

## اثر افزودن سطوح مختلف ذرت علوفه‌ای بر بهبود کیفیت تخمیر و پایداری هوازی سیلاژ

### بخش هوایی جروسالم آرتیچوک (*Helianthus tuberosus* L.)

لیلا طاهرآبادی<sup>۱</sup>، فرخ کفیل زاده<sup>۲\*</sup>

۱- دانشجوی دکتری، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران.

۲- استاد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران.

تاریخ دریافت: فروردین ۱۴۰۱ تاریخ پذیرش: خرداد ۱۴۰۱

شماره تماس نویسنده مسئول: ۰۹۱۲۲۷۷۴۹۳۳

Email: kafilzadeh@razi.ac.ir

شناسه دیجیتال (DOI): 10.22092/ ASJ.2022.358216.2216

#### چکیده

مطالعه حاضر به منظور بررسی اثر افزودن سطوح مختلف ذرت علوفه‌ای بر بهبود خصوصیات تخمیر و پایداری هوازی سیلاژ بخش هوایی گیاه جروسالم آرتیچوک انجام شد. جهت تهیه سیلاژها، این گیاه با نسبت‌های صفر، ۲۵، ۵۰ و ۷۵ درصد ذرت علوفه‌ای در سیلوهای آزمایشگاهی با چهار تکرار سیلو شد. کمترین pH (۳/۸۵) و بیشترین غلظت اسید لاکتیک (۴۸/۵ گرم در کیلوگرم ماده خشک) در سیلاژهای حاوی ۷۵ درصد و پس از آن در سیلاژهای حاوی ۵۰ درصد ذرت علوفه‌ای مشاهده شد. در سیلاژهای حاوی ۵۰ و ۷۵ درصد ذرت علوفه‌ای کاهش غلظت اسید بوتیریک و نیتروژن آمونیاکی با افزایش جمعیت باکتری‌های اسید لاکتیک و کاهش جمعیت کپک و مخمر همراه بود. بیشترین نسبت اسید لاکتیک به اسید استیک (۲/۲) در سیلاژهای حاوی ۷۵ درصد ذرت علوفه‌ای مشاهده شد. سیلاژهای حاوی ۵۰ و ۷۵ درصد ذرت علوفه‌ای دارای بیشترین پروتئین خام و کربوهیدرات‌های محلول بود. بیشترین پایداری هوازی در سیلاژهای حاوی ۵۰ درصد ذرت علوفه‌ای (۵۸۴ ساعت) با عدم رشد کپک در این سیلاژها همراه بود. نتایج مطالعه حاضر نشان داد، استفاده از ۵۰ درصد ذرت علوفه‌ای در هنگام تهیه سیلاژ بخش هوایی جروسالم آرتیچوک باعث بهبود تخمیر شد. همچنین، مخلوط نمودن این دو علوفه با سطوح مختلف استفاده شده از ذرت علوفه‌ای باعث بهبود پایداری هوازی سیلاژها شد و بیشترین پایداری هوازی در سیلاژ حاصل از مخلوط ۵۰:۵۰ این دو علوفه مشاهده شد.

واژه‌های کلیدی: پایداری هوازی، تخمیر، جروسالم آرتیچوک، ذرت علوفه‌ای، سیلاژ.

Animal Science Journal (Pajouhesh & Sazandegi) No 138 pp: 39-50

### Effect of adding different levels of forage corn to improve fermentation quality and aerobic stability of the aerial part of Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) silage

By: Leila Taherabadi<sup>1</sup>, Farokh Kafilzadeh<sup>2\*</sup>

1- Ph.D. Student, Department. of Animal Science, Faculty of Agriculture, Razi University, Kermanshah, Iran.

2- Professor, Department. of Animal Science, Faculty of Agriculture, Razi University, Kermanshah, Iran.

\*Corresponding Author: kafilzadeh@razi.ac.ir

Received: April 2022

Accepted: June 2022

The present research was conducted to investigate the effect of adding different levels of forage corn on the improvement of fermentation properties and aerobic stability of the aerial part of Jerusalem artichoke silage. To prepare silages, this plant was ensiled with ratios of 0, 25, 50 and 75% of forage corn in laboratory silos with four replicates. The lowest pH (3.85) and the highest concentration of lactic acid (48.5 g/ kg DM) were observed in silages containing 75% and then in silages containing 50% of forage corn. In silages containing 50% and 75% forage corn, a decrease in the concentration of butyric acid and ammonia nitrogen was associated with an increase in the population of lactic acid bacteria and a decrease in the population of mold and yeast. The highest ratio of lactic acid to acetic acid (2.2) was observed in silages containing 75% of forage corn. Silages containing 50 and 75% of forage corn had the highest crude protein and soluble carbohydrates. The highest aerobic stability in silages containing 50% of forage corn (584 h) was associated with no growth of mold in these silages. The results of the present research showed that the use of 50% forage corn during the preparation of aerial part silage of Jerusalem artichoke improved fermentation. Also, mixing these two forages with different levels of used forage corn improved the aerobic stability of silages and the highest aerobic stability was observed in the silage resulting from a 50:50 mixture of these two forages.

**Key words:** Aerobic stability, Fermentation, Forage corn, Jerusalem artichoke, Silage

#### مقدمه

به صورت خشک و اغلب سیلو شده در تغذیه دام مورد استفاده قرار گرفته است (Papi و همکاران، ۲۰۱۷ و ۲۰۱۹). کیفیت سیلاژ حاصل از بخش هوایی این گیاه با استفاده از ملاس (Bingöl و همکاران، ۲۰۱۰؛ Hay and Offer، ۱۹۹۲) یا افزودنی‌های باکتریایی (یافته‌های منتشر نشده محققین مطالعه حاضر) به مقدار قابل توجهی بهبود یافته است. استفاده از منابع حاوی کربوهیدرات‌های سریع التخمیر به عنوان یک افزودنی مغذی تأمین کننده قند جهت بهبود کیفیت سیلاژها سابقه زیادی دارد (McDonald و همکاران، ۱۹۹۱). زیرا، فراهمی کربوهیدرات‌های محلول قابل دسترس برای باکتری‌های تولید کننده اسید لاکتیک از طریق افزایش تولید اسید لاکتیک، سبب تسریع در کاهش pH و بهبود تخمیر طبیعی سیلاژ می‌شود (Cao

