Archive of SID

Quarterly Research Journal of Technical and Vocational University

Summer 2020, Vol. 17, No. 2, p. 113-120

Original Research

The Effect of Wilting and Use of Formic and Sulphuric Acid on the Composition, Ruminal Degradability and Aerobic Stability of Alfalfa Silage

Samaneh Ghasemi*[1], Mehdi Behgar[2]

[1]Assistant Professor, Department of Agricultural Machinery Engineering, Shahriar Agricultural Technical School, Technical and Vocational University (TVU), Tehran Branch, Iran.
[2]Assistant Professor, Agricultural, Medical and Industrial Research School, Karaj, Iran.

ARTICLE INFO

Received: 04.26.2020
Revised: 09.07.2020
Accepted: 09.16.2020

Keyword:
Alfalfa silage
Formic acid
Sulphuric acid
Aerobic stability
Degradability

***Corresponding Author:**
Samaneh Ghasemi
Email:
samaneh_gh_59@yahoo.com

ABSTRACT

Effects of wilting and usage of formic and/or sulphuric acids on alfalfa silage (AS) composition, aerobic stability and ruminal degradability were tested in three trials. Chopped alfalfa hay (AH) were wilted and then ensiled. There were no differences between compositions of wilted and fresh AH. In silage 1 and 2, crude protein and true protein increased while NDF decreased. Compared to control silage, formic acid treated silage had more crude protein and true protein while silage 3 had more crude protein only. Aerobic stability of silages was evaluated using changing values of pH and N-NH_3. The pH data illustrated that acid treatment can protect silage from spoilage to a greater degree compared to the control silage until 48 h. In all incubation times, N-NH_3 contents of control silage were higher than acid treated silages. Ensiling decreased fraction a and increased fraction b of DM compared to AH. Ensiling decreased fraction a+b of DM compared to AH and this decrease was more pronounced for acid treated silages. For the degradability of CP, fraction *a* of AH was less than the control silage and formic acid treated silage; however, this fraction was higher in AH compared to silage 3. The reverse order was noted for fraction *b*.

www.SID.ir

Archive of SID

فصلنامه علمی-پژوهشی کارافن

تابستان ۱۳۹۹، دوره ۱۷، شماره ۲، ۱۲۰-۱۱۳

مقاله پژوهشی

اثر پژمرده‌سازی و استفاده از اسید فرمیک و اسید سولفوریک بر ترکیب شیمیایی، تجزیه‌پذیری و پایداری هوازی سیلاژ یونجه

سمانه قاسمی*[۱]، مهدی بهگر[۲]

۱- استادیار، دپارتمان فنی و کشاورزی دانشکده فنی و کشاورزی شهریار، دانشگاه فنی و حرفه ای استان تهران، ایران.
۲- استادیار، پژوهشکده کشاورزی هسته ای، پژوهشگاه علوم و فنون هسته ای، کرج، ایران.

اطلاعات مقاله

دریافت مقاله: ۱۳۹۹/۰۲/۰۷
بازنگری مقاله: ۱۳۹۹/۰۶/۱۷
پذیرش مقاله: ۱۳۹۹/۰۶/۲۶

کلید واژگان:
سیلاژ یونجه
اسید فرمیک
اسید سولفوریک
پایداری هوازی
تجزیه پذیری

***نویسنده مسئول:** سمانه قاسمی
پست الکترونیکی:
samaneh_gh_59@yahoo.com

چکیده

در این پژوهش، به منظور بررسی اثر پژمرده‌سازی و استفاده از اسیدفرمیک و اسیدسولفوریک بر ترکیب شیمیایی، پایداری هوازی و تجزیه‌پذیری سیلاژ یونجه در سه مرحله انجام شد. یونجه تازه، پژمرده و سه نوع سیلاژ تهیه شد. پژمرده‌سازی، تأثیری بر ترکیب شیمیایی یونجه نداشت. سیلاژ شاهد، کمترین مقدار پروتئین خام در مقایسه با سیلاژهای حاوی اسید و یونجه را داشت ($P<۰/۰۵$). سیلاژهای حاوی اسید در مقایسه با سیلاژ شاهد و یونجه مقادیر بالاتری از پروتئین خام و حقیقی و همچنین مقادیر کمتری از دیواره سلولی داشتند ($P<۰/۰۵$). نیتروژن غیرپروتئینی در سیلاژ شاهد و سیلاژ ۲ در مقایسه با دیگر تیمارها کمتر بود ($P<۰/۰۵$). در تمام زمان‌های انکوباسیون نیتروژن آمونیاکی سیلاژ شاهد در مقایسه با سیلاژهای حاوی اسید بیشتر بود ($P<۰/۰۵$). داده‌های pH نشان داد که سایر سیلاژها در مقایسه با سیلاژ شاهد باعث حفظ سیلاژ تا ۴۸ ساعت می‌شوند ($P<۰/۰۵$). سیلوسازی باعث کاهش بخش سریع تجزیه و افزایش بخش کند تجزیه ماده خشک در مقایسه با یونجه شد ($P<۰/۰۵$). بخش سریع تجزیه پروتئین در یونجه در مقایسه با سیلاژ فاقد افزودنی کمتر، ولی در مقایسه با سیلاژ حاوی افزودنی بیشتر بود و در مقابل بخش کند تجزیه دارای روندی عکس بود ($P<۰/۰۵$).

