بسم الله الرحمن الرحيم

دانشگاه صنعتی اصفهان

دانشکده کشاورزی

تأثیر افزودنی‌های باکتریایی، ملاس و پژمرده کردن بر کیفیت تخمیر و ارزش غذایی سیلاژیونجه

پایان نامه کارشناسی ارشد علوم دامی

فرزاد هاشم‌زاده سیگاری

اساتید راهنما

دکتر غلامرضا قربانی

دکتر محمد خوروش

۱۳۸۷

دانشگاه صنعتی اصفهان

دانشکده کشاورزی

پایان‌نامه کارشناسی ارشد رشته علوم دامی آقای فرزاد هاشم‌زاده سیگاری

تحت عنوان

تأثیر افزودنی‌های باکتریایی، ملاس و پژمرده کردن بر کیفیت تخمیر و ارزش غذایی سیلاژیونجه

در تاریخ۱۳۸۷/۸/۵ توسط کمیته تخصصی زیر مورد بررسی و تصویب نهایی قرار گرفت.

۱- استاد راهنمای پایان‌نامه	دکتر غلام‌رضا قربانی
۲- استاد راهنمای پایان‌نامه	دکتر محمد خوروش
۳- استاد مشاور پایان‌نامه	دکترنفیسه نیلی
۳- استاد مشاور پایان‌نامه	دکتر اکبر تقی‌زاده
۴- استاد داور	دکتر مسعود علیخانی
۵- استاد داور	دکتر محمد فضیلتی
سرپرست تحصیلات تکمیلی	دکتر فرشید نوربخش

تشکّر و قدردانی

حمد و سپاس خدای مهربان را که به من توفیق عطا فرمود تا در راه علم قدم بردارم و وجود خود را به زینت علم بیارایم، باشد که شاکر باشم، بیاموزم، اندیشه کنم و به کار بندم. در این رهگذار شایسته است از تمامی عزیزانی که مرا در این راه یاری نمودند تشکر و قدردانی نمایم.

در برابر پدر عزیز و مادر مهربان و فداکارم که در طول زندگی یاور و مشوقم بودند، سر تعظیم فرود می‌آورم، بر دستشان بوسه می‌زنم و از خداوند بزرگ برای ایشان طول عمر قرین با سلامتی و عزت طلب می‌نمایم. از برادر عزیزم که همواره مشوق و پشتیبان من بوده است تشکر نموده و از خداوند موفقیت، شادکامی و سرافرازی همیشگی را برایش خواستارم.

تشکر صمیمانه خود را به محضر اساتید راهنمای بزرگوارم آقایان، دکتر غلامرضا قربانی و محمد خوروش تقدیم می‌کنم که همواره با نهایت لطف و بزرگواری راهنمای من بودند. از سرکار خانم دکتر نفیسه نیلی و جناب آقای دکتر اکبر تقی‌زاده که از همفکری و رهنمودهایشان استفاده فراوان نمودم سپاسگذاری می‌نمایم. از اساتید بزرگوار آقایان دکتر مسعود علیخانی و دکتر محمد فضیلتی که زحمت داوری پایان نامه را عهده‌دار بودند کمال تشکر را دارم. از سایر اساتید گروه علوم دامی که در طول این دو سال از حضورشان بهره‌مند شدم، سپاسگذارم و امیدوارم بتوانم روزی حق شاگردی این بزرگواران را ادا نمایم.

از دوستان خوبم آقایان، دکتر صدری، دکتر محمدزاده، دکتر اسدی، دکتر علیزاده، دکتر قاسمی و خانم دکتر باقری که از معلومات خود بنده را بی نصیب نگذاشتند، سپاسگذارم.

از آقای مهندس صادقی که در مراحل مختلف این پژوهش یاریگر اینجانب بودند، سپاسگزاری نموده و موفقیت ایشان را در تمامی مراحل زندگی آرزومندم. از هم‌کلاسی‌های عزیزم آقایان، باختری، خضری، محمدعلی‌پور، یاری، قدس‌علوی، میرزایی و صیدآلی و سرکار خانم‌ها، جلیل پیران، رزاقی و بیگی که افتخار یادگیری علم و دانش را در کنار ایشان داشته‌ام بسیار سپاسگزارم.

یاد و خاطره دیگر دوستان عزیزم که ذکر نام یکایک ایشان در این مجال نمی‌گنجد را گرامی داشته و برای تمامی آن‌ها سعادت و بهروزی را آرزومندم.

فرزاد هاشم‌زاده سیگاری

تابستان ۱۳۸۷

کلّیه حقوق مترتب بر نتایج مطالعات، ابتکارات و نوآوری‌های ناشی از تحقیق موضوع این پایان‌نامه متعلّق به دانشگاه صنعتی اصفهان است.

