Archive of SID

تحقیقات تولیدات دامی

سال هفتم/شماره دوم/تابستان ۱۳۹۷ (۶۷-۵۵)

Animal Production Research

دانشگاه گیلان

اثر تلقیح باکتریایی و اسانس‌های نعناع، مرزه و زیره بر ترکیب شیمیایی، قابلیت هضم برون‌تنی و فراسنجه‌های تولید گاز آزمایشگاهی سیلاژ ذرت

فاطمه هادیان[۱]، فرزاد قنبری[۲*]، جواد بیات کوهسار[۲]، رضا راه چمنی[۲]

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس

۲- استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس

(تاریخ دریافت: ۹۶/۰۱/۲۹ - تاریخ پذیرش: ۹۷/۰۱/۲۷)

چکیده

این پژوهش به منظور بررسی تاثیر تیمارهای تلقیح باکتریایی (*لاکتوباسیلوس پلانتارم*، یک میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم علوفه تازه) و اسانس‌های نعناع، مرزه و زیره (۱۲۵ و ۲۵۰ میکرولیتر به ازای هر کیلوگرم علوفه تازه) بر ترکیب شیمیایی، فراسنجه‌های تولید گاز و قابلیت هضم برون‌تنی سیلاژ ذرت در قالب طرح کاملاً تصادفی (۸ تیمار و ۳ تکرار) انجام شد. گیاه کامل ذرت در مرحله دانه خمیری (حدود ۳۰ درصد ماده خشک) به وسیله خردکن (به صورت قطعات ۲ تا ۳ سانتی‌متری) برداشت شد. تهیه سیلاژ در کیسه‌های پلاستیکی دو لایه انجام شد. افزودنی‌ها در حین سیلو کردن روی ماده سیلویی اسپری شده و سیلوها بعد از ۴۵ روز باز شدند. ترکیب شیمیایی سیلاژ ذرت تحت تاثیر افزودنی‌ها قرار گرفت ($P<۰/۰۵$). تلقیح باکتریایی، اسانس نعناع (۲۵۰ میکرولیتر) و مرزه غلظت کربوهیدرات‌های محلول در آب را افزایش دادند. پروتئین خام در تیمارهای تلقیح باکتریایی و اسانس مرزه (۱۲۵ میکرولیتر) کاهش یافت. غلظت الیاف نامحلول در شوینده اسیدی با افزودن اسانس مرزه (۲۵۰ میکرولیتر) و زیره کاهش یافت. سطوح ۲۵۰ میکرولیتر اسانس‌های مرزه و زیره موجب کاهش حجم و پتانسیل تولید گاز شدند ($P<۰/۰۵$). غلظت انرژی قابل متابولیسم و اسیدهای چرب کوتاه زنجیر به وسیله سطح ۱۲۵ میکرولیتر نعناع افزایش یافت ($P<۰/۰۵$). تلقیح باکتریایی، قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی نمونه‌ها را در شرایط برون‌تنی افزایش داد ($P<۰/۰۵$). سطح ۱۲۵ میکرولیتر اسانس نعناع تولید توده میکروبی و بازده آن را افزایش داد ($P<۰/۰۵$). به‌طور کلی، تلقیح باکتریایی و سطح ۱۲۵ میکرولیتر اسانس نعناع در بهبود ارزش تغذیه‌ای سیلاژ ذرت موثر بودند.

واژه‌های کلیدی: اسانس، تلقیح باکتریایی، تولید گاز، قابلیت هضم برون تنی، سیلاژ

* نویسندهٔ مسئول: farzadghanbari@gonbad.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

نگهداری علوفه به صورت سیلاژ روشی مرسوم در تأمین منابع خوراکی نشخوارکنندگان است، به‌ویژه در مدت زمانی از سال که علوفه تازه در دسترس نیست (Mohammadzadeh *et al.*, 2012). برای به‌دست آوردن سیلاژ با کیفیت مطلوب و ماندگاری بالا، از افزودنی‌های مختلف سیلویی استفاده می‌شود (Church, 1990). هدف اصلی در استفاده از افزودنی‌ها این است که باکتری‌های اسید لاکتیکی در فرایند تخمیر غالب شده و با تولید اسید لاکتیک و کاهش سریع pH، منجر به تشکیل یک سیلاژ خوب شوند (دانش مسگران و همکاران، ۱۳۸۱).

تلقیح باکتریایی از جمله متداول‌ترین افزودنی‌های سیلاژ است. گزارش‌هایی مبنی بر تاثیر مثبت تلقیح باکتریایی در سیلاژ ارائه شده است (Xing *et al.*, 2009). تلقیح باکتریایی با کاهش pH و افزایش سطح اسید لاکتیک اثر مثبتی بر فرایند تخمیر در سیلو دارد (Aksu *et al.*, 2004). کاهش تعداد مخمرها و کپک‌ها و افزایش پایداری سیلاژ در مقابل هوا نیز در زمان استفاده از برخی از این افزودنی‌ها گزارش شده است (Filya *et al.*, 2004). انواع افزودنی‌های میکروبی قابل دسترس شامل *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* (*Lactobacillus acidophilus*)، *لاکتوباسیلوس بوخنری* (*Lactobacillus buchneri*) و *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* (*Lactobacillus plantarum*) هستند که به دلیل توانایی بالا در بهبود شرایط تخمیر قابل استفاده هستند (Mahala and Khalifa, 2007). افزودنی‌های باکتریایی به دلیل کاهش اسیدهای چرب فرار و تولید ترکیبات ضد قارچی و حفاظت سیلاژ در برابر کپک‌ها و قارچ ها، پایداری هوازی سیلاژ را افزایش می‌دهند (Filya, 2003).

اسانس‌ها دسته‌ای از روغن‌های فرار تشکیل شده از کمپلکس هیدروکربن‌ها (معمولاً ترپن‌ها) و دیگر مواد شیمیایی استخراج شده از همه بافت‌ها یا دانه‌های گیاهان هستند. استفاده از اسانس‌های گیاهی در تغذیه دام به علت ویژگی‌های ضدمیکروبی آن‌ها مفید است، اما تعیین تاثیر این ترکیبات بر تخمیر سیلاژ یک موضوع نسبتاً جدید محسوب می‌شود (Soycan-Onenc *et al.*, 2015).