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

خشک کردن یونجه در مزرعه باعث از بین رفتن مواد مغذی به دلیل آسیب فیزیکی برگ‌ها و اکسیداسیون کاروتن می‌شود[۱]. از طرف دیگر سیلوسازی یونجه به دلیل مقادیر اندک کربوهیدرات‌های محلول و بالا بودن خاصیت بافری آن به واسطه مقادیر بالای پروتئین، مشکل می‌باشد. بخش قابل ملاحظه‌ای از پروتئین یونجه در فرایند سیلوسازی تجزیه می‌شود و ۷۵ تا ۸۷ درصد از نیتروژن کل موجود در سیلاژ ممکن است به صورت نیتروژن غیرپروتئینی باشد [۲].یکی از روش‌های مؤثر سیلوسازی یونجه پژمرده‌سازی آن در مزرعه به مقدار ۴۰۰ تا ۴۵۰ گرم در کیلوگرم ماده خشک و سپس سیلوکردن، یا پژمرده‌سازی به مقدار متوسط تا ۳۰۰ گرم در کیلوگرم ماده خشک و استفاده از مواد نگهدارنده خصوصاً اسید فرمیک قبل از سیلوسازی می‌باشد[۳]. افزودن اسید به علف تخمیر شده یونجه باعث کاهش pH و نیتروژن غیرپروتئینی در مقایسه با سیلاژهای فاقد مواد افزودنی شده و در نتیجه باعث بهبود شرایط سیلو می‌گردد [۴]. پژمرده سازی قبل از سیلوسازی و استفاده از اسید فرمیک یا اسید سولفوریک، باعث کاهش pH سیلو و کاهش تولید آمونیاک می‌گردد [۵،۶، ۷].

هنگامی که سیلاژ در معرض اکسیژن قرار می‌گیرد میکروارگانیسم‌های هوازی می‌توانند سبب ایجاد گرما و فساد در آن گردند [۸]. مقاومت هوازی به وسیله مدت زمانی که در سیلاژ دما بیش از ۲ درجه سانتی‌گراد تغییر نکند، تعریف می‌گردد. اگر چه ایجاد گرما و فساد هوازی بیشتر در مورد سیلاژهای حاوی کربوهیدرات‌های محلول بالا همانند ذرت قابل توجه می‌باشد [۸]، با این حال در سیلاژهایی همانند یونجه به دلیل بالا بودن پروتیین خام تولید آمونیاک و آمین ها در روند سیلوسازی و در فساد هوازی می‌تواند حائز اهمیت باشد [۹] زیرا مشخص شده که این ترکیبات توانایی کاهش مصرف خوراک را دارا می‌باشند [۱۰]. عمده اسید مصرفی برای سیلاژهای یونجه، اسید فرمیک می‌باشد. مقدار ۶۰ تا ۷۰ درصد از اسید فرمیک در سیلاژ پس از باز کردن سیلو قابل بازیافت می‌باشد که ممکن است اثرات مثبتی بر مقاومت هوازی سیلاژ داشته باشد [۱۱]. افزودن اسید پروپیونیک باعث افزایش پایداری هوازی سیلاژ ذرت در مقایسه با سیلاژ فاقد اسید می‌گردد (به ترتیب ۶۹ و ۲۳/۳ ساعت)[۸]. نتیجه مشابهی نیز در خصوص استفاده از اسید فرمیک در سیلاژ ذرت گزارش شده است [۱۲]. اطلاعاتی در خصوص پایداری هوازی سیلاژهای یونجه در دست نمی‌باشد. این آزمایش به منظور تعیین اثر پژمرده‌سازی بر ترکیب شیمیایی علف یونجه و بررسی اثر اسید فرمیک و سولفوریک به همراه پژمرده‌سازی بر مقاومت هوازی و تجزیه‌پذیری ماده خشک و پروتئین خام سیلاژ یونجه انجام شد.

روش شناسی

مرحله اول. بر اساس نتایج به دست آمده از آزمایش قبلی [۱۳]، سه نوع سیلاژ یونجه (هر یک به ظرفیت ۷ تن) تهیه شد. سیلاژها عبارت بودند از: ۱- سیلاژ یونجه پژمرده شده فاقد افزودنی، ۲- سیلاژهای پژمرده شده حاوی اسید فرمیک (۱۵ میلی‌لیتر در کیلوگرم ماده خشک)، ۳- سیلاژهای پژمرده شده حاوی اسیدفرمیک و اسیدسولفوریک (به ترتیب ۱۵ و ۴ میلی لیتر در کیلوگرم ماده خشک). برای این منظور علف یونجه (چین پنجم) پس از برداشت به قطعات ۱۰ تا ۱۵ سانتی‌متر خرد گردید و به مدت ۱۲ ساعت روند پژمرده‌سازی را برای رسیدن به ماده خشک حدوداً ۳۳ درصد طی کردند و در صبح روز بعد تیمار اسید فرمیک و اسید سولفوریک بر یونجه‌ها اعمال شد. بخشی از علف یونجه نیز قبل و بعد از پژمرده‌سازی برای آنالیز ترکیبات شیمیایی و تعیین اثرات پژمرده سازی کنار گذاشته شد. در سیلوها پس از ۴۵ روز گشوده شد و ماده خشک، pH و مؤلفه‌های شیمیایی (پروتئین خام، پروتئین حقیقی، نیتروژن غیرپروتئینی، نیتروژن آمونیاکی و الیاف نامحلول در شوینده خنثی) در سیلاژها، علف تازه و علف پژمرده شده، اندازه‌گیری شدند. برای تعیین pH از سیلاژها نمونه‌های ۵۰ گرمی تهیه شد و به هر نمونه ۴۵۰ میلی لیتر آب مقطر اضافه شد و سپس مخلوط نمونه و آب مقطر به خوبی هم زده شد و با استفاده