تقدیم به دو فرشته همیشگی زندگی‌ام

پدر و مادر عزیزم

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

فهرست مطالب.....هشت
فهرست جداول.....ده
چکیده.....۱
فصل اول: مقدمه
مقدمه.....۲
فصل دوم: بررسی منابع
۲-۱- اهمیت گیاه یونجه در تغذیه دام و روش‌های نگهداری آن.....٦
۲-۲- تهیه سیلاژ.....۷
۲-۲-۱- فازهای اصلی سیلو کردن.....۷
۲-۲-۲-محصولات نهایی تخمیر.....۹
۲-۲-۳- محصولات پروتئولیز در مراحل سیلو کردن.....۱۰
۲-۲-۴- عوامل موثر بر پروتئولیز.....۱۰
۲-۲-۵-جمعیت اپی فایتیک سیلاژ.....۱۱
۲-۲-۶-محتوای کربوهیدرات‌های یونجه.....۲۱
۲-۲-۷-ظرفیت بافری در علوفه سیلو شده.....۲۲
۲-۳-تاثیر افزودنی ملاس بر سیلو کردن.....۲۳
۲-۳-۱-تاثیر افزودنی ملاس بر کیفیت تخمیر سیلاژ.....۲٤
۲-۳-۲-تاثیر افزودن ملاس بر قابلیت هضم.....۲۷
۲-٤-اثر پلاساندن بر کیفیت سیلاژ.....۲۹
۲-۴-۱-اثر پلاساندن بر کیفیت تخمیر سیلاژ.....۲۹
۲-۴-۲-اثر پلاساندن بر قابلیت هضم.....۳٦
۲-۴-۳-اثر پلاساندن بر مقدار آمین های بایوژنیک موجود در سیلاژ.....۳۷
۲-۵-اثر افزودنی میکروبی بر سیلاژ.....۳۷
۲-۵-۱-نحوه فعالیت باکتری های تولید کننده اسید لاکتیک همگن.....۳۸
۲-۵-۲-خصوصیات کلی باکتری های تولید کننده اسید لاکتیک.....۳۹
۲-۵-۳-اثرات متقابل باکتریهای تولیدکننده اسید لاکتیک.....۳۹
۲-۵-۴-عوامل موثر بر فعالیت افزودنی های میکروبی.....۳۹
۳-۵-۵-تاثیر افزودنی های باکتریایی بر خصوصیات تخمیری سیلاژ.....٤۱
۲-۵-۶-تاثیر افزودنی باکتریایی بر پروتئولیز در مرحله سیلوکردن علوفه.....۵۱
۲-۵-۷-تاثیر افزودنی باکتریایی بر قابلیت هضم.....۵۵
۲-۵-۸-تاثیر افزودنی باکتریایی بر مقدار مصرف خوراک.....٦۱
۲-۵-۹-تاثیر افزودنی باکتریایی بر تولید آمین های بایوژنیک.....٦۲

۲-۵-۱۰- تاثیر افزودنی باکتریایی بر پایداری هوازی ٦٣
۲-۵-۱۱-اثر باکتری های تولید کننده اسید لاکتیک بر جذب مایکوتوکسین ها ٦٧
فصل سوم: مواد و روش ها
۳-۱- محل و زمان انجام آزمایش ۶۸
۳-۲- تهیه سیلاژ ٦٨
۳-۳- نمونه‌گیری ٦٩
۳-٤- اندازه‌گیری آزمایشگاهی ٦٩
۳-۴-۱- آماده سازی نمونه‌ها و آنالیزهای آزمایشگاهی ٦٩
۳-۴-۲- استخراج عصارهٔ سیلاژ ۷۰
۳-۴-۳- قابلیت هضم به روش کیسه های نایلونی ۷۱
۳-۴-۴-اندازه‌گیری تولید گاز در شرایط آزمایشگاهی ۷۱
۳-۵- تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها ۷۲
فصل چهارم: نتایج وبحث
۴-۱-تاثیر فاکتور پلاساندن بر ارزش تغذیه‌ای سیلاژ یونجه ٧٤
۴-۳-اثر افزودنی باکتریایی بر ارزش تغذیه ای سیلاژ یونجه ۸۳
۴-۴-اثر متقابل ملاس در افزودنی باکتریایی بر ارزش تغذیه ای سیلاژ یونجه ۸۸
۴-۵-اثر متقابل پلاساندن در سطوح مختلف ملاس بر ارزش غذایی سیلاژ یونجه ۹۱
۴-۶-اثر متقابل پلاساندن در افزودنی باکتریایی بر ارزش تغذیه ای سیلاژ یونجه ۹۲
۴-۷-اثر متقابل ملاس، پلاساندن و افزودنی باکتریایی بر ارزش تغذیه ای سیلاژ یونجه ۹۵
۴-۸-نتایج حاصل از تولید گاز و قابلیت هضم ماده آلی ۹۸
۴-۸-۱-اثر افزودنی باکتریایی بر مقدار تولید گاز و میزان قابلیت هضم ماده آلی در محیط آزمایشگاهی ۹۸
۴-۸-۲-اثر افزودن سطوح مختلف ملاس بر مقدار تولید گاز و میزان قابلیت هضم ماده آلی ۱۰۱
۴-۸-۳-اثر متقابل افزودن سطوح مختلف ملاس در افزودنی‌های باکتریایی بر مقدار تولید گاز و میزان قابلیت هضم ماده آلی در محیط آزمایشگاهی ۱۰۳
فصل پنجم نتیجه‌گیری و پیشنهادات
۵-۱-نتیجه گیری ۱۰۸
۵-۲- پیشنهادات ۱۰۹
منابع و ماخذ ۱۱۰

فهرست جداول

عنوان **صفحه**

جدول ۲-۱- برخی از محصولات نهایی تخمیر تئوریکی قندها..... ۹
جدول ۲-۲- گونه و جنس باکتری های تولیدکننده اسید لاکتیک و محصولات تخمیری باکتری‌ها ۱۸
جدول۴-۱- اثر پلاساندن بر ارزش تغذیه‌ای و فراورده های تخمیر سیلاژ یونجه..... ۷۸
جدول۴-۲- اثر سطوح مختلف ملاس بر ارزش تغذیه ای و فراورده های تخمیر سیلاژ یونجه..... ۸۲
جدول۴-۳- اثر افزودنی های باکتریایی بر ارزش تغذیه ای و فراورده های تخمیر سیلاژ یونجه..... ۸۷
جدول۴-۴- اثر متقابل سطوح مختلف ملاس در افزودنی های باکتریایی بر فراورده های تخمیر سیلاژ ۹۰
جدول۴-۵- اثر متقابل پلاساندن در سطوح مختلف ملاس بر ارزش تغذیه ای و فراورده های تخمیر سیلاژ یونجه ۹۲
جدول۴-۶- اثر متقابل پلاساندن در افزودنی های باکتریایی بر فراورده های تخمیر سیلاژ یونجه ۹٤
جدول۴-۷- اثر متقابل پلاساندن در افزودنی های باکتریایی در ملاس بر ارزش تغذیه ای و فراورده های تخمیر سیلاژ ۹٦
جدول۴-۸- اثر افزودنی باکتریایی بر تولید گاز و قابلیت هضم ماده آلی ۱۰۰
جدول ۴-۹- اثر افزودن سطوح مختلف ملاس بر تولید گاز و قابلیت هضم ماده آلی ۱۰۳
جدول ۴-۱۰- اثرمتقابل افزودنی باکتریایی در سطوح مختلف ملاس بر تولید گاز و قابلیت هضم ماده آلی ۱۰٦

