
The use of organic acids and bacterial additives and their effect on the chemical properties and digestibility of corn silage

**Sirous Jalilian¹, Farshid Fatahnia², Mahdi Bahrami- yekdangi^{3*}, Pirouz Shakeri³,
Mohammad Shamsolahi², Ali Mostafa-Tehrani³, Marzieh Ghadami-Kohestani⁴**

¹ Graduated MSc Student, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ilam University, Ilam, Iran.

² Associate Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ilam University, Ilam, Iran.

³ (Corresponding author) Faculty Member, Animal Sciences Research Institute of Iran, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO). Karaj. Iran, Email: bahrami@asri.ir & ht.bahrami@gmail.com

⁴ Responsible for research and development of Kimiazym company

Article Info

ABSTRACT

Article type:

Research Full Paper

Article history:

Received:

Revised:

Accepted:

Background and objectives: Ensiling high-moisture forages is one of the most effective methods for preserving feed for ruminants animals. Corn forage, due to its high starch content and low buffering capacity, is considered a suitable candidate for silage production. However, excessive moisture during ensiling can promote the growth of undesirable bacteria, increase effluent production, reduce nutritional quality, and contribute to environmental pollution. The use of organic acid and bacterial additives is among the practical strategies to improve the ensiling process, minimize nutrient losses, and enhance the aerobic stability of the final product. The aim of this study was to investigate the effect of different levels of organic acids (OA; formic acid, acetic acid, propionic acid) and bacterial additive (BA; *Lacobacillus plantarum*, *Pediococcus acidilactici*) on chemical composition, pH, short-chain fatty acids (SCFA) profile, NH₃-N, dry matter (DM) and neutral detergent fiber (NDF) digestibility, effluent production and fleig point of corn silage.

Materials and Methods: Experimental silages were 1- corn silage without OA and BA (Con), 2- corn silage contained 1 L/ton fresh forage of OA with 1:6 dilution rate (OA-1), 3- corn silage contained 1 L/ton fresh forage of OA with 1:8 dilution rate (OA-2), 4- corn silage contained *Lacobacillus plantarum* and *Pediococcus acidilactici* at 100000 cfu/g fresh forage (BA-1) and 5- corn silage contained *Lacobacillus plantarum* and *Pediococcus acidilactici* at 200000 cfu/g fresh forage (BA-2). All silos were opened after 90 d ensiling and their characteristics were assessed.

Results: The Con silage had higher DM and lower crude fat (CF) and starch contents than other silages (P<0.01). Crude protein (CP), NDF and acid detergent fiber (ADF) contents of BA-1 were higher compared to other silages (P<0.01). The Con silage had lower pH and NH₃-N content than other silages (P<0.01). The highest acetate and propionate contents were observed in BA-1 and OA-1, respectively (P<0.01). The content of butyrate and lactate were

Keywords:

Corn silage

Organic acid

Bacterial additive

Chemical composition

Short-chain fatty acid

Nutrient digestibility

higher in OA-1 silage compared to other silages ($P<0.01$). Digestibility of DM was higher in OA-1 and BA-2 silages than others ($P<0.01$). The BA-2 silage had higher NDF digestibility compared to other silages ($P<0.01$). Effluent production did not influence by OA and BA ($P>0.05$). The highest fleig point was observed in Con silage ($P<0.01$).

Conclusion: In conclusion, according to these results addition of *Lacobacillus plantarum* and *Pediococcus acidilactici* at 200000 cfu/g fresh forgae compared to it at 100000 cfu/g fresh forgae and different levels of OA had better effects on quality and nutrient digestibility of corn silage.

Cite this article: Jalilian, S., Fatahnia, F., Bahrami-yekdangi, M, Shakeri, P., Shamsolahi, M., Mostafa-Tehrani, A., Ghadami-Kohestani, M. (2026). The use of organic acids and bacterial additives and their effect on the chemical properties and digestibility of corn silage. *Journal of Ruminant Research*, 14(2),



© The Author(s)



Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

افزایش
مغذی

تأثیر استفاده از اسیدهای آلی و افزودنی‌های باکتریایی و تأثیر آن بر خصوصیات شیمیایی و قابلیت هضم سیلاژ ذرت

سیروس جلیلیان^۱، فرشید فتاح‌نیا^۲ و مهدی بهرامی یکدانگی^{۳*}، پیروز شاکری^۳، محمدشمس‌اللهی^۲،
علی مصطفی‌طهرانی^۳، مرضیه قدمی کوهستانی^۴

^۱ دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران

^۲ دانشیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران

^۳ (نویسنده مسئول) عضو هیات علمی مؤسسه تحقیقات علوم دامی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرمان، ایران

رایانامه: ht.bahrani@gmail.com & bahrani@asri.ir

^۴ مسئول تحقیق و توسعه شرکت کیمبازیم

اطلاعات مقاله	چکیده
نوع مقاله:	سابقه و هدف: سیلو کردن علوفه‌های با رطوبت بالا یکی از روش‌های مؤثر نگهداری خوراک دام‌های نشخوارکننده است. علوفه ذرت به دلیل محتوای بالای نشاسته و ظرفیت بافری پایین، گزینه‌ای مناسب برای تهیه سیلو محسوب می‌شود. با این حال، رطوبت بالا در زمان سیلو کردن می‌تواند موجب رشد باکتری‌های نامطلوب، تولید پساب، کاهش کیفیت تغذیه‌ای و آلودگی محیط زیست شود. استفاده از افزودنی‌های اسیدی و باکتریایی از جمله راهکارهای مؤثر برای بهبود فرآیند سیلو کردن، کاهش اتلاف مواد مغذی و افزایش پایداری هوازی محصول نهایی است. هدف این مطالعه بررسی اثر سطوح مختلف افزودنی اسیدی (اسید استیک، فورمیک و پروپیونیک) و باکتریایی (لاکتوباسیلوس پلانناروم و پدیوکوکوس اسیدیلانتیک) بر ترکیب شیمیایی، غلظت اسیدهای چرب کوتاه زنجیر و نیتروژن آمونیاکی، تولید پساب و قابلیت هضم ماده خشک و الیاف شوینده خنثی علوفه ذرت سیلو شده بود.
تاریخ دریافت:	
تاریخ ویرایش:	
تاریخ پذیرش:	
واژه‌های کلیدی:	مواد و روش‌ها: سیلوهای آزمایشی شامل تیمار اول: سیلاژ بدون افزودنی اسیدی و باکتریایی (شاهد)، تیمار دوم: سیلاژ حاوی ۱ لیتر اسید آلی در تن علوفه تازه با رقت ۱ به ۶، تیمار سوم: سیلاژ حاوی ۱ لیتر اسید آلی در تن علوفه تازه با رقت ۱ به ۸، تیمار چهارم: سیلاژ حاوی ۱۰۰۰۰۰ cfu/g لاکتوباسیلوس پلانناروم و پدیوکوکوس اسیدیلانتیک در هر گرم علوفه تازه و تیمار پنجم: سیلاژ حاوی ۲۰۰۰۰۰ cfu/g لاکتوباسیلوس پلانناروم و پدیوکوکوس اسیدیلانتیک در هر گرم علوفه تازه بودند. در سیلوها پس از ۹۰ روز باز و ویژگی‌های آنها بررسی شد. داده‌های حاصل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۵ تیمار و سه تکرار برای هر تیمار و براساس رویه GLM نرم افزار آماری SAS و با استفاده از مدل آماری زیر تجزیه واریانس شدند.
علوفه ذرت سیلو شده	
افزودنی باکتریایی	
افزودنی اسیدی	
ترکیب شیمیایی	
اسید چرب کوتاه زنجیر	
قابلیت هضم مواد مغذی	

