

The effect of inoculated corn silage with different types of bacteria on Holstein lactating cows' performance

Ali Bayat¹ , Fardin Hozhabri² , Daryoush Alipour³ 

1. Department of Animal Science, Faculty of Science and Agricultural Engineering, Razi University, Kermanshah, Iran. E-mail: bayat.ali@razi.ac.ir
2. Corresponding Author, Department of Animal Science, Faculty of Science and Agricultural Engineering, Razi University, Kermanshah, Iran. E-mail: hozhabri@razi.ac.ir
3. Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Bu -Ali Sina University, Hamedan, Iran. E-mail: alipourd@basu.ac.ir

| Article Info | ABSTRACT |
|--|--|
| Article type: Research Article | <p>Corn fodder with 28% DM were harvested, chopped and after applying treatments (10^6 cfu g^{-1} FM) were ensiled in 30 kg bags. The experimental treatments were: 1) Silage without microbial inoculation (control), 2) silage inoculated with <i>Lactobacillus fermentum</i> produced in the laboratory (Lab), 3) silage inoculated with mixture of <i>Lactobacillus fermentum</i>, <i>Lactobacillus salivarius</i>, <i>Pediococcus acidilactici</i> and <i>Enterococcus faecium</i> (Lab), and 4) silage inoculated with commercial bacteria containing <i>Enterococcus faecium</i>, <i>Lactobacillus brevis</i> and <i>Lactobacillus plantarum</i>. Sixteen Holstein cows in the middle of lactation (160 ± 10 days of lactation) were used based on a 4 x 4 integrated Latin square design with periods of 21 days. The milk production of treatments was not significantly different from the control, but 3.5% fat corrected milk of cows receiving inoculated silage was more than the control. The percentages of milk fat, protein and solids- non-fat were higher in the first treatment than other groups ($P < 0.05$). Cows fed with laboratory inoculated silages had a higher ($P < 0.05$) DMI than control and third treatment. The digestibility of DM, CP and ADF was higher ($P < 0.05$) in the inoculated treatments than control and the highest was related to the second treatment. The rumen ammonia nitrogen in the first and second treatments was lower ($P < 0.05$) than control. The rumen percentage of acetate was higher ($P < 0.05$) in control and the second treatment, and propionate was higher ($P < 0.05$) in the inoculated treatments than control. The overall conclusion showed that the bacterial inoculation of corn silage had no significant effect on milk production, although it increased 3.5% fat corrected milk, percentages of milk fat and protein as well as digestibility of nutrients.</p> |
| Article history: Received: 7 February 2024 Received in revised form: 10 May 2024 Accepted: 21 May 2024 Published online: 21 December 2024 | |
| Keywords: <i>Dry matter intake, Lactobacillus fermentum, Microbial inoculation, Milk composition, Milk yield.</i> | |

Cite this article: Bayat, A., Hozhabri, F. & Alipour, D. (2024). The effect of inoculated corn silage with different types of bacteria on Holstein lactating cows' performance. *Iranian Journal of Animal Science*, 55 (4), 753-768. DOI: <https://doi.org/10.22059/ijas.2024.371311.653997>



© The Author(s).

DOI: <https://doi.org/10.22059/ijas.2024.371311.653997>

Publisher: The University of Tehran Press.

Extended Abstract

Introduction

Silage is actually a forage preserved through lactic acid fermentation and is an integral part of most dairy cattle diets in most countries of the world (Arriola et al., 2021). Inoculants, which are mainly composed of selected strains of lactic acid bacteria (LAB), have been used as silage additives all over the world and are the most common additives used to improve the fermentation process and silage quality (Bernardi et al., 2019). The response of livestock to the use of inoculants in silage is controversial. Some studies have observed an increase in milk production (Kung et al., 2003), while other studies have not identified a positive response (Arriola et al., 2021) or have observed a negative effect in this regard (Santos et al., 207). According to reviews, very limited studies have evaluated the effects of inoculating corn silage with newer inoculants containing mixtures of obligate homogenous fermenting and obligate or facultative heterogenous fermenting bacteria on dairy cow performance. The aim of this study was to investigate the effect of using bacterial inoculations

containing heterogeneous fermenting bacteria alone or in combination with homogeneous and heterogeneous fermenting bacteria on the performance of dairy cows and nutrient digestibility.

Material and Methods

Corn fodder with 28% DM was harvested, cut into 2-3 cm pieces and after applying treatments (10^6 colonies per gram of fresh fodder) were ensiled in 30 kg bags for 260 days. The experimental treatments were: 1) Silage without microbial inoculation (control), 2) silage inoculated with *Lactobacillus fermentum* produced in the laboratory, 3) silage inoculated with mixture of *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus salivarius*, *Pediococcus acidilactici* and *Enterococcus faecium*, produced in the laboratory and 4) silage inoculated with commercial bacteria containing *Enterococcus faecium*, *Lactobacillus brevis* and *Lactobacillus plantarum*. The concentrations of bacteria used in this experiment were prepared using the multiplication method in liquid MRS broth (MRS Broth) and turbidity and absorption measurement of the samples by a spectrophotometer. The inoculants were diluted in deionized water and sprayed on the fodder with a hand sprayer. A similar amount of deionized water was sprayed on the control fodder. In this experiment, 16 multiparous Holstein cows in the middle of the lactation with body weight of 630 ± 17 kg, 160 ± 10 days of lactation and milk production of 30 ± 2.1 kg were placed in individual stalls with dimensions of 4x4 square meters and were randomly assigned to one of the treatments. Each experimental period was 21 days including 14 days of adaptation period and 7 days for sample collection. Milking was done three times a day at 6:00, 14:00 and 22:00, milk production was recorded daily and milk was sampled to determine milk composition. Ruminal fluid was taken through an esophageal tube using a vacuum pump on the 21st day of each period four hours after morning feeding to determine pH, ammonia nitrogen and volatile fatty acid concentrations. The acid-insoluble ash internal indicator method was used to determine the digestibility of dry matter, crude protein and insoluble fibers in neutral detergent. This experiment was based on a 4x4 integrated Latin square design with four experimental treatments, four periods and four cows in each treatment. All the collected data were analyzed using SAS statistical software (version 9.4) by mixed analysis procedure. Mean treatments were also compared using Duncan's test at a significance level of five percent.

Results and discussion

The milk production of treatments was not significantly different from the control, but 3.5% fat corrected milk of cows receiving inoculated silage was more than the control. The percentages of milk fat, protein and solids nonfat were higher in the first treatment than other groups. Cows fed with laboratory inoculated silages had a higher ($P < 0.05$) dry matter intake than control and third treatment. The digestibility of dry matter, crude protein and neutral detergent fiber was higher ($P < 0.05$) in the inoculated treatments than control and the highest was related to the second treatment. The rumen ammonia nitrogen in the first and second treatments was lower ($P < 0.05$) than control. The rumen percentage of acetate was higher ($P < 0.05$) in control and the second treatment, and propionate was higher ($P < 0.05$) in the inoculated treatments than control.

Conclusions

The results of current study showed that the bacterial inoculation of corn silage had no significant effect on the milk production, although it increased 3.5% fat corrected milk, the percentages of milk fat and protein as well as the digestibility of nutrients.

تأثیر سیلاژ ذرت تلقیح شده با باکتری‌های مختلف بر عملکرد گاوهای شیرده هلشتاین

علی بیات^۱ | فردین هژبری^۲ | داریوش علیپور^۳

۱. گروه علوم دامی، دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران. رایانامه: bayat.ali@razi.ac.ir
۲. نویسنده مسئول، گروه علوم دامی، دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران. رایانامه: hozhabri@razi.ac.ir
۳. گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بو علی سینا، همدان، ایران. رایانامه: alipour@basu.ac.ir

| اطلاعات مقاله | چکیده |
|--|--|
| نوع مقاله: مقاله پژوهشی | ذرت علوفه‌ای با ۲۸ درصد ماده خشک برداشت، خردشده و پس از اعمال تیمارهای آزمایشی (۱۰ ^۶ کلنی به ازای گرم علوفه تازه) در کیسه‌های ۳۰ کیلوگرمی سیلو شدند. تیمارهای آزمایشی عبارت بودند از: (۱) سیلاژ بدون تلقیح میکروبی (شاهد)، (۲) سیلاژ تلقیح شده با لاکتوباسیلوس فرمنتوم تولیدشده در آزمایشگاه، (۳) سیلاژ تلقیح شده با مخلوطی از لاکتوباسیلوس فرمنتوم، لاکتوباسیلوس سالیواریوس، پدیوکوکوس اسیدی لاکتیزی و انتروکوکوس فاسیوم، تولیدشده در آزمایشگاه و (۴) سیلاژ تلقیح شده با باکتری تجاری حاوی انتروکوکوس فاسیوم، لاکتوباسیلوس برویس و لاکتوباسیلوس پلانناروم. شانزده رأس گاو هلشتاین در اواسط شیردهی (۱۰/۰ ± ۱۶۰ روز شیردهی) بر پایه طرح مربع لاتین ادغام شده ۴×۴ با دوره‌های ۲۱ روزه استفاده شد. تولید شیر تیمارهای آزمایشی با شاهد تفاوتی نداشت ولی تولید شیر تصحیح شده بر اساس ۳/۵ درصد چربی در گاوهای دریافت کننده سیلاژ تلقیح شده بیشتر از شاهد بود. درصدهای چربی، پروتئین و مواد جامد بدون چربی شیر در تیمار اول بیشتر از گروه‌های دیگر بود. گاوهای تغذیه شده با سیلاژهای تلقیح شده آزمایشگاهی، مصرف ماده خشک بالاتری نسبت به شاهد و تیمار سوم داشتند. گوارش پذیری ماده خشک، پروتئین خام و ایاف نامحلول در شوینده اسیدی در تیمارهای تلقیح شده بالاتر از شاهد بود و بیشترین آن مربوط به تیمار دوم بود. غلظت نیتروژن آمونیاکی شکمبه در تیمارهای اول و دوم کمتر از شاهد بود. درصد استات شکمبه در شاهد و تیمار دوم بالاتر و پروپیونات در تیمارهای تلقیح شده بیشتر از شاهد بود. نتایج نشان داد تلقیح باکتریایی سیلاژ ذرت تأثیر معنی داری بر میزان تولید شیر نداشت هرچند شیر تصحیح شده ۳/۵ درصد چربی، درصدهای چربی و پروتئین شیر و گوارش پذیری مواد مغذی را افزایش داد. |
| تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۱/۱۸ تاریخ بازنگری: ۱۴۰۳/۰۲/۲۱ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۳/۰۱ تاریخ انتشار: ۱۴۰۳/۱۰/۰۱ | |
| کلیدواژه‌ها: ترکیب شیر، تلقیح میکروبی، تولید شیر، لاکتوباسیلوس فرمنتوم، ماده خشک مصرفی. | |

استناد: بیات، علی؛ هژبری، فردین و علیپور، داریوش (۱۴۰۳). تأثیر سیلاژ ذرت تلقیح شده با باکتری‌های مختلف بر عملکرد گاوهای شیرده هلشتاین. نشریه علوم دامی ایران، ۵۵ (۴)، ۷۶۸-۷۵۳. DOI: <https://doi.org/10.22059/ijas.2024.371311.653997>



© نویسندگان.