چکیده

هدف از این طرح بررسی اثر دو نوع افزودنی باکتریایی اکوسایل حاوی لاکتوباسیلوس پلانتاروم و لالسیل حاوی لاکتوباسیلوس پلانتاروم و پروپیونی باکتریوم اسیدی پروپیونیکی و سطوح صفر، ۵ و ۱۰ درصد ملاس بر ارزش غذایی و کیفیت تخمیر علوفه یونجه نپلاسیده و پلاسیده در مقیاس آزمایشگاهی می‌باشد. علوفه یونجه چین چهارم در مرحله قبل از غنچه دهی با ۲۰ درصد ماده خشک برداشت و به دو قسمت تقسیم شد، قسمت اول به طور مستقیم و قسمت دوم بعد از ٤٨ ساعت پلاسیده شدن توسط چاپر به اندازه های تئوریکی ۲/۵ سانتی متری خرد و سپس به سه قسمت مساوی تقسیم شد. به هر قسمت یکی از سطوح صفر، ۵ و ۱۰ درصد ملاس اضافه شد و هر یک از این قسمت‌ها نهایتاً به سه قسمت مساوی تقسیم شد، به بخش اول افزودنی باکتریایی لالسیل حاوی لاکتوباسیلوس پلانتاروم و پروپیونی باکتریوم و بخش دوم افزودنی اکوسایل حاوی لاکتوباسیلوس پلانتارومMTD_1 و بخش سوم به همان مقدار آب مقطر اضافه گردید. این آزمایش به شکل طرح آماری کاملا تصادفی در غالب فاکتوریل ۳×۳×۲ در سه تکرار مورد ارزیابی قرار گرفت. پلاساندن با افزایش ماده خشک و محدود نمودن تخمیر، مقدار کربوهیدرات محلول باقی‌مانده را افزایش و تولید اسیدهای آلی و پروتئولیز را کاهش داد. نسبت لاکتات به استات و قابلیت هضم تحت تاثیر پلاساندن قرار نگرفت . در نهایت علی رقم افزایش در pH، کیفیت سیلاژ در تیمارهای پلاسیده بهتر بود. افزودن ملاس باعث کاهش در pH گردید و با ایجاد شرایط اسیدی، پروتئولیز را کاهش داد ولی مقدار اسید استیک تولیدی را بیشتر نمود. با افزودن سطوح بالای ملاس به دلیل افزایش در کربوهیدرات محلول قابلیت هضم بیشتر شد. افزودنی‌های باکتریایی با ایجاد تخمیر همگن، راندمان تولید اسید لاکتیک و کربوهیدرات محلول باقیمانده را بیشتر نمودند و با کاهش سریع pH ازتولید اسید استیک وپروتئولیز جلوگیری کردند. این افزودنی‌ها قابلیت هضم به روش کیسه های نایلونی را نیز بیشتر نمودند.اثر متقابل ملاس در افزودنی باکتریایی نشان داد که افزودنی‌های باکتریایی در سطوح بالای ملاس کربوهیدرات محلول باقی‌مانده و قابلیت هضم را افزایش و تولید اسید استیک را کاهش دادند. اثر متقابل پلاساندن در ملاس نشان داد که در علوفه نپلاسیده افزودن ملاس مقدار تولید اسید لاکتیک را کاهش داد ولی در علوفه پلاسیده این حالت مشاهده نشد و در علوفه نپلاسیده هر دو سطح ملاس مقدار ازت آمونیاکی را کاهش داد ولی در سطح ماده خشک بالا فقط افزودن ۱۰ درصد ملاس توانست مقدار این ترکیب را کاهش دهد. افزودنی باکتریایی در علوفه پلاسیده پاسخ بهتری نسبت به حالت نپلاسیده ایجاد نمود و به طور موثری در علوفه پلاسیده، هر دو افزودنی pH را کاهش و پروتئولیز را کم نمودند. با توجه به نتایج به دست آمده افزودنی باکتریایی و ملاس در کنار هم، سیلاژی با کیفیت تخمیری بهتر تولید نمودند. به هر حال موثرترین فرایند برای بهبود تخمیر در این آزمایش پلاساندن به تنهایی ویا در کنار دیگر افزودنی‌ها بود که مقدار پروتئولیز را به شدت کاهش و کربوهیدرات محلول باقیمانده را افزایش داد.