بیان شده است که روغن‌های اسانسی حاصل از گیاهان معطر و دارویی دارای ویژگی‌های ضدمیکروبی انتخابی بوده و همچنین پتانسیل بالایی برای پیوند یافتن با پروتئین‌ها دارند. بنابراین این ترکیبات قادر به تاثیر بر میکروبیولوژی و تجزیه پروتئین در سیلاژ هستند (Aksu *et al.*, 2017). گزارش‌های محدودی در خصوص استفاده از اسانس‌های گیاهی به عنوان افزودنی سیلویی ارائه شده است. در یک مطالعه اسانس‌های رزماری، رازیانه و زنیان تاثیر قابل ملاحظه‌ای بر ارزش تغذیه‌ای سیلاژ ذرت نداشتند (مقصودلو و همکاران، ۱۳۹۵). در مطالعه‌ای دیگر مشاهده شد که مخلوطی از اسانس‌ها تاثیری بر جمعیت میکروبی، تخمیر، فراورده‌های نهایی و پایداری هوازی سیلاژ ذرت نداشت (Kung *et al.*, 2008). در یک پژوهش مشاهده شد که در سیلاژ ذرت تهیه شده با افزودنی اسانس پونه کوهی، پتانسیل تولید گاز، انرژی قابل متابولیسم، اسیدهای چرب کوتاه زنجیر و قابلیت هضم ماده آلی نسبت به تیمار شاهد بالاتر بود (قربانی و همکاران، ۱۳۹۵). در تحقیقی دیگر، مخلوط اسانس‌های گیاهی سبب تغییر غلظت اسیدهای چرب فرار و کاهش جمعیت مخمرها در سیلاژ جو شد (Chavez *et al.*, 2011). پژوهشگران بیان کردند که می‌توان اسانس دارچین را به عنوان افزودنی سیلویی جایگزین اسیدهای آلی نمود (Soycan-Onenc *et al.*, 2015). در یک مطالعه دیگر بیان شد که پودر گیاه آویشن می‌تواند به عنوان یک افزودنی سیلویی مورد توجه قرار گیرد، زیرا دارای ترکیبات موثر فنولی بوده و می‌تواند از رشد میکروارگانیسم‌های مضر سیلاژ مانند انتروباکترها، مخمر و کپک‌ها جلوگیری کند (Aksu *et al.*, 2017). هدف از انجام این پژوهش، بررسی تأثیر تلقیح باکتریایی و اسانس‌های نعناع، مرزه و زیره بر ترکیب شیمیایی، قابلیت هضم برون‌تنی و فراسنجه‌های تولید گاز در سیلاژ ذرت بود.

مواد و روش‌ها

تهیه سیلاژ و نحوه اعمال تیمارها: ذرت سیلویی مورد نیاز برای انجام این پژوهش از مزارع شهرستان گنبد کاووس استان گلستان جمع‌آوری شد. همچنین، اسانس‌های مورد آزمایش از شرکت گیاهان دارویی گلبرگ تهیه شد. اسانس‌ها به روش استخراج با آب و به وسیله دستگاه کلونجر تهیه شدند.

گیاه کامل ذرت در مرحله دانه خمیری (در حدود ۳۰ درصد ماده خشک) به وسیله دستگاه خردکن (به صورت قطعات ۲ تا ۳ سانتی‌متری) برداشت شد. عمل سیلو

www.SID.ir

Archive of SID

کردن در کیسه‌های پلاستیکی دو لایه انجام شد. اسانس-های نعناع، مرزه و زیره در دو سطح ۱۲۵ و ۲۵۰ میکرولیتر و نیز تلقیح باکتریایی[1] به میزان یک میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم علوفه تازه در حین سیلو کردن به مواد سیلویی اضافه شدند؛ به‌طوری‌که بعد از ریختن هر لایه علوفه سیلویی، افزودنی مورد نظر اضافه شده و با علوفه مخلوط، و به خوبی فشرده شد. این عمل برای تمام تیمارها تا زمان پر شدن کامل کیسه‌ها انجام شد. بعد از پر شدن کیسه‌ها، درب آن‌ها بسته شد. در روز ۴۵ بعد از سیلو کردن، نمونه‌گیری از تیمارهای مختلف به منظور اندازه‌گیری ترکیب شیمیایی، آزمون تولید گاز و برآورد قابلیت هضم سیلاژ در شرایط برون تنی سیلاژ ذرت انجام شد.

تعیین ترکیب شیمیایی: ترکیب شیمیایی نمونه‌های مورد مطالعه شامل ماده خشک، خاکستر، پروتئین خام، کربوهیدرات محلول در آب (AOAC, 2005)، الیاف نامحلول در شوینده خنثی[2] و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی[3] (Van Soest *et al*., 1991) تعیین شد.

آزمون تولید گاز: به منظور اندازه‌گیری مقدار گاز تولیدی تیمارهای مختلف، از آزمون تولید گاز استفاده شد (Menke *et al*., 1979). بدین منظور از فشارسنج و ویال-های شیشه‌ای حاوی بزاق مصنوعی و مایع شکمبه صاف شده استفاده شد. ابتدا نمونه‌های مختلف سیلاژ ذرت با آسیاب چکشی دارای الک یک میلی‌متری آسیاب شدند. سپس مقدار ۲۰۰ میلی‌گرم ماده خشک از هر نمونه داخل ویال‌های شیشه‌ای ریخته شد. برای هر نمونه سه تکرار در نظر گرفته شد. سه ویال هم بدون نمونه و به عنوان شاهد در نظر گرفته شد، به‌طوری که کلیه مراحل بعدی روی ویال‌های شاهد نیز انجام گرفت. مایع شکمبه قبل از خوراک‌دهی صبح از چهار رأس گوسفند نر نژاد دالاق (۲/۵± ۴۵ کیلوگرم) دارای فیستولای شکمبه‌ای جمع-آوری شد. سپس این مایع به وسیله پارچه مخصوص صاف، و در یک ارلن درب‌دار ریخته شد. پس از وارد نمودن گاز دی اکسید کربن، ارلن در حمام آب گرم ۳۹ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. ویال‌های شیشه‌ای در فواصل زمانی معین و مساوی تکان داده شدند. از روش فشار گاز برای اندازه‌گیری گاز تولیدی استفاده شد. فشار گاز در فواصل زمانی ۲، ۴، ۸، ۱۲، ۲۴، ۳۶، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت پس از انکوباسیون با استفاده از فشارسنج و به دنبال آن با استفاده از سرنگ، حجم گاز اندازه‌گیری شد. برآورد فراسنجه‌های تولید گاز با استفاده از نرم‌افزار Fit curve و رابطه زیر انجام شد (Ørskov and McDonald, 1979):

$$y= b (۱ - e^{-ct})$$

در این رابطه: y= گاز تولید شده در زمان t؛ b= تولید گاز از بخش نامحلول قابل تخمیر؛ e=عدد نپر؛ c= ثابت نرخ تولید گاز برای بخش b؛ و t= زمان کشت است.

مقادیر انرژی قابل متابولیسم[4]، قابلیت هضم ماده آلی[5] و اسیدهای چرب کوتاه زنجیر[6] نمونه‌ها با استفاده از روابط زیر برآورد شدند (Menke and Steingass, 1988; Getachew *et al*., 2002):

$$ME = ۲/۲۰+۰/۱۳۶ GP + ۰/۰۵۷ CP + ۰/۰۰۲۹ CF$$

$$OMD = ۱۴/۸۸+۰/۸۸۹GP+ ۰/۴۵CP + ۰/۰۶۵۱XA$$

$$SCFA = ۰/۰۲۲۲GP - ۰/۰۰۴۲۵$$

در این روابط: ME: انرژی قابل متابولیسم (مگاژول در کیلوگرم ماده خشک)، GP: میزان تولید گاز خالص بعد از ۲۴ ساعت (میلی‌لیتر به ازاء ۲۰۰ میلی‌گرم ماده خشک)، CP: پروتئین خام (درصد از ماده خشک)، CF: الیاف خام (درصد از ماده خشک)، OMD: قابلیت هضم ماده آلی، SCFA: اسیدهای چرب کوتاه زنجیر (میلی مول به ازاء ۲۰۰ میلی‌گرم ماده خشک) و XA: میزان خاکستر (درصد از ماده خشک) هستند.