DOI: <https://doi.org/10.22059/ijas.2024.371311.653997>

ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.

مقدمه

سیلاژ، علوفه‌ای است که از طریق تخمیر اسید لاکتیک حفظ شده و جزء جدایی ناپذیر بیشتر جیره غذایی گاوهای شیری در اکثر مزارع دامپروری جهان است (Ben-Meir *et al.*, 2018; Arriola *et al.*, 2021). توسعه راهبردها جهت بهبود کیفیت سیلاژ و کاهش تلفات مواد مغذی در طول سیلو کردن از مواردی است که مورد علاقه محققین در گذشته بوده است (Zhang *et al.*, 2019; Arriola *et al.*, 2021). تلقیح سیلاژ ذرت که عمدتاً از سویه‌های انتخابی باکتری‌های اسید لاکتیک (LAB) تشکیل شده است، به‌عنوان افزودنی‌های سیلاژ در سرتاسر جهان استفاده شده و رایج‌ترین افزودنی‌های مورد استفاده برای بهبود فرآیند تخمیر و کیفیت سیلاژ می‌باشند (Ben-Meir *et al.*, 2018; Bernardi *et al.*, 2019; Zhang *et al.*, 2019; Arriola *et al.*, 2021). میزان باکتری توصیه‌شده برای تلقیح سیلاژ معمولاً بین 10^5 تا 10^6 سلول زنده در گرم علوفه مرطوب است که این میزان برای تشکیل جمعیت غالب در سیلاژ علاوه بر باکتری‌های اسید لاکتیک طبیعی روی گیاه (ایبی‌فایتیک) کافی به‌نظر می‌رسد (Ben-Meir *et al.*, 2018). مفهوم تلقیح میکروبی سیلاژ، اضافه کردن باکتری‌های اسید لاکتیک با رشد سریع به منظور تسلط بر تخمیر است. تلقیح‌های میکروبی حاوی یک یا چند مورد از این باکتری‌ها هستند که به دلیل توانایی آن‌ها در تسلط بر تخمیر انتخاب شده‌اند. دلیل منطقی وجود میکروارگانیسم‌های متعدد از پتانسیل هم‌افزایی بالقوه آن‌ها ناشی می‌شود (Fellner *et al.*, 2001; Bayatkouhsar *et al.*, 2011). علاوه بر بهبود کیفیت سیلاژ، بررسی مطالعات گذشته نشان می‌دهد که در برخی از آزمایش‌های گزارش شده، تلقیح میکروبی بر عملکرد حیوانات اثر مثبتی داشته است.

پیشینه پژوهش

تلقیح سیلاژ ذرت با باکتری‌های اسید لاکتیک سبب افزایش مصرف خوراک (۴-۱۱ درصد)، افزایش وزن زنده (۷-۱۱ درصد)، تولید شیر (۳-۵ درصد) و بازده خوراک (۹ درصد) شده است اما علت بهبود در عملکرد دام نامشخص است (Ben-Meir *et al.*, 2018). تفاوت‌های معمولی در ویژگی‌های تخمیر سیلاژ بین سیلاژهای تیمار نشده و تلقیح‌شده تقریباً ۰/۳۰ کیلوگرم افزایش تولید شیر در روز را توضیح می‌دهد (Huhtanen *et al.*, 2003; Ben-Meir *et al.*, 2018). این تغییرات در محصولات تخمیر و بهبودهای کوچک در بازیابی ماده خشک، عملکرد حیوان را افزایش می‌دهد. تلاش‌های متعددی که بر بقای باکتری‌های تلقیحی در دستگاه گوارش حیوانات متمرکز است برای یافتن مکانیسم این اثر انجام شده است (Han *et al.*, 2014). سایر اثراتی که مورد مطالعه قرار گرفتند شامل گوارش‌پذیری ماده خشک و دیواره سلولی (aNDF)، تولید گاز و بازده زیست توده میکروبی تحت شرایط آزمایشگاهی بوده است، اما نتایج متفاوت و متغیری از این آزمایشات گزارش شده است (Ben-Meir *et al.*, 2018).

پاسخ عملکرد دام به استفاده از تلقیح سیلاژ بحث برانگیز است (Santos *et al.*, 2017; Bernardi *et al.*, 2019). برخی از مطالعات، افزایش در تولید شیر را گزارش کرده‌اند (Kung *et al.*, 2003)، در حالی که مطالعات دیگر پاسخ مثبتی را مشاهده نکرده (Santos *et al.*, 2017; Arriola *et al.*, 2021) یا اثر منفی در این زمینه گزارش کرده‌اند (Santos *et al.*, 2017). مشخصات تخمیر سیلو می‌تواند مصرف ماده خشک را تعیین کند (Santos *et al.*, 2017)، اما به نظر نمی‌رسد این مکانیسم تغییری در گوارش‌پذیری سیلاژ داشته باشد (Ellis *et al.*, 2016; Santos *et al.*, 2017). گرچه برخی از مطالعات نشان داده‌اند که بهبود عملکرد دام از اثرات بالقوه پروبیوتیکی تلقیح‌های سیلاژ حاصل می‌شود (Bernardi *et al.*, 2019)؛ اما برخی دیگر پیشنهاد کردند که تغییرات در ترکیب شیمیایی و تخمیر سیلاژ عوامل اصلی افزایش عملکرد دام است (Rabelo *et al.*, 2018). به‌طور کلی مطالعات در مورد اثرات کاربرد تلقیح میکروبی در علوفه بر عملکرد گاوهای شیری اندک است و مطالعات موجود نتایج مبهمی را به همراه داشته است (Santos *et al.*, 2017). با این حال، پیشنهاد شده است که تلقیح سیلاژ می‌تواند عملکرد حیوان را با تغییر تخمیر شکمبه افزایش دهد (Fellner *et al.*, 2001; Bayatkouhsar *et al.*, 2011). اگرچه یافته‌ها مبهم هستند، اما علت بهبود عملکرد حیواناتی که با سیلاژ تلقیح‌شده تغذیه می‌شوند، نامشخص است (Santos *et al.*, 2017).

Bernardi et al., 2019). با توجه به بررسی‌ها، مطالعات بسیار محدودی اثرات تلقیح سیلاژ ذرت با تلقیح‌کننده‌های جدیدتر را که حاوی مخلوط‌هایی از باکتری‌های تخمیرکننده همگن اجباری و تخمیرکننده ناهمگن اجباری یا اختیاری بر عملکرد گاوهای شیری است، ارزیابی کرده است؛ به همین منظور هدف از این مطالعه بررسی تأثیر استفاده از تلقیح‌های باکتریایی حاوی باکتری‌های تخمیرکننده ناهمگن به تنهایی یا در ترکیب با باکتری‌های تخمیرکننده همگن و ناهمگن بر عملکرد گاوهای شیرده بود.

روش‌شناسی پژوهش

محل انجام آزمایش و تیمارهای آزمایشی

پژوهش حاضر در یک گاوداری خصوصی رجبی واقع در حومه شهر همدان طی سال‌های ۱۳۹۹ تا ۱۴۰۰ انجام شد. این پژوهش طی دو مرحله انجام شد؛ مرحله اول شامل آماده‌سازی سیلاژها و تلقیح باکتری‌ها و مرحله دوم شامل آزمایشات درون‌تنی بود. جهت آماده‌سازی سیلاژهای ذرت، علوفه ذرت در مرحله یک‌سوم خط شیری سن بلوغ با ماده خشک ۲۸ درصد از مزارع شهر کرمانشاه برداشت و توسط یک دستگاه برداشت علوفه سه ردیفه (فامکو، ایران) در شرایط مزرعه به قطعاتی به طول ۲-۳ سانتی‌متر خرد و سپس با اعمال تیمارهای آزمایشی (تلقیح باکتریایی با نرخ 10^6 cfu به ازاء هر گرم علوفه تازه) در کیسه‌های نایلونی مخصوص ۳۰ کیلوگرمی به مدت ۲۶۰ روز سیلو شدند. تیمارهای آزمایشی عبارت بودند از: (۱) سیلاژ بدون تلقیح میکروبی (شاهد، ۲) سیلاژ تلقیح‌شده با لاکتوباسیلوس فرمنتوم به عنوان کشت تازه تولید شده در آزمایشگاه، (۳) سیلاژ تلقیح‌شده با مخلوطی از لاکتوباسیلوس فرمنتوم، لاکتوباسیلوس سالیواریوس، پدیوکوکوس اسیدی‌لاکتیسی و انتروکوکوس فاسیوم، به عنوان کشت تازه تولید شده در آزمایشگاه و (۴) سیلاژ تلقیح‌شده با باکتری تجاری (بایومین) حاوی انتروکوکوس فاسیوم، لاکتوباسیلوس برویس و لاکتوباسیلوس پلانتروم.