فصل اول

مقدمه

در بسیاری از مناطق جهان نگهداری علوفه جهت استفاده در مدت زمانی از سال که علوفه تازه برای جیره نشخوارگنندگان در دسترس نمی باشد، ضروری است. در کشورهایی که فصل رشد محدود است علوفه خشک و سیلاژ نقش مهمی در تامین منابع غذایی نشخوارکنندگان دارد [۳۰] سیلاژ محصولی می‌باشد که از تخمیر کنترل شده علوفه با رطوبت بیش از ۵۰ درصد بدست می آید [۴۴]. سیلاژ با کیفیت خوب با حداقل کردن فعالیت آنزیم های گیاهی و میکروارگانیسم های نا مطلوب و تشویق برای فعالیت باکتری های تولیدکننده اسید لاکتیک به دست می آید. یونجه به دلیل ارزش غذایی بالا پتانسیل تولیدی بسیار زیاد و خصوصیات ممتاز دیگر بیشترین علوفه کشت شده در جهان می باشد و حتی لقب ملکه علوفه‌ها را به خود اختصاص داده است. علوفه یونجه پس از برداشت بیشتر به شکل علوفه خشک نگهداری می شود ولی تولید سیلاژ یونجه در سال‌های اخیر بیشتر توجه دامداران را به خود جلب نموده است که دلیل آن به عوامل زیر باز می گردد: ۱-کاهش از دست دادن برگ و مواد غذایی در مزرعه پس از برداشت، ۲- تاخیر کمتر در زمان انبار نمودن به دلیل آب و هوای نا مطلوب و ۳- در نهایت سیلاژ در دامداری‌های صنعتی خود را بهتر با شرایط مکانیزاسیون وفق داده است [۴۴].

خصوصیات متعددی از علوفه، مثل گونه گیاهی سیلو شده، محتوای ماده خشک، کربوهیدرات محلول در آب، ظرفیت بافری(مقاومت در برابر تغییرات pH) و در نهایت اثر متقابل این عوامل بر میکروب‌های موجود بر روی علوفه، اثر گذار بر نتیجه نهایی محصول تخمیری می باشد. یونجه به دلیل داشتن کربوهیدرات محلول پایین و ساقه تو خالی در هنگام سیلو کردن بیشتر ارزش غذایی خود را از دست می‌دهد[۲]. از حدود ۳۰ تا ۴۰ سال پیش افزودن منابع کربوهیدراتی و افزودنی باکتریایی برای بهبود کیفیت سیلاژ مورد بررسی قرار گرفته است و ملاس به عنوان یک منبع کربوهیدرات قابل تخمیر برای سیلاژ به طور وسیعی در بیشتر مناطق دنیا استفاده می شود که باعث بهبود در رشد باکتری‌های تولیدکننده اسید لاکتیک بر روی علوفه و تولید سیلاژی با کیفیت خوب میگردد [۹۰، ۱۹۳]. با توجه به اینکه افزودن ملاس تخمیر را تحریک مینماید ولی نمی تواند از پروتئولیز جلوگیری کند که دلیل آن تخمیر هترولاکتیکی و کاهش تدریجی در pH می باشد [۱۰] و بنابر این استفاده همزمان از افزودنی های میکروبی در کنار ملاس می‌تواند تخمیری بهتر و سیلاژی با ارزش غذایی بالاتر تولید نمود.

پلاساندن برای بهینه کردن مقدار ماده خشک علوفه قبل از سیلو کردن اعمال می گردد. سیلاژ با ماده خشک بسیار پایین اغلب با افزایش در تولید پساب و تخمیر کلستریدیومی در ارتباط است، در حالی که سیلاژ با ماده خشک بالا خوب فشرده نمی شود و پایداری هوازی به شدت کاهش می دهد. ماده خشک بهینه برای سیلو کردن علوفه یونجه به نوع ساختمان سیلو، شرایط محیطی و مدیریتی بستگی دارد. ایشلر و همکاران [۸۹] پیشنهاد کردند که مقدار ماده خشک مناسب یونجه در زمان سیلو کردن ۳۰تا ۳۵، ۴۰ تا ۴۵، ۴۵ تا ۶۰ درصد، به ترتیب برای سیلوهای خندقی، برجی و خالی از اکسیژن می باشد [۱۶۷]. مقدار ماده خشک در زمان سیلو کردن می تواند باعث تغییرات اساسی در پروفیل ازت و محصولات تخمیری گردد [۱۱۵]. pH بحرانی پایین که مانع از رشد کلستریدیوم‌ها میگردد به طور مستقیم با مقدار رطوبت گیاه تغییر می‌کند. بجز در گیاهان با محتوای کربوهیدرات محلول بالا،سیلو کردن مواد با رطوبت بالا باعث تحریک تخمیر کلستریدیومی شده و سیلویی با کیفیت و ارزش غذایی پایین تولید می گردد. رطوبت بالا باعث کاهش در مقدار مصرف اختیاری ماده خشک و تولید مقدار زیاد پس آب می‌شود که دارای ارزش غذایی بالایی بوده و از لحاظ آلوده کنندگی محیط زیست ۲۰۰ برابر از فاضلاب‌های انسانی آلوده کننده‌تر است[۱۲۳]. پلاساندن با ایجاد تخمیری همگن و محدودتر، نسبت لاکتات به استات را بیشتر نموده و ارزش غذایی سیلاژ را بیشتر می‌کند [۲۱۱] و حتی اگر هیچگونه افزودنی استفاده نشود پژمرده کردن می‌تواند با بهبود فرایند تخمیر سیلاژ، سیلاژی با کیفیت بهتر تولید نماید [۳۵].