افزایش رشد جمعیت و نیاز به تأمین منابع پروتئینی حیوانی، سبب افزایش نیاز به علوفه به عنوان عمده ترین ماده خوراکی در تغذیه دام‌ها شده است. بخشی از این نیاز می‌تواند با شناخت منابع علوفه-ای جدید و بهبود استفاده از آنها به ویژه از طریق کاهش اتلاف در فرآیند نگهداری آنها صورت گیرد. یکی از منابع علوفه‌ای که اخیراً در کشور مورد توجه قرار گرفته است و برای اولین بار در موسسه تحقیقات علوم دامی کشور مورد مطالعه قرار گرفت؛ بخش هوایی گیاه جروسالم آرتیچوک (*Helianthus tuberosus* L.) است (Fazaeli و همکاران، ۲۰۰۹). این گیاه به عنوان یک منبع علوفه‌ای با پتانسیل بالای عملکرد تولید (۶۰-۱۰۰ تن علوفه تر در هکتار) و قابلیت هضم مطلوب (Papi و همکاران، ۲۰۱۵؛ Taherabadi and Kafilzadeh، ۲۰۲۲)

چاپر به قطعاتی به طول ۲ سانتی متر خرد گردید. علوفه‌ها جهت تهیه سیلاژ با چهار تکرار با نسبت‌های ۱۰۰ درصد علوفه جروسالم آرتیچوک (گروه شاهد)؛ ۷۵ درصد علوفه جروسالم آرتیچوک به‌علاوه ۲۵ درصد ذرت علوفه‌ای (تیمار اول)؛ ۵۰ درصد علوفه جروسالم آرتیچوک به‌علاوه ۵۰ درصد ذرت علوفه‌ای (تیمار دوم)؛ ۲۵ درصد علوفه جروسالم آرتیچوک به‌علاوه ۷۵ درصد ذرت علوفه‌ای (تیمار سوم) مخلوط شدند. نمونه برداری از علوفه‌ها قبل از سیلو کردن، جهت آنالیز ترکیبات شیمیایی و میکروبی صورت گرفت. علوفه‌ها با نسبت‌های مورد نظر در سیلوهای آزمایشگاهی دارای الو بنسون با قطر ۱۸ سانتی-متر و ارتفاع ۲۶ سانتی متر سیلو شد و پس از غیر قابل نفوذ شدن نسبت به هوا در دمای اتاق به مدت ۹۰ روز نگهداری شدند.

#### آنالیز شیمیایی و تعیین جمعیت میکروبی

ماده خشک نمونه‌های علوفه‌ها (با سه تکرار) قبل از سیلو کردن و نمونه‌های سیلاژ پس از باز کردن سیلوها با قرار دادن آن‌ها در آون دارای جریان هوا به مدت ۴۸ ساعت و دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد اندازه‌گیری شد (AOAC، ۲۰۰۰). مقدار الیاف نامحلول در شوینده خشی نمونه‌ها به روش Van Soest و همکاران (۱۹۹۱) و پروتئین خام با روش میکروکجدال (AOAC، ۲۰۰۰) اندازه-گیری شد. به منظور تعیین pH، بعد از عصاره‌گیری از نمونه‌ها (Amado و همکاران، ۲۰۱۲) بلافاصله pH اندازه‌گیری شد و عصاره مورد نظر جهت تعیین نیتروژن آمونیاکی (Broderick، ۱۹۸۷)، کربوهیدرات‌های محلول در آب (Dubois و همکاران، ۱۹۵۶) و اسید لاکتیک (Madrid و همکاران، ۱۹۹۹) با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل CARY100، Varian استرالیا) مورد استفاده قرار گرفت. همچنین، غلظت اسید استیک و اسید بوتیریک عصاره‌های سیلاژ با استفاده از دستگاه کروماتوگراف گازی (Philips، pu4410) اندازه‌گیری شد (Gallo و همکاران، ۲۰۱۵).

جهت تعیین جمعیت میکروبی سیلاژها و نمونه‌های علوفه قبل از سیلو کردن، رقت‌های  $10^{-1}$  تا  $10^{-10}$  از عصاره‌های مورد نظر در سه تکرار تهیه شد. شمارش جمعیت باکتری‌های مولد اسید

و همکاران، ۲۰۱۰؛ Arriola و همکاران، ۲۰۲۱؛ Wuisman و همکاران، ۲۰۰۶). همچنین، بهبود کیفیت تخمیر گیاهان با اضافه کردن علوفه‌هایی که سطح بالا یا مطلوبی از کربوهیدرات‌های سهل‌الهضم دارند نیز گزارش شده است (Ozturk و همکاران، ۲۰۰۶؛ Zeng و همکاران، ۲۰۲۰).

ذرت علوفه‌ای یکی از گیاهان علوفه‌ای محبوب در سراسر دنیاست که به دلیل ظرفیت بافری و سطح مطلوب کربوهیدرات‌های محلول در آب (McDonald و همکاران، ۱۹۹۱)، جهت بهبود کیفیت سیلاژ گیاهان مختلف استفاده شده است (Ozturk و همکاران، ۲۰۰۶؛ Ni و همکاران، ۲۰۱۸). استفاده از این منبع علوفه‌ای علاوه بر افزایش سطح کربوهیدرات‌های محلول، سبب افزایش سایر ترکیبات شیمیایی سیلاژ گردیده است (Zeng و همکاران، ۲۰۲۰). همچنین، افزودن ذرت علوفه‌ای به یونجه یا علوفه سویا در هنگام سیلو کردن سبب بهبود کیفیت تخمیر شده است (Ozturk و همکاران، ۲۰۰۶؛ Ni و همکاران، ۲۰۱۸).

علی‌رغم مطالعات صورت گرفته درخصوص راهکارهای بهبود سیلاژ بخش هوایی جروسالم آرتیچوک، اطلاعاتی در زمینه تولید سیلاژ آن به‌همراه ذرت علوفه‌ای و یا سایر منابع علوفه‌ای یافت نشد. با توجه به اثرات مثبت استفاده از منابع کربوهیدراتی در کیفیت سیلاژ بخش هوایی گیاه جروسالم آرتیچوک (Bingöl و همکاران، ۲۰۱۰؛ Hay and Offer، ۱۹۹۲؛ Karsli and Bingöel، ۲۰۰۹)، انتظار می‌رود همراه کردن آن با علوفه‌های حاوی غلظت مطلوب کربوهیدرات‌های سهل‌الهضم بتواند در بهبود کیفیت تخمیر آن موثر باشد. بنابراین، مطالعه حاضر با هدف بررسی تأثیر استفاده از سطوح مختلف ذرت علوفه‌ای هنگام تهیه سیلاژ بخش هوایی جروسالم آرتیچوک بر بهبود خصوصیات تخمیر و پایداری هوازی سیلاژ آن انجام شد.