برآورد قابلیت هضم برون‌تنی: قابلیت هضم محاسبه شده در بخش آزمون تولید گاز در حقیقت یک فراسنجه تخمینی است که در آن بر اساس مقدار گاز تولید شده و ترکیب شیمیایی نمونه مورد نظر، قابلیت هضم ماده آلی آن برآورد شده است. اما در این بخش، اندازه‌گیری قابلیت هضم ماده آلی و ماده خشک به صورت حقیقی و بر اساس روش کشت بسته انجام شد (Theodorou *et al*., 1984). بدین منظور، ابتدا نمونه‌ها به اندازه یک میلی‌متر آسیاب و سپس خشک شدند. روش تهیه بزاق مصنوعی و جمع-

1. در هر ۸×۱۰^{۱۰} cfu لاکتوباسیلوس پلانتارم (ساخت کشور انگلستان)
2. Neutral Detergent Fiber (NDF)
3. Acid Detergent Fiber (ADF)
4. Metabolizable Energy (ME)
5. Organic Matter Digestibility (OMD)
6. Short Chain Fatty Acid (SCFA)

www.SID.ir

Archive of SID

آوری مایع شکمبه مطابق آنچه در آزمون تولید گاز شرح داده شد، صورت گرفت، با این تفاوت که در آزمایش تعیین قابلیت هضم، داخل هر یک از ویال‌های شیشه‌ای ۵۰۰ میلی‌گرم از هر نمونه ریخته شده و ۵۰ میلی‌لیتر از مخلوط بزاق مصنوعی و مایع شکمبه به نسبت ۲ به ۱ (۲ حجم بزاق مصنوعی و ۱ حجم مایع شکمبه) به داخل هر ویال اضافه شد. سپس، به مدت ۱۰ ثانیه به داخل هر ویال شیشه‌ای، گاز دی اکسید کربن وارد نموده و درب آن به کمک درپوش لاستیکی و پوشش آلومینیومی به طور کامل بسته شد. ویال‌ها درون حمام آب گرم در دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد قرار گرفته و در فواصل زمانی معین و مساوی تکان داده شدند. بعد از گذشت ۲۴ ساعت، تمامی ویال‌ها از حمام آب گرم خارج شده و به ظرف حاوی یخ منتقل شدند. نمونه‌های موجود در هر ویال، با استفاده از پارچه مخصوص صاف شده و محتویات هضم نشده از فاز مایع جدا شد. سپس pH فاز مایع نمونه‌ها اندازه‌گیری شد. محتویات هضم نشده هر ویال جمع‌آوری شده و درون کروزه‌های با وزن مشخص انتقال یافت. کروزه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در آون با درجه حرارت ۶۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند تا وزن خشک نمونه‌های هضم شده تعیین شود. سپس کروزه‌های حاوی محتویات هضم نشده به‌مدت ۶ ساعت در کوره با دمای ۵۴۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. این کار به منظور تعیین مقدار خاکستر مواد هضم نشده موجود در کروزه‌ها انجام شد.

فراسنجه‌های تخمیر شکمبه با روش برون‌تنی: غلظت نیتروژن آمونیاکی نمونه‌ها با استفاده از روش فنل-هیپوکلریت[1] تعیین شد (Broderik and Kang, 1980). بدین منظور از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۳۰ نانومتر جهت قرائت جذب نوری استفاده شد. محاسبه توده میکروبی تولید شده با استفاده از رابطه زیر انجام شد (Makkar, 2010):

$$MB = GP \times (PF - ۲/۲)$$

MB = تولید توده میکروبی (میلی‌گرم)

GP= میزان تولید گاز خالص بعد از ۲٤ ساعت (میلی‌لیتر)

PF= عامل تفکیک (میلی‌گرم در میلی‌لیتر)

عامل تفکیک[2] برابر با نسبت میلی‌گرم ماده آلی حقیقی هضم شده بر میلی‌لیتر حجم گاز خالص تولیدی است. بازده مقدار توده میکروبی[3] با تقسیم توده میکروبی تولید شده بر مقدار ماده آلی حقیقی قابل تخمیر در پایان زمان انکوباسیون (۲۴ ساعت) محاسبه شد. لازم به ذکر است که بازده تولید گاز به صورت حجم گاز تولید شده به گرم ماده خشک ناپدید شده در مدت زمان ۲۴ ساعت محاسبه شد.

تجزیه آماری داده‌ها: تجزیه واریانس داده‌های حاصل از این پژوهش در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. پردازش داده‌ها با استفاده از رویه GLM نرم‌افزار آماری SAS نسخه ۹/۱ (SAS, 2003) انجام شد. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار[4] استفاده شد.

نتایج و بحث

ترکیب شیمیایی سیلاژ: مقایسه میانگین ترکیب شیمیایی تیمارهای مختلف در جدول ۱ نشان داده شده است. مقدار pH، ماده خشک و نیتروژن آمونیاکی در میان تیمارها تفاوت معنی‌داری نداشت. سایر صفات تحت تاثیر تیمارهای مختلف قرار گرفتند ($P<۰/۰۵$). تلقیح باکتریایی، غلظت خاکستر را نسبت به تیمار شاهد کاهش داد، در حالی که اسانس‌ها تاثیری بر این صفات نداشتند. احتمالاً محتوای بالاتر خاکستر در تیمار تلقیح باکتریایی به دلیل تغییر نسبت سایر مواد مغذی است (Amanullah *et al*., 2014). موافق با نتایج پژوهش حاضر، در یک مطالعه، تلقیح باکتریایی سبب افزایش غلظت خاکستر در سیلاژ جو شد (Amanullah *et al*., 2014). تلقیح باکتریایی باعث کاهش غلظت پروتئین خام نسبت به شاهد شد (۶/۸۲ در برابر ۷/۸۷ درصد). پروتئین خام کمتر در سیلاژ تهیه شده با افزودنی باکتریایی قابل انتظار نیست؛ چرا که بر اساس پژوهش‌های انجام گرفته، افزودنی باکتریایی باعث محافظت بهتر پروتئین خام می‌شود، اما افزودنی باکتریایی مورد استفاده در پژوهش حاضر اکوسایل (حاوی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*) بود. گزارش

