

اثر افزودنی‌های مختلف بر کیفیت تخمیر سیلوی ارزن در شرایط آزمایشگاهی

علی اسدی الموتی، مسعود علیخانی، غلامرضا قربانی و عبدالحسین سمیع^۱

چکیده

هدف از این آزمایش بررسی ویژگی‌های سیلوی ارزن تهیه شده در آزمایشگاه به‌عنوان یک علوفه جایگزین در سال‌های خشک و تعیین اثر افزودنی‌ها بر کیفیت تخمیر آن بود. علوفه ارزن در دو مرحله شیری و خمیری نرم دانه، بدون افزودنی یا با استفاده از جو، ملاس، اسیدفرمیک، تلفیح باکتری‌های تولیدکننده اسید لاکتیک و ترکیب ملاس و باکتری در قالب یک طرح کاملاً تصادفی و به‌صورت فاکتوریل 2×6 سیلو شد. مرحله برداشت تأثیری بر مقدار دیواره سلولی، دیواره سلولی بدون همی سلولز، ظرفیت بافرینگ، کربوهیدرات‌های محلول در آب، نیتروژن نامحلول در شوینده اسیدی، نیتروژن آمونیاکی و قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی نداشت، ولی مقادیر ماده خشک، پروتئین خام و pH سیلو در دو مرحله برداشت به‌طور معنی‌داری متفاوت بود. وقوع تخمیر کلستری‌دایی در سیلوهای شاهد منجر به اتلاف ماده خشک و افزایش سطوح نیتروژن آمونیاکی (۲۴ درصد نیتروژن کل)، اسیدبوتیریک (۲/۰ درصد) و اسید استیک (۱/۳۳ درصد) نسبت به سایر تیمارها شد. بین افزودنی‌ها کمترین نیتروژن آمونیاکی مربوط به افزودن اسیدفرمیک بود (۴/۵۴ درصد نیتروژن کل) و بالاترین تولید اسید لاکتیک و کمترین اسید بوتیریک به ترتیب در تیمار حاوی ملاس و ترکیب ملاس و باکتری دیده شد. تعیین قابلیت هضم سیلوهای ارزن در آزمایشگاه نشان دهنده افزایش قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی همه سیلوهای حاوی افزودنی نسبت به سیلوی شاهد بود. افزودن ملاس و ترکیب ملاس و باکتری بیشترین قابلیت هضم ماده خشک را در پی داشت (به ترتیب با ۶۳/۱ و ۶۴/۳۴ درصد)، ولی اختلاف معنی‌داری بین قابلیت هضم سیلوهای حاوی جو، اسیدفرمیک و باکتری دیده نشد. نتایج این آزمایش نشان داد که برای تهیه یک سیلوی با کیفیت ارزن، افزودن یک منبع کربوهیدرات محلول به سیلو ضروری بوده و بدون حضور این منبع کربوهیدراتی، تلفیح باکتریایی لزوماً سیلوی مناسبی تولید نخواهد کرد.

واژه‌های کلیدی: سیلوی ارزن، کربوهیدرات‌های محلول در آب، افزودنی‌ها

مقدمه

معرض بحران خشک‌سالی است. بنابراین امکان کاشت گیاهان علوفه‌ای پرتولید مثل ذرت در این مناطق بخصوص در سال‌های خشک وجود ندارد. گیاه ارزن در نواحی وسیعی از جهان کشت می‌شود. رشد

ایران در نوار گرم و خشک جهان قرار گرفته است و میانگین بارندگی سالیانه آن کمتر از ۲۵۰ میلی‌لیتر است (۱). آمار بارش سالیانه نشان می‌دهد که بخش‌های وسیعی از کشور همواره در

۱. به ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، استادیار، استاد و استادیار علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

سریع، قابلیت تطابق بالا با نواحی گرمسیری، مقاومت نسبی بالا به خشکی و شوری، درصد بالای پروتئین، پربرگی و خوش خوراکی و عدم وجود اسید پروسیک، چهار کربنه بودن و در نتیجه توانایی تولید بالای آن در نواحی گرم و خشک (در ایران حدود ۲/۱ تن دانه در هکتار (۱)) و بالا بودن بازده مصرف آب نسبت به گونه‌های سه کربنه همگی باعث شده است که به صورت گیاه ایدالی برای کشت در نواحی گرم و خشک مطرح گردد (۲). بررسی‌ها روی سیلوی ارزن در ایالات متحده از حدود ۱۹۵۰ آغاز شده و واریته‌های بسیاری از آن، با هدف تولید بالای دانه و یا علوفه مرتعی ثبت و معرفی شده است (۱۲)، ولی بررسی‌ها روی کیفیت سیلوی ارزن محدود و انگشت شمار هستند. هیل و همکاران (۱۲) دریافتند که سیلوی ارزن بدون وجود منابع کربوهیدراتی سهل الوصول کیفیت مناسبی نداشت و مصرف ماده خشک و افزایش وزن تلیسه‌های گوشتی را در مقایسه با ذرت به شدت کاهش داد، ولی استفاده از تلقیح باکتریایی الگوی تخمیر را نسبت به سیلوی ارزن بدون افزودنی بهبود بخشید. هدف این پژوهش بررسی خصوصیات سیلوی ارزن تهیه شده در آزمایشگاه و اثر افزودنی‌های مختلف بر کیفیت تخمیر و قابلیت هضم آن در شرایط آزمایشگاهی بود.

مواد و روش‌ها

ارزن مورد استفاده در این پژوهش (*Panicum milliaceum*) (از انواع بومی منطقه اصفهان، بذر تهیه شده از مرکز خدمات کشاورزی اصفهانک) در تاریخ ۲۰ خرداد ۱۳۸۰ در مزرعه‌ای به وسعت یک هکتار کاشت شد و به ترتیب در ۲۱ خرداد، ۱۴ تیر و ۱۲ مرداد آبیاری و در ۲۳ مرداد ماه در دو مرحله شیری و خمیری نرم دانه برداشت شد. به دلیل کمبود آب و طولانی شدن زمان آبیاری مزرعه ارزن، شرایطی فراهم بود که در زمان واحد بتوان هر دو مرحله یاد شده را برداشت کرد. سپس علوفه‌ها در قطعات حدوداً ۳ سانتی متری خرد شده و در قوطی‌های پلاستیکی به گنجایش حدود ۴۵۰ گرم قرار گرفتند. تیمارها عبارت بودند از: شاهد (بدون افزودنی)، ملاس