#### مواد و روش‌ها

##### تیمارها و سیلوهای آزمایشگاهی

بخش هوایی جروسالم آرتیچوک در مرحله قبل از گلدهی و ذرت علوفه‌ای در مرحله شیری در شهریور ماه ۱۳۹۹ از مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه رازی برداشت و سپس، با

به صورت اندازه گیری های تکرار شونده مطابق با مدل (۲) تجزیه و تحلیل آماری شدند.

$$Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij} \quad \text{مدل ۱}$$

در این مدل  $Y_{ij}$ ، مشاهده؛  $\mu$ ، اثر میانگین؛  $T_i$ ، اثر تیمار؛  $W_j$  و  $e_{ij}$ ، خطای آزمایشی هستند.

$$Y_{ij} = \mu + T_i + W_j + T_i \times W_j + e_{ij} \quad \text{مدل ۲}$$

در این مدل  $Y_{ij}$ ، مشاهده؛  $\mu$ ، اثر میانگین؛  $T_i$ ، اثر تیمار؛  $W_j$ ، اثر زمان؛  $T_i \times W_j$ ، اثر تیمار در زمان و  $e_{ij}$ ، خطای آزمایشی هستند.

### نتایج و بحث

ترکیبات شیمیایی و جمعیت میکروبی بخش هوایی جروسالم آرتیچوک و ذرت علوفه‌ای قبل از سیلو کردن، در جدول ۱ گزارش شده است. افزودن ذرت علوفه‌ای تأثیری بر ماده خشک سیلاژ بخش هوایی جروسالم آرتیچوک نداشت (جدول ۲). ماده خشک سیلاژهای مخلوط متأثر از عواملی از جمله ماده خشک اولیه علوفه‌ها و/یا تخمیر مواد مغذی سیلاژ به فرآورده‌های تخمیر لاکتیکی و غیرلاکتیکی است (Ozturk و همکاران، ۲۰۰۶؛ Zhang و همکاران، ۲۰۱۵). در مطالعه حاضر عدم تفاوت درصد ماده خشک سیلاژها با نسبت‌های متفاوت بخش هوایی گیاه جروسالم آرتیچوک و ذرت علوفه‌ای ناشی از یکسان بودن درصد ماده خشک این دو علوفه در زمان سیلو کردن بود. مقدار لیاف نامحلول در شوینده خنثی ( $P < 0.001$ ) و پروتئین خام ( $P < 0.01$ ) سیلاژها با افزایش سطح ذرت علوفه‌ای در هنگام سیلو کردن از روند درجه سه پیروی کرد. با این حال، بالاترین مقدار لیاف نامحلول در شوینده خنثی در سطح ۵۰ درصد و پروتئین خام در سطح ۵۰ و ۷۵ درصد ذرت علوفه‌ای مشاهده شد. افزایش سطح ذرت علوفه‌ای با لیاف نامحلول در شوینده خنثی بالا سبب افزایش مقدار آن در سیلاژ حاوی ۵۰ درصد ذرت علوفه‌ای شد. کاهش لیاف نامحلول در شوینده خنثی در سیلاژ حاوی ۷۵ درصد ذرت علوفه‌ای با توجه به کاهش بیشتر pH در این سیلاژ می‌تواند ناشی از تجزیه بیشتر همی سلولز به وسیله باکتری‌ها و یا تاثیر اسیدهای آلی بیشتر تولید شده بر همی سلولز باشد (Santos و همکاران، ۲۰۱۶). بالا بودن مقادیر پروتئین سیلاژ گیاهان

لاکتیک پس از کشت به صورت پورپلیت در محیط MRS آگار<sup>۱</sup> (مرک، آلمان) و از طریق انکوبه کردن نمونه‌ها در شرایط بی-هوازی در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۲ ساعت انجام شد (Briceno and Martinez, ۱۹۹۵). شمارش جمعیت مخمر و قارچ به ترتیب یک و پنج روز پس از کشت در محیط PDA<sup>۲</sup> (مرک، آلمان) و پس از انکوبه کردن نمونه‌ها در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد صورت گرفت (Rabie و همکاران، ۱۹۹۷). جمعیت‌های میکروبی با واحد تشکیل‌دهنده کلنی<sup>۳</sup> به ازای هر گرم علوفه تازه گزارش شد.

### تعیین پایداری هوازی

به منظور تعیین پایداری هوازی سیلاژها در دمای ۲۰ الی ۲۲ درجه سانتی‌گراد، ۶۰۰ گرم از هر نمونه سیلاژ در ظروف پلاستیکی قرار داده شد و درب آن با پارچه پنبه‌ساز دولایه پوشانده شد. مدت زمان پایداری هوازی سیلاژها با اندازه‌گیری دمای نمونه‌های سیلاژ با استفاده از دماسنج هر ۵ ساعت یکبار تا ۲۴ روز یعنی تا زمانی که دمای آخرین سیلاژ به دو درجه سانتی‌گراد بالاتر از دمای محیط رسید تعیین شد (Ranjit and Kung, ۲۰۰۰). در مدت زمان قرار گرفتن سیلاژها در معرض هوا pH، جمعیت مخمر و کپک سیلاژها در روزهای ۶، ۱۲، ۱۸ و ۲۲ مطابق روش‌های توضیح داده شده در قبل اندازه‌گیری شد.