غلظت‌های مورد استفاده باکتری‌ها در این آزمایش، با استفاده از روش تکثیر در محیط کشت ام آر اس مایع (MRS Broth) و کدورت سنجی و اندازه‌گیری جذب نمونه‌ها با دستگاه اسپکتروفوتومتر (VARIAN, Cary100 UV-Vis Spectrophotometer، ساخت کشور استرالیا) تهیه شد. تلقیح‌ها در آب دیونیزه رقیق و با سمپاش دستی روی علوفه پاشیده شد. مقدار مشابهی از آب دیونیزه شده روی علوفه شاهد اسپری شد. در این مطالعه برای تیمارهای دوم و سوم از تلقیح باکتری‌های اسید لاکتیک آزمایشگاهی که توسط (Aghamohamadi et al., 2022) کشت داده شده بود، استفاده شد (جدول ۱).

جدول ۱. سویه‌های باکتری اسید لاکتیک کشت شده در آزمایشگاه^۱

| درصد شباهت | کد در NCBI | هم‌ترازی در BLAST | منبع جداسازی | سویه‌های باکتری اسیدلاکتیک |
|------------|------------|---------------------------------|-------------------------------|----------------------------|
| ۱۰۰ | LT852760.1 | <i>Lactobacillus salivarius</i> | محتویات روده مرغ‌های گوشتی | سویه ۷ |
| ۹۹ | KY549392.1 | <i>Pedococcus acidilatici</i> | محتویات روده مرغ‌های گوشتی | سویه ۱۱ |
| ۱۰۰ | GQ231445.1 | <i>Lactobacillus fermentum</i> | محتویات روده مرغ‌های تخم‌گذار | سویه ۱۶ |
| ۱۰۰ | KY682304.1 | <i>Enterococcus faecium</i> | محتویات روده شترمرغ | سویه ۱۹ |

^۱ استفاده شده از سویه‌های تهیه شده توسط (Aghamohamadi et al., 2022)

پس از ۲۶۰ روز سیلاژهای ذرت آماده شده در تهیه جیره‌های آزمایشی استفاده شد. تراکم مواد مغذی جیره‌های آزمایشی بر مبنای جداول استاندارد گاو شیری و احتیاجات غذایی معمول گاو شیری با استفاده از نرم افزار (NRC, 2001) تنظیم شد. در جیره‌ها، سیلاژهای ذرت تیمار نشده و تیمار شده با باکتری‌های تولیدکننده اسید لاکتیک، منبع اصلی علوفه بود. اجزای جیره و ترکیبات شیمیایی مواد خوراکی استفاده شده در جیره‌های آزمایشی در جدول ۲ آورده شده است. در این آزمایش تعداد ۱۶

رأس گاو هلشتاین دو شکم‌زا در اواسط دوره شیردهی با میانگین وزن بدن 630 ± 17 کیلوگرم، میانگین روزهای شیردهی 160 ± 10 روز و میانگین تولید شیر $30 \pm 2/1$ کیلوگرم در جایگاه‌های انفرادی به ابعاد 4×4 مترمربع قرار گرفتند و به‌طور تصادفی به یکی از تیمارها، اختصاص داده شد. دام‌های تحت آزمایش طوری انتخاب شدند که به لحاظ روزهای شیردهی و تولید شیر کاملاً مشابه بودند. گاوها سه نوبت در روز و در ساعت‌های ۷، ۱۵ و ۲۳ با در نظرگرفتن ۱۰ درصد باقی‌مانده خوراک در آخورها بصورت مصرف اختیاری و در حد اشتها با استفاده از جیره‌های کاملاً مخلوط تغذیه شدند. آب کافی و تمیز در کل دوره آزمایش در دسترس دام‌ها قرار گرفت. هر دوره آزمایشی ۲۱ روز شامل ۱۴ روز دوره سازگاری و ۷ روز برای جمع‌آوری نمونه‌ها بود. وزن بدن هر گاو در ابتدای هر دوره ثبت شد.

ترکیبات شیمیایی

مقدار خوراک مصرفی و پسماند آن برای هر گاو، روزانه اندازه‌گیری و نمونه‌برداری از آن‌ها، هفتگی بود. نمونه‌ها با هم مخلوط و ترکیب شیمیایی آن‌ها تعیین شد. پیش از خوراک‌دهی وعده صبح، باقی‌مانده خوراک از آخور به‌طور روزانه جمع‌آوری و برای تعیین ماده خشک توزین شد. نمونه‌گیری از مواد خوراکی مورد استفاده در جیره‌ها پیش از شروع آزمایش، نمونه‌گیری از جیره‌های کاملاً مخلوط و پس از آخور به‌طور هفتگی انجام شد. گوارش‌پذیری ظاهری مواد مغذی براساس روش نشانگر داخلی خاکستر نامحلول در اسید و با استفاده از اسید کلریدریک دو نرمال اندازه‌گیری شد. برای تعیین گوارش‌پذیری ظاهری مواد مغذی، طی روزهای نمونه‌برداری از خوراک ریخته شده در آخور، و از مدفوع ۱۶ رأس گاو مورد آزمایش در هر دوره یک نمونه صبح و یک نمونه عصر (به صورت روزانه) جمع‌آوری و در دمای -20 درجه‌سانتی‌گراد شد (Van Keulen & Young, 1977). در هنگام تجزیه شیمیایی مدفوع، تمامی نمونه‌های مربوط به هر گاو با هم مخلوط شدند. نمونه‌های خوراک، پسماند خوراک و مدفوع خشک شده با آسیاب مجهز به الک یک میلی‌متری آسیاب شدند (Wiley's pulverizer for laboratory, Orgaw Seiki Co., Ltd., Tokyo, Japan). اندازه‌گیری ماده خشک، پروتئین خام، عصاره اتری و خاکستر نمونه‌ها مطابق با روش‌های استاندارد توصیه شده آزمایشگاهی (AOAC, 2000) انجام شد. همچنین، الیاف نامحلول در شوینده خنثی و اسیدی نیز به روش متداول (Van Soest *et al.*, 1991) اندازه‌گیری شد. غلظت کربوهیدرات‌های غیرالیافی جیره‌های کاملاً مخلوط، با استفاده از رابطه (۱) برآورد شد:

$$\text{رابطه (۱)} \quad \text{NFC} = 100 - (\% \text{NDF} + \% \text{CP} + \% \text{EE} + \% \text{Ash})$$

که در این رابطه NFC، کربوهیدرات‌های غیرالیافی؛ EE؛ چربی خام؛ CP، پروتئین خام؛ NDF، الیاف نامحلول در شوینده خنثی؛ Ash، خاکستر هستند.

جدول ۲. مواد خوراکی و ترکیب شیمیایی جیره‌های آزمایشی (براساس ماده خشک)

| جیره‌های آزمایشی ^۱ | | | | فراسنجه |
|-------------------------------|-------|-------|-------|-------------------|
| سوم | دوم | اول | شاهد | اجزای جیره |
| ۱۷/۷۹ | ۱۷/۷۹ | ۱۷/۷۹ | ۱۷/۷۹ | یونجه خشک خرد شده |
| ۲۸/۸۹ | ۲۸/۸۹ | ۲۸/۸۹ | ۲۸/۸۹ | سیلاژ ذرت |
| ۱۹/۱۳ | ۱۹/۱۳ | ۱۹/۱۳ | ۱۹/۱۳ | جو آسیاب شده |
| ۱۱/۶۰ | ۱۱/۶۰ | ۱۱/۶۰ | ۱۱/۶۰ | ذرت آسیاب شده |
| ۱۰/۸۰ | ۱۰/۸۰ | ۱۰/۸۰ | ۱۰/۸۰ | کنجاله سویا |
| ۵/۸۷ | ۵/۸۷ | ۵/۸۷ | ۵/۸۷ | سوس گندم |
| ۲/۵۴ | ۲/۵۴ | ۲/۵۴ | ۲/۵۴ | کاه گندم |
| ۰/۰۷۷ | ۰/۰۷۷ | ۰/۰۷۷ | ۰/۰۷۷ | نمک |
| ۰/۵۵ | ۰/۵۵ | ۰/۵۵ | ۰/۵۵ | بی‌کربنات سدیم |
| ۰/۷۱ | ۰/۷۱ | ۰/۷۱ | ۰/۷۱ | کربنات کلسیم |

جدول ۲. مواد خوراکی و ترکیب شیمیایی جیره‌های آزمایشی (براساس ماده خشک)

| جیره‌های آزمایشی ^۱ | | | |
|-----------------------------------|-------|-------|-------|
| فراسنجه | شاهد | اول | دوم |
| چربی کلیمی ^۲ | ۱/۰۵ | ۱/۰۵ | ۱/۰۵ |
| مکمل معدنی- ویتامینی ^۳ | ۰/۳۰ | ۰/۳۰ | ۰/۳۰ |
| ترکیب شیمیایی (درصدی از ماده خشک) | | | |
| ماده خشک | ۶۲/۱۰ | ۶۳/۲۰ | ۶۳/۷۵ |
| پروتئین خام | ۱۷/۵۰ | ۱۷/۷۵ | ۱۸/۰۰ |
| کربوهیدرات‌های غیرالیافی | ۴۳/۵۰ | ۴۴/۰۰ | ۴۴/۵۰ |
| الیاف نامحلول در شوینده خنثی | ۳۰/۹۰ | ۳۰/۰۰ | ۳۰/۸۵ |
| الیاف نامحلول در شوینده اسیدی | ۱۸/۶۰ | ۱۸/۲۰ | ۱۸/۵۰ |
| عصاره اتری | ۳/۶۰ | ۳/۲۵ | ۳/۵۰ |
| خاکستر | ۶/۵۰ | ۶/۳۰ | ۶/۴۰ |
| کلسیم | ۱/۰۰ | ۱/۰۰ | ۱/۰۰ |
| فسفر | ۰/۶ | ۰/۶ | ۰/۶ |
| انرژی خالص شیردهی ^۴ | ۱/۶۱ | ۱/۶۱ | ۱/۶۱ |