(۵ درصد وزن تر)، جو آسیاب شده (۵ درصد وزن تر)، تلقیح باکتریایی ((Ecosyl (MTD/ NCIMB 40027)) به مقدار توصیه شده و تأمین کننده حداقل 10^5 واحد تشکیل دهنده کلنی باکتریایی (CFU) در هر گرم علوفه پس از استفاده، اسید فرمیک (۰/۳ درصد وزن تر) و ترکیب ملاس و باکتری. افزودنی‌ها بر اساس ۱/۳۵ کیلوگرم محاسبه شده و سپس ۳ تکرار از هر افزودنی (۴۵۰ گرم) برای هر تیمار در نظر گرفته شد. تیمارها با دست کاملاً مخلوط شد و برای فشردن در سطل، از یک وزنه چوبی استفاده شد. برای یکسان شدن اثر آب استفاده شده برای حل کردن تلقیح باکتریایی، به همه تیمارها همان مقدار آب (۵۰ میلی‌لیتر) اضافه شد. در سطل‌ها کاملاً بسته شده و درون پلاستیک قرار گرفتند و هوای آن توسط مکش خارج شد. سپس سیلوه‌ها به مدت ۴۵ روز در دمای اتاق با میانگین دمایی حداکثر ۳۳/۷ و حداقل ۲۲/۱ درجه قرار گرفت. پس از باز کردن سیلوه‌ها نمونه‌ها به دقت همگن شده و ۱۰۰ گرم از هر تکرار برای تعیین ماده خشک به مدت ۳۶ ساعت در ۵۵ درجه قرار داده شد. ۱۰ گرم از سیلوی تازه در ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر سرد به مدت ۲ ساعت قرار داده شد و pH توسط pH متر دیجیتالی (Hanna Instruments HI 8314) تعیین شد. اندازه‌گیری پروتئین خام، چربی خام، خاکستر، فسفر و کلسیم (۴)، دیواره سلولی و دیواره سلولی بدون همی سلولز و نیتروژن نامحلول در شوینده اسیدی (۱۰)، روی نمونه‌های خشک شده و آسیاب شده به اندازه یک و دو میلی متر و در سه تکرار انجام گرفت. ظرفیت بافرینگ به روش پلایین و مکدونالد (۲۵)، کربوهیدرات‌های محلول به روش فنل - سولفوریک (۷)، آمونیاک با روش فنل - هیپوکلریت (۲۴) و اسیدهای چرب فرار و اسید لاکتیک توسط دستگاه HPLC و روش تشریح شده توسط آندریا کانال و همکاران (۳) اندازه‌گیری شد. تمام اندازه‌گیری‌ها در ۳ تکرار انجام شد. برای تعیین قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی در شکمبه به روش تیلی و تری (۲۸) از محتوای شکمبه ۳ رأس گوسفند تازه کشتار شده نمونه‌برداری و نمونه‌ها به مدت ۲ دقیقه در ۲۰۰۰ دور با مخلوط‌کن همگن و

کمتر از مرحله خمیری نرم بود ($P < 0.05$). هیل و همکاران (۱۲) نیز مقدار ماده خشک علوفه ارزن مروارید را در مرحله خمیری نرم ۲۶/۲ درصد ذکر کردند. مقدار کربوهیدرات‌های محلول علوفه ارزن در دو مرحله برداشت کمتر از ۶ درصد بود که این مقدار نشان دهنده کمبود این بخش کربوهیدراتی در علوفه ارزن بود.

در جدول ۲ ترکیب شیمیایی سیلوی ارزن پس از ۴۵ روز سیلوشدن دیده می‌شود. ماده خشک دو مرحله برداشت متناسب با علوفه ارزن با هم اختلاف معنی‌دار داشتند ($P < 0.05$)، ولی مقدار آن از علوفه ارزن کمتر بود. بیشترین اتلاف ماده خشک مربوط به سیلوه‌های شاهد بود. در سیلوه‌های حاوی اسید فرمیک تا حدی و در سیلوی حاوی باکتری به مقدار بیشتری کاهش ماده خشک دیده شد. کمترین اتلاف ماده خشک در تیمارهای حاوی ملاس دیده شد که اختلاف معنی‌داری با سایر افزودنی‌ها داشتند ($P < 0.05$).

مرحله برداشت اثر معنی‌داری در مقدار پروتئین خام داشت ($P < 0.05$) و پروتئین خام مرحله خمیری نرم پایین‌تر از مرحله شیری بود. پروتئین خام بین تیمار شاهد و ترکیب ملاس و باکتری اختلاف معنی‌داری نداشت و هم‌چنین تیمارداری جو و باکتری و تیمار حاوی ملاس و اسیدفرمیک اختلاف معنی‌داری با هم نداشتند ($P > 0.05$). دیواره سلولی و دیواره سلولی بدون همی سلولز در دو مرحله برداشت مشابه با هم بودند، ولی افزودن ملاس و ترکیب ملاس و باکتری به طور معنی‌داری مقادیر مربوط به این دو بخش را کاهش داد ($P < 0.05$). اختلاف معنی‌داری بین افزودنی‌های جو، اسیدفرمیک و باکتری با یکدیگر و نیز با تیمار شاهد در دیواره سلولی دیده نشد ($P > 0.05$). ولی دیواره سلولی بدون همی سلولز در سیلوه‌های شاهد بالاتر از سایر تیمارها بود.

در جدول ۲ ویژگی‌های تخمیر سیلوی ارزن تحت اثر مراحل برداشت و افزودنی‌ها نشان داده شده است. در مرحله شیری pH به طور معنی‌داری بالاتر از مرحله خمیری نرم بود ($P < 0.05$)، هر چند که میانگین pH در این دو مرحله در

از صافی نایلونی مخصوص این روش عبور داده شد. ۱۰ میلی‌لیتر از مایع شکمه و ۳۰ میلی‌لیتر از محلول بزاق مصنوعی (۱۳) به ۰/۵ گرم نمونه افزوده شد. نمونه‌ها درون بطری‌های دردار ۵۰ میلی‌لیتری که از قبل در ۳۹ درجه قرار داده شده بودند، ریخته شد و قبل و نیز در طول مدت اضافه کردن مایع شکمه، گاز دی‌اکسید کربن به طور مداوم درون بطری‌ها دمیده شد. برای اطمینان از شرایط کاملاً بی‌هوازی از سولفید سدیم به‌عنوان محلول احیا کننده و محلول آبی روزاورین (Resazurine) به عنوان معرف استفاده شد. ظهور رنگ صورتی در درون بطری‌ها یا محلول بزاق نشان دهنده عدم شرایط بی‌هوازی است. بطری‌ها به مدت ۲۴ ساعت درون حمام آب گرم ۳۹ درجه نگه‌داشته شدند و گاز تولیدی هر ۴ ساعت به جز ساعات ۱۲ شب تا ۸ صبح توسط سوسون‌های خاص (Bunsen valves) از بطری‌ها خارج می‌شد. پس از این زمان، ۲ میلی‌لیتر اسید کلریدریک ۶ نرمال به هر شیشه اضافه شد تا pH نمونه به زیر ۲ برسد. سپس ۲۰۰ میلی‌گرم پودر پپسین به هر بطری اضافه شد و بطری‌ها به مدت ۲۴ ساعت دیگر بدون درپوش در حمام آب گرم ۳۹ درجه نگه‌داشته شدند. ۶ نمونه حاوی مایع شکمه و بزاق مصنوعی و فاقد نمونه به عنوان شاهد در نظر گرفته شد (۱۳). پس از پایان انکوباسیون، نمونه‌ها با ۴۷۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ شده و مایع شفاف بالایی دور ریخته و پسمانده در آون ۵۵ درجه خشک شد (۸).

آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی و به صورت فاکتوریل ۲×۶ با سه تکرار اجرا شد و نتایج توسط رویه GLM نرم‌افزار SAS (۲۶) مورد تجزیه قرار گرفت. میانگین‌ها در سطح ۵ درصد توسط آزمون دانکن مقایسه شدند و برای مقایسه آثار متقابل معنی‌دار از نرم‌افزار MSTATC استفاده شد.

نتایج

ترکیب شیمیایی

ترکیب شیمیایی علوفه ارزن قبل از سیلوشدن در جدول ۱ آورده شده است. ماده خشک علوفه ارزن در مرحله شیری

جدول ۱. ترکیب شیمیایی علوفه ارزن در دو مرحله برداشت قبل از سیلو شدن (بر اساس ماده خشک)

P>F	مرحله برداشت			
	SEM ^۱	خمیری نرم	شیری	
۰/۰۴	۰/۵۴	۲۹/۵۴ ^b	۲۵/۳۲ ^a	ماده خشک (%) ^۲
۰/۴۲	۰/۰۷	۱۳/۰۰	۱۲/۹	پروتئین خام (%)
۰/۱۷	۰/۷۶	۵۷/۷۹	۵۵/۲۱	دیواره سلولی (%)
۰/۰۸	۰/۸۳	۲۳/۹۸	۲۶/۶۷	دیواره سلولی بدون همی سلولز (%)
۰/۸۵	۰/۲۶	۳/۸۸	۳/۸۱	چربی خام (%)
۰/۰۱	۰/۱۳	۹/۱۱ ^b	۹/۹۶ ^a	خاکستر (%)
۰/۵۱	۰/۰۱	۰/۳۶	۰/۳۵	فسفر (%)
۰/۰۲	۰/۰۱	۰/۳۲ ^b	۰/۳۰ ^a	کلسیم (%)
۰/۰۷	۰/۲۴	۵/۵۴	۴/۰۵	کربوهیدرات‌های محلول در آب (%)
۰/۷۱	۱/۴۸	۲۱/۷۵	۲۲/۵۶	ظرفیت بافرینگ (میلی اکی والان در صد گرم)
۰/۶۸	۰/۰۳	۶/۰۱	۵/۹۹	pH

۱. خطای استاندارد اندازه‌گیری

۲. در هر دریف، میانگین‌های با حرف غیر مشترک، اختلاف معنی‌داری با یکدیگر دارند ($P < 0/05$).
تعداد تکرارها=۳.

نیتروژن آمونیاکی زیر ۱۰ درصد نیتروژن کل بود که هر چند نشان دهنده یک سیلوی با کیفیت از نظر بخش نیتروژنی است، ولی اختلاف آن دو با سایر افزودنی‌ها، متناسب با pH بالاتر در این دو تیمار بود. نیتروژن نامحلول در شوینده اسیدی در همه تیمارها پایین بود که حاکی از حداقل آسیب حرارتی در سیلوهای ارزن در این بررسی بود. نیتروژن نامحلول در شوینده اسیدی به‌عنوان بخش C در سیستم پروتئین و کربوهیدرات خالص کرنل نامیده شده و بخشی است که از دسترس حیوان خارج می‌شود (۲۷). بنابراین ابزارهای مدیریتی ساخت سیلو که به خروج سریع‌تر و بیشتر اکسیژن کمک کند، مقدار این بخش را پایین می‌آورد. اثر متقابل بین مرحله برداشت و افزودنی‌ها روی ترکیب شیمیایی و خصوصیات تخمیر تنها در مورد pH معنی‌دار بود ($P < 0/05$), به طوری که در مرحله خمیری نرم، pH در تیمارهای حاوی اسید فرمیک و ترکیب ملاس و باکتری بالاتر از مرحله شیری بود، در حالی که در سایر تیمارها عکس این روند دیده شد.

محدوده قابل قبول بود. کربوهیدرات‌های محلول و بخش‌های نیتروژنی اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نداشتند ($P > 0/05$). بین افزودنی‌ها در سیلوهای شاهد pH نزدیک به ۵/۵ حاکی از یک تخمیر نامناسب و کیفیت بد سیلوه‌ها بود. تمامی افزودنی‌ها در کاهش pH مؤثر بودند، اما کاهش pH در سیلوهای حاوی اسیدفرمیک، ملاس و ترکیب ملاس و باکتری بیشترین مقدار بود. افزودن جو و باکتری هر چند pH را به زیر ۴/۵ کاهش داد، ولی شدت تأثیر آن به اندازه سایر افزودنی‌ها نبود. ظرفیت بافرینگ در سیلوهای حاوی اسیدفرمیک پایین‌تر از همه تیمارها و در تیمار حاوی باکتری بالاتر بود و بین سایر افزودنی‌ها اختلافی معنی‌داری دیده نشد ($P > 0/05$).

در سیلوهای بدون افزودنی، نیتروژن آمونیاکی که شاخصی از تجزیه پتیدها و اسیدهای آمینه توسط ارگانسیم‌های کلوستریدیومی است، بسیار بالا بود و اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها داشت ($P < 0/05$), ولی در تیمارهای حاوی اسید فرمیک و ملاس و ترکیب ملاس و باکتری مقدار نیتروژن آمونیاکی پایین نگه‌داشته شده بود. در تیمارهای حاوی جو و باکتری،