### تجزیه و تحلیل آماری

داده‌های مربوط به کیفیت و جمعیت میکروبی سیلاژها پس از بازکردن سیلوها در قالب طرح کاملاً تصادفی با رویه GLM، نرم افزار آماری SAS (نسخه ۹/۴) و مطابق با مدل (۱) تجزیه و تحلیل آماری شدند. از مقایسات متعامد (خطی، درجه دو و درجه سوم) برای مشخص کردن روند تأثیر سطوح مختلف ذرت علوفه-ای در هنگام سیلو کردن بر فراسنجه‌های تخمیر سیلاژها استفاده شد. در صورت معنی‌دار بودن اثر تیمار، مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن و در سطح معنی‌دار ۵ درصد انجام شد. داده‌های مربوط به روند تخمیر هوازی با رویه GLM و

<sup>۱</sup> - Man Rogosa Sharpe Agar

<sup>۲</sup>- Potato Dextrose Agar

<sup>۳</sup>- Colony forming unit

اینولین، فروکتوالیگوساکاریدها و فرکتوز است (Li و همکاران، ۲۰۱۷؛ Long و همکاران، ۲۰۱۶؛ Kim and Kim، ۲۰۱۴). اینولین برای تجزیه نیاز به آنزیم اینولیناز دارد (Singh and Gill، ۲۰۰۶). این آنزیم در باکتری‌های محدودی مانند باسیلوس‌ها، پسودوموناس‌ها و استرپتومایسس‌ها در سطح مطلوبی تولید می‌شود (Ricca و همکاران، ۲۰۰۷). بنابراین، محدود بودن تولید آنزیم اینولیناز در میکروارگانیسم‌ها باعث می‌شود سرعت تخمیر آن کاهش یابد (Sangeetha و همکاران، ۲۰۰۵). از طرفی، گزارشاتی مبنی بر پایین بودن و یا عدم تکثیر باکتری‌های مولد اسید لاکتیک مصرف کننده اینولین نسبت به گلوکز وجود دارد (Tulumoglu و همکاران، ۲۰۱۸؛ Iraporda و همکاران، ۲۰۱۹).

با این حال، علاوه بر تاثیر ماهیت کربوهیدرات‌های محلول در سرعت مصرف و تکثیر باکتری‌های مولد اسید لاکتیک (Iraporda و همکاران، ۲۰۱۹) فرآورده‌های تخمیر این باکتری-ها نیز می‌تواند متاثر از نوع کربوهیدرات‌های محلول در آب باشد. برای مثال، وجود فروکتوز به جای گلوکز در گیاه جروسالم آرتیچوک می‌تواند منجر به تولید مانیتول به عنوان یک محصول تخمیری غیرلاکتیکی گردد (McDonald و همکاران، ۱۹۹۱).

مختلف با کاهش پروتئولیز از طریق کاهش فعالیت پروتئازهای گیاهی و میکروارگانیسم‌های نامطلوب همراه است (Li و همکاران، ۲۰۱۸؛ Xu و همکاران، ۲۰۲۲). احتمال می‌رود که سطوح بالای ذرت علوفه‌ای در مطالعه حاضر با اسیدی کردن سریع سیلاژ سبب مهار کلاستریدیاهای تجزیه کننده پروتئین‌های گیاهی و کاهش پروتئولیز شده است.

افزایش خطی ( $P < 0.001$ ) غلظت کربوهیدرات‌های محلول سیلاژ بخش هوایی جروسالم آرتیچوک با افزایش سطح ذرت علوفه‌ای مشاهده شد. به طوری که، بیشترین غلظت آن در سیلاژهای حاوی سطح ۵۰ و ۷۵ درصد ذرت علوفه‌ای مشاهده شد. مقدار کمتر کربوهیدرات‌های محلول در سیلاژهای حاوی درصد پایین تر ذرت علوفه‌ای می‌تواند ناشی از تبدیل آن به محصولات تخمیر غیرلاکتیکی باشد. احتمال می‌رود افزایش سطح ذرت علوفه‌ای با فراهمی منبع کربوهیدرات سریع التخمیر سبب بازده بهتر استفاده کربوهیدرات‌های محلول در آب به محصولات تخمیر لاکتیکی شده است (Gao و همکاران، ۲۰۲۱). در واقع، نوع کربوهیدرات‌های محلول در آب در بازده مصرف آن‌ها در فرآیند تخمیر موثر است (McDonald و همکاران، ۱۹۹۱). جروسالم آرتیچوک اگرچه دارای غلظت بالایی از کربوهیدرات‌های محلول در آب می‌باشد؛ اما، بخش عمده آن متشکل از

جدول ۱. ترکیبات شیمیایی و جمعیت میکروبی بخش هوایی جروسالم آرتیچوک و ذرت علوفه‌ای قبل از سیلو کردن ( میانگین  $\pm$  انحراف استاندارد؛  $n=3$  ).

ذرت علوفه‌ای	بخش هوایی جروسالم آرتیچوک	فراسنجه
۲۸۹/۳ $\pm$ ۱/۱	۲۹۰/۳ $\pm$ ۰/۸	ماده خشک (گرم در کیلوگرم علوفه تازه)
۴۹۷/۶ $\pm$ ۳/۸	۴۰۴/۰ $\pm$ ۲/۹	ترکیب شیمیایی (گرم در کیلوگرم ماده خشک)
۷۹/۲ $\pm$ ۳/۱	۱۱۳/۲ $\pm$ ۹/۵	الیاف نامحلول در شوینده خنثی
۹۲/۶ $\pm$ ۱۰/۹	۲۲۶/۵ $\pm$ ۲۰/۵	پروتئین خام
		کربوهیدرات محلول در آب
		جمعیت میکروبی ( $\log_{10}$ cfu/g FM)
۳/۶ $\pm$ ۰/۲	۳/۵ $\pm$ ۰/۳	باکتری‌های اسید لاکتیک
۴/۰ $\pm$ ۰/۲	۲/۸ $\pm$ ۰/۲	خمیر
۳/۹ $\pm$ ۰/۱	۲/۷ $\pm$ ۰/۳	کپک

## جدول ۲. اثر سطوح مختلف ذرت علوفه‌ای بر ترکیبات شیمیایی سیلاژ بخش هوایی جروسالم آرتیچوک

ذرت علوفه‌ای (درصد)	ماده خشک (گرم در کیلوگرم علوفه تازه)	الیاف نامحلول در شوینده خشتی (گرم در کیلوگرم ماده خشک)	پروتئین خام (گرم در کیلوگرم ماده خشک)	کربوهیدرات محلول در آب (گرم در کیلوگرم ماده خشک)
۰	۲۷۱/۰	۴۶۶/۵ <sup>c</sup>	۷۰/۷ <sup>b</sup>	۳۶/۹ <sup>b</sup>
۲۵	۲۷۰/۲	۴۸۱/۳ <sup>c</sup>	۶۹/۲ <sup>b</sup>	۳۷/۲ <sup>b</sup>
۵۰	۲۶۷/۸	۵۵۴/۳ <sup>a</sup>	۸۸/۹ <sup>a</sup>	۴۴/۱ <sup>a</sup>
۷۵	۲۷۳/۵	۵۳۰/۱ <sup>b</sup>	۹۳/۶ <sup>a</sup>	۴۳/۷ <sup>a</sup>
خطای استاندارد میانگین‌ها	۲/۷۴	۵/۷۲	۱/۶۳	۱/۴۶
مقایسات متعامد				
خطی	Ns	***	***	***
درجه دو	Ns	**	Ns	Ns
درجه سه	Ns	***	**	Ns

a-c: تفاوت میانگین‌ها با حروف غیر مشابه در هر ستون معنی دار است ( $P < 0/05$ ). معنی داری: NS، غیر معنی دار؛ \*\*،  $P < 0/01$ ؛ \*\*\*،  $P < 0/001$ .

