش دوم نشان داد که افزودنی میکروبی حاوی لاکتوباسیلوس پلاتناروم موجب افزایش غلظت اسید استیک، اسید بوتیریک و ازت آمونیاکی و کاهش اسید لاکتیک ( $P < 0/05$ ) و پروتئین خام ( $P < 0/05$ ) در سیلاژ تفاله چغندر قند شد (جدول 3 و 4). این نتایج مخالف نتایج بدست آمده توسط آریول و آدسواگان (4)، کونتراس گوا و همکاران (11) و توماس و همکاران (36) است که گزارش کردند لاکتوباسیلوس پلاتناروم باعث افزایش لاکتات و کاهش استات و ازت آمونیاکی می‌گردد. دلیل این تفاوت در یافته‌های نتایج آزمایش حاضر با گزارشات مذکور احتمالاً به حضور پتاسیم سوربات به همراه لاکتوباسیلوس پلاتناروم در افزودنی میکروبی حاضر (اکوسایل) است که بعنوان یک عامل ضد مخمر شناخته شده است (2 و 35). بنظر می‌رسد که پتاسیم سوربات موجود در این محصول در مواد سیلویی با رطوبت بالا مفید نخواهد بود چرا که با سرکوب شدن مخمرها در محصولات پر رطوبت، فرصت رشد و فعالیت برای کلسترییدیومها را در فازهای اول تخمیر فراهم می‌کند که در نهایت باعث افزایش بوتیرات و ازت آمونیاکی و کاهش لاکتات و

نگهداری کند (1).

جدول 3- اثر افزودنی میکروبی یا پیت بر ترکیب شیمیایی (درصد از ماده خشک)، تولید پس آب و گوارش پذیری ماده خشک (درصد) سیلاژ تفاله چغندر<sup>1</sup>Table 3- The effects of pith or bacterial inoculant on chemical composition (% Dry matter), effluent production and digestibility (%) of sugar beet pulp silage<sup>1</sup>

صفات Parameters	تیمارهای آزمایشی <sup>2</sup> Treatments <sup>2</sup>				SEM	P-value	اثر ثابت افزودنی Main effect of inoculant	اثر ثابت پیت Main effect of pith	اثر متقابل افزودنی با پیت Interaction effect of inoculant*pith
	SB	SBI	SBP	SBIP					
ماده خشک Dry matter	10.71	11.30	14.19	16.67	0.582	0.0001	0.0018	0.0001	0.0226
خاکستر Ash	12.41	10.30	10.82	10.97	1.041	0.0851	0.0391	0.1468	0.3310
پروتئین خام Crude protein	10.60	10.30	9.81	9.37	0.255	0.0017	0.0351	0.0004	0.6483
دیواره سلولی Neutral detergent Fiber	33.45	33.81	42.24	42.85	2.441	0.0008	0.7258	0.0001	0.5504
دیواره سلولی بدون همی سلولز Acid detergent Fiber	23.61	25.78	30.79	33.29	1.767	0.0005	0.0512	0.0001	0.8733
کربوهیدرات محلول در آب Water soluble carbohydrates	2.07	2.49	1.41	2.47	0.377	0.0252	0.0093	0.1542	0.1814
گوارش پذیری ظاهری Apparent digestibility	76.29	77.68	67.24	54.64	3.071	0.0001	0.0133	0.0001	0.0043
گوارش پذیری واقعی True digestibility	87.02	86.28	75.83	69.21	2.153	0.0001	0.0181	0.0001	0.0456
پس آب (میلی لیتر به ازای کیلوگرم علوفه تر) Effluent (ml per kg fresh forage)	309.17	276.67	240.00	186.67	40.460	0.0297	0.1035	0.0093	0.6675