1. Phenol Hypochlorite Assay

2. Partitioning Factor (PF)
3. Efficiency Microbial Biomass (EMB)
4. Least Significant Difference (LSD)

www.SID.ir

Archive of SID

شده است که برخی از سویه‌های این باکتری‌ها قادر به کاتابولیسم اسیدهای آمینه و تولید نیتروژن آمونیاکی هستند (صیدالی دولت آباد و همکاران، ۱۳۹۴). برخلاف تلقیح باکتریایی، اسانس‌ها سبب افزایش غلظت پروتئین خام در سیلاژ ذرت شدند (۸/۵۷ درصد). اسانس‌ها از راه چندین ساز و کار بر تجزیه پروتئین در سیلاژ تاثیر می‌گذارند. آن‌ها از فعالیت گونه پری وتلا[1] که باعث تجزیه پروتئین‌ها و پپتیدها می‌شود، جلوگیری می‌کنند (قربانی و همکاران، ۱۳۹۵). فعالیت ضدمیکروبی روغن‌های اسانسی سبب ایجاد محدودیت در فرایند تخمیر و جلوگیری از تجزیه پروتئین در جریان تهیه سیلاژ می‌شود (Aksu *et al*., 2017). همچنین، بیان شده است که اسانس‌ها از راه جلوگیری از اتلاف ماده خشک باعث حفظ پروتئین خام سیلاژ می‌شوند (Soycan-Onenc *et al*., 2015). موافق با این پژوهش، در یک مطالعه استفاده از اسانس پونه باعث افزایش پروتئین خام سیلاژ ذرت شد. غلظت الیاف نامحلول در شوینده اسیدی به وسیله سطوح ۱۲۵ و ۲۵۰ میکرولیتر اسانس زیره از ۴۱/۳۳ درصد در شاهد به ترتیب به میزان ۳۶/۰۰ و ۳۳/۳۳ درصد ماده خشک کاهش پیدا کرد. از آنجایی که در پژوهش حاضر غلظت الیاف نامحلول در شوینده خنثی بین تیمارها و شاهد یکسان بود، بدین ترتیب به نظر می‌رسد که اسانس‌ها با کاهش محتوی همی‌سلولز سیلاژ ذرت سبب کاهش مقدار الیاف نامحلول در شوینده اسیدی شده‌اند. در یک پژوهش، استفاده از اسانس دارچین باعث کاهش مقدار همی‌سلولز در سیلاژ نخود فرنگی شد (Soycan-Onenc *et al*., 2015). کاهش غلظت الیاف نامحلول در شوینده خنثی (NDF) در اثر استفاده از اسانس نعناع به هیدرولیز شدن جزئی همی‌سلولز یا فعالیت باکتری‌های فیبرولایتیک نسبت داده شده است (قربانی و وکیلی، ۱۳۹۳). در یک تحقیق، مشاهده شد که استفاده از سطح ۲۵۰ میکرولیتر اسانس رازیانه باعث کاهش مقدار الیاف نامحلول در شوینده اسیدی در سیلاژ ذرت شد (مقصودلو و همکاران، ۱۳۹۵). در مطالعه دیگری، استفاده از اسانس گیاه دارچین باعث کاهش مقدار لیگنین در سیلاژ نخود فرنگی شد (Soycan-Onenc *et al*., 2015). بر خلاف پژوهش حاضر، در دو مطالعه انجام شده، افزودن اسانس گیاهان مختلف تاثیری بر میزان الیاف نامحلول در شوینده اسیدی سیلاژهای ذرت و جو نداشت (قربانی و همکاران، ۱۳۹۵؛ Chavez *et al*., 2011).

سطح ۱۲۵ میکرولیتر اسانس‌های نعناع و زیره، غلظت کربوهیدرات‌های محلول در آب را در مقایسه با سیلاژ شاهد (۱۶/۹ درصد ماده خشک) کاهش داد (به ترتیب ۱۴/۸۳ و ۹/۸۶ درصد). در حالی که تیمارهای تلقیح باکتریایی، سطح ۲۵۰ میکرولیتر نعناع و سطوح ۱۲۵ و ۲۵۰ میکرولیتر مرزه، مقدار آن را افزایش دادند (به ترتیب ۲۵/۰۸، ۱۹/۲۲، ۱۹/۹۶ و ۳۶/۳۶ درصد ماده خشک). کربوهیدارت‌های محلول در آب سوبسترای ضروری برای رشد باکتری‌های تولیدکننده اسید لاکتیک و در نتیجه تخمیر مناسب هستند. سطوح پایین‌تر کربوهیدرات محلول در آب ممکن است سبب محدودیت در رشد باکتری‌های تولیدکننده اسید لاکتیک شود (مقصودلو و همکاران، ۱۳۹۵). در پژوهش حاضر، مقدار pH سیلاژ به‌جز روز ۴۵ که در این پژوهش داده های آن مقایسه و ارائه شده‌اند، در روزهای ۳، ۷ و ۲۱ نیز اندازه‌گیری شد. در روزهای ابتدایی تهیه سیلاژ و در فاز هوازی، سرعت افت pH در تیمار دارای افزودنی باکتریایی بیشتر بود که این تاثیر خود را به صورت حفظ مواد مغذی از جمله کربوهیدرات‌ها نشان داده است. Rowghani *et al*. (2008) افزایش غلظت کربوهیدرات های محلول در آب را در نتیجه استفاده از تلقیح باکتریایی (*لاکتوباسیلوس پلانتاروم*) مشاهده کردند که این افزایش را به غلظت بالاتر اسید در سیلاژ حاوی تیمار تلقیح باکتریایی نسبت به شاهد نسبت دادند. در مطالعات دیگری، استفاده از اسانس‌های دارچین (Chavez *et al*., 2011)، پونه کوهی (Soycan-Onenc *et al*., 2015) و رزماری (مقصودلو و همکاران، ۱۳۹۵) باعث افزایش کربوهیدارت‌های محلول در سیلاژ نخود فرنگی و ذرت شد.

تولید گاز و کینتیک تولید گاز: تأثیر تلقیح باکتریایی و اسانس‌های نعناع، مرزه و زیره بر روند تولید گاز حاصل از تخمیر آزمایشگاهی سیلاژ ذرت در ساعات مختلف انکوباسیون در جدول ۲ نشان داده شده است. تیمار تلقیح باکتریایی در ۲۴ ساعت اول پس از انکوباسیون، تولید گاز

1. *Prevotella*

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱ - تأثیر تلقیح باکتریایی و اسانس‌های نعناع، مرزه و زیره بر ترکیب شیمیایی سیلاژ ذرت

Table1. Effect of bacterial inoculation and essential oils of spearmint, serviceberry and cumin on chemical composition of corn silage

Treatment	DM (%)[1]	Ash%	CP (%)[2]	NDF (%)[3]	ADF (%)[4]	NH3-N (mg/dl)[5]	WSC (%)[6]	pH
Control	22.24	5.40^{b}	7.87^{a}	61.33^{ab}	41.33^{ab}	2.93	16.92^{d}	3.41
Bacterial inoculation	22.25	6.72^{a}	6.82^{c}	57.33^{b}	41.66^{ab}	3.04	25.08^{b}	3.45
Spearmint (125 µl)	23.25	6.05^{ab}	8.57^{a}	60.00^{ab}	40.00^{abc}	3.02	14.83^{e}	3.45
Spearmint (250 µl)	22.51	5.70^{ab}	8.57^{a}	58.00^{b}	42.66^{a}	3.72	19.22^{c}	3.46
Serviceberry (125 µl)	23.53	5.71^{ab}	7.87^{b}	59.33^{ab}	38.00^{abcd}	2.88	19.96^{c}	3.44
Serviceberry (250 µl)	22.53	5.76^{ab}	8.57^{a}	66.66^{ab}	37.00^{bcd}	2.72	36.36^{a}	3.43
Cumin (125 µl)	23.03	6.33^{ab}	8.57^{a}	66.66^{ab}	36.00^{dc}	3.01	9.86^{f}	3.42
Cumin (250 µl)	22.09	5.41^{b}	8.57^{a}	69.66^{a}	33.33^{d}	3.03	17.12^{d}	3.44
SEM	0.480	0.428	1.886	2.394	3.728	0.214	0.334	0.021
P value	0.36	0.39	0.0001	0.92	0.03	0.89	0.0001	0.84