یافته‌ها: سیلوی شاهد در مقایسه با سیلوهای حاوی افزودنی اسیدی و باکتریایی دارای محتوی ماده خشک بیشتر و محتوی عصاره اتری و نشاسته کمتری بود ($P < 0/01$). محتوی پروتئین خام و الیاف شوینده خنثی و اسیدی در سیلوی حاوی 100000 cfu/g لاکتوباسیلوس پلانتروم و پدیدکوکوس اسیدیلکتیکی در مقایسه با سایر سیلوها بیشتر بود ($P < 0/01$). سیلوی شاهد در مقایسه با سایر سیلوها دارای pH و غلظت نیتروژن آمونیاکی پایین‌تری بود ($P < 0/01$). بیشترین غلظت استات و پروپیونات به ترتیب در سیلوی حاوی 100000 cfu/g لاکتوباسیلوس پلانتروم و پدیدکوکوس/اسیدیلکتیکی و سیلوی حاوی افزودنی اسیدی با رقت ۱ به ۸ مشاهده شد ($P < 0/01$). غلظت بوتیرات و لاکتات در سیلوی حاوی افزودنی اسیدی با رقت ۱ به ۶ در مقایسه با سایر سیلوها بیشتر بود ($P < 0/01$). قابلیت هضم ماده خشک در سیلوی حاوی افزودنی اسیدی با رقت ۱ به ۶ و سیلوی حاوی 200000 cfu/g لاکتوباسیلوس پلانتروم و پدیدکوکوس/اسیدیلکتیکی در مقایسه با سایر سیلوها بیشتر بود ($P < 0/01$). سیلوی حاوی 200000 cfu/g لاکتوباسیلوس پلانتروم و پدیدکوکوس/اسیدیلکتیکی در مقایسه با سایر سیلوها دارای قابلیت هضم الیاف شوینده خنثی بیشتری بود ($P < 0/01$). میزان تولید پساب سیلوهای آزمایشی تحت تاثیر سطوح مختلف افزودنی اسیدی و باکتریایی قرار نگرفت ($P > 0/05$). بالاترین نقطه فلیگ در سیلوی شاهد مشاهده شد ($P < 0/01$).

نتیجه‌گیری: در کل، با توجه به این نتایج افزودن 200000 cfu/g لاکتوباسیلوس پلانتروم و پدیدکوکوس/اسیدیلکتیکی در مقایسه با دوز 100000 آن و افزودنی اسیدی در سطوح مختلف تاثیر بیشتری بر کیفیت و قابلیت هضم ماده خشک و الیاف شوینده خنثی سیلاژ داشت.

استناد: جلیلیان، سیروس؛ فتاح‌نیا، فرشید؛ بهرامی یکدانگی، مهدی؛ پیروز؛ شمس‌اللهی، محمد؛ مصطفی‌طهرانی، علی؛ قدمی کوهستانی، مرضیه. (۱۴۰۵). تاثیر استفاده از اسیدهای آلی و افزودنی‌های باکتریایی و تاثیر آن بر خصوصیات شیمیایی و قابلیت هضم سیلاژ ذرت. پژوهش در نشخوارکنندگان، ۱۴(۲)،



© نویسنده‌گان

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان



مقدمه

علوفه خشک یونجه، علوفه ذرت سیلوشده، کاه دانه‌های غلات و گیاهان مرتعی از مهم‌ترین منابع علوفه‌ای برای استفاده در جیره حیوانات نشخوارکننده هستند (Yari و همکاران، ۲۰۱۲). فرآیند سیلو کردن یک روش بسیار مناسب برای نگه‌داری و ذخیره علوفه‌های با رطوبت بالا می‌باشد. در واقع، علوفه سیلو شده با تخمیر کنترل شده مواد مغذی گیاهان با رطوبت بالا در شرایط بی‌هوازی تولید می‌شود (McDonald و همکاران، ۲۰۲۲). علوفه ذرت به علت داشتن مقدار بالاتر کربوهیدرات‌های قابل تخمیر از قبیل نشاسته و ظرفیت بافری پایین (غلطت کلسیم کم) برای سیلو کردن از شرایط بهتری برخوردار است (McDonald و همکاران، ۲۰۲۲). علاوه بر این، ذرت در مقایسه با سایر گیاهان خانواده گرامینه از عملکرد بیشتری برخوردار است. از این رو، علوفه ذرت از مهم‌ترین علوفه‌ها برای تهیه سیلو در دنیا (da Silva و همکاران، ۲۰۲۲) می‌باشد. سطح رطوبت بالای علوفه برای تهیه سیلو باعث تحریک رشد باکتری‌های کلستریومیوم، افزایش تولید اسید بوتیریک و کاهش کیفیت محصول می‌شود که بر مصرف ماده خشک، عملکرد و سلامت حیوان اثر منفی دارد (McDonald و همکاران، ۲۰۲۲). علاوه بر این، رطوبت بالای علوفه در زمان سیلو کردن و پساب ناشی از آن نه تنها با اتلاف مواد مغذی کیفیت محصول نهایی را کاهش می‌دهد بلکه باعث آلودگی محیط زیستی نیز می‌شود (Barmaki و همکاران، ۲۰۱۷). از مهم‌ترین روش‌های کاهش رطوبت مواد علوفه‌ای برای سیلو کردن، بهبود کیفیت محصول نهایی، کاهش پساب، کاهش اتلاف مواد مغذی و کاهش آلودگی زیست محیطی می‌توان پزمرده کردن، استفاده از ترکیبات جاذب رطوبت و افزودنی‌های باکتریایی را نام برد (Borreani و همکاران، ۲۰۲۳؛ da Silva و همکاران، ۲۰۲۱؛