<sup>1</sup> میانگین‌های هر ردیف با حروف غیر مشابه دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند ( $P < 0.05$ ).<sup>2</sup> تیمارهای آزمایشی عبارتند از: SB= سیلاژ تفاله چغندر قند، SBI= سیلاژ تفاله چغندر قند بعلاوه افزودنی میکروبی، SBP= سیلاژ تفاله چغندر قند بعلاوه 5 درصد پیت، SBIP= سیلاژ تفاله چغندر قند بعلاوه 5 درصد پیت و افزودنی میکروبی<sup>1</sup> Means within same row with different superscripts differ ( $P < 0.05$ ).<sup>2</sup> Treatments are: SB= Sugar beet pulp silage, SBI= Sugar beet pulp + bacterial inoculant, SBP= Sugar beet pulp +5% pith silage, SBIP= Sugar beet pulp +5% pith + bacterial inoculant silage

در سیلاژ تفاله تلقیح شده با افزودنی میکروبی میزان گوارش پذیری ظاهری و واقعی کاهش پیدا کرد ( $P < 0/05$ ). دلیل این امر به افزایش سهم دیواره سلولی بدون همی سلولز در ترکیب دیواره سلولی این سیلاژها می‌باشد که بخاطر هیدرولیز همی سلولز تحت تاثیر حرارت، محیط اسیدی و آنزیم‌های میکروبی و آنزیم‌های گیاهی صورت می‌پذیرد (8، 12، 16 و 23). با توجه به اینکه پیت نیز باعث کاهش قابلیت هضم سیلاژ تفاله چغندر قند شد ( $P < 0/01$ )، لذا کمترین میزان قابلیت هضم در تیمار دریافت کننده هر دو افزودنی مشاهده گردید. بعلاوه افزودنی میکروبی موجب افزایش غلظت کربوهیدرات‌های محلول در آب در سیلاژ شد ( $P < 0/01$ ) که دلیل آن هیدرولیز اسیدی همی سلولز و پکتین می‌باشد (8، 12، و 16).

بدلیل افزایش فعالیت میکروب‌های غیر هوازی غیر مفید در تیمارهایی که افزودنی باکتریایی دریافت کرده بودند، میزان کل اسیدهای چرب فرار (VFA) تولیدی در این سیلاژها افزایش پیدا کرده و در نتیجه موجب کاهش pH در این سیلاژها شد ( $P < 0/01$ ). با این حال افزودن پیت بدلیل کاهش غلظت اسید لاکتیک و اسیدهای چرب فرار، منجر به افزایش pH شد ( $P < 0/05$ ). همچنین نسبت لاکتات به اسیدهای چرب فرار در تیمارهای دریافت کننده پیت افزایش یافته ( $P < 0/05$ ) و در تیمارهای دریافت کننده افزودنی کاهش پیدا کرد ( $P < 0/05$ ) بطوریکه تیماری که فقط حاوی افزودنی بود کمترین میزان این نسبت و در تیمار حاوی پیت بیشترین میزان این نسبت مشاهده شد ولی وقتی که از هر دو افزودنی بصورت همزمان استفاده شد، این نسبت در حد متوسط و نزدیک به گروه شاهد بود.

جدول 4- اثر افزودنی میکروبی یا پیت بر ویژگی‌های تخمیری (درصد از ماده خشک) سیلاژ تفاله چغندر قند<sup>1</sup>

Table 4- The effects of pith or bacterial inoculant on fermentation characteristics (% Dry matter) of sugar beet pulp silage<sup>1</sup>