[a-f] Different superscript letters in the same column represent a significant difference ($P<0.05$)

[1]Dry matter, [2]Crude protein, [3]Neutral detergent fiber, [4]Acid detergent fiber, [5]Ammoniacal nitrogen, [6]Water soluble carbohydrate

بالاتری نسبت به تیمار شاهد داشت ($P<۰/۰۵$). حجم گاز تولیدی پس از ۹۶ ساعت انکوباسیون در سیلاژ تهیه شده با سطح ۲۵۰ میکرولیتر از اسانس‌های زیره و مرزه کمتر از سایر تیمارها بود ($P<۰/۰۵$). نتایج مربوط به تأثیر تلقیح باکتریایی و اسانس‌های نعناع، مرزه و زیره بر مقادیر فراسنجه‌های تولید گاز و فراسنجه‌های تخمینی سیلاژ ذرت در جدول ۳ ارائه شده است. سیلاژهای حاوی اسانس مرزه (۲۵۰ میکرولیتر) و زیره (۲۵۰ میکرولیتر) باعث کاهش پتانسیل تولید گاز نسبت به تیمار شاهد شدند ($P<۰/۰۵$). مطالعه‌ای نشان داد که سطح ۲۵۰ میکرولیتر اسانس زنیان سبب کاهش پتانسیل تولید گاز سیلاژ ذرت شد (مقصودلو و همکاران، ۱۳۹۵). همچنین در بین سایر تیمارها از نظر این صفت اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. علت کاهش پتانسیل تولید گاز در نتیجه استفاده از اسانس‌ها به عنوان افزودنی سیلویی در مطالعات محدود صورت گرفته به وضوح بیان نشده است، اما اشاره شده که کاهش پتانسیل تولید گاز می‌تواند به دلیل خاصیت ضدمیکروبی اسانس‌ها باشد که با محدود کردن فعالیت میکروارگانسیم‌ها از تولید گاز جلوگیری می‌کند (مقصودلو و همکاران، ۱۳۹۵). در پژوهش حاضر، ثابت نرخ تولید گاز در تیمارهای تلقیح باکتریایی، نعناع (۱۲۵ میکرولیتر) و زیره (۱۲۵ و ۲۵۰ میکرولیتر) افزایش یافت ($P<۰/۰۵$). بیان شده است که احتمالاً افزودنی‌های باکتریایی با آنزیم‌های خارج سلولی باعث گسست پیوندهای دیواره سلولی می‌شوند. لذا به محض اینکه نمونه مورد نظر در اختیار میکروارگانیسم‌های شکمبه قرار گرفت، با کارایی بالاتری مورد استفاده قرار گرفته و نرخ تولید گاز بالاتر می‌رود (Amanullah *et al.*, 2014). در یک مطالعه، سطوح ۱۲۵ و ۲۵۰ میکرولیتر اسانس‌های رزماری، رازیانه و زنیان ثابت نرخ تولید گاز را افزایش دادند (مقصودلو و همکاران، ۱۳۹۵). قابلیت هضم ماده آلی، اسیدهای چرب کوتاه زنجیر و انرژی قابل متابولیسم به وسیله سطح ۱۲۵ میکرولیتر اسانس نعناع افزایش پیدا کردند ($P<۰/۰۵$). در خصوص چگونگی افزایش نرخ تولید گاز و فراسنجه‌های تخمینی در اثر استفاده از روغن‌های اسانسی گزارشی در منابع علمی یافت نشد.

موافق با نتایج این تحقیق، در یک پژوهش، افزایش مقدار قابلیت هضم ماده آلی، اسیدهای چرب کوتاه زنجیر و انرژی قابل متابولیسم در ذرت سیلو شده با سطوح ۱۲۵ و ۲۵۰ میکرولیتر از اسانس‌های رزماری، رازیانه و زنیان مشاهده شد که دلیل آن بیان نشد (مقصودلو و همکاران، ۱۳۹۵).

قابلیت هضم و فراسنجه‌های تخمیر آزمایشگاهی: تأثیر تلقیح باکتریایی و اسانس‌های نعناع، مرزه و زیره بر قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی، نیتروژن آمونیاکی، pH و فراسنجه‌های تخمینی سیلاژ ذرت در جدول ۴ ارائه شده است. تیمار تلقیح باکتریایی باعث افزایش ($P<۰/۰۵$) قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی نسبت به شاهد شد (به ترتیب ۶۲ و ۶۵ درصد در برابر ۵۶ و ۶۰ درصد)، اما اسانس‌ها تاثیری بر قابلیت هضم نداشتند. در یک پژوهش، استفاده از افزودنی *لاکتوباسیلوس پلانتارم* به عنوان افزودنی، باعث افزایش قابلیت هضم برون‌تنی ماده خشک سیلاژ گراس‌ها شد. دلیل این نتیجه، کاهش مقدار دیواره سلولی و الیاف نامحلول در شوینده خنثی در اثر تلقیح باکتریایی بیان شد (Jalk *et al.*, 2009). هر چند در پژوهش حاضر نیز به طور غیرمعنی‌دار، مقدار الیاف

www.SID.ir

Archive of SID

نامحلول در شونده خنثی در تیمار تلقیح باکتریایی کمتر از شاهد بود. موافق با نتایج پژوهش حاضر، در مطالعه‌ای استفاده از اسانس‌های رزماری، رازیانه و زنیان در هنگام تهیه سیلاژ، تاثیری بر قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی سیلاژ ذرت نداشت (مقصودلو و همکاران، ۱۳۹۵). با توجه به این که ترکیباتی مانند تیمول و کارواکرول در سطوح بالا اثرات ضد میکروبی غیر اختصاصی دارند (علیه طیف وسیعی از میکروارگانیسم‌ها عمل می‌کنند)، احتمالاً سبب کاهش فعالیت گروه‌هایی از باکتری‌ها شده‌اند که در هضم خوراک دخیل هستند (Feizi *et al*., 2007).

اسانس‌های نعناع، مرزه و زیره باعث کاهش مقدار نیتروژن آمونیاکی محیط کشت شدند ($P<۰/۰۵$). افزودنی‌ها تأثیری بر مقدار pH محیط کشت شکمبه نداشتند که مطابق با پژوهش انجام گرفته قبلی بود (مقصودلو و همکاران، ۱۳۹۵). مقدار عامل تفکیک در تیمار شاهد ۳/۲۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بدست آمد و تیمار نعناع (۱۲۵ میکرولیتر) مقدار این عامل را افزایش داد (۳/۶۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر). سایر تیمارها اختلافی با شاهد نداشتند. عامل تفکیک بیان‌کننده نسبت تجزیه واقعی سوبسترا به حجم گاز تولیدی در دوره‌های زمانی انکوباسیون (معمولاً ۲۴ یا ۴۸ ساعت) است. هر اندازه مقدار عامل تفکیک بالا باشد، نشان‌دهنده این است که ماده آلی تجزیه شده بیشتر به سمت تولید توده میکروبی رفته تا تولید اسیدهای چرب فرار (Blümmel *et al*., 1997). در یک پژوهش، با اینکه مقدار گاز تولیدی در اثر افزودن اسانس کاهش یافت، اما توده میکروبی افزایش یافت. این پدیده می‌تواند به این دلیل باشد که ماده آلی تجزیه شده به جای اینکه به سمت تولید اسید چرب و گاز برود، بیشتر باعث تولید توده میکروبی شده است (Talebzadeh *et al*., 2012). به طور نسبی اگر تبدیل ماده آلی هضم شده به توده میکروبی در مقایسه با تولید گاز بیشتر باشد، بازدهی استفاده از کربن و نیتروژن افزایش می‌یابد (Makkar, 2010).