McDonald و همکاران، ۲۰۲۲؛ Yi و همکاران، ۲۰۲۳). به طور کلی، افزودنی‌های سیلو را می‌توان به ۴ دسته شامل محرک‌های تخمیر، مهارکننده‌های تخمیر، مهارکننده‌های شرایط هوازی و مواد مغذی و جاذب‌ها تقسیم کرد (Kung و همکاران، ۲۰۰۳؛ McDonald و همکاران، ۲۰۲۲؛ Muck و همکاران، ۲۰۱۸). از دیگر افزودنی‌های سیلو می‌توان باکتری‌های محرک تخمیر از قبیل باکتری‌های لاکتوباسیل مانند لاکتوباسیلوس بوجنری و لاکتوباسیلوس پلاتاروم را نام برد. این باکتری‌ها با تولید اسید لاکتیک به کاهش pH سیلو و جلوگیری از رشد باکتری‌های نامطلوب کمک می‌کنند (McDonald و همکاران، ۲۰۲۲؛ Muck و همکاران؛ da Silva و همکاران، ۲۰۲۱). علاوه بر این، این باکترسی‌ها با افزایش تولید اسید استیک و اسید پروپیونیک از رشد مخمرهای کاهش دهنده کیفیت سیلو جلوگیری می‌کنند (Yi و همکاران، ۲۰۲۳؛ Schmidt و Kung، ۲۰۱۰). از دیگر افزودنی‌های سیلو می‌توان به اسیدهای آلی از قبیل فورمیک اسید، استیک اسید و پروپیونیک اسید اشاره کرد با کاهش pH محیط سیلو و از بین بردن میکروارگانیسم‌های مضر به بهبود کیفیت و پایداری علوفه سیلو شده کمک می‌کنند (Gheller و همکاران، ۲۰۲۱؛ McDonald و همکاران، ۲۰۲۲). مواد جاذب رطوبت و افزودنی‌های باکتریایی و اسیدی با تغییر در الگوی اسیدهای چرب فرار در علوفه سیلو شده می‌توانند بر رفتار تغذیه‌ای و مصرف ماده خشک و به دنبال آن عملکرد حیوانات نشخوارکننده تأثیر داشته باشند (Bandla و همکاران، ۲۰۲۴). لذا هدف از این مطالعه بررسی تأثیر استفاده از برخی از افزودنی‌های سیلاژ (حاوی اسیدهای آلی و افزودنی‌های باکتریایی) بر اتلاف و فراسنجه‌های کمی و کیفی سیلاژ ذرت می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این مطالعه در موسسه تحقیقات علوم دامی کشور انجام شد، و علوفه تازه ذرت در مرحله شیری و خمیری بودن دانه از مزارع شهرستان کرج جمع‌آوری و به قطعات ۲ تا ۳ سانتی‌متر خرد شد. از لاکتوباسیلوس پلانتروم و پدیدوکوکوس اسیدلاکتیکی به‌عنوان افزودنی باکتریایی و از مخلوط اسیدهای استیک، فورمیک و پروپیونیک به‌عنوان افزودنی اسیدی استفاده شد. حدود ۳-۴ کیلوگرم علوفه ذرت خرد شده با افزودنی باکتریایی و اسیدی به خوبی مخلوط و در مقیاس آزمایشگاهی در لوله‌های پلی‌اتیلن با وزن ۴-۵ کیلوگرم به ابعاد ۵۰ در ۱۱ سانتی‌متری مجهز به شیر تخلیه جهت خروج پساب ریخته شدند. تیمارهای آزمایشی شامل تیمار اول: سیلاژ بدون افزودنی اسیدی و باکتریایی (شاهد) تیمار دوم: علوفه ذرت سیلو شده حاوی ۱ لیتر اسید آلی در تن علوفه تازه و رقیق شده با نسبت ۱ به ۶، تیمار سوم: علوفه ذرت سیلو شده حاوی ۱ لیتر اسید آلی در تن علوفه تازه و رقیق شده با نسبت ۱ به ۸، تیمار چهارم: علوفه ذرت سیلو شده حاوی ۱۰۰۰۰۰ cfu/g لاکتوباسیلوس پلانتروم و پدیدوکوکوس اسیدلاکتیکی در هر گرم علوفه تازه و تیمار پنجم علوفه ذرت سیلو شده حاوی ۲۰۰۰۰۰ cfu/g لاکتوباسیلوس پلانتروم و پدیدوکوکوس اسیدلاکتیکی در هر گرم علوفه تازه بودند. افزودنی اسیدی شامل اسیدهای آلی استیک، پروپیونیک و

فورمیک با نام تجاری فرش‌سید (FreshCid L.) از شرکت دانش بنیان کیمیاژیم تهیه شد. ترکیب اسیدهای آلی به ۲ نسبت ۱ به ۶ و ۱ به ۸ با آب رقیق شد و سپس از آنها به مقدار ۱ لیتر در تن علوفه تازه به ترتیب برای سیلوی آزمایشی شماره اول تا چهارم استفاده شد. پس از پر شدن و فشردن توده علوفه در سیلوها با سه تکرار در هر تیمار به خوبی بسته شد. پساب تولید شده ۹۰ روز پس از شروع تهیه سیلوها اندازه‌گیری شد و سپس ویژگی سیلوها مورد ارزیابی قرار گرفت. پیش از شروع آزمایش ترکیب شیمیایی علوفه تازه ذرت در آزمایشگاه اندازه‌گیری شد (جدول ۱). ماده خشک، خاکستر، ماده آلی، عصاره اتری و پروتئین خام آنها براساس روش‌های استاندارد (AOAC, ۲۰۰۲) اندازه‌گیری شد. ماده خشک نمونه‌ها با قرار دادن مقدار مشخصی از آنها در آون با دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت اندازه‌گیری شد. همه نمونه‌ها پس از خشک شدن به قطعات ۲ میلی‌متری آسیاب شدند. خاکستر با قرار دادن نمونه‌ها در کوره الکتریکی با دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷ ساعت اندازه‌گیری شد. الیاف شوینده خنثی و الیاف شوینده اسیدی نمونه‌ها براساس روش پیشنهادی (Van Soest و همکاران، ۱۹۹۱) و با استفاده از دستگاه فایبرتک (Zisco Co.) اندازه‌گیری شد.