همکاران، ۲۰۱۸). احتمال می‌رود استفاده از منابع علوفه‌ای از طریق فراوانی جمعیت باکتری‌های که به شدت رشد می‌کنند و تخمیر اسید لاکتیک را در مراحل اولیه آغاز می‌کنند، سبب تحریک بیشتر گونه‌های لاکتوباسیلوس تخمیر کننده شده باشد (Zeng و همکاران، ۲۰۲۰؛ Zhang و همکاران، ۲۰۱۵). نتایج مطالعه حاضر مطابق با نتایج مطالعه‌ای در رابطه با کاهش غلظت اسید بوتیریک و نیتروژن آمونیاکی سیلاژهای حاوی ذرت علوفه-ای نشان‌دهنده سرعت بیشتر تخمیر لاکتیکی و کاهش جمعیت میکروارگانیسم‌هایی است که به کاهش pH مقاوم نبوده‌اند (Ni و همکاران، ۲۰۱۸).

میزان pH، فرآورده‌های تخمیر و جمعیت میکروبی سیلاژها در جدول ۳ گزارش شده است. میزان pH ( $P < 0/01$ )، غلظت اسید بوتیریک ( $P < 0/001$ ) و نیتروژن آمونیاکی ( $P < 0/001$ ) سیلاژ بخش هوایی جروسالم آرتیچوک به موازات افزایش سطح ذرت علوفه‌ای در هنگام سیلو کردن به صورت درجه سه تغییر کرد. بیشترین کاهش pH با افزودن سطوح ۵۰ و ۷۵ درصد ذرت علوفه‌ای از ۴/۷۱ به ترتیب به ۴/۰۹ و ۳/۸۵ مشاهده شد. با این حال همسو با نتایج مطالعه حاضر استفاده از سطوح ۵۰، ۷۰ یا ۹۰ درصد از هر یک از منابع علوفه‌ای ذرت و یا سورگوم به عنوان منبع کربوهیدراتی به علوفه سویا، سبب کاهش شدید pH سیلاژ ۱۰۰ درصد علوفه سویا از ۴/۵ به ۳/۸-۳/۵ در سیلاژ شد (Ni و

جدول ۳. اثر سطوح مختلف ذرت علوفه‌ای بر pH، محصولات تخمیر، جمعیت میکروبی و پایداری هوازی سیلاژ بخش هوایی جروسالم آرتیچوک

پایداری هوازی (ساعت)	جمعیت میکروبی (log <sub>10</sub> cfu/g FM)				محصولات تخمیر (گرم در کیلوگرم ماده خشک)				pH	ذرت علوفه‌ای (درصد)
	چک	مخمر	باکتری‌های نیروزون	اسیدلاکتیک	اسید استیک	اسید بوتیریک	اسید لاکتیک	اسید استیک		
۱۷۲ <sup>d</sup>	۲/۳	۳/۷ <sup>a</sup>	۲/۸ <sup>a</sup>	۰/۷ <sup>b</sup>	۳/۸ <sup>a</sup>	۲۱/۳ <sup>b</sup>	۱۵/۲ <sup>d</sup>	۴/۷ <sup>a</sup>	۰	
۱۸۵ <sup>c</sup>	۲/۰	۳/۸ <sup>b</sup>	۳/۸ <sup>a</sup>	۰/۹ <sup>b</sup>	۳/۴ <sup>a</sup>	۲۵/۲ <sup>b</sup>	۲۲/۷ <sup>c</sup>	۴/۶ <sup>a</sup>	۲۵	
۵۴ <sup>a</sup>	ND	۵/۳ <sup>a</sup>	۱/۲ <sup>b</sup>	۰/۸ <sup>b</sup>	۰/۸ <sup>b</sup>	۳۵/۹ <sup>a</sup>	۳۶/۰ <sup>b</sup>	۴/۰ <sup>b</sup>	۵۰	
۴۰۷ <sup>b</sup>	ND	۶/۸ <sup>a</sup>	۰/۹ <sup>b</sup>	۲/۲ <sup>a</sup>	۰/۵ <sup>b</sup>	۲۱/۸ <sup>b</sup>	۴۸/۵ <sup>b</sup>	۳/۸۵ <sup>c</sup>	۷۵	
۲/۵۰	۰/۸	۰/۱۷	۰/۱۵	۰/۱۰	۰/۲۱	۱/۳۳	۱/۴۰	۰/۰۴	خطای استاندارد میانگین‌ها	
***	***	***	***	***	***	Ns	***	***	مقیاسات معامد	
***	Ns	Ns	Ns	***	Ns	**	Ns	Ns	خطی	
***	***	*	Ns	**	***	**	Ns	**	درجه دو	
***	***	***	***	***	***	**	Ns	**	درجه سه	

تفاوت میانگین‌ها با حروف غیر مشابه در هر ستون معنی دار است (P < ۰/۰۵). NS، غیر معنی دار؛ P < ۰/۰۱، \*\*، P < ۰/۰۵، \*\*\*، ND، غیر قابل شناسایی.