www.SID.ir

Archive of SID

از پارچه متقال صاف گردید [۱۴]. pH عصاره به دست آمده توسط pH متر (METROHM 691) اندازه‌گیری شد. نیتروژن آمونیاکی از عصاره تهیه شده در مرحله قبل که به نسبت برابر با اسید کلریدریک ۰/۲ نرمال مخلوط شده بود با ایجاد تغییراتی در روش کلدال تعیین شد، به این صورت که به جای استفاده از سود ۱ نرمال در مرحله تقطیر از محلول تترابورات (به غلظت ۳۳ گرم در حجم ۱ لیتر آب مقطر) و همچنین برای تیتراسیون از اسیدکلریدریک ۰/۰۱ نرمال در دستگاه کلدال (Kjeltec Auto, 1300) استفاده گردید [۱۶]. میزان پروتئین خام با روش کلدال [۱۷] و میزان نیتروژن حقیقی و نیتروژن غیرپروتئینی با استفاده از اسید تری‌کلرواستیک به منظور رسوب پروتئین و تعیین میزان نیتروژن در رسوب حاصله و سوپرناتانت به روش کلدال تعیین گردید [۱۵]. برای تعیین میزان الیاف نامحلول در شوینده خنثی سیلاژها از روش ون‌سست و همکاران استفاده شد [۱۸].

مرحله دوم. برای تعیین پایداری هوازی از شاخص تغییر دما در توده سیلاژها توسط دماسنجی که در سیلاژ قرار گرفته شده بود، استفاده شد. به این منظور، توده‌ای از سیلاژها (۰/۱±۳ کیلوگرم) از محل سیلو برداشته شده و در محیطی با دمای ۲۴-۲۲ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند و دماسنجی در مرکز هندسی توده سیلاژها قرار داده شد. در ادامه پارچه دو لایه متقال بر روی توده قرار داده شد و دما هر ۳ ساعت کنترل شد [۸]. همچنین از تغییر pH و نیتروژن آمونیاکی در زمان‌های مختلف آنکوباسیون به عنوان شاخصی از فعالیت میکروبی و پایداری هوازی نسبی استفاده شد [۲و ۴]. بدین منظور نمونه‌هایی از سه سیلاژ تهیه شده در مرحله اول به وزن ۵۰ گرم تهیه شده و در کیسه‌های پلاستیکی به ابعاد ۱۳ × ۱۶/۵ سانتی‌متر ریخته شد. بر روی کیسه‌ها توسط سوزن ۲۰ سوراخ کوچک برای حرکت آزادانه هوا ایجاد گردید. سپس کیسه‌ها در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲، ۴ و ۷ روز در انکوباتور قرار گرفتند. پس از این مدت نمونه‌ها از آنکوباسیون خارج شدند و pH و نیتروژن آمونیاکی اندازه‌گیری شد. همچنین pH و نیتروژن آمونیاکی در نمونه‌های تازه تهیه شده از سیلاژ به عنوان زمان صفر (تیمار شاهد) در نظر گرفته شد. مقدار pH و نیتروژن آمونیاکی در نمونه‌ها پس از طی زمان آنکوباسیون همانند مرحله اول اندازه گیری شدند.

مرحله سوم. برای تعیین تجزیه‌پذیری از دو رأس گوساله نر مجهز به کانولای شکمبه‌ای استفاده شد. نمونه‌های مورد آزمایش از علف یونجه، سیلاژ فاقد افزودنی و سیلاژ حاوی اسیدفرمیک (۱۵ میلی‌لیتر به ازای کیلوگرم ماده خشک) و سیلاژ حاوی اسید فرمیک- اسید سولفوریک (به ترتیب ۱۵ و ۴ میلی لیتر در کیلوگرم ماده خشک) تشکیل شده بودند. به منظور تعیین تجزیه‌پذیری از نمونه‌هایی که خشک و با آسیاب دارای قطر الک ۲ میلی‌متر آسیاب شده بود به میزان ۵ گرم در کیسه‌هایی از جنس ابریشم مصنوعی ریخته شد. کیسه‌ها دارای ابعاد ۹ × ۱۸/۵ سانتی‌متر و منافذی به قطر ۴۸ میکرومتر بودند. نسبت اندازه نمونه به سطح کیسه ۱۵ میلی‌گرم بر سانتی‌مترمربع بود [۱۸]. از تیمارهای مورد نظر ۴ تکرار (در هر گاو نر ۲ تکرار) در زمان‌های ۲، ۴، ۸، ۱۶، ۲۴، ۴۸ و۷۲ ساعت در شکمبه قرار گرفت. برای تعیین نسبت ناپدید شدن در زمان صفر کیسه‌های حاوی نمونه در زیر شیر آب شسته شدند. در زمان‌های ۲، ۴ و ۸ ساعت ابتدا کیسه‌ها حدود نیم ساعت در آب برای خیس خوردن و کم شدن فاز تأخیر قرار گرفتند و سپس عمل آنکوباسیون در شکمبه انجام گرفت [۱۹]. پس از برداشتن کیسه‌ها از شکمبه عمل شستشو توسط دست انجام شد. سپس کیسه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد خشک [۲۰] و مقدار ناپدید شدن ماده خشک و نیتروژن در آنها اندازه‌گیری شدند.

تجزیه های آماری

برای مقایسه ترکیبات شیمیایی، داده‌های مقاومت هوازی و ضرایب تجزیه‌پذیری از طرح کاملاً تصادفی در نرم‌افزار SAS و روش GLM استفاده گردید و مقایسه میانگین‌ها به روش دانکن ($P<0/05$) انجام شد.

$$Y_{ij} = \mu + Ti + \varepsilon_{ij} \quad (1)$$

www.SID.ir

Archive of SID

که Y_{ij} = مقدرا مشاهده مورد نظر، μ = میانگین، T_i= اثر تیمار و E_{ijk} = خطای تصادفی با میانگین صفر و واریانس σ^2.

فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری ماده خشک و پروتئین خام با استفاده از معادله ارسکف و مک دونالد [۹] و با استفاده از نرم‌افزار Fig P (Biosoft corporation, Durham, NC USA) مورد تحلیل قرار گرفتند.

$$P = a + b\,(1 - e^{-ct}) \qquad (۲)$$

که P = پتانسیل تجزیه پذیری، a = بخش سریع تجزیه، b = بخش کند تجزیه، c = ثابت نرخ تجزیه‌پذیری و t = مدت زمان قرار گرفتن نمونه در شکمبه می‌باشد.

یافته‌ها

مرحله اول: اثرات پژمرده‌سازی (به مدت۱۲ ساعت) بر ترکیب شیمیایی علف یونجه و سیلاژها در جدول ۱ نشان داده شده است. پژمرده‌سازی به مدت ۱۲ ساعت تأثیری بر میزان ترکیبات نیتروژنی و الیاف نامحلول در شوینده خنثی علف یونجه نداشت. با وجود این نتایج مطالعات [۵] نشان می‌دهد که مقدار ترکیبات دیواره سلولی علوفه در اثر پژمرده‌سازی به دلیل تجزیه دیگر ترکیبات بواسطه تنفس گیاه و فعالیت میکروبی تمایل به افزایش دارد. این تفاوت می‌تواند به دلیل کوتاه بودن زمان پژمرده‌سازی در آزمایش حاضر در مقایسه با تحقیق فوق باشد.

مطالعات نشان می‌دهد که با پژمرده‌سازی مقدار آمونیاک افزایش نمی‌یابد، زیرا پژمرده‌سازی باعث کاهش فشار اسمزی و در نهایت محدود شدن فعالیت باکتریایی می‌گردد [۷]. نتیجه‌ای مشابه‌ای توسط محققان دیگر ارائه شده است و اظهار می‌شود که این تفاوت می‌تواند بدلیل اتلاف مواد علوفه‌ای خصوصاً برگ‌ها در زمان پژمرده شدن باشد [۱۴ و ۲۱]. تفاوت در مقادیر پروتئین خام بین علف پژمرده شده و سیلاژ شاهد علوفه پژمرده شده معنی‌دار نبود. با این حال افزودن اسید فرمیک و اسید سولفوریک باعث افزایش معنی‌داری در پروتئین خام در سیلاژهای حاوی اسید در مقایسه با سیلاژ شاهد شد ($P<۰/۰۵$).

جدول ۱. تغییر ترکیبات نیتروژن‌دار و الیاف نامحلول در شوینده خنثی علف یونجه تحت تأثیر پژمرده‌کردن و سیلوکردن

	تیمار					
	H	WH	WS	FWS	F-SWS	SE
پروتئین خام	۱۸/۶۹ cb	۱۷/۵۴ cd	۱۷/۱۸ d	۱۹/۹۷ a	۱۹/۴۲ ab	۰/۳۲
پروتئین حقیقی	۱۰/۶۷ c	۹/۹۱ c	۱۱/۰۸ bc	۱۳/۲۵ a	۱۲/۵۵ ab	۰/۴۴
نیتروژن غیر پروتئینی	۱/۲۸ a	۱/۱۸ ab	۰/۹۷ c	۱/۰۷ c	۱/۱۰ cb	۰/۲۳
نیتروژن آمونیاکی	–	–	۱۸/۱۲ a	۱۴/۹۲ b	۱۵/۹۰ b	۰/۲۷
الیاف نامحلول در شوینده خنثی	۴۵/۰۰ b	۴۵/۰۰ b	۴۲/۰۰ ab	۴۰/۰۰ a	۴۰/۰۰ a	۱/۰۰
pH	-	-	۵/۳۸ a	۴/۶۹ b	۴/۵۰ c	۰/۰۷

H: علف خشک یونجه، WH: علف پژمرده شده یونجه، WS: سیلاژ شاهد علف پژمرده شده یونجه، FWS: سیلاژ علف پژمرده شده یونجه حاوی اسید فرمیک (۱۵ میلی‌لیتر در کیلوگرم ماده خشک) و F-SWS: سیلاژ علف پژمرده شده یونجه حاوی اسید فرمیک و اسید سولفوریک (۱۵به ترتیب و ۵ میلی لیتر در کیلوگرم ماده خشک). حروف متفاوت در هر ردیف دارای تفاوت معنی‌دار هستند (P<۰/۰۵).

دلیل این تفاوت می‌تواند به واسطه از دست رفتن ترکیبات غیرپروتئینی (همانند سلولز) در هنگام استفاده از اسید بر سیلاژ باشد. زیرا همانطور که مشاهده می‌شود سیلو کردن و استفاده از اسید باعث کاهش میزان الیاف نا محلول در