جدول ۱- ترکیب شیمیایی علوفه ذرت (درصد از ماده خشک)

Table 1. Chemical composition of corn forage (% dry matter)

علوفه ذرت (Corn forage)	ترکیب شیمیایی (Chemical composition)
26.5	ماده خشک (Dry matter)
8.60	پروتئین خام (Crude protein)
46.20	الیاف شوینده خنثی (Neutral detergent fiber)
23.0	الیاف شوینده اسیدی (Acid detergent fiber)
2.0	عصاره اتری (Ether extract)
6.30	خاکستر (Ash)
7.35	قند (Sugar)
11.35	نشاسته (Starch)

پس از باز کردن در سیلوها نمونه‌هایی از سطوح بالایی، میانی و انتهایی آنها جمع‌آوری و با هم مخلوط شد. به منظور اندازه‌گیری pH، ۲۰ گرم از هر نمونه به ۱۸۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه و توسط یک مخلوط کن به طور کامل هم‌وزنیزه شد. سپس محتویات از دو لایه پارچه صافی عبور داده شد و pH محلول صاف شده بلافاصله با استفاده از دستگاه pH متر ثبت شد (Higginbotham و همکاران، ۱۹۹۸). پس از پایان آزمایش و نمونه برداری از سیلوهای آزمایشی، ماده خشک، خاکستر، ماده آلی، عصاره اتری و پروتئین خام نمونه‌های علوفه ذرت سیلو شده بر اساس روش‌های استاندارد (AOAC، ۲۰۰۲) اندازه‌گیری شد.

رابطه (۱)

$$NFC (\%) = 100 - (\% NDF + \% ash + \% CF + \% CP)$$

در این رابطه، NFC، کربوهیدرات‌های غیرالیافی، NDF، الیاف شوینده خنثی، ash، خاکستر و CP، پروتئین خام نمونه‌های علوفه سیلو شده می‌باشند. نشاسته سیلوهای آزمایشی بر اساس روش توصیه شده (Hall، ۲۰۰۹) اندازه‌گیری شد. نقطه فلیگ^۱ سیلوهای آزمایشی پس از اندازه‌گیری pH و ماده خشک آنها با استفاده از رابطه ۲ محاسبه شد (Denek و Can، ۲۰۰۶).

رابطه (۲)

$$Flieg\ point = 220 + (2 \times DM - 15) - (40 \times pH)$$

که در این رابطه (۲)، DM و pH به ترتیب ماده خشک و pH نمونه‌های علوفه ذرت سیلو شده می‌باشند.

از روش فنول هیپوکلیت برای اندازه‌گیری غلظت نیتروژن آمونیاکی استفاده شد (Kang و Broderick، ۱۹۸۰). غلظت کل اسیدهای چرب فرار و غلظت مولی پروپیونات، بوتیرات، استات، والرات و ایزوالرات با دستگاه گازکروماتوگرافی (ModelCP-

^۱ Flieg point

داده‌های حاصل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۵ تیمار و سه تکرار برای هر تیمار و براساس رویه GLM نرم افزار آماری SAS و با استفاده از مدل آماری زیر تجزیه واریانس شدند؛ در این مدل، Y_{ij} متغیر وابسته، μ میانگین کل، T_i اثر تیمار: جاذب رطوبت، افزودنی باکتریایی یا اسید آلی و e_{ij} اثر خطای آزمایشی می باشد.

$$Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij}$$

مقایسه میانگین سیلوهای آزمایشی با استفاده از آزمون توکی انجام شد و اثرات عوامل مذکور در مدل در سطح احتمال کمتر یا مساوی ۰/۰۵ معنی دار تلقی شدند و تمایل به معنی داری در سطح احتمال بیشتر از ۰/۰۵ و کمتر یا مساوی ۰/۱۰ در نظر گرفته شد.

نتایج و بحث

تأثیر تیمارهای آزمایشی بر ترکیب شیمیایی سیلوها» سیلوی شاهد در مقایسه با سیلوهای حاوی افزودنی اسیدی و باکتریایی دارای درصد ماده خشک بیشتری بود (P<۰/۰۱). با توجه به مقایسه انجام شده، تفاوتی در درصد ماده خشک سیلوهای حاوی افزودنی اسیدی در مقایسه یا سیلوهای حاوی افزودنی باکتریایی وجود نداشت (P>۰/۰۵). بیشترین درصد پروتئین خام و الیاف شوینده خنثی و اسیدی در سیلوی حاوی ۱۰۰۰۰۰ cfu/g لاکتوباسیلوس پلانترام و پدیدکوکوس اسیدیلکتیکی مشاهده شد (P<۰/۰۱).

با توجه به مقایسه‌های مستقل، سیلوی شاهد در مقایسه با سیلوهای حاوی افزودنی باکتریایی و سیلوهای حاوی افزودنی اسیدی در مقایسه با سیلوهای حاوی افزودنی باکتریایی دارای درصد پروتئین خام کمتری بودند ($P < 0/01$). همچنین، سیلوهای حاوی افزودنی باکتریایی در مقایسه با سیلوهای حاوی افزودنی اسیدی و سیلوی شاهد در مقایسه با سیلوهای حاوی افزودنی اسیدی دارای الیاف شوینده بیشتری بودند ($P < 0/01$). اگرچه، تفاوتی در درصد الیاف شوینده خنثی بین سیلوی شاهد و سیلوهای حاوی افزودنی باکتریایی وجود نداشت ($P > 0/05$). سیلوی حاوی اسیدهای آلی رقیق شده با نسبت ۱ به ۶ در مقایسه با سایر سیلوهای آزمایشی دارای درصد عصاره اتری، کربوهیدرات‌های غیرالیافی و نشاسته بیشتری بود ($P < 0/01$). با توجه به مقایسه مستقل، سیلوهای حاوی افزودنی اسیدی در مقایسه با سیلوهای حاوی افزودنی باکتریایی دارای درصد عصاره اتری، کربوهیدرات‌های غیرالیافی و نشاسته بیشتری بودند ($P < 0/01$). همان گونه که در جدول ۲ و ۳ آمده است، سیلوهای حاوی افزودنی‌های اسیدی در مقایسه با سیلوی شاهد دارای محتوای ماده خشک و خاکستر کمتر و محتوای عصاره اتری، کربوهیدرات‌های غیرالیافی و نشاسته بیشتری بودند اما تفاوتی در محتوای پروتئین خام، الیاف شوینده خنثی و الیاف شوینده اسیدی سیلوی‌های حاوی اسیدهای آلی و سیلوی شاهد مشاهده نشد.