اسید استیک به عنوان شاخصی از pH و سطح نیتروژن آمونیاکی است که در مطالعه حاضر با افزایش سطح ذرت علوفه‌ای به صورت درجه سه ( $P < 0.01$ ) تغییر کرد و بیشترین مقدار آن در سیلاژهای حاوی ۷۵ درصد ذرت علوفه‌ای مشاهده شد. تغییرات پایداری هوازی سیلاژها به صورت درجه سه ( $P < 0.01$ ) تحت تاثیر افزایش سطح ذرت علوفه‌ای قرار گرفت. بیشترین پایداری هوازی در سیلاژهای حاوی ۵۰ و ۷۵ درصد ذرت علوفه‌ای به ترتیب به مدت ۵۸۴ و ۴۰۷ ساعت بود. طی تخمیر هوازی، اثر متقابل pH، کپک و مخمر سیلاژهای بخش هوایی جروسالم آرتیچوک با سطوح مختلف ذرت علوفه‌ای مشاهده شد (جدول ۴؛  $P < 0.01$ ). با این حال، تخمیر هوازی سیلاژها با عدم رشد کپک در سیلاژهای حاوی ۵۰ درصد ذرت علوفه‌ای همراه بود. بعد از قرار گرفتن سیلاژها در شرایط هوازی، مخمرهای تجزیه کننده لاکتات شروع به فعالیت می‌کنند که این عامل منجر به اکسیداسیون مواد مغذی و بالا رفتن دمای سیلاژ می‌شود (Kung و همکاران، ۲۰۱۸). اسیدهای آلی موجود در سیلاژ از جمله مواد ضد میکروبی و ضد قارچی هستند که به طور طبیعی توسط باکتری‌های اسید لاکتیک تولید می‌شوند. این اسیدهای آلی در شرایط هوازی می‌توانند سبب مهار رشد مخمرهای تجزیه کننده لاکتات و سایر میکروارگانیسم‌های نامطلوب تولید کننده گرما - گردند (Arriola و همکاران، ۲۰۲۱). از میان آن‌ها اسید استیک به عنوان مهمترین اسید آلی وابسته به پایداری هوازی شناخته شده است (Arriola و همکاران، ۲۰۲۱؛ Oliveira و همکاران، ۲۰۱۷). بنابراین، احتمال می‌رود افزایش پایداری هوازی سیلاژهای حاوی ۵۰ درصد ذرت علوفه‌ای در هنگام تهیه سیلاژ بخش هوایی جروسالم آرتیچوک ناشی از بالا بودن این اسید آلی و یا افزایش باکتری‌هایی با فعالیت ضد قارچی (تولید کننده پرودیجوسین<sup>۵</sup>) (Jimtha و همکاران، ۲۰۱۷؛ Ni و همکاران، ۲۰۱۸) در این سیلاژها باشد.

با افزایش سطح ذرت علوفه‌ای، غلظت اسید لاکتیک و جمعیت باکتری‌های مولد اسید لاکتیک سیلاژها به صورت خطی ( $P < 0.001$ ) و جمعیت مخمر ( $P < 0.05$ ) و کپک ( $P < 0.001$ ) به صورت درجه سه، به ترتیب افزایش و کاهش یافت. با این وجود، بیشترین تولید اسید لاکتیک به ترتیب در سیلاژهای حاوی ۷۵ و ۵۰ درصد ذرت علوفه‌ای با عدم رشد کپک در این سیلاژها همراه بود. اسید لاکتیک مسئول کاهش pH علوفه‌های تازه سیلو شده می‌باشد و در این مطالعه، کاهش بیشتر pH سیلاژها با سطح بالاتری از تولید اسید لاکتیک همراه بود. همسو با نتایج این مطالعه در استفاده از ذرت علوفه‌ای به عنوان یک منبع کربوهیدراتی در تهیه سیلاژ یونجه، کاهش بیشتر pH با افزایش سطح اسید لاکتیک گزارش شد (Ozturk و همکاران، ۲۰۰۶). جمعیت میکروبی سیلاژ، یک فاکتور حیاتی در کیفیت آن می‌باشد (Yang and Wang، ۲۰۱۸؛ Zhao و همکاران، ۲۰۱۷). جمعیت بیشتر باکتری‌های اسید لاکتیک به همراه افزایش غلظت اسید لاکتیک و کاهش pH در سیلاژهای حاوی سطوح بالاتر ذرت علوفه‌ای نشان دهنده غالب شدن آن‌ها در مراحل اولیه تخمیر نسبت به سایر میکروارگانیسم‌ها است (Heinritz و همکاران، ۲۰۱۲؛ Yan و همکاران، ۲۰۱۹). با توجه به غلظت محصولات تخمیر در مطالعه حاضر احتمال می‌رود افزودن ذرت علوفه‌ای از طریق فراهمی سطح متفاوت سوبستراهای قابل تخمیر و همچنین ایجاد جمعیت‌های متفاوت میکروارگانیسم‌های اپی فایتک<sup>۴</sup> منجر به تولید غلظت بیشتری از اسید لاکتیک و جمعیت کمتری از قارچ و مخمر در این سیلاژها شده است (Zeng و همکاران، ۲۰۲۰). نتایج مطالعه‌ی نشان داد که فراوانی بیشتر باکتری‌های لاکتوباسیلوس در سیلاژهای حاوی ذرت یا سورگوم با علوفه سویا سبب تخمیر نسبتاً خوب آن‌ها در مقایسه با سیلاژهای بدون ذرت یا سورگوم شد (Ni و همکاران، ۲۰۱۸). همچنین، همسو با نتایج این مطالعه بهبود کیفیت تخمیر و جمعیت میکروبی سیلاژهای تهیه شده از ذرت علوفه‌ای و علوفه سویا به واسطه افزایش جمعیت لاکتوباسیلوس‌ها نسبت به هریک از این سیلاژها به طور جداگانه گزارش شد (Zeng و همکاران، ۲۰۲۰). نسبت اسید لاکتیک به

<sup>5</sup>- Prodigiosin

<sup>4</sup>- Epiphytic



جدول ۴. اثر سطوح مختلف ذرت علوفه‌ای بر تغییرات pH و جمعیت میکروبی سیلاژ بخش هوایی جروسالم آرتیچوک بعد از قرار گرفتن در معرض هوا