صفات Parameters	تیمارهای آزمایشی <sup>2</sup> Treatments <sup>2</sup>				SEM	P-value	اثر ثابت	اثر ثابت	اثر متقابل افزودنی با پیت Interaction effect of inoculant*pith
	افزودنی	پیت	افزودنی	پیت					
	SB	SBI	SBP	SBIP			Main effect of inoculant	Main effect of pith	
اسید لاکتیک Lactic acid	18.71	17.28	14.89	12.97	0.781	0.0001	0.0059	0.0001	0.6036
اسید استیک Acetic acid	6.33	6.61	3.39	4.62	0.347	0.0001	0.0057	0.0001	0.0450
اسید پروپیونیک Propionic acid	0.503	0.528	0.179	0.052	0.163	0.0164	0.6021	0.0028	0.4431
اسید بوتیریک Butyric acid	1.219	2.927	0.926	1.317	0.461	0.0028	0.0043	0.0072	0.0384
کل اسیدهای چرب فرار Total volatile fatty acids	8.055	10.063	4.498	5.987	0.407	0.0001	0.0001	0.0001	0.6405
نیترژن آمونیاکی Ammonia-N	0.136	0.466	0.182	0.165	0.027	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001
نسبت نیترژن آمونیاکی از کل نیترژن Ratio of ammonia-N to total N	8.02	28.31	11.63	11.00	1.924	0.0001	0.0001	0.0003	0.0001
pH	4.25	3.94	4.40	4.04	0.084	0.0007	0.0001	0.0370	0.5766
نسبت لاکتات به استات Ratio of lactate to acetate	2.95	2.62	4.44	2.81	0.371	0.0011	0.0018	0.0044	0.0160
نسبت لاکتات به استات و پروپیونات Ratio of lactate to acetate+propionate	2.74	2.42	4.26	2.78	0.438	0.0036	0.0075	0.0058	0.0494
نسبت لاکتات به اسیدهای چرب فرار Ratio of lactate to volatile fatty acids	2.32	1.72	3.46	2.17	0.489	0.0130	0.0098	0.0229	0.2533
شاخص فلیگ Fleig point	56.56	69.87	57.51	76.87	3.826	0.0005	0.0001	0.1093	0.2078

<sup>1</sup> میانگین‌های هر ردیف با حروف غیر مشابه دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند (P<0.05).

<sup>2</sup> تیمارهای آزمایشی عبارتند از: SB= سیلاژ تفاله چغندر قند، SBI= سیلاژ تفاله چغندر قند بعلاوه افزودنی میکروبی، SBP= سیلاژ تفاله چغندر قند بعلاوه 5 درصد پیت، SBIP= سیلاژ تفاله چغندر قند بعلاوه 5 درصد پیت و افزودنی میکروبی

<sup>1</sup>Means within same row with different superscripts differ (P<0.05).

<sup>2</sup>Treatments are: SB= Sugar beet pulp silage, SBI= Sugar beet pulp + bacterial inoculant, SBP= Sugar beet pulp +5% pith silage, SBIP= Sugar beet pulp +5% pith + bacterial inoculant silage

### نتیجه گیری کلی

یافته‌های این آزمایش تاکید می‌کنند که گاه و پیت فرآوری شده با بخار هر دو تاثیر مثبتی در کاهش پس‌آب تولیدی سیلاژ تفاله چغندر دارند اما بدلیل تولید اسید لاکتیک بیشتر در تیمار پیت فرآوری شده با بخار، غلظت پائین‌تر نیترژن آمونیاکی و تاثیر منفی کمتر پیت بر قابلیت هضم سیلاژ تفاله چغندر قند نسبت به گاه، توصیه می‌شود از

افزودنی میکروبی بصورت معنی‌دار (P<0/01) و افزودن پیت بصورت عددی باعث بهبود شاخص فلیگ شدند. بصورتی که تیمار دریافت کننده هر دو افزودنی بیشترین نمره و امتیاز از شاخص فلیگ را دریافت کرد که دلیل آن ماده خشک بالا و pH پائین در این سیلاژ نسبت به بقیه سیلاژها می‌باشد.

پیت بجای کاه بعنوان جاذب در هنگام سیلو کردن تفال‌ه چغندر قند استفاده شود. همچنین نتایج تحقیق حاضر نشان می‌دهند که افزودنی میکروبی اکوسایل تاثیر مثبتی بر تخمیر تفال‌ه چغندر قند تازه ندارد.