از اسیدهای آلی از قبیل اسید فورمیک، اسید استیک و اسید پروپیونیک به‌عنوان مهارکننده و برای بهبود تخمیر در علوفه سیلو شده استفاده می‌شود. این ترکیبات با کاهش pH توده سیلو از رشد میکروارگانیسم‌های مضر جلوگیری می‌کنند. اسید فورمیک با اسیدی کردن مستقیم محیط و جلوگیری از

رشد باکتری‌های هوازی در زمان سیلو کردن شرایط را برای رشد باکتری‌های اسید لاکتیک مهیا می‌کنند (Kung و همکاران، ۲۰۰۳). البته توانایی فورمیک اسید برای مهار میکروارگانیسم‌های مضر در مقایسه با اسید استیک و اسید پروپیونیک کمتر است (McDonald و همکاران، ۲۰۲۲). در صورتی که اسید استیک و اسید پروپیونیک با مهار قوی‌تر رشد مخمرها و کپک‌ها به پایداری هوازی سیلو در زمان بازکردن و مصرف کردن کمک می‌کنند (Kung و همکاران، ۲۰۰۳). از این رو، معمولاً از مخلوط آنها به‌عنوان افزودنی اسیدی استفاده می‌شود (Kung و همکاران، ۲۰۱۸؛ McDonald و همکاران، ۲۰۲۲). با توجه به مطالب فوق انتظار بر این بود که در آزمایش حاضر ماده خشک سیلوهای حاوی افزودنی اسیدی در مقایسه با سیلوی شاهد بیشتر باشد که احتمالاً به تفاوت در جمعیت و نوع باکتری‌های آنها ارتباط داشته باشد. در آزمایش Moore و Kennedy (۱۹۹۴) افزودن اسید فورمیک به علوفه گراس به‌عنوان افزودنی اسیدی در مقایسه با سیلوی شاهد باعث افزایش محتوای ماده خشک و کاهش پروتئین خام و خاکستر سیلاژ شد اما محتوای الیاف شوینده خنثی محصول نهایی تحت تاثیر افزودنی اسیدی قرار نگرفت (Moore و Kennedy، ۱۹۹۴). در آزمایش Gheller و همکاران (۲۰۲۱) استفاده از اسیدهای فورمیک و پروپیونیک به‌عنوان افزودنی اسیدی در مقایسه با عدم استفاده از آنها باعث افزایش ماده آلی و پروتئین خام و کاهش الیاف شوینده خنثی، الیاف شوینده اسیدی و خاکستر سیلاژ شد اما درصد ماده خشک، کربوهیدرات‌های غیرالیافی و عصاره اتری سیلوهای تهیه شده تحت تاثیر افزودنی اسیدی قرار نگرفت (Gheller و همکاران، ۲۰۲۱). در آزمایش دیگر (Feng و همکاران، ۲۰۲۲) افزودن اسید مالیک و اسید سیتریک به سیلوی گیاهان لگومینه در مقایسه با عدم استفاده از آنها باعث افزایش

در توده سیلو شده برسد (Borreani و همکاران، ۲۰۱۸).

در آزمایش da Silva و همکاران (۲۰۲۱) افزودن لاکتوباسیلوس بوجنری و لاکتوباسیلوس هیلگاردی به سیلاژ باعث کاهش ماده خشک و الیاف شوینده خنثی در محصول نهایی شد اما درصد پروتئین خام، الیاف شوینده اسیدی و نشاسته محصول نهایی تحت تاثیر افزودنی‌های باکتریایی قرار نگرفت (da Silva و همکاران، ۲۰۲۱). در آزمایش دیگر توسط da Silva و همکاران (۲۰۲۴) افزودن لاکتوباسیلوس پلانناروم به سیلاژ در مقایسه با عدم استفاده از آن بر درصد ماده خشک محصول نهایی پس از ۳۰ یا ۹۰ روز سیلوکردن اثری نداشت (da Silva و همکاران، ۲۰۲۴). افزودن باکتری‌های اسید لاکتیک به سیلاژ در آزمایش دیگر (Yi و همکاران، ۲۰۲۳) با افزایش درصد ماده خشک و پروتئین خام محصول نهایی همراه بود. دلایل کسب نتایج متناقض در زمان استفاده از افزودنی‌های باکتریایی در آزمایش‌های مختلف را می‌توان به تفاوت در نوع علوفه و درصد مواد مغذی و رطوبت آن قبل از سیلو کردن، مدت زمان سیلو کردن علوفه و نوع و غلظت باکتری استفاده شده ارتباط داد (Blajman و همکاران، ۲۰۱۸). تاثیر افزودنی‌های باکتریایی بر ماده خشک علوفه سیلو شده به نوع علوفه نیز بستگی دارد. برای مثال، Oliveira و همکاران (۲۰۱۷) در یک متا آنالیز افزایش ماده خشک علوفه گراس سیلو شده، کاهش ماده خشک در سیلوی علوفه نیشکر و عدم تاثیر بر ماده خشک سیلوی علوفه ذرت و سورگوم را گزارش کردند (Oliviera و همکاران، ۲۰۱۷). بالاتر بودن درصد پروتئین خام در سیلوی حاوی افزودنی‌های باکتریایی در مقایسه با سیلوی شاهد را می‌توان به کاهش احتمالی پروتئولیز در این سیلوها ارتباط داد (Pitt و Muck، ۱۹۹۳).