افزودنی های باکتریایی، افزودنی‌های بیولوژیک رایج استفاده شده در نگهداری سیلاژ در آمریکا و اروپا می باشند. این محصولات از سویه های همگن تولیدکننده اسید لاکتیک از قبیل لاکتو باسیلوس پلانتاروم، انتروکوکوس فاسیوم و گونه پدیوکوکوس می باشد. این افزودنی ها باعث کاهش سریعتر pH، کاهش pH نهایی، نسبت بالاتر لاکتات به استات، اتانل و ازت آمونیاکی کمتر، و در نهایت بهبود ۱ تا ۲ درصدی در بازیافت مواد غذایی سیلاژ می شوند. اخیرا افزودنی های نا همگن تولید کننده اسید لاکتیک مثل لاکتو باسیلوس بوکنری[۵۵، ۵۶] و همچنین باکتری‌های تولیدکننده اسید پروپیونیک [۵۷] به طور تجاری در دسترس بوده و با تولید اسید چرب فرار بیشتر از رشد قارچ‌ها جلوگیری نموده و از سیلاژهای حساس به فساد در شرایط هوازی محافظت می نمایند [۲۰۵]. فعالیت باکتری‌های استفاده شده در سیلاژ عمدتا به محتوای رطوبت علوفه سیلو شده وابسته بوده با ماده خشک بالا محدود میگردد افزودنی باکتریایی و ملاس با تحریک تخمیر همگن می‌تواند کیفیت سیلاژ نهایی را بهبود بخشد. با توجه به اینکه ارزش غذایی لگومینه های سیلوشده به شدت تحت تاثیر وسعت پروتئولیز پروتئین‌ها در طی مراحل سیلو شدن قرار میگیرد اخیرا نیز تلاش‌های زیادی برای بهبود خصوصیات کیفیتی علوفه برای تهیه جیره های با حداکثر ارزش غذایی برای مصرف دام صورت می‌گیرد [۷۴] و دستکاری های سیلاژ یونجه برای تهیه یک سیلاژ با کیفیت خوب بسیار مهم می‌باشد.

هدف از این طرح بررسی اثر دو نوع افزودنی باکتریایی اکوسایل حاوی لاکتوباسیلوس پلانتاروم و لالسیل حاوی لاکتوباسیلوس پلانتاروم و پروپیونی باکتریوم اسیدی پروپیونیکی و سطوح صفر، ۵ و ۱۰ درصد ملاس بر ارزش غذایی و کیفیت تخمیر علوفه یونجه نپلاسیده و پلاسیده شده در مقیاس آزمایشگاهی می باشد.

فصل دوم
بررسی منابع

۲-۱- اهمیت گیاه یونجه در تغذیه دام و روش‌های نگهداری آن

یونجه و دیگر گیاهان لگومینه چند ساله محصولات علوفه ای مهمی به شمار می روند زیرا قادر به تولید مقدار زیادی علوفه با کیفیت خوب می باشند و هیچ خانواده ای از دیگر محصولات علوفه ای قادر به تامین توازن بهتری از انرژی، پروتئین و مواد معدنی برای دام‌های پر تولید نمی باشند [۴۴]. از لحاظ تاریخی لگومینه‌ها به صورت چرای طبیعی و علوفه خشک استفاده می گردد ولی در سال‌های اخیر سیلو کردن این محصولات یک وسیله رایج نگهداری شده است [۲۵] مخصوصا" زمانی که مقدار بارندگی زیاد، فرصت تولید علوفه خشک را محدود نماید. با این حال تصحیحاتی برای استراتژی تغذیه ای دام‌ها باید در نظر گرفته شود زیرا با سیلو کردن علوفه خصوصیات شیمیایی و فیزیکی آن تغییر می کند و با فهم کامل این فرآیند همه یا بیشتر محصولات کشاورزی را می توان به شکل سیلاژ در آورد بدون اینکه اثرات نا مطلوبی بر تولید دام داشته باشد [۳۰]. یونجه به طور معمول توانایی تخمیر و تبدیل شدن به یک سیلاژ پایدار را دارد به شرطی که محدودیت های این محصول به خوبی درک گردد. از مشکلات اساسی یونجه به عنوان علوفه ای برای سیلو شدن می توان به کمبود کربوهیدرات محلول در آب، ظرفیت بافری بالا [۳۰] ، ساقه توخالی و ماده خشک پایین را نام برد [۲].

۲-۲- تهیه سیلاژ

اساس نگهداری به روش سیلاژ، قرار دادن مواد گیاهی در یک محیط بی هوازی برای تولید اسیدهای آلی مخصوصا اسید لاکتیک کافی برای کاهش pH به ۴ تا ۴/۵ می باشد [۱۲۳] که باعث کاهش تنفس گیاهی و فعالیت آنزیمی و میکروبی نا مطلوب می‌گردد. سیلو کردن مواد غذایی برای دامدار وسیله ای جهت تامین مواد علوفه ای در طول سال می باشد. پیشرفت‌هایی که در سال ۱۹۹۰ صورت گرفت سیلاژ را به عنوان یک روش نگهداری علوفه برای تولیدکنندگان شیر وگوشت در آمریکای شمالی تبدیل نمود. هدف اصلی سیلو کردن نگهداری بیشتر ارزش غذایی گیاه علوفه‌ای می‌باشد و تقابل اثرات بیولوژیکی و تکنولوژیکی در طول مراحل سیلو کردن کیفیت سیلاژ را مشخص می نماید.

۲-۲-۱- فازهای اصلی سیلو کردن

فاز هوازی

این فاز در زمان برداشت آغاز میگردد و در زمان پلاساندن، پر کردن و تا مرحله تخلیه کامل هوا از داخل سیلو ادامه دارد. در این مرحله اکسیژن و pH در بالاترین حد خود بوده و آنزیم‌ها، قندهای محلول را تجزیه نموده و تولید آب و دی اکسید کربن می نماید و انرژی در قالب ماده خشک و مواد مغذی از بین می رود [۱۲۳]. پروتئازها و آمینو اسیدازها، پروتئین حقیقی را تجزیه کرده و مقدار ازت غیر پروتئینی را افزایش می دهد [۱۵۴]. حرارت تولید شده در کومه سیلودر این مرحله می تواند باعث انجام واکنش قهوه‌ای شدن یا میلارد می گردد(دمای بالاتر از ۴۲ تا ۴۵ درجه سانتی گراد)که به دنبال آن قابلیت هضم و دسترسی مواد مغذی و پروتئین ها کاهش می یابد. عوامل موثر بر فاز هوازی شامل اکسیژن (که باعث ادامه یافتن و طولانی‌تر شدن فاز هوازی می‌گردد)، دی‌اکسید کربن (که از تنفس و فعالیت پرتئازی و آمینو اسیدازی جلوگیری می نماید)، دما (که واکنش پروتئولیز را تحریک می نماید)، pH (محیط اسیدی از فعالیت آنزیم‌ها می‌کاهد) و در نهایت مقدار ماده خشک(در بخش‌های بعدی به طور کامل بحث خواهد شد) می‌باشد.