بازده تولید گاز (میلی‌لیتر گاز تولید شده به ازای گرم ماده خشک ناپدید شده) در تیمار شاهد اختلافی با تیمارهای نعناع (۲۵۰ میکرولیتر) و مرزه (۱۲۵ میکرولیتر) نداشت. سایر تیمارها سبب کاهش این صفت شدند ($P<۰/۰۵$) و کمترین مقدار این صفت در تیمار نعناع (۱۲۵ میکرولیتر) مشاهده شد. هر چند که اختلاف آن با تیمارهای تلقیح باکتریایی، مرزه (۲۵۰ میکرولیتر) و زیره (۱۲۵ و ۲۵۰ میکرولیتر) معنی‌دار نبود. کاهش غیر معنی‌دار بازده تولید گاز در اثر استفاده از دزهای ۱۲۵ و ۲۵۰ میکرولیتر اسانس زنیان به عنوان افزودنی در سیلاژ ذرت مشاهده شده است (مقصودلو و همکاران، ۱۳۹۵). هر چه مقدار این فراسنجه کمتر باشد، بدین معنی است که سهم بیشتری از ماده خشک به توده میکروبی وارد شده است (مقصودلو و همکاران، ۱۳۹۵). مقدار توده میکروبی و بازده توده میکروبی تولید شده در پایان ۲۴ ساعت انکوباسیون به ترتیب ۹۰/۱۱ و ۰/۳۱ بدست آمد. تیمار نعناع (۱۲۵ میکرولیتر) باعث افزایش ($P<۰/۰۵$) این صفات شد (به ترتیب ۱۱۳/۷۲ و ۰/۳۹). سایر تیمارها اختلافی با شاهد نداشتند. در فاز تاخیر، جمعیت میکروبی برای تشکیل توده میکروبی روی ذرات خوراکی رشد و تکثیر می‌یابند. این رویه برای هضم مواد غیر محلول خوراکی لازم است (Aharoni *et al*., 1998). نشان داده شده است که ترکیبات فنولیک مانند کارواکرول و تیمول از هضم بخش‌های محلول مواد خوراکی (Dehority, 2003) و همچنین اتصال باکتری‌ها به بخش‌های غیرمحلول مواد خوراکی جلوگیری می‌کنند (McAllister *et al*., 1994). گزارش شده است که ساختار فنولیک می‌تواند با تخریب دیواره سلولی، غیرفعال کردن آنزیم‌ها و کم کردن سوبسترا و یون‌های فلزی، شرایط لازم که برای سوخت و ساز سلولی مورد نیاز است را موجب شود (Goel *et al*., 2005).

کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی به خاصیت ضدمیکروبی روغن‌های اسانسی نسبت داده شده است (البته به شرط آنکه اسانس‌های اضافه شده به سیلاژ بتوانند فعالیت خود را در داخل شکمبه نیز حفظ کنند و ادامه دهند). این خاصیت باعث محدودیت در فرایند تخمیر شده و در نتیجه تجزیه پروتئین به آمونیاک کاهش می‌یابد. همچنین بیان شده است که ترکیبات موثره موجود در روغن‌های اسانسی قادر به باند شدن با پروتئین‌ها هستند که این اتلاف نیتروژن را کاهش می‌دهد (Aksu *et al*., 2017).

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۲- اثر تلقیح باکتریایی و اسانس‌های نعناع، مرزه و زیره بر روند تولید گاز حاصل از تخمیر آزمایشگاهی سیلاژ ذرت در زمان‌های مختلف انکوباسیون (میلی‌لیتر در گرم ماده خشک)

Table 2. Effect of bacterial inoculation and essential oils of spearmint, serviceberry and cumin on *in vitro* gas production of corn silage at different times of incubation (ml/g DM)

Incubation time (h) Treatment	2	4	6	8	12	24	36	48	72	96
Control	19.66^{bc}	29.33^{c}	44.33^{dce}	63.33^{bc}	93.33^{bc}	140.66^{bc}	173.16^{bc}	203.16^{abc}	232.33^{a}	251.00^{a}
Bacterial inoculation	29.00^{a}	39.83^{a}	56.60^{a}	77.66^{a}	109.33^{a}	152.66^{ab}	187.33^{ab}	207.33^{a}	234.83^{a}	254.83^{a}
Spearmint (125 µl)	20.00^{bc}	28.16^{dc}	48.16^{bcd}	71.00^{ab}	104.50^{ab}	160.33^{a}	197.00^{a}	218.66^{a}	240.33^{a}	256.16^{a}
Spearmint (250 µl)	25.00^{ab}	35.83^{ab}	52.50^{ab}	67.50^{abc}	97.50^{abc}	141.66^{bc}	175.00^{bc}	206.66^{ab}	233.33^{a}	251.16^{a}
Serviceberry (125 µl)	19.00^{c}	28.66^{dc}	39.16^{e}	62.50^{bc}	94.16^{bc}	147.50^{abc}	187.50^{ab}	210.50^{a}	231.33^{a}	248.33^{a}
Serviceberry (250 µl)	13.33^{d}	23.33^{d}	43.33^{de}	59.83^{c}	87.50^{c}	135.00^{c}	170.00^{bc}	190.00^{bc}	210.00^{b}	225.83^{b}
Cumin (125 µl)	23.00^{bc}	33.00^{bc}	51.66^{abc}	71.50^{ab}	103.16^{ab}	149.83^{abc}	188.16^{ab}	214.83^{a}	238.83^{a}	255.16^{a}
Cumin (250 µl)	21.16^{bc}	32.00^{bc}	48.50^{abcd}	63.50^{bc}	91.83^{bc}	134.33^{c}	164.33^{c}	189.33^{c}	209.33^{b}	226.33^{b}
SEM	1.868	1.957	2.683	3.527	4.694	5.463	6.225	5.744	5.830	5.268
P value	0.001	0.001	0.007	0.039	0.063	0.046	0.024	0.019	0.004	0.002

[a-e] Different superscript letters in the same column represent a significant difference ($P<0.05$)

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۳- اثر تلقیح باکتریایی و اسانس‌های نعناع، مرزه و زیره بر فراسنجه‌های تولید گاز سیلاژ ذرت

Table 3. Effect of bacterial inoculation and essential oils of spearmint, serviceberry and cumin on gas production parameters of corn silage