اسیدهای آلی

مرحله برداشت اثر معنی‌داری بر تولید اسید لاکتیک در سیلوهای ارزن نداشت ($P > 0/05$)، ولی تولید اسید استیک، اسیدبوتیریک و اسیدپروپیونیک به طور معنی‌داری در مرحله شیری بالاتر از مرحله خمیری نرم بود ($P < 0/05$) (جدول ۳). افزودنی‌ها اثر معنی‌داری بر تولید اسیدلاکتیک داشتند. بیشترین تولید اسید لاکتیک در سیلوهای حاوی ملاس دیده شد که اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها داشت ($P < 0/05$). هر چند کمترین مقدار اسید لاکتیک در سیلوهای شاهد دیده شد ($< 1\%$)، ولی تولید اسیدلاکتیک بین این سیلوه‌ها با تیمارهای حاوی جو، اسید فرمیک و باکتری اختلاف معنی‌داری نداشت ($P > 0/05$). به علاوه ترکیب ملاس و باکتری منجر به تولید اسیدلاکتیک کمتر از ملاس شد. تولید اسید استیک در سیلوی شاهد از همه تیمارها بالاتر بود ($P < 0/05$). بین تیمارهای حاوی جو، اسید فرمیک و ملاس، تولید اسید استیک پایین بود و اختلاف بین آن معنی‌دار نبود ($P > 0/05$)، ولی تیمار حاوی باکتری اسید استیک بالایی تولید کرد. وقوع تخمیر کلسترییدیایی باعث شد تا در سیلوهای شاهد اسید بوتیریک به $0/2$ درصد ماده خشک برسد (بیش از $0/1$ درصد نشان دهنده تخمیر کلسترییدیایی است (۲۹)). ولی در سایر تیمارها به جز تیمار حاوی باکتری تولید اسیدبوتیریک پایین و در تیمار حاوی ملاس و باکتری اسیدبوتیریک غیرقابل تشخیص بود. نسبت اسید لاکتیک به اسید استیک در سیلوهای شاهد کمترین بود و بالاترین نسبت در سیلوهای حاوی ملاس و ترکیب ملاس و باکتری دیده شد. اثر متقابل مرحله برداشت در افزودنی برای اسیدهای چرب فرار معنی‌دار بود ($P < 0/05$)، با توجه به آن‌که در اندازه‌گیری اسیدهای چرب فرار دقیقاً از روش پیشنهادی (۳) پیروی شد، ولی روند تغییرهای داده‌ها بین مراحل برداشت و افزودنی‌ها، حاکی از آن بود که معنی‌دار شدن اثر متقابل بیش از هر چیز تحت تأثیر خطای اندازه‌گیری با HPLC بوده است.

قابلیت هضم

قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی علوفه ارزن و سیلوی

آن در دو مرحله برداشت اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نداشتند ($P > 0/05$)، ولی قابلیت هضم علوفه ارزن در آزمایشگاه پایین‌تر از سیلوی آن بود. بین افزودنی‌ها قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی سیلوهای شاهد از نظر عددی پایین‌تر از همه تیمارها و از نظر آماری به جز تیمار باکتری با سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری داشت ($P < 0/05$). بین سیلوهای دارای جو، باکتری و ملاس اختلاف معنی‌داری از لحاظ قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی دیده نشد ($P > 0/05$)، ولی تیمارهای دارای ترکیب ملاس و باکتری بیشترین قابلیت هضم را داشتند ($P < 0/05$) (جدول ۳). قابلیت هضم ماده آلی در این پژوهش کمتر از قابلیت هضم ماده خشک بود. اثر متقابلی بین مرحله برداشت و افزودنی‌ها در قابلیت هضم دیده نشد ($P > 0/05$).

بحث

ترکیب شیمیایی

ماده خشک سیلوی ارزن از علوفه ارزن قبل از سیلوشدن پایین‌تر بود. کاهش ماده خشک تا اندازه‌ای مربوط به افزودن آب به سیلوه‌ها در هنگام اضافه کردن افزودنی‌ها بود و از طرف دیگر اتلاف ماده خشک موجب کاهش ماده خشک شد. ولی افزودن ملاس مانع از کاهش ماده خشک در سیلوه‌ها شد. در بررسی اسلام و همکاران (۱۵) نیز افزودن ملاس به چاودار، ماده خشک آن را افزایش داده بود. علاوه بر اثر ملاس در کاهش اتلاف مواد مغذی از طریق القای تخمیر لاکتیکی، بخشی از این افزایش به علت ماده خشک خود ملاس (75%) بود. افزودن جو نیز ماده خشک را افزایش داد، این اثر به علت خاصیت جذب رطوبت توسط دانه آسیاب شده غلات است که در بررسی‌های دیگر نیز به آن اشاره شده است (۱۸).

محققین بسیاری به ناپدید شدن همی سلولز و سلولز در جریان سیلو شدن اشاره داشته‌اند. مدارکی وجود دارد که حداقل بخشی از قندهای پنتوز سیلو حاصل از شکسته شدن همی سلولز هستند چرا که اکثر کربوهیدرات‌های محلول باقیمانده در سیلو، زایلوز و گالاکتوز هستند (۶). این کاهش در مقدار اجزای

جدول ۳. مقدار اسیدهای آلی و قابلیت هضم علوفه ارزن در آزمایشگاه تحت تأثیر افزودنی‌ها و مرحله برداشت (بر اساس ماه خشک)

P>F	افزودنی‌ها					مرحله برداشت							
	SEM	مرحله برداشت	افزودنی‌ها	SEM	ملاس و باکتری	ملاس	ملاسی باکتری	اسیدفوریک	جو	شاهد	SEM ^۱	خمیری نرم	شیری
۰/۰۰۳	۰/۰۰۰۱	۰/۶۵	۰/۱۳	۱/۵۷ ^ب	۲/۱۸ ^ا	۱/۱۷ ^ا	۱/۱۷ ^ا	۱/۰۷ ^ا	۱/۱۷ ^ا	۰/۹۵ ^ا	۰/۰۷	۱/۳۳	۱/۳۸
۰/۰۰۴	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۳	۰/۰۵	غ	۰/۲۹ ^د	۰/۴۶ ^ا	۰/۴۶ ^ا	۰/۰۳	۰/۴۶ ^ا	۱/۳۳ ^ا	۰/۰۳	۰/۴۳ ^ب	۰/۵۹ ^ا
۰/۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۱	غ ^۲	۰/۰۷ ^ب	۰/۰۳ ^د	۰/۰۳ ^د	۰/۰۰۷	۰/۰۳ ^د	۰/۲ ^ا	۰/۰۰۷	۰/۰۶ ^ب	۰/۱۲ ^ا
۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۴	۰/۲۸ ^ا	۰/۵۶ ^ب	۰/۱۷ ^ا	۰/۱۷ ^ا	۰/۰۲	۰/۱۷ ^ا	۰/۹۴ ^ا	۰/۰۲	۰/۳۱	۰/۴۹
				>۱۰	۷/۵۱	۲/۵۴	۲/۵۴	۳/۰۹	۲/۵۴	۰/۷۱	۳/۰۹	۲/۳۳	
۰/۸۷	۰/۰۰۳	۰/۲۹	۱/۲۲	۶۴/۳۴ ^ا	۶۳/۱۱ ^ب	۶۱/۲۵ ^ب	۶۱/۸۵ ^ب	۰/۷۰	۶۱/۸۵ ^ب	۵۶/۸۴ ^ا	۰/۷۰	۶۰/۵۹	۶۱/۶۴
۰/۸۲	۰/۰۰۱	۰/۸۹	۱/۲۰	۶۴/۵۴ ^ا	۶۳/۰۰ ^ب	۶۰/۹۸ ^ب	۶۰/۵۳ ^ب	۰/۶۹	۶۰/۵۳ ^ب	۵۶/۰۹ ^ا	۰/۶۹	۶۰/۷۰	۶۰/۷۹

۱. خطای استاندارد اندازه‌گیری
 ۲. داخل افزودنی‌ها و مراحل برداشت، میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند، اختلاف معنی‌داری با یکدیگر ندارند (P>۰/۰۵).
 ۳. غیر قابل تشخیص

نیترژن آمونیاکی را در برموداگراس ۱۷ درصد به دست آوردند و آن را به فعالیت کلاستریدا مربوط دانستند. تولید بالای اسید بوتیریک و اسید استیک در سیلوی شاهد مؤید فعالیت شدید کلاستریدایی بود.