فاز تخمیری

در این مرحله اکسیژن تخلیه شده و دی‌اکسید کربن تجمع می یابد، آنزیم‌ها و ارگانیسم های هوازی ممکن است در این مرحله غیر فعال گشته و میکروب‌های غیر هوازی جایگزین میگردد. با توجه به نوع تخمیر سه گونه از باکتری‌های غیر هوازی می توانند در این مرحله غالب گردند. در یک تخمیر مطلوب باکتری‌های تولید کننده اسید لاکتیک غالب گشته و تولید اسید لاکتیک از کربوهیدرات محلول باعث

تجمع این محصول در محیط سیلو شده و به دنبال آن کاهش سریع pH به زیر ۴ تا ۴/۵ اتفاق می‌افتد [۲۱۳] و این مرحله می تواند تا یک ماه نیز ادامه یابد [۱۵۴]. در طول این مرحله دما، اکسیژن و pH در حداقل خود می باشد. در تخمیر نامطلوب که pH به طور مطلوب کاهش نمی یابد فعالیت گونه های کلستریدیوم‌ها و انترو باکترها غالب می گردد و این حالت زمانی اتفاق می‌افتد که مقدار باکتری‌های تولید کننده اسید لاکتیک و کربوهیدرات محلول در آب پایین و یا ظرفیت بافری و رطوبت بالا باشد[۱۲۳]. ارگانیسم‌های هوازی همچون مخمرها نیز توانایی تبدیل اسید لاکتیک به اسیدهای آلی دیگر را دارند و مانع از کاهش pH و در نهایت باعث غلبه کلستریدیوم‌ها می گردند [۱۲۱] و در نهایت مدیریت ضعیف نیز می تواند باعث تخمیر نامطلوب گردد.

فاز پایدار

در این مرحله تمام میکرو ارگانیسم ها اعم از باکتری‌های تولید کننده اسید لاکتیک و بسیاری از فعالیت‌های متابولیکی محیط سیلو متوقف می گردد و تا زمان باز شدن سیلو و قرار گرفتن آن در معرض هوا ادامه می‌یابد. در این مرحله فقط آنزیم های مقاوم به اسید توانایی فعالیت دارند و باعث هیدرولیز کربوهیدراتهای ساختمانی و ذخیره‌ای میگردد و اگر توقف تخمیر فعال به دلیل کمبود قندهای محلول باشد در این مرحله اسید حاصل از تخمیر قندهای حاصل از هیدرولیز کربوهیدراتها توسط باکتری‌های تولید کننده اسید لاکتیک میتوانند pH را بطور بسیار آهسته کاهش دهند [۳۰، ۴۴]، باکتری های تولید کننده اسید لاکتیک به شدت کاهش یافته و فقط مخمرهایی که به اسید مقاوم هستند می توانند زنده و به شکل غیر فعال باقی بمانند. کلستریدیوم‌ها و باسیل‌ها تبدیل به اسپور شده و این مرحله را می گذرانند. در سیلاژ با کربوهیدرات محلول کافی این مرحله می تواند تا هر زمانی ادامه یابد و از عوامل اصلی که می‌تواند کیفیت سیلاژ را در این مرحله تحت تاثیر قرار دهد نفوذ هوا بداخل سیلاژ می باشد.

فاز خوراک‌دهی[۱]

در طول دوره خوراک‌دهی اکسیژن در معرض سطح وتا عمق یک متری سیلو قرار می گیرد. حضور اکسیژن در سیلو باعث رشد کپک‌ها و مخمرها و تخمیر قندهای محلول و اسیدهای آلی گشته، دما و pH به دنبال آن افزایش می یابد و در نهایت ارزش غذایی سیلاژ کم می‌شود. که میتواند به ۳۰ تا ۵۰ گرم در کیلو گرم ماده خشک نیز برسد [۳۰، ۲۱۹].

۱-Feed out phase

۲-۲-۲-محصولات نهایی تخمیر

محصولات نهایی تخمیر نوع میکروارگانیسم هایی را که در مراحل سیلو کردن غالب بوده اند و همچنین کیفیت سیلاژ را مشخص می کند. میکرو ارگانیسم های سیلاژ، کربوهیدرات محلول در آب را به اسیدهای آلی تبدیل می‌نمایند. قندهای اصلی موجود در کربوهیدرات‌ها فروکتوز و سوکوروز می‌باشد (در بخش‌های بعدی به طور کامل بحث خواهد شد). محصول نهایی تخمیر می تواند قندهای محلول مختلف ایجاد گردد(جدول ۲-۱).