www.SID.ir

Archive of SID

شوینده خنثی در مقایسه با علف تازه و پژمرده شده یونجه شد (P<۰/۰۵). کاهش مقدار NDF در سیلاژهای حاوی اسیدفرمیک در اثر قدرت هیدرولیزی اسید فرمیک توسط محققان گزارش شده است [۳و ۲۲]. مقدار پروتئین حقیقی سیلاژهای حاوی اسید بیشتر از علوفه تازه و پژمرده شده بود (P<۰/۰۵). مقدار نیتروژن غیر پروتئینی در سیلاژها در مقایسه با علوفه تازه کمتر بود (P<۰/۰۵)، البته این تفاوت برای سیلاژ حاوی اسید فرمیک-اسید سولفوریک در مقایسه با علف پژمرده شده یونجه معنی دار نبود. نیتروژن آمونیاکی در سیلاژهای حاوی اسید در مقایسه با سیلاژ شاهد کاهش یافت (P<۰/۰۵). کاهش در نیتروژن آمونیاکی با افزایش در مقادیر پروتئین خام و حقیقی و کاهش نیتروژن غیر پروتئینی همراه بود. از آنجا که بیشتر آمونیاک تولیدی در فرآیند تخمیر حاصل فعالیت میکروبی است، کاهش آمونیاک می‌تواند به اثر محدود کننده اسید بر فعالیت باکتری‌ها و تجزیه کمتر ترکیبات نیتروژنی مربوط باشد. مقدار آمونیاک محلول به مقدار ۰/۵۱ ماده خشک در سیلاژ یونجه فاقد افزودنی در مقایسه با ۰/۲۴ در ماده خشک در سیلاژهای حاوی ۱ درصد اسید پروپیونیک گزارش شده است [۷]. کاهش تولید آمونیاک توسط دیگر محققان نیز گزارش شده است [۲و ۱۲]. pH سیلاژهای حاوی اسید در مقایسه با سیلاژ شاهد بطور معنی‌داری کمتر بود (P<۰/۰۵). استفاده از اسید در هنگام سیلوسازی باعث کاهش pH علوفه می‌شود و همانطور که اشاره شد حدود ۶۷ درصد از اسید فرمیک اعمال شده در سیلاژ بدون تغییر باقی می‌ماند. این داده‌ها نتایج دیگر محققان را تأئید می‌نماید [۲۳].

مرحله دوم: نتایج حاصل از این آزمایش در جدول ۲ نشان داده شده است. تغییرات دمایی در سیلاژها در زمان‌های مختلف بر خلاف گزارشات موجود در خصوص سیلاژ ذرت اتفاق نیافتاد. بنابراین از تغییرات pH و نیتروژن آمونیاکی در زمان‌های آنکوباسیون در جهت تعیین پایداری هوازی نسبی سیلاژها استفاده شد. سیلاژ شاهد در زمان صفر (قبل از آنکوباسیون) در مقایسه با سیلاژ حاوی اسید فرمیک و سیلاژ حاوی اسید فرمیک - اسید سولفوریک دارای نیتروژن آمونیاکی بالاتری بود (P<۰/۰۵). دلیل این امر اثر محدود کنندگی اسید بر کاهش تولید آمونیاک در سیلو می‌باشد. همچنین در تمام زمان‌های آنکوباسیون مقدار نیتروژن آمونیاکی در سیلاژ شاهد به طور معنی‌داری افزایش یافت که در روز هفتم (۱۶۸ ساعت) به بالاترین مقدار (۴۰/۵۳ میلی‌گرم در دسی‌لیتر) رسید (P<۰/۰۵).

جدول۲. پایداری هوازی نسبی سیلاژها

	زمان آنکوباسیون (ساعت)				
	۰	۴۸	۹۶	۱۶۸	SE
	NH3-N(mg/dl)				
WS	۱۸/۱۲ ^{a}	۳۲/۱۲ ^{b}	۳۴/۵۲ ^{c}	۴۰/۵۳ ^{d}	۰/۲۶
FWS	۱۴/۹۲ ^{b}	۲۰/۳۱ ^{a}	۲۲/۱۹ ^{a}	۲۱/۴۱ ^{a}	۰/۲۶
F-SWS	۱۵/۹۰ ^{b}	۲۰/۶۰ ^{a}	۲۱/۲۵ ^{a}	۲۰/۶۸ ^{a}	۰/۲۹
SE	۰/۳۵	۰/۳۰	۰/۳۰	۰/۳۰	
	pH				
WS	۵/۳۸ ^{a}	۵/۴۹ ^{a}	۵/۵۷ ^{a}	۵/۵۵ ^{a}	۰/۰۷
FWS	۴/۶۹ ^{b}	۴/۶۴ ^{b}	۴/۷۵ ^{a}	۴/۷۷ ^{a}	۰/۰۹
F-SWS	۴/۵۰ ^{b}	۴/۵۳ ^{b}	۵/۱۲ ^{a}	۵/۲۳ ^{a}	۰/۰۷
SE	۰/۰۸	۰/۰۸	۰/۰۹	۰/۰۹	

H: علف خشک یونجه، WH: علف پژمرده شده یونجه، WS: سیلاژ علف پژمرده شده شاهد یونجه، FWS: سیلاژ علف پژمرده شده یونجه حاوی اسید فرمیک (۱۵ میلی لیتر در کیلوگرم ماده خشک) و F-SWS: سیلاژ علف پژمرده شده یونجه حاوی اسید فرمیک و اسید سولفوریک (۱۵به ترتیب و ۵ میلی لیتر در کیلوگرم ماده خشک). حروف متفاوت در هر ردیف و هر ستون دارای تفاوت معنی دار هستند (P<۰/۰۵).

به هر حال بررسی مقدار نیتروژن آمونیاکی در سیلاژ حاوی اسید فرمیک و سیلاژ حاوی اسید فرمیک - اسید سولفوریک روند مشابهی را در هر دو سیلاژ نشان داد و تفاوت‌ها بین دو سیلاژ در زمان‌های مختلف معنی‌دار نبود.