معنی‌داری	میانگین	میانگین	مربعات خطا	زمان (روز)					ذرت علوفه‌ای (درصد)	فراسنجه	
				۰	۶	۱۲	۱۸	۲۲			
***	***	***	۰/۶۶	۵/۳۹	۶/۲۲	۵/۷۸	۵/۲۷	۵/۰۱	۴/۶۹	۰	pH
				۵/۲۵	۶/۰۹	۵/۵۰	۵/۲۱	۴/۸۵	۴/۶۰	۲۵	
				۴/۲۰	۴/۲۵	۴/۲۳	۴/۲۸	۴/۱۹	۴/۰۹	۵۰	
				۴/۱۱	۴/۴۱	۴/۲۲	۴/۰۶	۳/۹۹	۳/۸۵	۷۵	
											جمعیت میکروبی (log <sub>10</sub> cfu/g FM)
***	***	***	۱/۹۱	۷/۱	۱۱/۱	۸/۰	۷/۷	۵/۱	۳/۷	۰	مخمر
				۵/۶	۸/۳	۷/۲	۵/۱	۴/۳	۳/۱	۲۵	
				۲/۵	۴/۲	۳/۱	۲/۰	۱/۶	۱/۷	۵۰	
				۴/۸	۷/۹	۶/۱	۴/۸	۳/۸	۱/۵	۷۵	
***	***	***	۲/۷۴	۶/۱	۱۰/۲	۸/۰	۵/۷	۴/۶	۲/۲	۰	کپک
				۴/۲	۶/۵	۵/۵	۴/۰	۲/۷	۲/۰	۲۵	
				ND	ND	ND	ND	ND	ND	۵۰	
				۱/۵	۵/۱	۲/۶		ND	ND	۷۵	

معنی‌داری: \*\*\*، P < ۰/۰۰۱، ND، غیر قابل شناسایی.

### نتیجه‌گیری کلی

نتایج حاصل از افزودن سطوح مختلف ذرت علوفه‌ای به بخش هوایی گیاه جروسالم آرتیچوک، نشان داد که افزودن ذرت علوفه‌ای در سطح ۵۰ درصد علاوه بر بهبود کیفیت تخمیر باعث افزایش بیشتر پایداری هوازی در این سیلاژها شد.

### سپاسگزاری

بدین وسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه رازی جهت حمایت و کمک در انجام این مطالعه، تشکر و قدردانی می‌گردد.

## منابع

- Amado, I.R., Fuciños, C., Fajardo, P., Guerra, N.P., and Pastrana, L. (2012). Evaluation of two bacteriocin producing probiotic lactic acid bacteria as inoculants for controlling *Listeria monocytogenes* in grass and maize silages. *Animal Feed Science and Technology*. 175(3-4): 137-149.
- AOAC, (2000). Official methods of analysis, 15th Edition. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, USA.
- Arriola, K.G., Oliveira, A.S., Jiang, Y., Kim, D., Silva, H.M., Kim, S.C., ... and 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(7): 7653-7670.
- Bingöl, N.T., Karşlı, M.A., and Akça, I. (2010). The effects of molasses and formic acid addition into Jerusalem Artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) green mass in silage quality and digestibility. *Yüzüncü yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*. 21(1):11-14.
- Briceno, AG, and Martinez, R. (1995). Comparison of methods for the detection and enumeration of lactic acid bacteria in yogurt. *Archivos Latinoamericanos de Nutricion*. 45(3): 207-12.
- Broderick, G.A. (1987). Determination of protein degradation rates using a rumen in vitro system containing inhibitors of microbial nitrogen metabolism. *British Journal of Nutrition*. 58(3): 463-475.
- Cao, Y., Takahashi, T., Horiguchi, K.I., and Yoshida, N. (2010). Effect of adding lactic acid bacteria and molasses on fermentation quality and in vitro ruminal digestion of total mixed ration silage prepared with whole crop rice. *Grassland Science*. 56(1): 19-25.
- Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.T., and Smith, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*. 28(3): 350-356.
- Fazaeli, H., Karkodi, K. and Mirhadi, A. (2009). In vitro and in vivo analysis of Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus*) and alfalfa nutritive value. Isfahan University of Technology. *Journal of Crop Production and Processing*. 13(48): 163-173. (In Persian).
- Gallo, A., Giuberti, G., Bertuzzi, T., Moschini, M., and Masoero, F. (2015). Study of the effects of PR toxin, mycophenolic acid and roquefortine C on in vitro gas production parameters and their stability in the rumen environment. *The Journal of Agricultural Science*. 153(1): 163-176.
- Gao, R., Wang, B., Jia, T., Luo, Y., and Yu, Z. (2021). Effects of different carbohydrate sources on alfalfa silage quality at different ensiling days. *Agriculture*. 11(1): 58.
- Hay, R.K.M, and Offer, N.W. (1992). *Helianthus tuberosus* as an alternative forage crop for cool maritime regions: a preliminary study of the yield and nutritional quality of shoot tissues from perennial stands. *Science of Food and Agriculture*. 60(2): 213-221.
- Heinritz, S.N., Martens, S.D., Avila, P, and Hoedtke, S. (2012). The effect of inoculant and sucrose addition on the silage quality of tropical forage legumes with varying ensilability. *Animal Feed Science and Technology*. 174(3-4): 201-210.
- Iraporda, C., Rubel, I.A., Manrique, G.D., and Abraham, A.G. (2019). Influence of inulin rich carbohydrates from Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) tubers on probiotic properties of *Lactobacillus* strains. *LWT*. 101: 738-746.
- Jimtha, C.J., Jishma, P., Sreelekha, S., Chithra, S, and Radhakrishnan, E.K. (2017). Antifungal properties of prodigiosin producing rhizospheric *Serratia* sp. *Rhizosphere*. 3: 105-108.
- Karşlı, M.A., and Bingöl, N.T. (2009). The determination of planting density on herbage yield and silage quality of Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) green mass. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*. 15(4): 581-586.
- Kim, S., and Kim, C.H. (2014). Evaluation of whole Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) for consolidated bioprocessing ethanol production. *Renewable energy*. 65: 83-91.
- Kung Jr, L., Smith, M.L., da Silva, E.B., Windle, M.C., da Silva, T.C., and Polukis, S.A. (2018). An evaluation of the effectiveness of a chemical additive based on sodium benzoate, potassium sorbate, and sodium nitrite on the fermentation and