## منابع

- 1- Albrecht, K., and R. Muck. 1991. Proteolysis in ensiled forage legumes that vary in tannin concentration. *Crop Science*, 31: 464-469.
- 2- Anonymous. 2011. Double action Ecosyl contains MTD/1 and potassium sorbate to treat clamped grass and cereal/legume silages at higher dry matters. [http://uk.ecosyl.com/products/double\\_action\\_ecobale.html](http://uk.ecosyl.com/products/double_action_ecobale.html).
- 3- AOAC. 2002. Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis. 17th ed. AOAC, Arlington, VA.
- 4- Arriol, K. G., S. C. Kim., and A. T. Adesogan. 2011. Effect of applying inoculants with heterolactic or homolactic and heterolactic bacteria on the fermentation and quality of corn silage. *Journal of Dairy Science*, 94 (3): 1511-1516.
- 5- Axelsson, L. 1998. Lactic acid bacteria: classification and physiology. In: Salminen. S.; Von Wright. A. eds. *Lactic acid bacteria: microbiology and functional aspects*. 2. ed. New York: Marcel Dekker. pp. 1-72.
- 6- Barker, B., and W. H. Summerson. 1941. The colorimetric determination of lactic acid in biological material. *Journal of Biological Chemistry*, 138: 535-554.
- 7- Bourriako, I. A., H. Shihab., V. Kuri., and J. K. Margerison. 2001. Influence of wilting time on silage compositional quality and microbiology of grass clover mixtures In the Proceeding of British Society of Animal Science 88:102-108.
- 8- Buxton, D. R., R. E. Muck., and J. H. Harrison. 2003. *Silage science and technology*. American Society of Agronomy, Inc. Crop Science Society of America, Inc, Soil Science Society of America, Inc Madison, Wisconsin, USA Agronomy.
- 9- Chaji, M., T. Mohammadabadi., and A. Aghaei. 2011. Fermenting cell walls of processed sugarcane pith by ruminal bacteria, protozoa and fungi. *International Journal of Agricultural Biology*, 13: 283-286.
- 10- Chaji, M., A. A. Naserian., and M. Boujarpour. 2013. The study of physical and chemical characteristics of steam treated sugarcane pith and their roles in ruminant's nutrition. *Iranian Journal of Animal Science Research*. 4(4): 398-309.
- 11- Contreras-Govea, F. E., R. E. Muck., G. A. Broderick., and P. J. Weimer. 2013. *Lactobacillus plantarum* effects on silage fermentation and in vitro microbial yield. *Animal Feed Science and Technology*, 179(1):61-68.
- 12- Courtin, M. G., and S. F. Spoelstra. 1989. Counteracting structure loss in pressed sugar beet pulp silage. *Animal Feed Science and Technology*, 24(1): 97-109.
- 13- Dalton, J. C., and R. Norell. 2006. Pressed sugar beet pulp for dairy cattle rations. *Extension dairy Specialists*, University of Idaho.
- 14- Denek, N., A. Can., and S. Tüfenk. 2004. Mısır, Sorgum ve Ayrışığı Hasıllarına Desisik Katkı Maddeleri Katılmasının Silaj Kalitesi ve in Vitro Kurumadde Sindirimine Etkisi. *Journal of Agriculture of Harran University*, 8(2):1-10.
- 15- Deniz, S., M. Demirel., and D. Tuncer. 2001. The possibilities of using sugar beet pulp silage produced by different methods in lamb and dairy cow rations. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Science*, 25: 1015-1020.
- 16- Dolezal P., V. Pyrochta., and J. Dolezal. 2005. Effects of chemical preservative and pressing of ensiled sugar-beet pulp on the quality of fermentation process. *Czech Journal of Animal Science*, 50: 553-560.
- 17- Filya I. 2003. The effect of *Lactobacillus buchneri* and *Lactobacillus plantarum* on the fermentation, aerobic stability, and ruminal degradability of low dry matter corn and sorghum silages. *Journal of Dairy Science*, 86: 3575-3581.
- 18- Goering H. K., and P. J. Van Soest. 1970. Forage fiber analysis. *Agricultural Handbook No.379*. ARS-USDA, Washington, DC. USA.
- 19- Gordon F., L. Dawson., C. Ferris., R. Steen., and D. Kilpatrick. 1999. The influence of wilting and forage additive type on the energy utilisation of grass silage by growing cattle. *Animal Feed Science and Technology*, 79: 15-27.
- 20- Haaksma J. 1991. Ensiling of pressed sugar-beet pulp. *Mededeling Instituut voor Rationele Suikerproductie*, No. 25, 45 pp.
- 21- McDonald P., A. R. Henderson., and S. J. E. Heron. 1991. *The biochemistry of silage*. 2nd ed. Chalcombe publications, bucks (UK) 340pp
- 22- Mohammadabadi, T., M. Chaji., and M. Boujarpour. 2012. The effects of treating sugarcane pith with steam on gas production parameters using rumen derived microorganisms. *Iranian Journal of Animal Science Research*. 4(3): 240-246.
- 23- Mohammadzadeh, H. 2011. The effects of bacterial inoculants on fermentation characteristics, nutritive value, aerobic stability and animal performances. PhD Thesis in Animal Science, Faculty of Agriculture, Isfahan