^۱ شاهد (جیره با سیلاژ بدون افزودنی میکروبی)، تیمار اول: جیره با سیلاژ حاوی باکتری لاکتوباسیلوس فرمنتوم (*Lactobacillus fermentum* (LF)؛ تیمار دوم: جیره با سیلاژ محتوی مخلوط باکتری‌های لاکتوباسیلوس سالیواریوس (*Lactobacillus salivarius* (LS)، پدیوکوکوس اسیدی لاکتوسی (*Pedococcus acidilactici* (PA)، لاکتوباسیلوس فرمنتوم (*Lactobacillus fermentum* (LF) و انتروکوکوس فاسیوم (*Enterococcus faecium* (EF)، تیمار سوم: جیره با سیلاژ حاوی افزودنی میکروبی تجاری با بومین *Biomim*،^۲ نمک کلیمی اسیدهای چرب پالمیتیک و استئاریک اسید شرکت دانش بنیان کیمیا دانش الوند- قم- ایران. ^۳ مکمل معدنی- ویتامینی (برحسب ماده خشک) متشکل از: کلسیم (۱۰۰ گرم/ کیلوگرم)، منیزیم (۲۰ گرم/ کیلوگرم)، کبالت (۱۱۰ میلی‌گرم/ کیلوگرم)، مس (۳۷۶۰ میلی‌گرم/ کیلوگرم)، ید (۱۷۸ میلی‌گرم/ کیلوگرم)، روی (۱۵۲۶۰ میلی‌گرم/ کیلوگرم)، سلنیوم (۵۲ میلی‌گرم/ کیلوگرم)، آهن (۵۰۹۰ میلی‌گرم/ کیلوگرم)، ویتامین A (۱۰۵۰ IU/ کیلوگرم)، ویتامین D (۲۶۰ IU/ کیلوگرم)، ویتامین E (۱۲۰۰ IU/ کیلوگرم)،^۴ مگا کالری بر کیلوگرم ماده خشک، براساس NRC، ۲۰۰۱ محاسبه شد.

اندازه‌گیری تولید شیر و ترکیبات آن

شیردوشی سه بار در روز در ساعت‌های ۰۶:۰۰، ۱۴:۰۰ و ۲۲:۰۰ انجام و تولید شیر در هر وعده، به صورت روزانه ثبت و از شیر به جهت تعیین ترکیبات شیر نمونه‌برداری شد. نمونه‌برداری از شیر، در ظروف پلاستیکی دارای دی کرومات پتاسیم انجام و ترکیبات شیر در شرکت ایده‌سازان روژان الوند واقع در کرج با استفاده از دستگاه میلکواسکن (Milk-O-Scan, Foss Electric, Denmark) اندازه‌گیری شد. میانگین شیر تصحیح شده برای ۳/۵ درصد چربی با استفاده از رابطه (۲) محاسبه شد. رابطه (۲)

$$\text{تولید چربی (کیلوگرم)} = \text{تولید شیر (کیلوگرم)} \times (۰/۴۱۴۸) + \text{شیر تصحیح شده برای } ۳/۵ \text{ درصد چربی (کیلوگرم)}$$

تعیین برخی فراسنجه‌های شکمبه

مایع شکمبه در روز ۲۱ هر دوره با استفاده از پمپ خلاء و از طریق سوند مری چهار ساعت پس از تغذیه صبح برای تعیین pH، غلظت نیتروژن آمونیاکی و غلظت اسیدهای چرب فرار گرفته شد. برای اطمینان از عدم آلودگی محتویات مایع شکمبه با بزاق، مقدار ۱۰۰ میلی‌لیتر اولیه مایع شکمبه دور ریخته و دومین نمونه مورد استفاده قرار گرفت. نمونه‌ها از طریق چهار لایه پارچه پنبه فیلتر شده و pH بلافاصله اندازه‌گیری شد (pH متر دیجیتال، مدل JENWAY, 350 pH meter manual, England). برای تعیین غلظت نیتروژن آمونیاکی، ۱۰ میلی‌لیتر مایع شکمبه فیلتر شده به ۱۰ میلی‌لیتر هیدروکلراید ۰/۲ نرمال اضافه شد و بلافاصله در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان تجزیه منجمد شد. برای اندازه‌گیری غلظت نیتروژن آمونیاکی، نمونه‌های منجمد شده یخ‌گشایی نسبی شده و سپس با استفاده از روش فنیل هیپوکلواریت و دستگاه اسپکتروفتومتری در طول موج نوری

۶۳۰ نانومتر (Unico, UV-2100 spectrophotometer، ساخت کشور آمریکا) تعیین شد (Broderick & Kang, 1980). مقدار چهار میلی لیتر از مایع شکمبه صاف شده برداشته و به آن به نسبت ۱:۴ متاسفریک اسید ۲۰ درصد اضافه و تا زمان تعیین تجزیه در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شد. غلظت اسیدهای چرب فرار شکمبه با استفاده از کروماتوگرافی گازی اندازه گیری شد (Ottensin & Butler, 1971). از ۴- متیل والریک اسید (شرکت سیگما، لوئیس آمریکا) به عنوان استاندارد داخلی استفاده شد. برنامه دمایی و مشخصات دستگاه به قرار زیر بود:

دمای تزریق کننده دستگاه ۱۱۰ و تشخیص دهنده ۲۰۰ درجه سانتیگراد بود. از گاز هلیوم به عنوان ناقل و تشخیص دهنده از نوع FID بود. در ابتدا دمای ستون دستگاه ۱۱۰ درجه سانتی گراد بود و برای دو دقیقه در این دما نگه داشته و سپس در طول پنج دقیقه به ۲۰۰ درجه سانتی گراد رسانده شد و یک دقیقه در این دما باقی ماند. ستون مورد استفاده از نوع مویینه به طول ۳۰ متر بود (Alltech Capillary Column, ECTM .1000, inside diameter 0.53 mm, film thickness 1 micron). غلظت هر یک از اسیدهای چرب فرار از تقسیم سطح زیر نقطه اوج آن اسید چرب بر سطح زیر نقطه اوج مجموع اسیدهای چرب محاسبه و به صورت میلی گرم در دسی لیتر از مجموع اسیدهای چرب فرار بیان شد.

تعیین گوارش پذیری جیره

از روش نشانگر داخلی خاکستر نامحلول در اسید جهت تعیین گوارش پذیری ماده خشک، پروتئین خام و الیاف نامحلول در شوینده خنثی استفاده شد (Van Keulen & Young, 1977). برای تعیین گوارش پذیری ظاهری مواد مغذی در طول دوره آزمایش، به مدت ۷ روز متوالی، از طریق توشه رکتال دو نمونه مدفوع (یک نمونه صبح و یک نمونه عصر) از هر رأس گاو جمع آوری و در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شد و در هنگام تجزیه شیمیایی، تمامی نمونه های مربوط به هر گاو با هم مخلوط شدند. از خوراک ریخته شده در آخور در روزهای مشابه نیز نمونه برداری شد.

روش آنالیز آماری

این آزمایش بر پایه طرح مربع لاتین ادغام شده (مستطیل لاتین) ۴×۴ با چهار تیمار آزمایشی و چهار دوره و چهار گاو در هر تیمار اجراء شد. تمامی داده های جمع آوری شده با استفاده از نرم افزار آماری SAS (نسخه ۹/۰۴) توسط رویه مختلط واکاوی و براساس رابطه (۳) تجزیه شدند. میانگین تیمارها نیز با استفاده از آزمون دانکن در سطح معنی داری پنج درصد مقایسه شدند.

$$Y_{ijk} = \mu + P_i + C_k + T_j + e_{ijk} \quad (\text{رابطه ۳})$$

در این رابطه، μ = میانگین کلی، P_i = اثر ثابت دوره ($i=1$ تا ۴)، C_k = اثر تصادفی گاو ($k=1$ تا ۱۶) اثر ثابت تیمار آزمایشی ($j=1$ تا ۴) e_{ijk} = اثر اشتباه آزمایشی

یافته های پژوهش

عملکرد

داده های مربوط به تولید و ترکیب شیر در جدول ۳ نشان داده شده است. تلقیح باکتریایی سیلاژ تأثیر معنی داری بر تولید شیر نداشت ولی تولید شیر تصحیح شده بر اساس ۳/۵ درصد چربی در گاوهای دریافت کننده سیلاژ تلقیح شده بیشتر از گروه شاهد بود به نحوی که در گاوهای دریافت کننده جیره محتوی سیلاژ حاوی باکتری لاکتوباسیلوس فرمنتوم (تیمار اول) بیشتر از سایر گروه های آزمایشی بود. به نظر می رسد، این تفاوت عمدتاً به سبب درصد چربی بیشتر شیر تولیدی در گاوهای تغذیه شده با جیره های حاوی سیلاژ تلقیح شده بود. با این حال، تلقیح باکتریایی سیلاژ سبب افزایش درصد های چربی شیر و مواد

جامد بدون چربی شد به نحوی که در مورد گاوهای تیمار اول نسبت به گروه شاهد معنی‌دار بود ($P < 0/05$). درصد پروتئین شیر گاوهای دریافت‌کننده سیلاژ تلقیح‌شده با بایومین نسبت به گروه شاهد کمتر بود ($P < 0/05$) هرچند تفاوتی آماری معنی‌داری بین گروه شاهد و تیمارهای آزمایشی دیگر مشاهده نشد ($P > 0/05$). درصد لاکتوز شیر تحت تاثیر تلقیح باکتریایی سیلاژ ذرت قرار نگرفت و تفاوت آماری معنی‌داری بین گروه‌های آزمایشی وجود نداشت ($P > 0/05$). درصد کل مواد جامد شیر در گروه‌های دریافت‌کننده سیلاژ تلقیح شده بیشتر از گروه شاهد بود و این تفاوت در مورد تیمار اول و دوم نسبت به شاهد معنی‌دار بود ($P < 0/05$). میزان نیتروژن اوره‌ای شیر تحت تاثیر افزودنی‌های باکتریایی قرار گرفت و تلقیح باکتریایی سیلاژ سبب افزایش نیتروژن اوره‌ای شیر شد به نحوی که در مورد شیر گاوهای تیمار اول و سوم نسبت به گروه شاهد معنی‌دار بود ($P < 0/05$). شمارش سلول‌های بدنی در تیمار سوم کمترین و در تیمار اول و شاهد بیشترین بود ($P < 0/05$).