Treatment	b (ml) [1]	c (ml/h) [2]	OMD (%)[3]	ME (MJ/Kg)[4]	SCFA (mmol/200 mg DM)[5]
Control	257.83^{a}	0.032^{c}	40.020^{bc}	10.950^{bc}	0.620^{bc}
Bacterial inoculation	248.76^{a}	0.041^{a}	42.165^{ab}	10.271^{e}	0.673^{ab}
Spearmint (125 µl)	259.50^{a}	0.039^{ab}	43.535^{a}	11.485^{a}	0.707^{a}
Spearmint (250 µl)	254.13^{a}	0.035^{bc}	40.199^{bc}	10.977^{bc}	0.624^{bc}
Serviceberry (125 µl)	258.30^{a}	0.034^{bc}	41.241^{abc}	10.734^{cd}	0.650^{abc}
Serviceberry (250 µl)	229.96^{b}	0.036^{bc}	39.010^{c}	10.394^{cd}	0.595^{c}
Cumin (125 µl)	256.46^{a}	0.038^{ab}	41.659^{abc}	11.199^{ab}	0.661^{abc}
Cumin (250 µl)	226.03^{b}	0.038^{ab}	38.889^{c}	10.777^{bcd}	0.592^{c}
SEM	4.642	0.001	0.975	0.148	0.0237
P value	0.0002	0.029	0.046	0.0005	0.046

[a-e] Different superscript letters in the same column represent a significant difference ($P<0.05$)
[1]Gas production potential, [2]Gas production rate, [3] Organic matter digestibility, [4]Metabolizable energy, [5] Short chain fatty acid

نتیجه‌گیری کلی

بر اساس نتایج حاصل از این پژوهش، تیمارهای تلقیح باکتریایی و سطح ۱۲۵ میکرولیتر اسانس نعناع با بهبود قابلیت هضم ماده آلی، انرژی قابل متابولیسم، اسیدهای چرب کوتاه زنجیر و بازده تولید توده میکروبی، در افزایش ارزش تغذیه‌ای سیلاژ ذرت موثر بودند. در مجموع، به‌منظور استفاده از اسانس‌های گیاهی به عنوان افزودنی سیلویی، به مطالعات بیشتری در خصوص ساز و کار تاثیر آن‌ها بر میکرورگانیسم‌های سیلاژ به ویژه قارچ‌ها نیاز است. همچنین تعیین غلظت مناسب استفاده از این ترکیبات ضروری به نظر می‌رسد.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۴- اثر تلقیح باکتریایی و اسانس‌های نعناع، مرزه، زیره بر قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی، نیتروژن آمونیاکی، pH و فراسنجه‌های تخمینی سیلاژ ذرت

Table 4. Effect of bacterial inoculation and essential oils of spearmint, serviceberry and cumin additive on dry matter and organic matter digestibility, ammoniac nitrogen, pH and estimated parameters of corn silage

Treatment	DMD (%)[1]	OMD (%)[2]	NH3-N (mg/dl)[3]	pH	PF (mg/ml)[4]	Gas yield (ml)	MB (mg/gDM)[5]	EMB[6]
Control	56.00^{b}	60.00^{b}	2.96^{a}	6.48^{ab}	3.21^{bc}	315.35^{ab}	90.11^{bc}	0.31^{bc}
Bacterial inoculation	62.00^{a}	65.00^{a}	2.92^{a}	6.44^{b}	3.20^{bc}	308.49^{bc}	95.94^{abc}	0.31^{bc}
Spearmint (125 µl)	56.00^{b}	61.00^{b}	2.44^{b}	6.50^{ab}	3.62^{a}	282.62^{c}	113.72^{a}	0.39^{a}
Spearmint (250 µl)	58.00^{ab}	62.00^{ab}	2.41^{bc}	6.55^{a}	3.28^{bc}	310.15^{abc}	97.16^{abc}	0.33^{ab}
Serviceberry (125 µl)	54.00^{b}	59.00^{b}	2.35^{bc}	6.49^{ab}	3.02^{c}	337.16^{a}	75.59^{c}	0.27^{c}
Serviceberry (250 µl)	56.00^{b}	60.00^{b}	2.42^{bc}	6.51^{ab}	3.38^{ab}	300.49^{bc}	99.60^{ab}	0.35^{ab}
Cumin (125 µl)	56.00^{b}	60.00^{b}	2.45^{b}	6.50^{ab}	3.38^{ab}	293.98^{bc}	98.72^{ab}	0.35^{ab}
Cumin (250 µl)	57.00^{b}	61.00^{b}	2.26^{c}	6.52^{a}	3.45^{ab}	293.69^{bc}	104.83^{ab}	0.36^{ab}
SEM	0.013	0.012	0.054	0.026	0.092	9.41	7.38	0.023
P value	0.072	0.076	0.0001	0.025	0.012	0.027	0.085	0.012

[a-c] Different superscript letters in the same column represent a significant difference ($P<0.05$)

[1]Dry matter digestibility, [2]Organic matter digestibility, [3]Ammoniacal nitrogen, [4]Partitioning factor, [5]Microbial biomass, [6]Efficiency of microbial biomass

www.SID.ir

Archive of SID

فهرست منابع

دانش مسگران م.، هروی موسوی ع. ر. و فتحی م. ح. ۱۳۸۱. جیره نویسی و تغذیه گاوهای شیری. انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد. ۱۹۲ صفحه.

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

قربانی، ه. و وکیلی، س. ع. ۱۳۹۳. اثر مقادیر مختلف اسانس گیاهان نعناع و رازیانه بر ترکیب شیمیایی و فراسنجه‌های تولید گاز سیلاژ ذرت در شرایط برون‌تنی. ششمین کنگره علوم دامی ایران. دانشگاه تبریز.

قربانی ه.، وکیلی س. ع. و دانش مسگران م. ۱۳۹۵. اثر اسانس‌های گیاهی پونه کوهی، پرتقال و زیره سبز بر ترکیب شیمیایی و فراسنجه‌های تجزیه پذیری سیلاژ ذرت در شرایط آزمایشگاهی. پژوهش‌های علوم دامی ایران، ۴: ۴۲۷-۴۱۵.

مقصودلو ف.، بیات کوهسار ج.، قنبری ف. و طلیعی ف. ۱۳۹۵. تاثیر 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 برون تنی. پژوهش‌های علوم دامی ایران، ۴: ۵۶۸-۵۵۳.

Aharoni Y., Gilboa N. and Silanikove N. 1998. Analysis of the suppressive effect of tannins on ruminal degradation by compartmental models. Animal Feed Science and Technology, 71: 251-267.

Aksu T., Baytok E. and Bolat D. 2004. Effects of a bacterial silage inoculant on corn silage fermentation and nutrient digestibility. Animal Feed Science and Technology, 55: 249-252.

Aksu T., Denek N., Aydin S. S., Das B. D., Savrunlu M. and Ozkaya S. 2017. Effect of dried thyme pulp (*Tymbara Spicata L. Spicata*) on fermentation quality and *in vitro* organic mater digestibility of meadow grass and alfalfa silages. Journal of the Faculty of Veterinary Medicine, Kafkas University, 23: 211-217.

Amanullah S., Kim D. H., Lee H. J., Joo Y. H., Kim S. B. and Kim S. C. 2014. Effect of microbial additives on chemical composition and fermentation characteristics of barley silage. Asian Australasian Journal of Animal Science, 4: 511-517.

AOAC. 2005. Official method of analysis, 15th ed. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, USA.

Blümmel M., Makkar H. P. S. and Becker K. 1997. *In vitro* gas production: a technique revisited. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 77: 24-34.