- University of Technology.
- 24- Muck, R. E. 1990. Dry matter level effects on alfalfa silage quality. II. Fermentation products and starch hydrolysis. *Transactions of the ASAE*, 33: 373-381.
  - 25- Muck, R. E. 2008. Advances in inoculants for silage. In: Pereira O. G., Obeid J. A., Fonseca D. M, and Nascimento Júnior D. (eds) *Proceedings of 4th Symposium on Strategic Management of Pasture and 2nd International Symposium on Animal Production Under Grazing*, Viçosa, MG, Brazil, 13-15 November 2008, pp. 221–232. Viçosa, Brazil: UFV Press.
  - 26- NRC. 2001. Nutrient requirements of dairy cattle, 7th rev edn. Nat. Acad. Sci., Washington, DC.
  - 27- Osorio H., and De La Cruz. 1990. Steam treated bagasse for fattening cattle: Effect of supplementation with *Giricidia sepium* and urea/molasses. *Livestock Research for Rural Development*, 2: 36–40.
  - 28- Papa G. S. F., and L. Grazia. 1987. Pectolytic clostridia isolated from sugar beet pulp silages in Italy. *J. Appl. Bacteriol.* 63: 481–485.
  - 29- Playne M. J. 1985. Determination of ethanol, volatile fatty acids, lactic and succinic acids in fermentation liquids by gas chromatography. *Journal of Science of Food and Agriculture*, 36: 638-644.
  - 30- Rastegar H., M. Rastgar., and G. Kulabadi. 2013. Management of silage effluent pollution and its associated impacts on the environment. *Research Journal of Agricultural Science*, 4: 313-317.
  - 31- Rohr K., R. Daniecke., H. Honig., and P. Lebzien. 1986. Feeding pressed sugar beet pulp silage to dairy cows. *Landbauforsch. Volkenrode*. 36: 50–55.
  - 32- Said A.E., A. G. Ludwick., and H. A. Aglan. 2009. Usefulness of raw bagasse for oil absorption: A comparison of raw and acylated bagasse and their components. *Bioresource Technology*, 100: 2219-2222.
  - 33- SAS Institute. 2004. *SAS/STAT User's Guide*. Release. 9.1. SAS Inst., Inc., Cary, NC.
  - 34- Seidali, S. 2008. Ensiling high moisture beet sugar pulp using some edible and non-edible applicants. MSc Thesis in Animal Science, Faculty of Agriculture, Isfahan University of Technology.
  - 35- Teller, R. S., R. J. Schmidt., L. W. Whitlow., and L. Kung. 2012. Effect of physical damage to ears of corn before harvest and treatment with various additives on the concentration of mycotoxins, silage fermentation, and aerobic stability of corn silage. *Journal of Dairy Science*, 95(3): 1428-1436.
  - 36- Thomas, M. E., J. L. Foster., K. C. McCuiston., L. A. Redmon., and R. W. Jessup. 2013. Nutritive value, fermentation characteristics, and in situ disappearance kinetics of sorghum silage treated with inoculants. *Journal of Dairy Science*, 96(11): 7120-7131.
  - 37- Van Soest P. J., J. B. Robertson., and B. A. Lewis. 1991. Methods for dietary fibre, neutral detergent fibre, and non-starch poly-saccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, 74: 3583-3597.