جدول ۳. عملکرد تولیدی گاوهای شیری تغذیه شده با جیره‌های محتوی سیلاژهای ذرت با و بدون افزودنی میکروبی

| فراسنج | جیره‌های آزمایشی ^۱ | | SEM | سطح معنی‌داری | | دروه |
|-------------------------------------|-------------------------------|---------------------|---------------------|---------------|-------|-------|
| | اول | دوم | | تیمار | حیوان | |
| تولید (کیلوگرم در روز) | ۲۸/۹۱ | ۲۸/۴۹ | ۰/۵۰۰ | ۰/۴۱۰ | ۰/۶۱۱ | ۰/۱۱۴ |
| شیر | ۲۸/۱۱ | ۲۸/۸۸ | ۰/۵۰۰ | ۰/۴۱۰ | ۰/۶۱۱ | ۰/۱۱۴ |
| شیر تصحیح شده ۳/۵ درصد چربی | ۲۶/۶۰ ^d | ۲۹/۲۵ ^b | ۰/۰۶۷ | ۰/۰۰۱ | ۰/۳۱۳ | ۰/۰۰۱ |
| ترکیبات شیر (درصد) | | | | | | |
| چربی | ۳/۲۱ ^b | ۳/۷۰ ^{ab} | ۰/۱۷۰ | ۰/۰۴۳ | ۰/۸۴۶ | ۰/۱۳۲ |
| پروتئین | ۳/۳۸ ^{ab} | ۳/۵۰ ^{ab} | ۰/۱۲۹ | ۰/۰۱۲ | ۰/۹۵۴ | ۰/۹۸۴ |
| نسبت چربی به پروتئین | ۰/۹۸ ^b | ۱/۰۵۱ ^{ab} | ۰/۰۳۹ | ۰/۰۱۳۲ | ۰/۹۱۳ | ۰/۵۳۲ |
| لاکتوز | ۴/۲۴ | ۴/۱۸ | ۰/۰۶۸ | ۰/۰۴۸۱ | ۰/۴۸۸ | ۰/۰۱ |
| کل مواد جامد | ۱۱/۷۹ ^b | ۱۳/۰۱ ^a | ۰/۳۹۲ | ۰/۰۳۲ | ۰/۵۸۷ | ۰/۰۶ |
| مواد جامد بدون چربی | ۸/۵۷ ^b | ۹/۳۱ ^{ab} | ۰/۳۰۹ | ۰/۰۳ | ۰/۷۵۹ | ۰/۰۷ |
| ترکیبات شیر (کیلوگرم در روز) | | | | | | |
| چربی | ۰/۹۰ | ۱/۰۵ | ۱/۰۱ | ۰/۰۹۱ | ۰/۵۴۲ | ۰/۲۵۱ |
| پروتئین | ۰/۹۵ ^{ab} | ۱/۰۰ ^{ab} | ۰/۰۹۱ ^b | ۰/۰۱۶ | ۰/۶۱۲ | ۰/۴۱۰ |
| لاکتوز | ۱/۱۹ | ۱/۱۹ | ۱/۲۰ | ۰/۱۴۵ | ۰/۱۵۵ | ۰/۱۶۸ |
| نیتروژن اوره (میلی‌گرم در دسی‌لیتر) | ۱۲/۹۶ ^b | ۱۴/۰۱ ^{ab} | ۱۴/۴۲ ^a | ۰/۰۱۷ | ۰/۴۳۷ | ۰/۰۹ |
| شمارش سلول‌های بدنی ^۲ | ۷۱/۸۷۵ | ۶۱/۷۵۰ ^a | ۳۳/۷۵۰ ^c | ۰/۰۰۱ | ۰/۵۷۶ | ۰/۰۰۱ |
| نقطه انجماد شیر (درجه سانتی‌گراد) | -۰/۵۳ | -۰/۵۵ | -۰/۵۲ | ۰/۰۶۲ | ۰/۶۹۱ | ۰/۵۸۹ |

^{a,b} تفاوت میانگین ارقام در هر ستون با حروف نامشابه، معنی‌دار است ($P < 0/05$); SEM = خطای معیار میانگین.

^۱ شاهد (جیره با سیلاژ بدون افزودنی میکروبی)، تیمار اول: جیره با سیلاژ حاوی باکتری لاکتوباسیلوس فرمنتوم (*Lactobacillus fermentum* (LF)؛ تیمار دوم: جیره با سیلاژ حاوی ترکیب باکتری‌های لاکتوباسیلوس سالیوارئوس (*Lactobacillus salivarius* (LS)؛ پدیوکوکوس اسیدی‌لاکتیسی (*Pedococcus acidilactici* (PA)؛ لاکتوباسیلوس فرمنتوم (*Lactobacillus fermentum* (LF) و انتروکوکوس فاسیوم (*Enterococcus faecium* (EF)؛ تیمار سوم: جیره با سیلاژ حاوی افزودنی میکروبی تجاری بایومین (*Biomin*)

^۲ Somatic cell Count = SCC (× 1000 cell/mL milk)

مصرف ماده خشک و گوارش‌پذیری

میانگین مصرف روزانه ماده خشک و گوارش پذیری جیره‌ها در جدول ۴ ارائه شده است. مصرف ماده خشک گاوهای تغذیه شده با جیره‌های حاوی سیلاژهای تلقیح شده در تیمارهای اول و دوم نسبت به گروه شاهد، بیشتر بود ($P < 0.05$) و بیشترین مقدار مربوط به گاوهای تغذیه شده با جیره حاوی سیلاژ تلقیح شده با باکتری لاکتوباسیلوس فرمنتوم بود ($P < 0.05$) ولی تفاوت آماری معنی داری بین گروه تغذیه شده با سیلاژ تلقیح شده با بایومین و گروه شاهد مشاهده نشد. تغییرات وزن گاوهای شیری بین گروه‌های آزمایشی در طول دوره آزمایش معنی دار نبود. گوارش پذیری پذیرنده ماده خشک، پروتئین خام و لیاف نامحلول در شوینده خنثی جیره‌های حاوی سیلاژ تلقیح شده بالاتر از گروه شاهد بود ($P < 0.05$). به نحوی که در جیره‌های حاوی سیلاژ تلقیح شده با ترکیب باکتری‌ها در هر سه فراسنجه نسبت به سایر گروه بیشتر بود ($P < 0.05$). گوارش پذیری پذیرنده ماده خشک و لیاف نامحلول در شوینده خنثی جیره‌های حاوی سیلاژ تلقیح شده با لاکتوباسیلوس فرمنتوم کمتر از سایر جیره‌های حاوی سیلاژ تلقیح شده بود ($P < 0.05$).

جدول ۴. تأثیر تیمارهای آزمایشی بر مصرف ماده خشک و گوارش پذیری مواد مغذی

| سطح معنی داری | SEM | تیمارهای آزمایشی ^۱ | | | | فراسنجه |
|---------------|-------|-------------------------------|---------------------|--------------------|--------------------|---|
| | | سوم | دوم | اول | شاهد | |
| ۰/۰۰۱ | ۰/۱۳۶ | ۲۰/۹۶ ^{bc} | ۲۱/۵۹ ^{ab} | ۲۱/۸۸ ^a | ۲۰/۴۰ ^c | ماده خشک مصرفی (کیلوگرم) گوارش پذیری (گرم بر کیلوگرم ماده خشک) |
| ۰/۰۰۱ | ۰/۳۴۶ | ۷۳/۵۴ ^b | ۷۵/۳۵ ^a | ۷۱/۶۷ ^c | ۶۹/۴۶ ^d | ماده خشک |
| ۰/۰۰۱ | ۰/۲۶۳ | ۷۲/۳۴ ^b | ۷۴/۵۰ ^a | ۷۲/۱۲ ^b | ۷۰/۰۶ ^c | پروتئین خام |
| ۰/۰۰۱ | ۰/۲۲۸ | ۵۰/۰۶ ^b | ۵۱/۰۸ ^a | ۴۹/۳۸ ^c | ۴۸/۰۱ ^d | لیاف نامحلول در شوینده خنثی |

a,b,c,d تفاوت میانگین ارقام در هر ردیف با حروف نامشابه، معنی دار است ($P < 0.05$).

NDF = لیاف نامحلول در شوینده خنثی؛ SEM = خطای معیار میانگین.

^۱ شاهد (جیره با سیلاژ بدون افزودنی میکروبی)، تیمار اول: جیره با سیلاژ حاوی باکتری لاکتوباسیلوس فرمنتوم (*Lactobacillus fermentum* (LF)؛ تیمار دوم: جیره با سیلاژ حاوی ترکیب باکتری‌های لاکتوباسیلوس سالیواریوس (*Lactobacillus salivarius* (LS)، پدیوکوکوس اسیدی لاکتوسی (*Pedococcus acidilactici* (PA) لاکتوباسیلوس فرمنتوم (*Lactobacillus fermentum* (LF) و انتروکوکوس فاسیوم (*Enterococcus faecium* (EF)، تیمار سوم: جیره با سیلاژ حاوی افزودنی میکروبی تجاری بایومین (*Biomim*)).