www.SID.ir

Archive of SID

اگر چه در هر دو سیلاژ مقدار نیتروژن آمونیاکی در زمان صفر و ۴۸ ساعت پس از انکوباسیون افزایش یافت (P<۰/۰۵)، با این حال مقدار نیتروژن آمونیاکی از ۴۸ ساعت تا ۱۶۸ ساعت پس از انکوباسیون ثابت ماند، که این موضوع، بیانگر این است که سیلاژهای حاوی اسید در مقایسه با سیلاژ شاهد توانایی جلوگیری از فساد هوازی از ۲ روز تا ۷ روز را داشتند (P<۰/۰۵). اگرچه در سیلاژ شاهد مقدار آمونیاک تحت تأثیر زمان انکوباسیون قرار گرفت، با این حال مقدار pH این سیلاژها در زمانهای مختلف دارای تفاوت معنی داری نبودند. در هر دو سیلاژ حاوی اسید افزایش pH تا ۲ روز پس از انکوباسیون تفاوت معنی‌داری در مقایسه با زمان صفر دیده نشد و سیلاژهای حاوی اسید فرمیک و اسید فرمیک - سولفوریک در یک محدوده زمانی دو روز انکوباسیون توانایی حفظ pH را داشتند (P<۰/۰۵). گزارشی از میزان مقاومت هوازی سیلاژ یونجه در دست نمی‌باشد. در مقایسه با سیلاژهای ذرت که دارای کربوهیدرات محلول بالا و در نتیجه pH مطلوبی (در حدود ۳/۸) هستند؛ سیلاژ یونجه دارای کربوهیدرات اندک و همچنین پروتئین بالا می‌باشد. این امر باعث افزایش ظرفیت بافری سیلاژ و بالا بودن pH این سیلاژها در مقایسه با سیلاژ ذرت می‌گردد.

در مطالعه‌ای استفاده از مقادیر اندک اسید فرمیک (۳ میلی لیتر در کیلوگرم ماده خشک) در سیلاژ گراس خصوصیات تخمیری سیلاژ را بهبود داد ولی پایداری هوازی سیلاژ در مقایسه با سیلاژ شاهد تغییر نکرد [۱]. با وجود این، افزودن مقادیر بیشتر اسید فرمیک (۲۲ میلی لیتر در کیلوگرم ماده خشک) در سیلاژ گراس [۲۳] و ۸/۳ میلی‌لیتر در کیلوگرم ماده خشک سیلاژ مخلوط گندم-علف نخود فرنگی [۹] باعث بهبود پایداری هوازی این سیلاژها شد. میزان اسید فرمیک مورد استفاده در آزمایش حاضر نیز به میزان ۱۵ میلی‌لیتر در کیلوگرم ماده خشک بود که مقدار بالایی محسوب می‌گردد و لذا بهبود شاخص‌های مقاومت هوازی سیلاژ مورد انتظار بود.

جدول ۳. فراسنجه های تجزیه پذیری ماده خشک و پروتئین خام علوفه خشک یونجه و سیلاژهای یونجه بدون افزودنی، حاوی اسید فرمیک و اسیدفرمیک به علاوه اسید سولفوریک

	بخش سریع تجزیه (a)	بخش کند تجزیه (b)	ثابت نرخ تجزیه‌پذیری (c)	بخش قابل تجزیه (a+b)
ماده خشک				
H	۰/۵۰^{a}	۰/۳۲^{c}	۰/۱۶^{a}	۰/۸۲^{a}
WS	۰/۳۴^{c}	۰/۳۶^{b}	۰/۰۸^{b}	۰/۷۰^{c}
FWS	۰/۳۹^{b}	۰/۳۵^{bc}	۰/۰۹^{b}	۰/۷۴^{b}
F-SWS	۰/۳۵^{c}	۰/۴۰^{a}	۰/۱۲^{ab}	۰/۷۵^{b}
پروتئین خام				
H	۰/۵۷^{b}	۰/۳۵^{b}	۰/۱۹^{a}	۰/۹۲^{a}
WS	۰/۵۶^{b}	۰/۲۸^{c}	۰/۱۱^{b}	۰/۸۵^{c}
FWS	۰/۶۰^{a}	۰/۲۷^{c}	۰/۰۹^{b}	۰/۸۷^{b}
F-SWS	۰/۴۶^{c}	۰/۴۱^{a}	۰/۱۵^{ab}	۰/۸۷^{b}

H: علف خشک یونجه، WH: علف پژمرده شده یونجه، WS: سیلاژ علف پژمرده شده شاهد یونجه، FWS: سیلاژ علف پژمرده شده یونجه حاوی اسید فرمیک (۱۵ میلی لیتر در کیلوگرم ماده خشک) و F-SWS: سیلاژ علف پژمرده شده یونجه حاوی اسید فرمیک و اسید سولفوریک (به ترتیب ۱۵ و ۵ میلی لیتر در کیلوگرم ماده خشک). حروف متفاوت در هر ردیف دارای تفاوت معنی دار هستند (P<۰/۰۵).

مرحله سوم: نتایج حاصل از تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای ماده خشک و پروتئین خام در جدول ۳ نشان داده شده است. بخش سریع تجزیه (a) ماده خشک در سیلاژ شاهد مشابه با سیلاژ حاوی اسید فرمیک و اسید سولفوریک و برابر با ۰/۳۵ بود. با این حال این بخش در سیلاژ دارای اسید فرمیک بیشتر بود (۰/۳۹). در خصوص بخش