سیلوهای حاوی اسید فرمیک، pH پایینی داشتند (جدول ۲). مزیت مهم استفاده از اسید فرمیک کاهش سریع pH به محض استفاده است که امکان فعالیت تقریباً تمامی باکتری‌ها را به شدت محدود می‌کند (۲۱). این کاهش فعالیت منجر به حفظ پروتئین و جلوگیری از اتلاف آن توسط آنزیم‌های گیاه و کاهش تولید آمونیاک توسط باکتری‌ها می‌شود. به همین علت پایین‌ترین نیترژن آمونیاکی در این سیلوه‌ها دیده شد (جدول ۲). اضافه کردن اسید فرمیک به علوفه پنجه خروسی، چاودار و یونجه در زمان‌های مختلف برداشت، pH را کاهش داده بود (۳۰). هم‌چنین در آزمایش دیگری (۱۱)، با آن‌که افزودن اسید فرمیک، pH سیلوی چاودار را نسبت به شاهد اندکی افزایش داد، ولی حفظ بخش‌های نیترژنی در این سیلوه‌ها بهتر بود.

افزودن جو نیز pH سیلوه‌های ارزن را کاهش داد هر چند که این کاهش به اندازه اثر سایر افزودنی‌ها نبود. از آنجا که به طور سنتی غلات به صورت آسیاب شده در سیلو با هدف جذب آب و جلوگیری از اتلاف پساب مورد استفاده قرار می‌گیرند و با توجه به آن‌که نشاسته این دانه‌ها برای باکتری‌های سیلو قابل استفاده نیست، پیشنهاد شده است که کربوهیدرات‌های محلول دانه غلات و افزایش ماده خشک سیلو دو عامل بهبود تخمیر سیلوی گراس‌های فقیر از کربوهیدرات‌های محلول است (۱۸).

مقدار کربوهیدرات‌های محلول در تمامی تیمارها زیر ۲ درصد بود که نشان دهنده کمبود این بخش در علوفه ارزن و نیاز به آن در هنگام سیلو کردن است. تنها در سیلوه‌های حاوی ملاس و باکتری که منبع غنی کربوهیدراتی را دریافت کرده بودند، مقدار کربوهیدرات‌های محلول بیش از ۱/۵ درصد بود. در تیمارهای حاوی اسیدفرمیک نیز کربوهیدرات‌های محلول نزدیک به ۱٪ بود. حفظ کربوهیدرات‌های محلول در سیلوه‌های حاوی اسید فرمیک به دلیل آن است که اسیدی شدن سریع

دیواره سلولی می‌تواند از فعالیت همی سلولزهای موجود در علوفه، فعالیت باکتری‌ها و یا هیدرولیز سلولز و همی سلولز توسط اسیدهای آلی سیلو حاصل شده باشد (۱۷). اسلام و همکاران (۱۵) با افزودن ملاس به علوفه چاودار، دیواره سلولی آن را کاهش دادند. این محققان گزارش کردند که با استفاده از ملاس بهبود تخمیر و کاهش اجزای دیواره سلولی در گراس نیپر دیده شده است. با توجه به pH پایین سیلوه‌های حاوی ملاس احتمال هیدرولیز اسیدی در این تیمارها قوت می‌یابد. متناسب با دیواره سلولی، دیواره سلولی بدون همی سلولز در تیمارهای حاوی ملاس و ترکیب ملاس و باکتری کاهش یافته بود. با توجه به مقدار کم کربوهیدرات‌های محلول باقی‌مانده در سیلو (جدول ۲) کاهش اجزای دیواره سلولی نمی‌تواند به واسطه اثر رقیق‌کنندگی ملاس رخ داده باشد، بلکه این نتیجه حاکی از پاسخ زیاد دیواره سلولی ارزن به هیدرولیز اسیدی و در نهایت هضم است که در آزمایش جستر و همکاران (۱۶) روی ارزن مروارید نیز به اثبات رسیده است.

pH سیلوی ارزن در مرحله شیری بالاتر از خمیری نرم بود. ماده خشک بالاتر فعالیت باکتری‌ها را در سیلو کاهش داده و نقشی را که اسیدها در تخمیر ایفا می‌کنند، کم‌رنگ‌تر می‌سازد. در فعالیت کمتر دیگر باکتری‌ها، باکتری‌های تولیدکننده اسید لاکتیک فرصت بیشتری برای تولید اسیدهای آلی و غلبه بر محیط سیلو دارند. بالاتر بودن pH در مرحله شیری به علت ماده خشک پایین‌تر سیلوه‌ها و فعالیت بیشتر ارگانسیم‌های سیلو بود. pH سیلوه‌های ارزن شاهد بالاتر از تمامی تیمارها و ۵/۴۲ بود. هیل و همکاران (۱۲) نیز مقدار pH سیلوی ارزن بدون افزودنی را ۵/۷۴ به دست آوردند. در نبود مقادیر کافی از کربوهیدرات‌های محلول در آب، باکتری‌های تولیدکننده اسیدلاکتیک رشد نکرده و فعالیت کلاستریدا در این تیمارها بالا بوده است. pH بالا امکان فعالیت کلاستریدا را افزایش داده که ممکن است رشد انواع تجزیه‌کننده پروتئین را در این سیلوه‌ها شدت بخشیده باشد که باعث افزایش مقدار آمونیاک در این سیلوه‌ها شده است (جدول ۲). اومانو و همکاران (۲۹) نیز مقدار

اسیدهای آلی

صرف نظر از اختلاف بین افزودنی‌ها در تولید اسیدهای آلی، تولید کل اسیدهای آلی در سیلوهای این پژوهش پایین‌تر از حد معمول بود. در بررسی اسلام و همکاران (۱۵) نیز افزودن مقادیر قابل توجهی ملاس نتوانست تولید اسیدلاکتیک را به ۲٪ برساند. نتایج مشابهی در آزمایش روی برموداگراس تا روز ۶۰ سیلوشدن حاصل شد (۲۹). بنابراین هر چند ممکن است مقدار اسیدهای آلی تولید شده در این آزمایش تا حدی کمتر از حد واقعی برآورده شده باشد، ولی به نظر می‌رسد که خاصیت تولید بالاتر اسید استیک و کمتر اسیدلاکتیک یک مشخصه ذاتی در گیاهان نواحی گرمسیری در مقایسه با نواحی معتدله باشد (۲۹).