درصد ماده خشک و پروتئین خام و کاهش درصد الیاف شوینده خنثی، الیاف شوینده اسیدی و خاکستر محصول نهایی شد. علاوه بر این، افزودن اسیدهای فورمیک، استیک و پروپیونیک به عنوان افزودنی اسیدی به سیلاژ باعث کاهش محتوی الیاف شوینده اسیدی محصول نهایی شد اما درصد ماده خشک، الیاف شوینده خنثی، عصاره اتری و پروتئین خام آن تحت تاثیر قرار نگرفت (Jiang و همکاران، ۲۰۲۰). دلایل کسب نتایج متناقض در زمان استفاده از افزودنی‌های اسیدی در آزمایش‌های مختلف را می‌توان به تفاوت در نوع علوفه و درصد مواد مغذی و رطوبت آن قبل از سیلو کردن، مدت زمان سیلو کردن علوفه و نوع و غلظت اسید استفاده شده ارتباط داد. اگرچه در آزمایش حاضر جمعیت و نوع باکتری‌ها در سیلوه‌های آزمایشی بررسی نشد. کمتر بودن ماده خشک سیلوه‌های حاوی افزودنی اسیدی در مقایسه با سیلوی شاهد در آزمایش حاضر می‌تواند بعلاوه شرایط تخمیری بهتر در سیلاژ ذرت اتفاق افتد و بخشی از ماده خشک که عمدتاً قندهای محلول و کربوهیدرات و فیبر سهل الهضم بوده به اسیدهای چرب فرار تبدیل گردند، که در زمان اندازه گیری ماده خشک به روش آون به عنوان رطوبت تلقی می‌شود علاوه بر این در مواردی به اتلاف ماده خشک در اثر تماس با هوا در زمان باز کردن سیلو ارتباط داشته باشد (Borreani و همکاران، ۲۰۱۸). زمانی که اکسیژن به توده سیلو نفوذ می‌کند میکروارگانیسم‌های هوازی شروع به رشد و تجزیه ترکیبات قابل حل و کمپلکس می‌کنند. مخمرها از شروع کنندگان اتلاف هوازی ماده خشک هستند و با مصرف قندها و اسیدهای آلی باعث افزایش دما و pH توده سیلو می‌شوند (Pahlow و همکاران، ۲۰۰۳). سپس باسیلی‌ها و کپک‌ها اتلاف هوازی ماده خشک را تکمیل می‌کنند. اتلاف هوازی ماده خشک ممکن است تا ۲۰ درصد کل ماده خشک

جدول ۲- اثر افزودنی اسیدی و باکتریایی بر ترکیب شیمیایی (درصد از ماده خشک) سیلوهای آزمایشی

Table 2. Effect of acidic and bacterial additives on the chemical composition (% dry matter) of experimental silos

ترکیب شیمیایی (Chemical composition)	سیلوی آزمایشی (Experimental silo) [#]				
	۱	۲	۳	۴	۵
ماده خشک (Dry matter)	25.67 ^a	24.93 ^{ab}	24.36 ^b	24.34 ^b	24.17 ^b
پروتئین خام (Crude protein)	7.63 ^b	7.58 ^b	7.77 ^{ab}	8.16 ^a	7.88 ^{bc}
الیاف شوینده خنثی (Neutral detergent fiber)	57.7 ^{ab}	56.9 ^b	56.6 ^b	58.2 ^a	57.4 ^{ab}
الیاف شوینده اسیدی (Acid detergent fiber)	28.8 ^{ab}	28.3 ^b	28.9 ^{ab}	29.5 ^a	28.5 ^b
خاکستر (Ash)	7.4	6.2	6.4	7.1	6.6
عصاره اتری (Ether extract)	2.0 ^c	2.9 ^a	2.8 ^{ab}	bc ^{۲/۳}	2.1 ^c
کربوهیدرات‌های غیرالیافی (Non-fiber carbohydrates)	24.2 ^b	26.4 ^a	26.4 ^a	b ^{۲/۴}	26.1 ^{ab}
نشاسته (Starch)	14.6 ^c	18.7 ^a	18.1 ^{ab}	b ^{۱/۲/۸}	17.4 ^{ab}

۱- سیلوی شاهد (علوفه ذرت سیلو شده بدون افزودنی)، ۲- علوفه ذرت سیلو شده حاوی اسیدهای آلی رقیق شده با نسبت ۱ به ۳، ۳- علوفه ذرت سیلو شده حاوی اسیدهای آلی رقیق شده با نسبت ۱ به ۲، ۴- علوفه ذرت سیلو شده حاوی اسیدهای آلی رقیق شده با نسبت ۱ به ۱، ۵- مقایسه سیلوی شاهد (سیلوی شماره ۱) در مقابل سیلوهای حاوی افزودنی های اسیدی و باکتریایی (سیلوهای شماره ۲ تا ۵).
 \$: ۱- مقایسه سیلوی شاهد (سیلوی شماره ۱) در مقابل سیلوهای حاوی افزودنی های اسیدی و باکتریایی (سیلوهای شماره ۲ تا ۵)، ۲- مقایسه سیلوهای حاوی افزودنی های اسیدی (سیلوهای شماره ۲ و ۳) در مقابل سیلوهای حاوی افزودنی های اسیدی و باکتریایی (سیلوهای شماره ۴ و ۵)، ۳- مقایسه سیلوی شاهد (سیلوی شماره ۱) در مقابل سیلوهای حاوی افزودنی های اسیدی و باکتریایی (سیلوهای شماره ۲ تا ۵) و ۴- مقایسه سیلوهای حاوی افزودنی های اسیدی و باکتریایی (سیلوهای شماره ۲ تا ۵) در مقابل سیلوهای حاوی افزودنی های اسیدی و باکتریایی (سیلوهای شماره ۴ و ۵).
 #: ۱- Control silage (ensilaged corn forage without additives), 2- Ensilaged corn forage containing organic acids diluted at a ratio of 1 to 8, 4- Ensilaged corn forage containing 100,000 cfu/g of Lactobacillus plantarum and Pedidiococcus acidilacticus, 5- Comparison of control silo (silo number 1) versus silos containing acidic additive (silos numbers 2 and 3), 3- Comparison of control silo (silo number 1) versus silos containing bacterial additive (silos numbers 4 and 5) and 4- Comparison of silos containing acidic additive (silos numbers 2 and 3) versus silos containing bacterial additive (silos numbers 4 and 5).