www.SID.ir

Archive of SID

کند تجزیه (b)، استفاده از اسید فرمیک به همراه اسید سولفوریک باعث افزایش این بخش در مقایسه با دو سیلاژ دیگر شد (۰/۳۹ در برابر ۰/۳۶ و ۰/۳۵). بخش قابل تجزیه ماده خشک (a+b) در سیلاژ حاوی اسید فرمیک و اسیدفرمیک به علاوه اسید سولفوریک مشابه و برابر با ۰/۷۴ و بیشتر از سیلاژ شاهد بود (۰/۷۱). این نتیجه نشان می‌دهد که استفاده از اسید باعث افزایش تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای ماده خشک می‌شود. در مورد علف یونجه بخش قابل تجزیه در مقایسه با سیلاژها بیشتر بود. سیلوسازی باعث کاهش بخش a و افزایش بخش b در سیلاژ در مقایسه با علف یونجه شد که نتایج سایر آزمایشات را تأئید می نماید [۱۰] . اثر اسید فرمیک بر افزایش بخش a مغایر با نتایج دیگر محققین بود [۱۴]. گزارش شده است که استفاده از اسید فرمیک باعث افزایش تجزیه‌پذیری ماده خشک می‌گردد، که این اثر به تجزیه‌پذیری بیشتر NDF در سیلاژهای حاوی اسید فرمیک نسبت داده شده اشت [۲۲]. در سیلاژها، ثابت نرخ تجزیه پذیری ماده خشک و پروتئین خام در مقایسه با علف یونجه کاهش یافت. هریستوو و ساندو نتایج مشابهی را گزارش کردند و استفاده از اسید ثابت نرخ تجزیه (c) را در مقایسه با علف یونجه کاهش داد [۳]. اما در برخی از آزمایشات چنین اثری دیده نشد [۲۰]. با این حال سیلاژ پژمرده شده حاوی اسیدفرمیک و اسید سولفوریک دارای ثابت نرخ تجزیه‌پذیری ماده خشک بیشتری در مقایسه با سیلاژ بدون افزودنی بود. در مطالعه‌ای دیگر این اثر به تجزیه‌پذیری بیشتر NDF نسبت داده شده است [۲۲].

در مورد تجزیه‌پذیری پروتئین خام بخش سریع تجزیه (a) در سیلاژ شاهد کمتر از سیلاژ حاوی اسید فرمیک بود، ولی از سیلاژ دارای اسید فرمیک و اسید سولفوریک بیشتر بود (به ترتیب ۰/۵۷، ۰/۶۰ و ۰/۴۶). مورد انتظار بود که با توجه به بیشتر بودن پروتئین حقیقی و همچنین کمتر بودن ترکیبات نیتروژنی غیر پروتئینی در سیلاژ حاوی اسید فرمیک در مقایسه با سیلاژ شاهد بخش سریع تجزیه پروتئین خام بیشتر باشد. با وجود این چنین اثری دیده نشد. در دیگر آزمایشات پژمرده‌سازی و استفاده از اسید باعث کاهش بخش a شده است [۱۴]. بخش b در هنگام استفاده از اسید فرمیک و اسید سولفوریک در مقایسه با سیلاژ شاهد و سیلاژ حاوی اسید فرمیک افزایش یافت (به ترتیب ۰/۴۱، ۰/۲۸ و ۰/۲۷). پژمرده‌کردن و استفاده از اسید فرمیک منجر به کاهش نرخ تجزیه‌پذیری پروتئین خام شد ($p<0/05$). آزمایشات نشان می دهد که استفاده از اسید بر روی علوف خشک یونجه قبل از تعیین آزمایش‌های تجزیه‌پذیری و یا در هنگام سیلو کردن علف یونجه منجر به کاهش نرخ تجزیه‌پذیری پروتئین خام می‌شود [۱۵]. در نتیجه می‌توان چنین نتیجه‌گیری نمود که استفاده از اسید منجر به این می‌گردد که پروتئین گیاهی حساسیت کمتری به حمله میکروبی از خود نشان دهند. اثری مشابه در خصوص نرخ تجزی‌پذیری ماده خشک دیده شد. همچنین بخش قابل تجزیه در شکمبه (a+b) در سیلاژهای حاوی اسید در مقایسه با سیلاژ شاهد بیشتر بود (۰/۸۷ در برابر ۰/۸۵). نتیجه‌ای مشابه نیز در خصوص تجزیه‌پذیری ماده خشک دیده شد. کاهش تجزیه‌پذیری پروتئین خام در شکمبه تحت تأثیر استفاده از اسید توسط دیگر محققان نیز گزارش شده است [۲و ۱۵].

در مقایسه با علف خشک یونجه، سیلو کردن باعث کاهش بخش سریع تجزیه (a) و افزایش بخش کند تجزیه (b) پروتئین خام گردید که این اثر توسط دیگر محققین نیز گزارش شده است [۵و ۲۱]. در مقایسه دو سیلاژ شاهد و سیلاژ حاوی اسیدفرمیک و اسید سولفوریک، سیلاژ حاوی اسید دارای ضریب a پایین‌تر و ضرایب b و c در مورد تجزیه پذیری پروتئین خام بالاتری بود. چنین نتایجی توسط هریستوو و ساندو [۳] نیز گزارش شده است.

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج این آزمایش نشان داد که استفاده از اسید به دلیل کاهش pH سیلاژ باعث حفظ نیتروژن پروتئینی سیلاژ یونجه شد. همچنین پژمرده‌سازی یونجه به مدت ۱۲ ساعت برای رسیدن ماده خشک به ۳۳ درصد تأثیری بر ترکیبات نیتروژن‌دار و الیاف نامحلول در شوینده خنثی علف یونجه نداشت. در نتیجه می‌توان از پژمرده‌کردن

www.SID.ir

Archive of SID

محدود به منظور بهبود شرایط تخمیری سیلاژ بدون تأثیر نامطلوب استفاده نمود. در خصوص پایداری هوازی می‌توان به این نکته اشاره کرد که برخلاف سیلاژ ذرت از تغییرات دمای توده سیلاژ نمی‌توان در جهت تعیین پایداری هوازی سیلاژ یونجه استفاده کرد ولی با توجه به pH سیلاژها در زمان‌های آنکوباسیون می‌توان نتیجه‌گیری کرد که اگرچه استفاده از اسید فرمیک به تنهایی و یا به همراه اسید سولفوریک باعث حفظ pH سیلاژها فقط تا ۴۸ ساعت شد، با وجود این داده‌های نیتروژن آمونیاکی نشان می‌دهد که استفاده از اسید مانع فعالیت باکتریایی و در نتیجه عدم تغییر آمونیاک از ۴۸ تا ۱۶۸ ساعت می‌شود. استفاده از اسید فرمیک و اسید سوفوریک باعث افزایش بخش کند تجزیه پروتئین خام شد. از آنجا که این بخش با راندمان بیشتری توسط میکروارگانیسم‌ها در مقایسه با بخش سریع تجزیه مورد استفاده قرار می‌گیرد، می‌تواند از مزایای این نوع افزودنی‌ها تلقی گردد.