بین افزودنی‌ها بالاترین تولید اسید لاکتیک با افزودن ملاس و کمترین آن در سیلوهای شاهد دیده شد. در بررسی هیل و همکاران (۱۲) سیلوی ارزن بدون افزودنی در مقایسه با سیلوی ذرت دارای کمترین مقدار اسید لاکتیک بود. بخش زیادی از تولید کم اسید لاکتیک به مقدار کم کربوهیدرات‌های محلول در آب علوفه ارزن مربوط است. این مقدار کم تولید اسید لاکتیک باعث شد تا pH سیلوهای شاهد بالاتر و در نتیجه کیفیت سیلوه‌ها نامطلوب باشد. در پژوهشی بر روی علوفه چاودار حتی افزودن ۱۳/۳ درصد ملاس بر اساس وزن خشک نتوانست تولید اسید لاکتیک را به ۲٪ برساند. ولی سیلوهای حاوی ملاس در آن آزمایش نیز بالاترین تولید اسید لاکتیک را داشتند. دلیل دیگر پایین بودن مقدار تولید اسید لاکتیک، ظرفیت بافرینگ پایین علوفه ارزن و مقاومت کمتر آن در برابر کاهش pH بوده است. افزودن تلقیح باکتریایی، تولید اسید لاکتیک را افزایش داد، ولی این مقدار تنها کمی بالاتر از سیلوی شاهد بود. اگر تلقیح باکتریایی با هدف غلبه بر محیط سیلو اضافه شود، سرعت رشد تلقیح باکتریایی مهم‌ترین عامل است، ولی عنوان شده است که در حضور مقادیر کم پیش‌نیازهای رشد، تخمیر همگن و لاکتیکی ممکن است غالب نباشد (۱۹). احتمالاً به همین دلیل تولید اسیداستیک در این تیمار بالا و تولید اسید لاکتیک کم بوده است.

محیط توسط اسیدفرمیک تعداد باکتری‌ها را به شدت کاهش داده و مصرف مواد مغذی را کم می‌کند که از این طریق بازیابی انرژی و ماده خشک در این سیلوه‌ها بالا می‌رود (۲۳).

بین افزودنی‌ها کمترین نیتروژن آمونیاکی مربوط به سیلوهای حاوی اسید فرمیک بود. در آزمایش ناجل و همکاران (۲۳) روی سیلوی گراس‌ها و یونجه، افزودن اسید فرمیک تولید آمونیاک را به ۱/۲۳ درصد نیتروژن کل رسانده بود. تأثیر اسید فرمیک در کاهش نیتروژن آمونیاکی در بررسی هندرسون و همکاران (۱۱) و ویلسون و ویلکینز (۳۰) نیز دیده شد. کاهش سریع pH به ۴ در تیمارهای دارای اسید فرمیک می‌تواند مسئول جلوگیری از رشد کلستریدیا و هم‌چنین تحدید تجزیه پروتئین توسط آنزیم‌های گیاهی باشد.

استفاده از باکتری‌ها نیز نتوانست تولید آمونیاک را در سیلوه‌ها کاهش دهد، هر چند تأثیر آن به صورت حد مرزی بود (نزدیک به ۱۰ درصد کل نیتروژن). در سیلوی گندم، استفاده از باکتری‌ها، آمونیاک را نسبت به شاهد تغییر نداد (۹)، ولی در پژوهش مشتاقی‌نیا و همکاران (۲۰) استفاده از باکتری‌های تولید کننده اسید لاکتیک، نیتروژن آمونیاکی را به طور معنی‌داری کاهش داد. با توجه به آن‌که باکتری‌های تولید کننده اسید لاکتیک توانایی کمی در استفاده از بخش‌های نیتروژنی دارند (۱۸)، کاهش آمونیاک در این تیمار حاکی از غلبه این باکتری‌ها بر محیط سیلوسست، ولی اختلاف آن با تیمارهای حاوی اسیدفرمیک و ملاس احتمالاً به دلیل اختلاف در pH آنهاست. در آزمایش بولسن و همکاران (۵) نیز افزودن ۲٪ دکستروز خالص نیتروژن آمونیاکی سیلوی یونجه را کاهش داد و برخلاف آزمایش ما تأثیر ترکیب دکستروز و تلقیح باکتریایی بیش از تأثیر تک تک آنها بود. اومانا و همکاران (۲۹) با افزودن ملاس قادر به کاهش نیتروژن آمونیاکی در سیلوی گراس نبودند، ولی ترکیب ملاس و باکتری نیتروژن آمونیاکی را کاهش داد. شاید پایین بودن نیتروژن آمونیاکی مانع از ظهور اثر قوی‌تر اضافه کردن ملاس به همراه باکتری در این بررسی شده باشد.

تولید بالاتر اسید لاکتیک، بوتیریک و پروپیونیک در مرحله شیری، به علت ماده خشک کمتر و فعالیت آب بوده است. سیلوی ارزن در بررسی هیل همکاران (۱۲) در چین اول با ماده خشک کمتر، نسبت به چین دوم، اسیداستیک بیشتری تولید کرد. ماک (۲۱) خاطر نشان کرد که pH که در آن فعالیت کلاستریدیا متوقف می‌شود، به ماده خشک گیاه و در حقیقت فعالیت آب بستگی دارد. بنابراین انتظار می‌رود در مرحله شیری فعالیت کلاستریدایی بیشتری رخ داده باشد. با توجه به وقوع تخمیر کلاستریدایی، تولید اسید استیک، بوتیریک و پروپیونیک که محصول نهایی تخمیر کلاستریدیاست، در سیلوی شاهد بالاتر از سایر تیمارها بود. سیلوی گراس بدون افزودنی پس از ۱۱۴ روز سیلو شدن ۴/۵۴ درصد اسید استیک داشت و نسبت اسید استیک به اسید لاکتیک در آن ۰/۶۵ بود (۲۹). ولی در بررسی دیگری (۱۵) هر چند تولید اسید استیک در علوفه چاودار بالا گزارش شد، ولی مقدار آن از اسید لاکتیک کمتر بود. مشابه با نتایج ذکر شده (۲۹)، در آزمایش ما نیز نسبت اسید لاکتیک به اسید استیک ۰/۷۱ بود. پس از سیلوی شاهد بیشترین تولید اسید استیک در سیلوهای حاوی تلقیح باکتریایی دیده شد. این نتیجه می‌تواند بسیار جالب باشد چرا که معمولاً انتظار می‌رود با افزودن تلقیح باکتریایی، تولید اسید لاکتیک افزایش یافته و تخمیر همگن صورت پذیرد، ولی با توجه به ضرورت وجود منابع کربوهیدراتی برای فعالیت باکتری‌های تولید کننده اسید لاکتیک مشخص شد که در گیاه ارزن فقیر از لحاظ منابع کربوهیدراتی، افزودن تلقیح باکتریایی تضمین کننده کیفیت سیلو نیست. از این نظر انتخاب یک تلقیح باکتریایی باید با توجه به نوع علوفه صورت پذیرد. این مسئله از نظر عملی در تهیه سیلو از اهمیت زیادی برخوردار است. فروتشل و همکاران (۹) نشان دادند که در سال‌های خشک، سیلوهای تولید شده از گیاه کامل گندم، اسید استیک بالاتری نسبت به سیلوهایی تولید کردند که در سال‌های پرآب تهیه شده بودند. این اختلاف نشان دهنده قدرت ماندگاری جمعیت باکتری‌های موجود روی گیاه، در شرایط خشک‌سالی است.