جدول ۲-۱-برخی از محصولات نهایی تخمیر تئوریکی قندها [۱۲۳]

میکروارگانیسم	سوبسترا	محصول نهایی تخمیر
باکتری های تخمیرکننده همگن اسید لاکتیک(مثل لاکتوباسیلوس پلانتاروم)	۱ گلوکز	۲ لاکتات
	۱ فروکتوز	۲ لاکتات
	۱ پنتوز (زایلوزیا آرابینوز)	۱ لاکتات +۱ استات
باکتری های تخمیرکننده ناهمگن اسید لاکتیک(مثل لاکتوباسیلوس بوکنری)	۱ گلوکز	۱ لاکتات+۱ اتانل +۱ دی‌اکسید کربن
	۱ فروکتوز	۱ لاکتات+۱ اتانل +۱ دی‌اکسید کربن
	۱ فروکتوز	۲ مانیتول+ ۱ لاکتات+۱ استات+۱ دی‌اکسید کربن
	۱ گلوکز+ ۲ فروکتوز	۲ مانیتول+ ۱ لاکتات+۱ استات+۱ دی‌اکسید کربن
	۱ پنتوز	۱ لاکتات +۱ استات
کلستریدیا های ساکارولایتیک	۱ گلوکز	۱ بوتیرات +۲ دی اکسید کربن
	۲ لاکتات	۱ بوتیرات +۲ دی اکسید کربن
مخمرها	۱ گلوکز	۲ اتانل+ ۲ دی اکسید کربن

لاکتات شاخصی از تخمیر توسط باکتری‌های تولید کننده همگن اسید لاکتیک در مراحل تخمیر می‌باشد و مخلوطی از استات، پروپیونات و لاکتات غالب بودن تخمیر ناهمگن را نشان می دهند. بوتیرات و آمونیاک بالا در سیلاژ نشان دهنده تخمیر کلستریدیومی می باشد. نیتروژن آمونیاکی نیز همچنین از فعالیت آنزیم‌های گیاهی و انترو باکترها و احیای نیتریت و نیترات ایجاد میگردد [۱۲۳، ۱۶۷].

پروتئولیز زمانی که علوفه سیلو می‌گردد ادامه یافته و در انتهای مرحله سیلوکردن ازت پروتئینی که در علوفه تازه بیش از ۸۵ درصد از ازت کل را تشکیل می دهد پس از دوره تخمیر در مراحل سیلو شدن به کمتر از ۲۵ درصد از ازت کل می‌رسد. شواهد نشان می دهند مقاومترین پروتئین ها به هیدرولیز در مراحل سیلو کردن پروتئین های متصل به غشای غیر محلول می باشند. گروم و همکاران [۷۲] نشان دادند

که پروتئین های محلول در بافر به سرعت در مراحل سیلو کردن ناپدید می‌گردد. همچنین مسمن و همکاران [۱۲۹] نشان‌دادند که پروتئین های با وزن ملکولی ۵۴ کیلو دالتون که احتمالا زنجیرهای بلند روبیسکو می باشند در طول سیلو کردن به سرعت تجزیه می گردند. ماکونی و همکاران [۱۱۷] نشان‌دادند که پروتئین های غشا کلرو پلاست در مقابل تجزیه از خود مقاومت نشان می دهند.

۲-۲-۳- محصولات پروتئولیز در مراحل سیلو کردن

محصولات نهایی پروتئولیز معمولا اسیدهای آمینه و پپتیدها می باشند. آمونیاک و آمین‌ها به نظر می‌رسد بیشتر از فعالیت میکروب‌های سیلاژ ایجاد گردند تا آنزیم‌های گیاهی [۳۰]. شکسته شدن پروتئین‌ها ابتدا به وسیله اندوپپتیداز ها شروع می شود و این امر موجب افزایش انتهای کربوکسیل آزاد فراوان شده و باعث فعالیت بهتر آنزیم‌های اگزو پپتیداز می گردد. آندو پپتیدازها با توجه به اسید آمینه ای که بر روی آن عمل لیز و شکاف پروتئینی صورت می‌گیرد طبقه بندی می شوند. ۴ نوع از این آنزیم‌ها وجود دارد ۱- سیستئین اندو پپتیدازها ،۲- اسپارتات اندو پپتیدازها ،۳-سرین اندو پپتیدازها و ۴ - متالو اندو پپتیدازها. سیستئین و اسپارتات آندو پپتیدازها بیشتر در گیاهان دیده می شوند. متالوآندوپپتیدازها عملا نادر و سرین آندو پپتیدازها در گیاهان کم می‌باشند. در یونجه نشان داده شده است که در pH بهینه سیستئین و اسپارتات آندوپپتیداز و شاید سرین آندو پپتیداز فعالیت اصلی پروتئولیز را بر عهده داشته باشند [۱۲۵].

۲-۲-۴- عوامل موثر بر پروتئولیز:

اسیدیته

هرون و همکاران [۸۰] اتو لیز[۱] پروتئین را در عصاره علوفه چاودار اندازه گیری و فعالیت بهینه را در pH بین ۵ و ۶ گزارش نمودند. این محققین همچنین عنوان کردند، فعالیت آنزیم های گیاهی در pH زیر ۴ نیز رخ می‌دهد.پس هر عاملی (مثل افزودنی های مختلف) که بتواند pH را به طور سریع کاهش دهد می‌تواند بر پروتئولیز موثر بوده و آن را کمتر نماید [۱۳۵]. فعالیت پروتئازی در شرایط اسیدی نا پایدار بوده و ۶۷ درصد از فعالیت پروتئازی در pH بین ۴ و۵ متوقف میگردد که مربوط به غیر فعال شدن آنزیم‌ها می‌باشد.

۱- Autolysis

دما

بیشتر مطالعات نشان می دهد که فعالیت پروتئاز تا ۵۰ درجه سانتی گراد بیشتر شده و بالا تر از این دما فعالیت آنزیمی به دلیل دناتوره شدن آنزیم‌ها متوقف می گردد. تیمارهای حرارتی باعث کاهش در پروتئولیز میگردد [۳۰].