Reference

1. Fernandez Lorenzo, B. & O'Kiely, P. (2008) Alternatives to formic acid as a grass silage additive under two contrasting ensilability conditions. *Irish Journal of Agricultural and Food Research*, 47: 135–149.
2. Nagel, S. A. & Broderick, G. A. (1992) Effect of formic acid or formaldehyde treatment of alfalfa silage on nutritive utilization by dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 75:140-154.
3. Hristov, A. H. & Sandev, S. G. (1998) Proteolysis and rumen degradability of protein in alfalfa preserved as silage, wilted silage or hay. *Animal Feed Science and Technology*, 72:175-181.
4. Kung, L., Sheperd, A. C., Smagala, A. M., Endres, K. M., Bessett, C. A., Ranjit, N. K. & Glancey, J. L. (1998) The Effect of Preservatives Based on Propionic Acid on the Fermentation and Aerobic Stability of Corn Silage and a Total Mixed Ration. *Journal of Dairy Science*, 81: 1322-1330.
5. Derbyshire, J. C., Gordon, C. H. & Waldo, D. R. (1976) Formic acid as a silage preservative for milking cows. *Journal of Dairy Science*, 59:278-287.
6. O'Keily, P., Flynn, A. V. & Polle, D. B. R. (1989a) Sulphuric acid as silage preservative. 1. Silage preservation, animal performance and copper status. *Irish journal of Agriculture Research*, 28:1-9.
7. Stalling, C. C., Townes, R., Jesse, B. W. & Thomass, J. W. (1981) Changes in alfalfa haylage during wilting and ensiling with and without additives. *Journal of Animal Science*, 53:765-773.
8. Kung, L., Robinson, J. R., Ranjit, N. K., Chen, J. H., Golt, C. M. & Pesek, J. D. (2000) Microbial Populations, Fermentation End-Products, and Aerobic Stability of Corn Silage Treated with Ammonia or a Propionic Acid-Based Preservative. *Journal of Dairy Science*, 83: 1479-1486.
9. Salawu, M. B., Warren, E. H. & Adesogan, A. T. (2001) Fermentation characteristics, aerobic stability and ruminal degradation of ensiled pea/wheat bi-crop forages treated with two microbial inoculants, formic acid or quebracho tannins. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81:1263-1268.
10. Clancy, M., Wangsness, P. J. & baumgardt, B. R. (1976) Effect of silage extract on voluntary intake, rumen fluid constituents and rumen motility. *Journal of Dairy Science*, 60:580-590.
11. O'Keily, P., Flynn, A. V. & Polle, D. B. R. (1989b) Sulphuric acid as silage preservative. 2. Application rate, silage composition, animal performance and copper status. *Irish journal of Agriculture Research*, 28:11-23.
12. Van soest, P. J., Robertson, J. B. & Lewis, B. A. (1991) Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and non-starch polysaccharides in ration to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, 74:3583-3597
13. Behgar, M., Danesh Mesgaran, M. & Nasirimoghadam, H. (2004) Chemical composition of wilted and unwilted lucern silage treated with formic and sulphuric acids. *Proceeding of British society of Animal Science*. Pp: 173.
14. Verbic, J., Orskov, E. R., Zgajnar, J., Chen, X. B. & Zindrsic-Pongrac, V. (1999) The effect of method of forage preservation on the protein synthesis in the rumen. *Animal Feed Science and Technology*, 82:195-212.
15. Vagnoni, D. B. Broderick, G. A. & Muck, R. E. (1997) Preservation of protein in wilted lucerne using formic, sulphuric or trichloroacetic acid. *Grass and Forage Science*, 52:5–11.

www.SID.ir

Archive of SID

16. Phunstok, T., Zheng, M., Froetshel, M. A., Hunng, Y. M. & Amos, H. E. (1995) Silage poly amines: Quantitation and relationship to fermentation forage amino acid. Animal and Dairy Science Annual
17. Association of Official Analytical Chemists. (1998) Official Methods of Analysis. 16th ed. AOAC, Washingtown, Dc.
18. Vansant, E. S., Cohran, R. C. & Titgemeyer, E. C. (1998) Standardization of in situ techniques for ruminal feedstuff evaluation. *Journal of Dairy Science*, 76:2717-2729.
19. Wilkerson, V. A., Klopfenstein, T. J. & Stroup, W. W. (1995) A collaborative study of in situ forage protein degradation. *Journal of Animal Science*, 73:583-588.
20. NelsonW. F. & Saltter, L. D. (1992) Impact of state of maturity and method of preservation of alfalfa on digestion in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 75:1571.
21. Broderick, G. A. (1995) Performance of lactating dairy cows fed either alfalfa silage or alfalfa hay as a sole forage. *Journal of Dairy Science*, 78:320-329.
22. Baytok, E. & Muriz, H. (2003) The effect of formic acid or formic acid plus molass additives on the fermentation quality and DM and ADF degradability of grass silage. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Science*, 27:425-431.
23. O'Kiely, P. (1993) Influence of a Partially Neutralised Blend of Aliphatic Organic Acids on Fermentation, Effluent Production and Aerobic Stability of Autumn Grass Silage. *Irish Journal of Agricultural and Food Research*, 32: 13–26.

www.SID.ir