فراسنجه‌های تخمیر شکمبه

نتایج فراسنجه‌های تخمیر شکمبه‌ای نشان داد که pH شکمبه و غلظت نیتروژن آمونیاکی بین تیمارهای آزمایشی متفاوت بود (جدول ۵). pH شکمبه در گاوهای تغذیه شده با جیره حاوی ذرت تلقیح شده نسبت به گروه شاهد پایین تر بود ($P < 0.05$). پایین ترین pH شکمبه مربوط به جیره‌های حاوی ذرت تلقیح شده با باکتری لاکتوباسیلوس فرمنتوم بود ($P < 0.05$). غلظت نیتروژن آمونیاکی نیز تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت به نحوی که غلظت این فراسنجه در تیمارهای حاوی باکتری لاکتوباسیلوس فرمنتوم (تیمار اول) و ترکیبی از باکتری (تیمار دوم) پایین تر از گروه شاهد و جیره‌های حاوی سیلاژ تلقیح شده با سویه‌های تجاری بایومین (تیمار سوم) بود ($P < 0.05$). اگرچه تیمارها تأثیر معنی داری بر غلظت کل اسیدهای چرب فرار نداشتند؛ ولی در شکمبه حیواناتی که با جیره‌های حاوی تیمار اول و سوم تغذیه شدند غلظت پروپیونات بالاتر بود ($P = 0.07$), در حالی که تفاوتی بین گاوهای تغذیه شده با جیره‌های حاوی سیلاژ شاهد و سیلاژ حاوی افزودنی ترکیبی باکتری‌ها (تیمار دوم) مشاهده نشد. روند تغییرات غلظت استات و بوتیرات در گروه‌های آزمایشی مشابه بود به نحوی که غلظت این دو اسید چرب فرار در گاوهای گروه شاهد بیشترین و در تیمار دوم کمترین بود ($P < 0.05$) هرچند تفاوت آماری معنی داری بین گروه شاهد و تیمارهای اول و سوم مشاهده نشد. نسبت استات به پروپیونات در گروه شاهد بیشتر از گروه‌های دیگر بود ($P < 0.05$).

جدول ۵. تأثیر تیمارهای آزمایشی بر فراسنجه‌های تخمیر شکمبه گاوهای شیری

| دروه | سطح معنی داری | | | تیمارهای آزمایشی ^۱ | | | فراسنجه |
|-------|---------------|-------|-------|-------------------------------|---------------------|--------------------|--------------------|
| | حیوان | تیمار | SEM | سوم | دوم | اول | |
| ۰/۰۲۱ | ۰/۰۵۱ | ۰/۰۰۱ | ۰/۱۵۲ | ۶/۳۷ ^b | ۶/۳۰ ^b | ۶/۱۸ ^c | ۶/۵۸ ^a |
| ۰/۰۱۱ | ۰/۰۴۹ | ۰/۰۰۱ | ۰/۲۹۴ | ۶/۳۷ ^a | ۴/۵۶ ^c | ۵/۴۵ ^b | ۷/۰۱ ^a |
| ۰/۳۸۶ | ۰/۸۴۶ | ۰/۲۰۲ | ۳/۵۸۰ | ۵۹/۰۳ | ۵۰/۳۳ | ۵۸/۲۵ | ۶۰/۴۲ |
| ۰/۱۸۴ | ۰/۶۵۵ | ۰/۰۲۲ | ۲/۵۲۷ | ۷۴/۸۶ ^b | ۷۵/۱۸ ^{ab} | ۷۳/۹۰ ^b | ۷۷/۷۶ ^a |
| ۰/۸۲۶ | ۰/۵۲۷ | ۰/۰۵۱ | ۰/۷۴۱ | ۱۴/۰۷ ^a | ۱۳/۹۳ ^a | ۱۳/۷۳ ^a | ۹/۸۰ ^b |
| ۰/۰۷۳ | ۰/۵۶۱ | ۰/۰۴۵ | ۰/۳۸۲ | ۸/۳۵ ^{ab} | ۸/۱۰ ^b | ۹/۳۷ ^{ab} | ۹/۹۱ ^a |
| ۰/۱۰۹ | ۰/۲۹۸ | ۰/۰۲۴ | ۰/۷۱۱ | ۵/۳۲ ^b | ۵/۴۰ ^b | ۵/۳۸ ^b | ۷/۹۴ ^a |
| ۰/۲۰۳ | ۰/۶۴۸ | ۰/۶۲۱ | ۰/۰۴۹ | ۰/۸۰ | ۰/۸۰ | ۰/۸۴ | ۰/۷۳ |
| ۰/۰۹۳ | ۰/۱۹۴ | ۰/۰۲۸ | ۰/۰۳۹ | ۱/۰۸ ^{ab} | ۱/۱۹ ^a | ۱/۱۸ ^a | ۰/۸۳ ^b |
| ۰/۷۳۴ | ۰/۹۴۵ | ۰/۳۱۱ | ۰/۰۵۹ | ۰/۸۲ | ۰/۷۹ | ۰/۹۸ | ۰/۹۵ |

^{a,b,c} تفاوت میانگین ارقام در هر ردیف با حروف نامشابه، معنی دار است ($P < 0.05$): SEM = خطای معیار میانگین.

^۱ شاهد (جیره با سیلاژ بدون افزودنی میکروبی)، تیمار اول: جیره با سیلاژ حاوی باکتری لاکتوباسیلوس فرمنتوم (*Lactobacillus fermentum* (LF)؛ تیمار دوم: جیره با سیلاژ محتوی ترکیب باکتری‌های لاکتوباسیلوس سالیواریوس (*Lactobacillus salivarius* (LS) پدیوکوکوس اسیدی لاکتیس (*Pedococcus acidilactici* (PA) لاکتوباسیلوس فرمنتوم (*Lactobacillus fermentum* (LF) و انتروکوکوس فاسیوم (*Enterococcus faecium* (EF)؛ تیمار سوم: جیره با سیلاژ حاوی افزودنی میکروبی تجاری بایومین (Biomim)

بحث

عملکرد

در مطالعه حاضر تأثیر معنی داری از تلقیح باکتریایی سیلاژ ذرت بر تولید شیر نسبت به گروه شاهد مشاهده نشد ولی تولید شیر تصحیح شده بر اساس ۳/۵ درصد چربی در گاوهای دریافت کننده سیلاژ تلقیح شده بیشتر از گروه شاهد بود. نتایج متعدد و گاهی متناقض در این مورد گزارش شده است. به عنوان مثال برخی محققین مشابه این نتایج، تغییری در تولید شیر مشاهده نکردند (Bernardi et al., 2019; Zhang et al., 2019; Arriola et al., 2021) ولی محققین دیگر افزایش در تولید شیر را گزارش کردند (Kung et al., 2003; Oliveira et al., 2017). گزارش شده است تغذیه گاوهای شیرده با جیره حاوی سیلاژ ذرت تلقیح شده با لاکتوباسیلوس پلانتروم تأثیری بر ترکیب شیر نداشت، اما مصرف ماده خشک و تولید شیر اصلاح شده با چربی ۳/۵ درصد به طور قابل توجهی افزایش یافت (Bernardi et al., 2019). گزارش یک مطالعه متاآنالیز (فراتحلیلی) نشان داد بهبود فرآیند تخمیر سیلاژ توسط تلقیح باکتری‌های اسید لاکتیک تنها ۰/۳ کیلوگرم در روز افزایش تولید شیر را توضیح می‌دهد (Huhtanen et al., 2003). از آنجایی که اثر تلقیح باکتری‌های اسید لاکتیک سیلاژ ذرت بر تولید شیر از آنچه از بهبود کیفیت سیلاژ انتظار می‌رود، بیشتر است، تحقیقات هنوز نیاز به تعیین چگونگی بهبود عملکرد دام دارند (Huhtanen et al., 2003; Bernardi et al., 2019). بهبود در تولید شیر به افزایش دریافت انرژی قابل سوخت و ساز، افزایش مصرف ماده خشک یا بهبود گوارش پذیری ماده خشک نسبت داده شده است (Bayatkouhsar et al., 2011; Oliveira et al., 2017). برخی مطالعات نظیر مطالعه حاضر، تغییر ترکیب شیر به واسطه تلقیح باکتریایی سیلاژ را گزارش کردند (Kung et al., 2003; Oliveira et al., 2017).

Bayatkouhsar *et al.*, 2011; Arriola *et al.*, 2017); هر چند نتایج مطالعات دیگر، نشان دهنده عدم تغییر ترکیب شیر است (Arriola *et al.*, 2021).

علت بهبود عملکرد دام به دنبال تغذیه با سیلاژ تلقیح شده باکتریایی مشخص نیست، اما محققین پیشنهادهای متعددی مرتبط با بهبود عملکرد ارائه کرده‌اند. یکی از این پیشنهادها، اثر بالقوه پروبیوتیکی باکتری‌های اسید لاکتیک استفاده شده در تلقیح سیلاژ می‌باشد که مکانیسم آن هنوز نامشخص است. پیشنهاد دیگر این که باکتری‌های اسید لاکتیک که به عنوان تلقیح‌کننده سیلاژ مورد استفاده قرار می‌گیرند، سبب مهار میکروارگانیسم‌های مضر شده و ممکن است از تولید سموم در سیلاژ جلوگیری کنند و تأثیر مثبتی بر محیط شکمبه داشته باشند. برخی محققین، عامل اصلی در بهبود عملکرد دام را تغییرات در ترکیب شیمیایی و تخمیر سیلاژ پیشنهاد داده‌اند. هرچند، به نظر می‌رسد، تعامل باکتری‌های اسید لاکتیک با میکروارگانیسم‌های شکمبه و برخی سویه‌های خاص میکروارگانیسم‌ها است که سبب بهبود عملکرد شکمبه می‌شود (Ellis *et al.*, 2016; Rabelo *et al.*, 2021; Bernardi *et al.*, 2019; Zhang *et al.*, 2019; Arriola *et al.*, 2021). از طرفی، پیشنهاد شده است که تلقیح سیلاژ می‌تواند عملکرد دام را با تغییر تخمیر شکمبه افزایش دهد (Zhang *et al.*, 2019; Fellner *et al.*, 2001). زیرا تلقیح باکتری‌های اسید لاکتیک عموماً عملکرد شکمبه را با تحریک میکروارگانیسم‌های شکمبه بهبود داده و سبب افزایش تولید اسیدهای چرب فرار می‌شود (Zhang *et al.*, 2019; Arriola *et al.*, 2021). همچنین، تجزیه‌پذیری دیواره سلولی (Arriola *et al.*, 2021) یا سنتز پروتئین میکروبی (Zhang *et al.*, 2019; Arriola *et al.*, 2021) را افزایش می‌دهد.