رطوبت

اثر رطوبت بر پروتئولیز غیر ثابت می باشد و شواهدی وجود دارد که کاهش رطوبت می تواند پروتئولیز را به مقدار زیادی کاهش دهد. تناقض در نتایج آزمایشگاهی شاید مربوط به این عامل باشد که کاهش محتوای رطوبت، مقدار تخمیر را نیز کاهش می‌دهد و بنابراین هر اثری از کاهش فعالیت پروتئازی در رطوبت پایین ممکن است با pH بالا (که در اثر کاهش تخمیر اتفاق می افتد) جبران گردد. عوامل دیگر مثل محتوای تانن می تواند مقدار پروتئولیز را کاهش دهد هوفمن [۸۵] کاهش در پروتئولیز را را در نتیجه فنول اکسیداز در شبدر قرمز نسبت داد.

۲-۲-۵- جمعیت اپی فایتیک سیلاژ[۱]

این میکرو ارگانیسم ها به طور طبیعی بر روی خود علوفه حضور داشته و آن‌هایی که بیشترین نقش را در کیفیت سیلاژ بازی می کنند باکتری‌های تولید کننده اسید لاکتیک، انترو باکترها، کلستریدیوم‌ها، مخمر و قارچ‌ها و باکتری‌های هوازی که بر روی بیشتر گیاهان در زمان رشد به صورت غالب وجود دارند می‌باشند. تنوع باکتری‌های هوازی به گونه گیاهی، بخش‌های مختلف گیاهی ، آب و هوا و فصل، پلاسیده شدن و حتی خرد شدن بستگی دارد [۷۹]. این گروه نیاز به تنفس هوازی داشته و برای تامین انرژی مورد نیاز خود از اکسیژن ملکولی به عنوان واسط اکسید کننده استفاده می کنند. باکتری‌های هوازی در زمان رشد گیاه غالب بوده و پس از برداشت و سیلو کردن تا چندین ساعت تخمیر و تنفس را ادامه می‌دهند. از لحاظ متابولیکی فعال بوده و میتوانند بیش از ۱۰۰ نوع ترکیب آلی را مورد استفاده قرار دهند و باعث کاهش در ارزش غذایی به مقدار ۱ تا ۲ درصد در مراحل اولیه سیلو کردن گردد [۲۱۷]. با ایجاد هرچه سریعتر محیط غیر هوازی می توان از این حالت جلوگیری کرد. زمان باز شدن سیلو این میکروب‌ها دوباره شروع به فعالیت می کنند و در تخریب هوازی شرکت می نمایند [۴۴]. وولفورد و همکاران [۲۱۷] نشان‌دادند که باسیلوس ها آغاز کننده تخریب هوازی در مرحله خوراکدهی می باشند

۱-Epiphytic

ولی اخیرا نشان داده شده است که برخی از گونه های استو باکترها آغاز کننده این تخریب هستند و این باکتری‌ها در pH پایین از محصولات تخمیری مصرف می نمایند و باعث کاهش ارزش غذایی سیلاژ می‌گردند و با تولید آندوتوکسین ها یک خطر بالقوه برای دام و افرادی که با این مواد سرو کار دارند می‌باشند [۲۱۷].

انترو باکترها

این گروه خانواده بزرگی از باکتری‌ها را به خود اختصاص می دهند و گرم منفی ،بدون اسپور، بی هوازی اختیاری، معمولا متحرک و گاهی غیر متحرک به شکل میله ای هستند که کربوهیدرات محلول را مصرف می کنند. این باکتری‌ها کلی فرم ها یا باکتری‌های تولید کننده اسید استیک(که به طور اشتباه به این نام خوانده می شوند) نیز نامیده می شوند [۴۴، ۱۲۳]. در برخی مطالعات این باکتری‌ها در حین پلاسیدن به تعدادشان افزوده شده ولی در برخی دیگر از مطالعات از تعدادشان کاسته شده است که بیشتر به تعداد جمعیت اولیه قبل از پلاساندن بستگی دارد.

فرآیند خرد کردن علوفه تعداد این میکروب‌ها را افزایش می دهند تعداد این باکتری ها معمولا مساوی یا بیشتر از باکتری های تولیدکننده اسید لاکتیک می باشند [۳۰]. در شرایط بی هوازی این میکروارگانیسم‌ها به شدت نیاز به منبع کربوهیدراتی قابل تخمیر دارند. با توسعه باکتری‌های تولید کننده اسید لاکتیک و کاهش سریع pH انتروباکترها به سرعت کم می شوند ولی زمانی که کاهش pH به تاخیر بیفتد و یا از اسید فرمیک استفاده گردد این باکتری‌ها مقاومت می نمایند. انترو باکترها بیشتر تولید اسید استیک، اسید لاکتیک، دی‌اکسید کربن، هیدروژن و به مقدار اندک اتانل و ۲-۳ بوتاندیول می‌نمایند. تعداد انتروباکتر ها در روزهای اولیه سیلوکردن افزایش یافته و به تعداد حداکثر 10^{8} تا 10^{10} واحد تشکیل دهنده کلنی به ازای هر گرم در علوفه گراس و لگوم می‌رسند. در علوفه ذرت مخصوصا" زمانی که دمای محیطی در حین سیلو شدن بالا باشد افزایش کوتاه مدتی[۱] درتعداد این باکتری‌ها مشاهده می‌شود که دلیل آن اسیدی شدن سریع این محصول سیلو شده با قابلیت تخمیر بالا و کاهش سریع pH به زیر ۴/۵ می باشد که رشد انترو باکترها در زیر این pH به سرعت کاهش یافته و در نهایت متوقف می‌گردد [۳۰]. این باکتری‌ها فعالیت پروتئولیزی ضعیفی دارند ولی می توانند برخی از اسیدهای آمینه را دآمینه و یا دکربوکسیله نمایند و اکثر گونه ها توانایی احیای نیترات را دارند، در تحقیق انجام شده در ادینبرو نشان داده شد که انترو باکترها توانایی تولید مقدار زیاد آمونیاک در خلال سیلو کردن دارند و این ترکیبات

---

[۱]- Short- lived