Broderik G. A. and Kang J. H. 1980. Automated simultaneous determination of ammonia and total amino acids in ruminal fluid and *in vitro* media. Journal of Dairy Science, 63: 64-75.

Chaves A. V., Baah J., Wang Y., McAllister T. A. and Benchaar C. 2011. Effects of cinnamon leaf, oregano and sweet orange essential oils on fermentation and aerobic stability of barley silage. Journal of the Science of Food and Agriculture, 92: 906–915

Church D. C. 1990. Livestock feeds and feeding. Published by Prentice-Hall. Second Edition. Pp. 64-106.

Dehority B. A. 2003. Rumen microbiology. Nottingham University Press, Nottingham, UK.

Feizi R., Ghodratnama A., Zahedifar M., Danesh Mesgaran M. and Raisianzadeh M. 2007. Determination chemical composition and apparent digestibility of pomegranate seed fed to sheep. Proceedings of the 2nd Congress on Animal and Aquatic Science. pp. 735-739.

Filya I., Sucu E. and Karabulut A. 2004. The effect of *Propioni bacterium acidipropionici*, with or without *Lactobacillus plantarum*, on the fermentation and aerobic stability of wheat, sorghum, and maize silages. Journal of Applied Microbiology, 97: 818-826.

Filya L. 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.

Getachew G., Depiters E. J. and Robinson P. H. 2002. *In vitro* gas production provides effective method for assessing ruminant feeds. California Agriculture, 58: 54-58.

Goel G., Puniya A. K., Aguliar C. N. and Singh K. 2005. Interaction of gut microflora with tannins in feeds. British Poultry Science, 44: 450-457.

Jalk D., Laukova A., Simonova M., Varadyova Z. and Homolka P. 2009. The use of bacterial inoculants for grass silage. Their effects on nutrient composition and fermentation parameters in grass silage. Czech Journal of Animal Science, 2: 84-91.

www.SID.ir

Archive of SID

Kung Jr., Williams P., Schmidt R. J. and Hu W. 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.

Mahala A. G. and Khalifa I. M. 2007. The effect of molasses on quality of sorghum (*Sorghum bicolor*) silage. Journal of Animal Science, 2: 43-46.

Makkar H. P. S. 2010. "*In vitro* screening of feed resources for efficiency of microbial protein synthesis" in "In vitro screening of plant resources for extra-nutritional attributes in ruminants: nuclear and related methodologies". Springer, Dordrecht, pp. 107-144.

McAllister T. A., Bae H. D., Jones G. A. and Cheng K. J. 1994. Microbial attachment and feed digestion in the rumen. Journal of Animal Science, 72: 3004-3018.

Menke K. H., Raab L., Salewski A., Steingass H., Fritz D. and Schneider W. 1979. The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feedstuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor *in vitro*. Journal of Agricultural Science, 92: 217-222.

Menke K. H. and Steingass H. 1988. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. Animal research and Development, 28: 7-55.

Mohammadzadeh H., Khorvash M., Ghorbani G. R. and Yang W. Z. 2012. Frosted corn silage with or without bacterial inoculants in dairy cattle rations. Livestock Science, 145: 153-159.

Ørskov E. R. and McDonald I. 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rumen rate of passage. Journal of Agricultural Science, 92: 499-503.

Rowghani E., Zamiri M. J., Khirvash M. and Abdollahipanah A. 2008. The effects of Lactobacillus plantarum and propionibacterium acidipropionici on corn silage fermentation, ruminal degradability and nutrient digestibility in sheep. Iranian Journal of Veterinary Research, 9: 308-315.

SAS. 2003: SAS User's Guide: Statistics, Version 9.1 Edition.SAS Institute, Cary, NC, USA.

Soycan-Onenc S., Koc F., Coscuntuna L., Ozduven M. L. and Gumus T. 2015. The effect of oregano and cinnamon essential oils on fermentation quality and aerobic stability of field pea silages. Asian-Australasian Journal of Animal Science, 9: 1281-1287.

Talebzadeh R., Alipour D., Saharkhiz M. J., Azarfar A. and Malecky M. 2012. Effect of essential oils of zataria multiflora on *in vitro* rumen fermentation, protozoal population, growth and enzyme activity of anaerobic fungus isolated from Mehraban sheep. Animal Feed Science and Technology, 172: 115-124.

Theodorou M. K., Gascoyne D. J. and Beever D. E. 1984. The role of consecutive batch culture in rumen microbiology. Canadian Journal of Animal Science, 64: 47-48

Van Soest P. J., Robertson J. B. and Lewis B. A. 1991. Method for dietary fiber, neutral detergent fiber, and non starch polysaccharides in relation to animal nutrition. Journal of Dairy Science, 74: 3583-3597.

Xing L., Chen L. J. and Han L. J. 2009. The effect of an inoculants and enzymes on fermentation and nutritive value of sorghum straw silages. Bioresource Technology, 100: 488-491.

www.SID.ir

Archive of SID

Animal Production Research

Vol. 7, No. 2, 2018 (55-67)

University of Guilan

Effects of bacterial inoculation and essential oils of spearmint, serviceberry and cumin on chemical composition, *in vitro* digestibility and gas production parameters of corn silage

F. Hadiyan[1], F. Ghanbari[2*], J. Bayat Kouhsar[2], R. Rahchamani[2]

1. MSc. Graduated Student, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Gonbad Kavous University, Gonbad, Iran
2. Assistant Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Gonbad Kavous University, Gonbad, Iran

(Received: 18-04-2017 – Accepted: 16-04-2018)

Abstract

This research was conducted to investigate effects of bacterial inoculation (*lactobacillus plantarum*, one mg/kg of fresh forage) and essential oils of spearmint, serviceberry and cumin (125 or 250 µl /kg of fresh forage) on chemical composition, gas production parameters and *in vitro* digestibility of corn silage in a completely randomized design (8 treatments and 3 replicates). Whole-plant corn was harvested at the dough stage (30 percent of dry matter), and chopped to 2 and 3 cm lengths. The ensiling process was performed in two-layer plastic bags. Additives were sprayed on the chopped corn, and then mixed thoroughly. The silos were opened after 45 days. Chemical composition of corn silage was affected by additives (P<0.05). Bacterial inoculation, spearmint (250 µl) and serviceberry increased the water soluble carbohydrates. Crude protein content of silage was decreased in bacterial inoculation and serviceberry (125 µl) treatments. The concentration of acid detergent fiber was decreased by addition of serviceberry (250 µl) and cumin extracts. The 250 µl of serviceberry and cumin essential oils decreased the volume and potential of gas production (P<0.05). Metabolizable energy and short chain fatty acids concentration were increased by 125 µl of spearmint (P<0.05). Bacterial inoculation increased *in vitro* digestibility of dry matter and organic matter (P<0.05). Spearmint extract (125 µl) increased total bacterial count and microbial efficiency (P<0.05). Overall, the bacterial inoculation and the low level (125 µl) of spearmint extract were more effective in improving the nutritional value of corn silage.

Keywords: Essential oil, Bacterial inoculation, Gas production, *In vitro* digestibility, Silage

[*]Corresponding author: farzadghanbari@gonbad.ac.ir

www.SID.ir