در مطالعه حاضر تلقیح سیلاژ با باکتری‌های اسید لاکتیک همراه با افزایش درصد چربی شیر بود، اما مکانیسم اساسی آن نامشخص است. هر چند مطالعات قبلی نشان دادند که باکتری‌های اسید لاکتیک می‌توانند اسیدهای چرب لینولئیک و لینولنیک را در طول سیلوکردن هیدروژنه و تجزیه کنند (Oliveira *et al.*, 2017). به نظر می‌رسد که با کاهش غلظت اسیدهای چرب غیر اشباع، تلقیح ممکن است مسیرهای بیوهیدروژناسیون شکمبه را تغییر و در نتیجه فراوانی واسطه‌های بیوهیدروژناسیون را کاهش دهد که به طور بالقوه می‌تواند حضور اسیدهای چربی نظیر C18:2 trans-10, cis-12 در خون و جذب آن توسط غدد پستانی را افزایش و متعاقب آن تولید چربی شیر را مهار کند (Oliveira *et al.*, 2017). لذا مکانیسم اساسی که توسط آن تلقیح باکتری‌های اسید لاکتیک سیلاژ باعث افزایش پاسخ چربی شیر شده است، نیاز به بررسی بیشتر دارد. همچنین در مطالعه حاضر، تلقیح سیلاژ با باکتری‌های اسید لاکتیک همراه با افزایش درصد پروتئین شیر بود هرچند تفاوت معنی‌داری با گروه شاهد نداشت. اگرچه سازوکاری که توسط آن تلقیح سیلاژ با باکتری‌های اسید لاکتیک باعث افزایش غلظت پروتئین شیر شود، مشخص نیست، اما فرض بر این است که تلقیح در دسترس بودن پروتئین و انرژی قابل سوخت و ساز برای سنتز پروتئین شیر را با کاهش پروتئولیز و آمین‌زدایی اسیدهای آمینه و دیکربوکسیلاسیون در طول سیلوکردن، از طریق بالابردن مصرف ماده خشک، افزایش می‌دهد (Oliveira *et al.*, 2017).

مصرف ماده خشک و گوارش‌پذیری

گزارش‌های متعدد و گاهی متناقض در مورد تأثیر تلقیح باکتریایی سیلاژ بر مصرف ماده خشک و گوارش‌پذیری مواد مغذی منتشر شده است. برخی محققین مشابه نتایج تحقیق حاضر گزارش کردند که تلقیح باکتریایی سیلاژ ذرت سبب بهبود مصرف ماده خشک توسط دام شد (Kung *et al.*, 2003; Oliveira *et al.*, 2017; Zhang *et al.*, 2019). هرچند برخلاف پژوهش حاضر، برخی مطالعات نشان داد که سیلاژهای ذرت تلقیح شده با باکتری تأثیر معنی‌داری بر مصرف ماده خشک نداشت (Bernardi *et al.*, 2019; Arriola *et al.*, 2021) یا حتی باعث کاهش مصرف ماده خشک شد (Andrade *et al.*, 2016). بهبود مصرف ماده خشک را می‌توان به بهبود فراسنجه‌های تخمیر یا افزایش گوارش‌پذیری دیواره سلولی نسبت داد (Bernardi *et al.*, 2019). ولی در مطالعه حاضر، علی‌رغم اینکه در تیمار اول بالاترین مصرف ماده خشک مشاهده شد ولی گوارش‌پذیری دیواره سلولی کمتری داشت (جدول ۳) هرچند در این تیمار نسبت به گروه شاهد و تیمار سوم شرایط بهتری از

لحاظ غلظت نیتروژن آمونیاکی مشاهده شد. البته این فرضیه Bernardi و همکاران (۲۰۱۹) در مورد تیمار دوم در مطالعه حاضر نیز مورد تأیید قرار گرفت. با این حال، پیشنهاد شده است که عوامل دیگری از جمله غلظت اسیدهای چرب فرار، محتوای اسید لاکتیک، حلالیت پروتئین و سطح آمونیاک سیلاژ ممکن است بر مصرف ماده خشک تأثیر بگذارد (Bernardi *et al.*, 2019). گزارش یک مطالعه فراتحلیلی نشان داد که غلظت اسید استیک بالاتر از ۱/۷۳ درصد جیره غذایی (بر اساس ماده خشک) باید مصرف ماده خشک را کاهش دهد؛ با این حال، مصرف ماده خشک و تولید شیر گاوهای شیری تغذیه شده با سیلاژ محتوی تلقیح‌های باکتریایی تحت تأثیر قرار نگرفت (Gerlach *et al.*, 2021). ولی محققین دیگری گزارش دادند که تغذیه جیره مخلوط حاوی ۴/۳ درصد اسید استیک (بر اساس ماده خشک) هیچ تأثیری بر مصرف ماده خشک و تولید شیر گاوهای شیری نداشت (Bernardi *et al.*, 2019).

در این مطالعه یکی از نگرانی‌های اولیه در مورد تلقیح لاکتوباسیلوس فرمنتوم، این بود که غلظت بالای اسید استیک سیلاژهای تلقیح شده با این باکتری باعث کاهش مصرف خوراک در دام شود. ولی نتایج نشان داد که نسبت به گروه شاهد مصرف ماده خشک بالاتر بود ($P < 0.05$). علی‌رغم اینکه تیمار لاکتوباسیلوس فرمنتوم منجر به افزایش غلظت اسید استیک در سیلاژها شد (نتایج گزارش نشده است)، در مطالعه حاضر، غلظت اسید استیک برای سیلاژ ذرت تلقیح شده با لاکتوباسیلوس فرمنتوم به تنهایی و در ترکیب با دیگر باکتری‌ها به ترتیب ۳۳/۰۹ و ۳۳/۸۲ گرم بر کیلوگرم ماده خشک بود و سیلاژ شامل ۲۸/۸۹ درصد جیره مخلوط گاوهای شیری بود که بعید است بر مصرف ماده خشک تأثیر منفی بگذارد. گوارش پذیری ظاهری ماده خشک، پروتئین خام و لیاف نامحلول در شوینده خنثی جیره در بین تیمارها متفاوت بود (جدول ۴). مطابق نتایج گزارش حاضر، گزارش کردند سیلاژ ذرت تلقیح شده با باکتری‌ها از لحاظ گوارش‌پذیری ماده خشک، مواد آلی و دیواره سلولی متفاوت از سیلاژ ذرت تلقیح نشده بود (Andrade *et al.*, 2016). هرچند چنین نتایجی در برخی گزارش محققین مشاهده نمی‌شود. به‌عنوان مثال گزارش شده است که سیلاژ ذرت به‌عنوان بخشی از کل جیره مخلوط به گاوها تغذیه شده است و از این رو اثر تلقیح ممکن است رقیق شود (Bernardi *et al.*, 2019). این توجیه در مطالعات دیگران نیز تأیید شده است (Oliveira *et al.*, 2017; Arriola *et al.*, 2021). افزایش گوارش‌پذیری مواد مغذی به دنبال فرآیند سیلوکردن نتیجه ترکیب دو اثر است. اولاً، فرآیند تخمیر می‌تواند بخش‌های سلولز فیبر را، هم با اثر آنزیم‌های خود گیاه و هم با هیدرولیز اسیدی یا قلیایی، تجزیه کند. ثانیاً، پائین بودن محتوای کربوهیدرات غیرفیبری جیره در سیلاژهای تلقیح شده احتمالاً به دلیل pH بالاتر شکمبه، فعالیت میکروارگانیزم‌های فیبرولیتیک شکمبه را تحریک می‌کند. علاوه بر اثر فیبرولیتیک، احتمالاً استفاده از تلقیح‌های باکتریایی به حفظ بخش کربوهیدرات‌های غیرفیبری سیلاژها کمک می‌کند (Andrade *et al.*, 2016). برخی محققین مشابه نتایج مطالعه حاضر، گزارش کردند که تغذیه گاوهای شیری با جیره حاوی ذرت تلقیح شده باکتریایی تأثیری بر تغییرات وزن بدن دام نداشت (Bernardi *et al.*, 2019).

فراسنجه‌های تخمیر شکمبه

بر اساس مطالعات محققین دیگر گزارش شده است که تغذیه دام با جیره های حاوی سیلاژ تلقیح‌شده باکتریایی پتانسیل تغییر فرآیند تخمیر شکمبه را دارد (Ellis *et al.*, 2016; Bernardi *et al.*, 2019; Zhang *et al.*, 2019; Arriola *et al.*, 2021). عوامل متعددی از جمله غلظت نسبی بازها، اسیدها و بافرها pH شکمبه را کنترل می‌کنند. غلظت آمونیاک شکمبه را می‌توان به‌عنوان شاخصی از تخریب پروتئین میکروبی و پایه اولیه در شکمبه در نظر گرفت (Bernardi *et al.*, 2019). بهبود فرآیند حفظ پروتئین سیلاژ (یعنی کاهش $\text{NH}_3\text{-N}$) با تلقیح باکتری‌های اسید لاکتیک می‌تواند سنتز پروتئین میکروبی شکمبه را مستقل از مصرف ماده خشک افزایش دهد و در نتیجه به افزایش تولید شیر کمک کند (Bernardi *et al.*; Oliveira *et al.*, 2017). همچنین در توافق با نتایج مطالعه حاضر، در مطالعه دیگری تلقیح سیلاژ ذرت با باکتری‌های اسید لاکتیک در

مقایسه با گروه شاهد میزان pH شکمبه و غلظت نیتروژن آمونیاکی را کاهش داد (Bernardi *et al.*, 2019). این حالت را می‌توان حداقل تا حدی به میکروب‌های استفاده‌کننده آمونیاک در شکمبه گاوهای تغذیه‌شده با سیلاژ تلقیح‌شده نسبت داد (Zhang *et al.*, 2019). برخلاف نتیجه مطالعه حاضر، برخی محققین گزارش کردند که گاوهای شیری تغذیه‌شده با سیلاژهای تلقیح‌شده باکتریایی دارای pH شکمبه بالاتری نسبت به سایر تیمارها بودند (Fellner *et al.*, 2001).