در سیلوهای حاوی ملاس و باکتری اسید استیک قابل تشخیص نبود و کاهش سریع pH در این تیمار فرصت فعالیت باکتری‌های غیر همگن را به حداقل رسانده بود، ولی در تیمارهای حاوی ملاس تمامی ارگانیزم‌ها قادر به رشد بوده‌اند. عدم تشخیص اسید استیک در سیلوهای حاوی ترکیب ملاس و باکتری ناشی از اثر همکوشی بین این دو افزودنی است. گزارش شد که افزودن گلوکز به همراه یک تلقیح باکتریایی به اندازه اسید سولفوریک و اسید فرمیک در کاهش pH و محدود کردن فعالیت کلاستریدیا مؤثر بود (۲۱). ولی در سیلوهای برموداگراس، ملاس و باکتری اسید استیک بالاتری نسبت به هر کدام از آنها تولید کرد. در سیلوهای حاوی اسید فرمیک نیز اسید استیک کمی یافت شد. یکی از مزایای اسید فرمیک این است که در حضور آن، مقدار کربوهیدرات‌های محلول گیاه اهمیت خود را در فرایند سیلوکردن از دست می‌دهد. این خاصیت اسید فرمیک به همراه حفظ بخش‌های پروتئینی، باعث افزایش عملکرد حیواناتی شده است که از سیلوهای دارای اسید فرمیک تغذیه کرده‌اند (۲۱).

در سیلوهای شاهد به واسطه pH بالا، مقدار کم کربوهیدرات‌های محلول و حداکثر فعالیت کلاستریایی، بالاترین تولید اسید بوتیریک دیده شد. ولفورد (۲۹) بیان کرد که کمتر از ۰/۱ درصد اسید بوتیریک در سیلوها نشان دهنده یک سیلوی مطلوب است. بر این اساس به جز تیمار شاهد، می‌توان سایر تیمارها را با کیفیت دانست. در این آزمایش تلقیح باکتری‌های تولید کننده اسید لاکتیک قادر به پیشگیری از تولید اسید بوتیریک نبود ولی در بررسی هیل و همکاران (۱۲) تنها افزودن تلقیح باکتریایی به سیلوی ارزن کافی بود تا تولید اسید بوتیریک به حدود غیر قابل تشخیص کاهش یابد. در بررسی او مانا و همکاران (۲۹) نیز با وجود تولید اسید بوتیریک در تیمارهای حاوی باکتری مقدار آن ناچیز بود.

قابلیت هضم

پایین‌تر بودن قابلیت هضم ماده آلی از ماده خشک در این

شکمه و نیز اثر هیدرولیز اسیدی را روی کمپلکس‌های لیگنین و سلولز و همی سلولز افزایش می‌دهد.

افزایش قابلیت هضم از ۵۶/۰۹ در سیلوی شاهد به بیش از ۶۳ درصد در سیلوهای حاوی ملاس حاکی از تأثیر مثبت ملاس بود. در پژوهش اومانا و همکاران (۲۹) نیز ملاس بیش از همه مسئول بهبود کیفیت تخمیر و افزایش قابلیت هضم در سیلو بود. بخشی از افزایش قابلیت هضم به کربوهیدرات‌های محلول باقی‌مانده در سیلوهای حاوی ملاس مربوط است که توسط میکروارگانیسم‌ها به راحتی مورد استفاده قرار می‌گیرند، به علاوه pH پایین در این سیلوه‌ها می‌تواند همی سلولز را از طریق هیدرولیز اسیدی مؤثرتر به مقدار زیادتری در دسترس میکروارگانیسم‌ها قرار دهد. هم‌چنین کاهش آثار متقابل لیگنین، سلولز و همی سلولز در نتیجه هیدرولیز اسیدی، سطح دسترسی میکروارگانیسم‌ها را به بخش‌های قابل هضم افزایش می‌دهد. با توجه به آن‌که مقدار کربوهیدرات‌های محلول باقیمانده در این تیمار پایین بود، افزایش هضم نمی‌تواند صرفاً به علت اثر خود ملاس بوده باشد، بلکه بخش زیادی از آن به هضم اجزای فیبری سیلوی ارزن ارتباط داشته است.

نتیجه‌گیری

نتایج این بررسی مویب آن بود که علوفه ارزن فاقد مقادیر کافی از کربوهیدرات‌های محلول در آب است که برای تهیه یک سیلوی با کیفیت بالا اهمیت زیادی دارد. بین افزودنی‌ها، ملاس به دلیل عرضه سریع مقادیر زیاد پیش‌نیازهای رشد باکتری‌های تولیدکننده اسید لاکتیک در درجه اول انتخاب قرار می‌گیرد و بدون حضور مقادیر کافی از کربوهیدرات‌های محلول، تلقیح باکتریایی لزوماً به معنای تهیه یک سیلوی با کیفیت خوب نخواهد بود.

پژوهش، به دلیل مقدار بالای خاکستر شیشه‌های شاهد بود. شاید دلیل آن جمع‌آوری نمونه از گوسفندان تازه کشتار شده در کشتارگاه باشد، که به شرایط نگهداری قبل از کشتار مربوط است، به هر حال به دلیل حذف اثر آلودگی با خاک، قابلیت هضم ماده آلی معیار مطمئن‌تری نسبت به قابلیت هضم ماده خشک است (۱۴).

افزودن جو به سیلوهای ارزن قابلیت هضم ماده آلی را نسبت به سیلوهای شاهد ۴ واحد افزایش داد. هر چند از لحاظ خصوصیات تخمیر، سیلوهای حاوی جو pH بالاتری داشتند، ولی افزودن منبعی از نشاسته از طریق جو، قابلیت هضم را افزایش داد (جدول ۳). بنابراین اثر غلات در بهبود خصوصیات سیلو، اثری دو مرحله‌ای است که بخش مهمی از آن به کارکرد این افزودنی بر عملکرد حیوان، باز می‌گردد. از این رو به منظور ارائه نتیجه‌گیری صریح در مورد مؤثر بودن افزودن جو به سیلو، نتایج تولیدی حیوان باید مدنظر قرار گیرد.