۵- مقایسه سیلوی شاهد (سیلوی شماره ۱) در مقابل سیلوهای حاوی افزودنی های اسیدی و باکتریایی (سیلوهای شماره ۲ تا ۵)، ۲- مقایسه سیلوهای حاوی افزودنی های اسیدی و باکتریایی (سیلوهای شماره ۲ تا ۵) در مقابل سیلوهای حاوی افزودنی های اسیدی و باکتریایی (سیلوهای شماره ۴ و ۵)، ۳- مقایسه سیلوی شاهد (سیلوی شماره ۱) در مقابل سیلوهای حاوی افزودنی های اسیدی و باکتریایی (سیلوهای شماره ۲ تا ۵) و ۴- مقایسه سیلوهای حاوی افزودنی های اسیدی و باکتریایی (سیلوهای شماره ۲ تا ۵) در مقابل سیلوهای حاوی افزودنی های اسیدی و باکتریایی (سیلوهای شماره ۴ و ۵).

\$: ۱- مقایسه سیلوی شاهد (سیلوی شماره ۱) در مقابل سیلوهای حاوی افزودنی های اسیدی و باکتریایی (سیلوهای شماره ۲ تا ۵)، ۲- مقایسه سیلوهای حاوی افزودنی های اسیدی و باکتریایی (سیلوهای شماره ۲ تا ۵) در مقابل سیلوهای حاوی افزودنی های اسیدی و باکتریایی (سیلوهای شماره ۴ و ۵)، ۳- مقایسه سیلوی شاهد (سیلوی شماره ۱) در مقابل سیلوهای حاوی افزودنی های اسیدی و باکتریایی (سیلوهای شماره ۲ تا ۵) و ۴- مقایسه سیلوهای حاوی افزودنی های اسیدی و باکتریایی (سیلوهای شماره ۲ تا ۵) در مقابل سیلوهای حاوی افزودنی های اسیدی و باکتریایی (سیلوهای شماره ۴ و ۵).

#: ۱- Control silage (ensilaged corn forage without additives), 2- Ensilaged corn forage containing organic acids diluted at a ratio of 1 to 8, 4- Ensilaged corn forage containing 100,000 cfu/g of Lactobacillus plantarum and Pedidiococcus acidilacticus, 5- Comparison of control silo (silo number 1) versus silos containing acidic additive (silos numbers 2 and 3), 3- Comparison of control silo (silo number 1) versus silos containing bacterial additive (silos numbers 4 and 5) and 4- Comparison of silos containing acidic additive (silos numbers 2 and 3) versus silos containing bacterial additive (silos numbers 4 and 5).

لاکتوباسیلوس پلانٹاروم و پدیدکوکوس/اسیدیلکتیکی در مقایسه با سایر سیلوهای آزمایشی دارای غلظت استات بیشتری بود ($P < 0/01$). با توجه به مقایسه‌های مستقل، سیلوی شاهد در مقایسه با سیلوهای حاوی افزودنی‌ها اسیدی و باکتریایی ($P < 0/01$)، سیلوی شاهد در مقایسه با سیلوهای حاوی افزودنی اسیدی ($P < 0/05$)، سیلوی شاهد در مقایسه با سیلوهای حاوی افزودنی باکتریایی ($P < 0/01$) و سیلوهای حاوی افزودنی اسیدی در مقایسه با سیلوهای حاوی افزودنی باکتریایی ($P < 0/01$) دارای غلظت استات کمتری بود. سیلوهای حاوی افزودنی اسیدی با رقت ۱ به ۶ و ۱ به ۸ در مقایسه با سایر سیلوهای آزمایشی دارای غلظت پروپیونات بیشتری بودند ($P < 0/01$). مقایسه‌های مستقل نیز نشان داد که سیلوی شاهد در مقایسه با سیلوهای حاوی افزودنی اسیدی و باکتریایی، سیلوی شاهد در مقایسه با سیلوهای حاوی افزودنی اسیدی و سیلوهای حاوی باکتریایی در مقایسه با سیلوهای حاوی افزودنی باکتریایی در مقایسه با سیلوهای حاوی افزودنی اسیدی دارای غلظت پروپیونات کمتری بودند ($P < 0/01$). کمترین غلظت به ترتیب در سیلوی حاوی 200000 cfu/g لاکتوباسیلوس پلانٹاروم و پدیدکوکوس/اسیدیلکتیکی و سیلوی حاوی 100000 cfu/g لاکتوباسیلوس پلانٹاروم و پدیدکوکوس/اسیدیلکتیکی دیده شد ($P < 0/01$). غلظت بوتیرات، ایزوبوتیرات و لاکتات در سیلوی حاوی افزودنی اسیدی با رقت ۱ به ۶ در مقایسه با سایر سیلوهای آزمایشی بیشتر بود ($P < 0/01$). همچنین، سیلوی شاهد در مقایسه با سیلوهای حاوی افزودنی اسیدی و سیلوهای حاوی افزودنی باکتریایی در مقایسه با سیلوهای حاوی افزودنی اسیدی دارای غلظت بوتیرات کمتری بودند ($P < 0/01$). بیشترین غلظت والرات و کمترین غلظت ایزووالرات در سیلوی حاوی 200000 cfu/g لاکتوباسیلوس پلانٹاروم و لاکتوباسیلوس

از طرفی، افزودنی‌های اسیدی شرایط را برای رشد باکتری‌های اسید لاکتیک مهیا می‌کنند (Muck و همکاران، ۲۰۱۸). باکتری‌های اسید لاکتیک به سرعت کربوهیدرات‌های قابل حل در آب را مصرف می‌کنند (McDonald و همکاران، ۲۰۲۲). Feng و همکاران (۲۰۲۲) کاهش درصد کربوهیدرات‌های قابل حل در آب در علوفه سیلوشده حاوی باکتری‌های اسید لاکتیک در مقایسه با سیلوی شاهد را گزارش کردند (Feng و همکاران، ۲۰۲۲).