- aerobic stability of corn silage. *Journal of Dairy Science*. 101(7): 5949-5960.
- Li, L., Shao, T., Yang, H., Chen, M., Gao, X., Long, X., ... and Rengel, Z. (2017). The endogenous plant hormones and ratios regulate sugar and dry matter accumulation in Jerusalem artichoke in salt-soil. *Science of the Total Environment*. 578: 40-46.
- Li, X., Tian, J., Zhang, Q., Jiang, Y., Wu, Z., & Yu, Z. (2018). Effects of mixing red clover with alfalfa at different ratios on dynamics of proteolysis and protease activities during ensiling. *Journal of Dairy Science*. 101(10): 8954-8964.
- Long, X.H., Shao, H.B., Liu, L., Liu, L.P., and Liu, Z.P. (2016). Jerusalem artichoke: A sustainable biomass feedstock for biorefinery. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 54: 1382-1388.
- Madrid, J., Martínez-Teruel, A., Hernández, F., and Megías, M.D. (1999). A comparative study on the determination of lactic acid in silage juice by colorimetric, high-performance liquid chromatography and enzymatic methods. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 79(12): 1722-1726.
- McDonald, P., Henderson, A.R., and Heron, S.J.E. (1991). The biochemistry of silage. Chalcombe publications.
- Ni, K., Zhao, J., Zhu, B., Su, R., Pan, Y., Ma, J., Zhou, G., Tao, Y., Liu, X., Zhong, J. (2018). Assessing the fermentation quality and microbial community of the mixed silage of forage soybean with crop corn or sorghum. *Bioresource Technology*. 265: 563-567.
- Ogunade, I.M., Jiang, Y., Cervantes, A.P., Kim, D.H., Oliveira, A.S., Vyas, D., and Adesogan, A.T. (2018). Bacterial diversity and composition of alfalfa silage as analyzed by Illumina MiSeq sequencing: effects of *Escherichia coli* O157: H7 and silage additives. *Dairy science*. 101(3): 2048-2059.
- Oliveira, A.S., Weinberg, Z.G., Ogunade, I.M., Cervantes, A.A., Arriola, K.G., Jiang, Y., ... and 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(6): 4587-4603.
- Ozturk, D., Kizilsimsek, M., Kamalak, A., Canbolat, O., and Ozkan, C. (2006). Effects of ensiling alfalfa with whole-crop maize on the chemical composition and nutritive value of silage mixtures. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*. 19(4): 526-532.
- Papi, N., Kafilzadeh, F., and Fazaeli, H. (2015). Yield, composition and digestibility of Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus*) at different harvesting stages. *Animal Production*. 17(2): 335-345. (In Persian).
- Papi, N., Kafilzadeh, F., and Fazaeli, H. (2017). Effects of incremental substitution of maize silage with Jerusalem artichoke silage on performance of fat-tailed lambs. *Small Ruminant Research*. 147: 56-62.
- Papi, N., Kafilzadeh, F., and Fazaeli, H. (2019). Use of Jerusalem artichoke aerial parts as forage in fat-tailed sheep diet. *Small Ruminant Research*. 174: 1-6.
- Rabie, C.J., Lübben, A., Marais, G.J., and Van Vuuren, H.J. (1997). Enumeration of fungi in barley. *International Journal of Food Microbiology*. 35(2): 117-127.
- Ranjit, N.K., and Kung, J.R. (2000). The effect of *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus plantarum*, or a chemical preservative on the fermentation and aerobic stability of corn silage. *Dairy Science*. 83(3): 526-535.
- Ricca, E., Calabrò, V., Curcio, S., and Iorio, G. (2007). The state of the art in the production of fructose from inulin enzymatic hydrolysis. *Critical reviews in biotechnology*. 27(3): 129-145.
- Sangeetha, P.T., Ramesh, M.N., and Prapulla, S.G. (2005). Recent trends in the microbial production, analysis and application of fructooligosaccharides. *Trends in food science & technology*. 16(10): 442-457.
- Santos, A.O., Ávila, C.L.S., Pinto, J.C., Carvalho, B.F., Dias, D.R., and Schwan, R.F. (2016). Fermentative profile and bacterial diversity of corn silages inoculated with new tropical lactic acid bacteria. *Journal of Applied Microbiology*. 120(2): 266-279.
- Singh, P., and Gill, P.K. (2006). Production of inulinases: recent advances. *Food Technology and Biotechnology*. 44(2): 151-162.

- Taherabadi, L., and Kafilzadeh, F. (2022). Impact of harvesting the aerial part of Jerusalem Artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) as forage on tuber yield. *Agrotechniques in Industrial Crops*. 2(1): 11-18.
- Tulumoğlu, Ş., Erdem, B., and Şimşek, Ö. (2018). The effects of inulin and fructo-oligosaccharide on the probiotic properties of *Lactobacillus* spp. isolated from human milk. *Zeitschrift für Naturforschung C*. 73(9-10): 367-373.
- Van Soest, P.Y., Robertson, J., and Lewis, B. (1991). Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Dairy Science*. 74: 3583-3597.
- Wuisman, Y., Hiraoka, H., Yahaya, M. S., Takeda, M., Kim, W., Takahashi, T., and Goto, M. (2006). Effects of phenylalanine fermentation byproduct and sugarcane molasses on fermentation quality and rumen degradation of whole crop barley (*Hordeum vulgare* L.) silage in situ. *Grassland science*. 52(2): 73-79.
- Xu, L., Hu, Y., Li, X., Yin, X., Tang, G., and Zhang, J. (2022). Effects of wheat-legume cultures on the fermentation quality and protein degradation of silage. *Grassland Science*. 68(1): 13-22.
- Yan, Y., Li, X., Guan, H., Huang, L., Ma, X., Peng, Y., Li, Z., Nie, G., Zhou, J., Yang, W. (2019). Microbial community and fermentation characteristic of Italian ryegrass silage prepared with corn stover and lactic acid bacteria. *Bioresource Technology*. 279: 166-173.
- Yang, G., and Wang, J. (2018). Kinetics and microbial community analysis for hydrogen production using raw grass inoculated with different pretreated mixed culture. *Bioresource technology*. 247: 954-962.
- Zeng, T., Li, X., Guan, H., Yang, W., Liu, W., Liu, J., and Yan, Y. (2020). Dynamic microbial diversity and fermentation quality of the mixed silage of corn and soybean grown in strip intercropping system. *Bioresource Technology*. 313: 123655-12369.
- Zhang, S. J., Chaudhry, A. S., Osman, A., Shi, C. Q., Edwards, G. R., Dewhurst, R. J., and Cheng, L. (2015). Associative effects of ensiling mixtures of sweet sorghum and alfalfa on nutritive value, fermentation and methane characteristics. *Animal Feed Science and Technology*. 206: 29-38.
- Zhao, X., Liu, J., Liu, J., Yang, F., Zhu, W., Yuan, X., and Wang, X. (2017). Effect of ensiling and silage additives on biogas production and microbial community dynamics during anaerobic digestion of switch grass. *Bioresource Technology*. 241: 349-359.