به دلیل اثر قابل ملاحظه‌ای که افزودن اسید فرمیک در حفظ و نگهداری بخش‌های نیتروژنی سیلوه‌ها دارد، پژوهش‌های صورت گرفته بیشتر قابلیت هضم نیتروژن را در سیلوهای حاوی اسید فرمیک بررسی کرده‌اند. ناجل و برودریک (۲۳) نشان دادند که با افزودن اسید فرمیک به سیلو تجزیه پذیری پروتئین در شکمه کاهش می‌یابد. در بررسی نادو و همکاران (۲۲) افزودن اسید فرمیک به همراه سلولاز به اورچادگراس قابلیت هضم سیلو را تغییر نداد. هم‌چنین افزودن اسید فرمیک تأثیر در بهبود قابلیت هضم ماده آلی سیلوهای علوفه پنجه خروسی، چاودار و یونجه نداشت (۳۰). ولی در آزمایش حاضر افزودن اسید فرمیک قابلیت هضم ماده آلی و ماده خشک را در آزمایشگاه افزایش داد. این نتایج حساسیت دیواره سلولی سیلوی ارزن را به هضم نشان داده و حاکی از قابلیت هضم بالای فیبر آن است. احتمالاً دلیل این امر به تراکم پایین لیگنین در علوفه ارزن مربوط است که سطح دسترسی میکروارگانیسم‌ها

منابع مورد استفاده

۱. مرکز آمار ایران، ۱۳۸۰. سالنامه آماری کشور در سال ۱۳۷۹. انتشارات مرکز آمار ایران، تهران.
۲. ناخدا، ب. ۱۳۷۹. /رزن. کتابچه ترویجی وزارت کشاورزی، نشر آموزش کشاورزی، تهران.
3. Andrea Canale, M., E. Valente and A. Coitti. 1984. Determination of volatile carboxylic C₁-C₅ and lactic acid in aqueous acid extracts of silage by high performance liquid chromatography. J. Sci. Food Agric. 35:1178-1182.
4. Association of official analytical Chemists. 1984. Official Methods of Analysis. 14th ed., AOAC, Washington, D. C.
5. Bolsen, K. K., C. Lin and B. E. Brent. 1992. Effect of silage additives on the microbial succession and fermentation process of alfalfa and corn silages. J. Dairy Sci. 75: 3066-3083.
6. Deware, W. A., P. McDonald and R. Wittenbury. 1963. The hydrolysis of grass hemicelluloses during ensilage. J. Sci. Food Agric. 60: 147-153.
7. DuBois, M., K. A. Giles, J. K. Hamilton, P. A. Ronets and F. Smith. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Anal. Chem. 28: 350.
8. Feng, P., C. W. Hunt, G. T. Pritchard and W. E. Julien. 1996. Effect of enzyme preparation on *in situ* and *In vitro* degradation and *in vivo* digestive characteristics of mature cool-season grass forage in beef steers. J. Anim. Sci. 74: 1349-1357.
9. Froetschel, M. A., L. O. Ely and H. E. Amos. 1991. Effects of additives and growth environment on preservation and digestibility of wheat silage fed to Holstein heifers. J. Dairy Sci. 75: 546-556.
10. Georing, H. K. and P. J. Van Soest. 1970. Forage fiber analysis. Agric. Handbook, 379, Agric. Serv., US Dep. Agric., Washington, D. C.
11. Henderson, A. R., P. McDonald and M. K. Wolford. 1972. Chemical changes and losses during the ensilage of wilted grass treated with formic acid. J. Sci. Food Agric. 23: 1079-1087.
12. Hill, M. P., R. N. Gates, W. W. Hanna and J. C. Johnson. 1999. Pearl millet silage for growing beef heifers and steers. J. Prod. Agric. 12: 653-658.
13. Holden. L. A. 1999. Comparison of methods of *in vitro* dry matter digestibility for ten feeds. J. Dairy Sci. 82: 1791-1749.
14. Hopkins, A. 2000. Grass, Its Production and Utilization. 3rd ed., Blackwell Science, UK.
15. Islam, M., O. Enishi, A. Purnomoadi, K. Hegochi, N. Takosari and F. Terada. 2001. Energy and protein utilization by goats fed Italian ryegrass silage treated with molasses, urea, cellulase +lactic acid bacteria. Small Rum. Res. 42: 49-60.
16. Jaster, E. H., C. M. Fisher and D. A. Miller. 1985. Nutritive value of oatlage, barley/pea, pearl millet and sorghum as silage ground under a double cropping forage system for dairy heifers. J. Dairy Sci. 68: 2914-2921.
17. Jones, B. A., R. D. Hatfield and R. E. Muck. 1992. Effect of fermentation and bacterial inoculation on Lucerne cell walls. J. Sci. Food Agric. 60: 147-153.
18. McDonald, P., A. R. Henderson and S. J. E. Heron. 1990. The Biochemistry of Silage. 2nd ed., Chalcomb Pub., UK.
19. Merry, R. J., A. P. Williams, E. L. Bakewell, D. K. Leemans and J. K. S. Tweed. 1998. Proteolysis during ensilage of forages varying in soluble sugar content. J. Dairy Sci. 79: 2207-2216.
20. Moshtaghi Nia, S. A. and K. M. Wittenburg. 1999. Use of forage inoculant with and without enzymes to improve preservation and quality of whole crop barely forage ensiled as long bales. Can. J. Anim. Sci. 79: 525-532.
21. Muck, R. E. 1988. Factors influencing silage quality and their implications for management. J. Dairy Sci. 71: 2992-3002.
22. Nadeau, E. M. G., D. R. Buxton, J. R. Russell, M. J. Allison and J. W. Young. 2000. Enzyme, bacterial inoculant and formic acid effects on silage composition of orchardgrass and alfalfa. J. Dairy Sci. 83: 1487-1502.
23. Nagel, A. S. and G. A. Broderick. 1992. Effect of formic acid or formaldehyde treatment of alfalfa silage on nutritive utilization by dairy goats. J. Dairy Sci. 75: 140-154.
24. Okuda, H., S. Fuji and Y. Kawashima. 1965. A direct colorimetric method for blood ammonia. Tokushima J. Exp. Med. 12: 11-15.
25. Playne, M. J. and P. McDonald. 1966. The buffering constituents of herbage and of silage. J. Sci. Food Agric. 17: 264-209.
26. SAS Institute. 1985. SAS Users Guide: Statistics. SAS Inc., Cary, NC.
27. Sniffen, C. J., J. D. O'Connor, P. J. Van Soest, D. G. Fox and J. B. Russell. 1992. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets, II. Carbohydrate and protein availability. J. Anim. Sci. 70: 3562-3577.
28. Tilley. J. M. A. and R. A. Terry. 1963. A two-stage technique for the *in vitro* digestion of forage crops. J. Br. Grassl. Soc. 18: 104-111.
29. Umana, R., C. R. Staples, D. B. Bates, C. J. Wilcox and W. C. Mahanna. 1991. Effects of a microbial inoculant and (or) sugarcane molasses on the digestibility of bermudagrass ensiled at two moisture contents. J. Anim. Sci. 69: 4588-4601.
30. Wilson, R. F. and R. J. Wilkins. 1973. Formic acid as a silage additive, I. Effects of formic acid on fermentation in laboratory silos. J. Agric. Sci. 81: 117-124.