مطالعات بیشتری باید انجام شود تا ارزیابی شود که آیا تلقیح‌های میکروبی می‌توانند به طور مداوم عملکرد حیوان یا کارایی تولید را بهبود بخشند. همانطور که در نتایج گزارش شد (جدول ۴)، غلظت بیشتری از نیتروژن آمونیاکی در شکمبه گاوهایی که با سیلاژهای تلقیح‌نشده و تلقیح‌شده با افزودنی تجاری (تیمار سوم) تغذیه می‌شدند نسبت به گاوهای تغذیه‌شده با سیلاژهای تیمار شده (تیمار اول و دوم) یافت شد. مطالعه تخمیر کشت مداوم در شرایط آزمایشگاهی نشان داد که نگهداری آمونیاک مایع شکمبه در ۵۰ میلی گرم در لیتر برای حمایت از حداکثر نرخ رشد میکروارگانیسم‌های شکمبه کافی است (Zhang *et al.*, 2019). بنابراین، علاوه بر مصرف ماده خشک کمتر، این امر را می‌توان حداقل تا حدی به میکروب‌های بیشتری که از آمونیاک استفاده می‌کنند در شکمبه گاوهای تغذیه‌شده با سیلاژهای تیمار شده (تیمار اول و دوم) نسبت داد. همچنین، اگرچه غلظت کل اسیدهای چرب فرار در مایع شکمبه بین همه تیمارها مشابه بود، اما غلظت بیشتر پروپیونات باعث کاهش pH و نسبت استات به پروپیونات در شکمبه گاوهای تغذیه‌شده با سیلاژهای تلقیح‌شده، شد. این نتایج نشان می‌دهد که الگوی تخمیر شکمبه در گاوهای تغذیه‌شده با سیلاژهای تلقیح‌شده، در مقایسه با حیواناتی که با سیلاژهای تیمار نشده تغذیه می‌شوند، به تخمیر از نوع اسید پروپیونیک تبدیل شده است، به این معنی که گونه‌ها و کمیت باکتری‌های مرتبط با شکمبه ممکن است بین این دو گروه متفاوت باشد. به‌طور خلاصه، تغییر تخمیر شکمبه بین گاوهای تغذیه‌شده با سیلاژهای تلقیح‌شده با باکتری‌ها و تیمار نشده نشان می‌دهد که تلقیح‌های باکتریایی مورد استفاده در مطالعه حاضر ممکن است با میکروب‌های شکمبه به عنوان پروبیوتیک عمل کنند، همانطور که در مطالعات قبلی مشاهده شد (Fellner *et al.*, 2001; Zhang *et al.*, 2019).

نتیجه‌گیری و پیشنهادات

نتایج آزمایش حاضر که با استفاده از یک تلقیح تجاری و دو تلقیح تولید شده در آزمایشگاه به صورت کشت تازه انجام شد، نشان داد که تلقیح‌های باکتریایی بر گوارش‌پذیری مواد مغذی، فراسنجه‌های تخمیر شکمبه، ترکیبات شیر و شیر تصحیح شده بر اساس ۳/۵ درصد چربی تأثیر داشت اما بر تولید شیر تأثیر معنی‌داری نداشت. بنابراین، استفاده از تلقیح‌کننده‌های باکتریایی مورد اشاره در این تحقیق می‌تواند جهت بهبود خوراک و همچنین برخی فراسنجه‌های عملکرد دام مفید باشد.

منابع

آقامحمدی، ناهید، هژبری، فردین و علیپور، داریوش (۱۴۰۰). پایداری هوازی سیلاژ ذرت تلقیح شده با جدایه‌های جدید باکتری اسید لاکتیک جدا شده از منابع مختلف. *نشریه پژوهش‌های علوم دامی ایران*، ۱۴ (۳)، ۳۷۷-۳۵۹.

REFERENCES

- Aghamohamadi, N., Hozhabri, F., & Alipour, D. (2022). Aerobic stability of corn silages inoculated with novel isolate of lactic acid bacteria separated from various sources. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 14(3), 359-377. <https://doi.org/10.22067/ijasar.2021.68168.1003>. (In Persian).
- Andrade, F. L., Rodrigues, J. P. P., Detmann, E., Campos Valadares Filho, S., Castro, M. M. D., Trece, A. S., Silva, T. E., Fischer, V., Weiss, K., & Marcondes, M. I. (2016). Nutritional and productive performance of dairy cows fed corn silage or sugarcane silage with or without additives. *Tropical Animal Health & Production*, 48, 747-753. <https://doi.org/10.1007/s11250-016-1020-y>.

- AOAC (2000). *Official Methods of Analysis*. Vol. I. 17th Ed. AOAC International, Arlington.
- Arriola, K. J., Oliveira, A. S., Jiang, Y., Kim, D., Silva, H. M., Kim, S. C., Amaroand, F. X., & Adesogan, A. T. (2021). Meta-analysis of effects of inoculation with *Lactobacillus buchneri*, with or without other bacteria, on silage fermentation, aerobic stability, and performance of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 104, 7653–7670. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-19647>.
- Bayatkouhsar, J., Tahmasebi, A. M. & Naserian, A. A. (2011) The effects of microbial inoculation of corn silage on performance of lactating dairy cows. *Livestock Science*. 142:170–174. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2011.07.007>.
- Ben-Meir, Y. A., Jami, E., Portnik, Y., Yaacoby, S., Chen, Y., Ogunade, I. M., Adesogan, A. T. & Weinberg, Z. G. (2018). Effect of silage inoculants on the quality of baled whole-crop wheat silages and milking cow performance, *Grassland Science*. 64:207–214. <https://doi.org/10.1111/grs.12196>.
- Bernardi, A., Harter, C. J., Silva, A. W. L., Reis, R. A. & Rabelo, C. H. S. (2019). A meta-analysis examining lactic acid bacteria inoculants for maize silage: Effects on fermentation, aerobic stability, nutritive value and livestock production, *Grass Forage Science*. 74:596–612. <https://doi.org/10.1111/gfs.12452>.
- Broderick, G. A. & Kang, J. H. (1980). Automated simultaneous determination ammonia and total acids in ruminal fluid and in vitro media. *Journal of Dairy Science*, 63:64-65. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(80\)82888-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(80)82888-8).
- Ellis, J. L., Hindrichsen, I. K., Klop, G., Kinley, R. D., Milora, N., Bannink, A. & Dijkstra, J. (2016) Effects of lactic acid bacteria silage inoculation on methane emission and productivity of Holstein Friesian dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 99:7159–7174. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10754>.
- Fellner, V., Phillip, L. E., Sebastian, S., Idziak, E. S. (2001). Effects of a bacterial inoculant and propionic acid on preservation of high moisture ear corn, and on rumen fermentation, digestion and growth of beef cattle. *Canadian Journal of Animal Science*. 81: 273–280. <https://doi.org/10.4141/A00-112>.
- Gerlach, K., Daniel, J. L. P., Jobim, C. C. & Nussio, L. G. (2021). A data analysis on the effect of acetic acid on dry matter intake in dairy cattle. *Animal Feed Science and Technology*, 272. Article 114782 <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2020.114782>.
- Han, H., Ogata, Y., Yamamoto, Y., Nagao, S., & Nishino, N. (2014). Identification of lactic acid bacteria in the rumen and feces of dairy cows fed total mixed ration silage to assess the survival of silage bacteria in the gut. *Journal of Dairy Science*, 97: 5754–5762. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-7968>.
- Huhtanen, P., Nousiainen, J. I., Khalili, H., Jaakkola, S., Heikkila, T. (2003). Relationships between silage fermentation characteristics and milk production parameters: analyses of literature data. *Livestock Production Science*, 81: 57–73. [https://doi.org/10.1016/S0301-6226\(02\)00195-1](https://doi.org/10.1016/S0301-6226(02)00195-1).
- Kung, L., Taylor, C. C., Lynch, M. P. & Neylon, J. M. (2003) The effect of treating alfalfa with *Lactobacillus buchneri* 40788 on silage fermentation, aerobic stability, and nutritive value for lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 86:336–343. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(03\)73611-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(03)73611-X).
- NRC. (2001). National Research Council. Nutrient Requirements of Dairy Cattle, 7th revised ed., National Academic Press, Washington, DC.
- Oliveira, A. S., Weinberg, Z. G., Ogunade, I. M., Cervantes, A. A. P., Arriola, K. G., Jiang, Y., Kim, D., Li, X., Goncalves, M. C. M., Vyas, D. & Adesogan, A. T. (2017). Meta-analysis of effects of inoculation with homofermentative and facultative heterofermentative lactic acid bacteria on silage fermentation, aerobic stability, and the performance of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 100:4587–4603. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-11815>.
- Ottensin, D. M. & Butler, D. A. (1971). Improved gas chromatography separation of feed acids C₂-C₅ in solution. *Analytical Chemistry*, V43:P.952-955.
- Rabelo, C. H. S, Basso, F. C., Lara, E. C., Jorge, L. G. O., Härter, C. J., Mesquita, L.G., Silva, L. F.

- P. & Reis, R. A. (2018). Effects of *Lactobacillus buchneri* as a silage inoculant and as a probiotic on feed intake, apparent digestibility and ruminal fermentation and microbiology in wethers fed low-dry-matter whole-crop maize silage. *Grass and Forage Science*, 73, 67–77. <https://doi.org/10.1111/gfs.12303>.
- Santos, W. P., Ávila, C. L. S., Pereira, M. N., Schwan, R. F., Lopes, N. M. & Pinto, J. C. (2017). Effect of the inoculation of sugarcane silage with *Lactobacillus hilgardii* and *Lactobacillus buchneri* on feeding behavior and milk yield of dairy cows *Journal of Animal Science*, 95:4613–4622. <https://doi.org/10.2527/jas2017.1526>.
- Van Keulen, J. V. & Young, B. A. (1977). Evaluation of acid insoluble ash as a natural marker in ruminant digestibility studies. *Journal of Animal Science*, 44 (2), 282-287. <https://doi.org/10.2527/jas1977.442282x>.
- Van Soest, P. J., Robertson, J. & Lewis, B. (1991). Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, 74: 3583-3597. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(91\)78551-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2).
- Zhang, Y., Zhao, X., Chen, W., Zhou, Z., Meng, Q. & Wu, H. (2019). Effects of adding various silage additives to whole corn crops at ensiling on performance, rumen fermentation, and serum physiological characteristics of growing-finishing cattle. *Animals*, 9: 695-707. <https://doi.org/10.3390/ani9090695>.