تأثیر تیمارهای آزمایشی بر pH و غلظت اسیدهای چرب کوتاه زنجیر و نیتروژن آمونیاکی: در این مطالعه کمترین pH در سیلوی شاهد مشاهده شد ($P < 0/01$). با توجه به مقایسه‌های مستقل، سیلوی شاهد در مقایسه با سیلوهای حاوی اسیدهای آلی یا سیلوهای حاوی افزودنی باکتریایی و سیلوهای حاوی افزودنی اسیدی در مقایسه با سیلوهای حاوی افزودنی باکتریایی دارای pH کمتری بود ($P < 0/01$). مهمترین فاکتور موثر بر pH سیلاژ ذرت غلظت اسیدلاکتیک می‌باشد، استفاده از اسیدهای آلی و افزودنی‌های باکتریایی با توجه به اینکه شرایط پایداری را در سیلاژ زودتر فراهم می‌کند، لذا سطح فعالیت باکتریهای تولیدکننده اسیدلاکتیک و همچنین غلظت اسیدلاکتیک کاهش یافته و سطح pH افزایش می‌یابد (Blajman و همکاران، ۲۰۱۸). سایر باکتریهای تولیدکننده اسیدهای چرب به علت فعالیت در pHهای مختلف فعالیت متفاوتی داشته به طوری که بیشترین غلظت کل اسیدهای چرب فرار در سیلوی حاوی اسیدهای آلی رقیق شده با نسبت ۱ به ۶ مشاهده شد ($P < 0/01$). مقایسه مستقل مربوط به این صفت نشان داد که سیلوهای حاوی افزودنی اسیدی در مقایسه با سیلوی شاهد یا سیلوهای حاوی افزودنی باکتریایی دارای غلظت کل اسیدهای چرب فرار بیشتری بودند ($P < 0/01$). سیلوی حاوی 100000 cfu/g

(۲۰۲۰) با افزودن باکتری‌های لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و لاکتوباسیلوس پلانتراروم به سیلاژ عدم تفاوت در pH و غلظت اسید لاکتیک، اسید استیک، اسید پروپیونیک، اسید بوتیریک و نیتروژن آمونیاکی محصول نهایی پس از ۹۰ روز سیلو کردن را مشاهده کردند (Jiang و همکاران، ۲۰۲۰). همچنین، افزودن لاکتوباسیلوس بوچنری و پدیوکوکوس پنتوزازئوس به سیلاژ بر pH و غلظت اسید لاکتیک و نیتروژن آمونیاکی آن پس از ۱۲۶ روز سیلو کردن تاثیری نداشت اما غلظت اسید استیک را افزایش داد (Kung و همکاران، ۲۰۲۱). افزودن باکتری‌های اسید لاکتیک خالص یا تجاری به سیلاژ باعث کاهش pH و غلظت اسید بوتیریک و افزایش غلظت اسید استیک، اسید پروپیونیک و اسید لاکتیک در محصول نهایی شد (Gallo و همکاران، ۲۰۲۲). تفاوت در pH و غلظت اسیدهای چرب کوتاه زنجیر و نیتروژن آمونیاکی در علوفه‌های سیلو شده در آزمایش‌های مختلف در زمان استفاده از افزودنی‌های باکتریایی را می‌توان به نوع و مشخصات علوفه اولیه برای تهیه سیلو، نوع میکروارگانیسم و دوز استفاده از آن، شرایط سیلو کردن و مدت زمان سیلو کردن ارتباط داد. در آزمایش da Silva و همکاران (۲۰۲۴) افزایش غلظت اسید استیک در سیلوهای آزمایشی با افزایش پایداری هوازی محصول نهایی همراه بود. تخریب هوازی علوفه سیلو شده با اتلاف ماده خشک و مواد مغذی همراه است و تغذیه سیلوی کپک زده به حیوان سلامت و عملکرد آن را به طور منفی تحت تاثیر قرار می‌دهد (Borreani و همکاران، ۲۰۱۸).

اسیدیلاکتیک مشاهده شد ($P < 0/01$). مقایسه‌های مستقل مربوط به لاکتات نشان دهنده بالاتر بودن غلظت آن در سیلوهای حاوی افزودنی اسیدی در مقایسه با سیلوی شاهد یا در مقایسه با سیلوهای حاوی افزودنی باکتریایی بود ($P < 0/01$). سیلوی شاهد در مقایسه با سایر سیلوهای آزمایشی دارای غلظت نیتروژن آمونیاکی کمتری بود ($P < 0/01$). علاوه بر این با توجه به مقایسه‌های مستقل، سیلوهای حاوی افزودنی اسیدی در مقایسه با سیلوی شاهد ($P < 0/01$) و سیلوهای حاوی افزودنی باکتریایی در مقایسه با سیلوهای حاوی افزودنی اسیدی ($P < 0/05$) از غلظت نیتروژن آمونیاکی بالاتری برخوردار بودند. با در نظر گرفتن افزودنی‌های باکتریایی، استفاده از لاکتوباسیلوس پلانتراروم در مقایسه با عدم استفاده از آن در آزمایش da Silva و همکاران (۲۰۲۴) باعث افزایش pH سیلاژ پس از ۳۰ روز سیلو کردن شد اما غلظت اسید لاکتیک و اسید استیک آن تحت تاثیر قرار نگرفت. در صورتی که در ۹۰ روز پس از سیلو کردن pH و غلظت اسید استیک و اسید لاکتیک را تحت تاثیر قرار نداد (da Silva و همکاران، ۲۰۲۴). Yi و همکاران (۲۰۲۳) با افزودن لاکتوباسیلوس پلانتراروم به سیلاژ عدم تفاوت در pH و غلظت اسیدهای استیک، پروپیونیک و بوتیریک را مشاهده کردند. اگرچه، در آزمایش آنها افزودنی باکتریایی باعث افزایش غلظت اسید لاکتیک و کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی محصول نهایی شد (Yi و همکاران، ۲۰۲۳). در آزمایش da Silva و همکاران (۲۰۲۲) افزودن باکتری‌های لاکتوباسیلوس هیلگاردی، لاکتوباسیلوس بوچنری و پدیوکوکوس پنتوزازئوس به سیلاژ در مدت ۲۰ روز باعث کاهش pH، افزایش غلظت اسید لاکتیک و اسید استیک در محصول نهایی شد اما بر غلظت اسید پروپیونیک آن تاثیری نداشت (da Silva و همکاران، ۲۰۲۲). علاوه بر این، Jiang و همکاران

در آزمایش حاضر، در سیلوهای آزمایشی حاوی افزودنی باکتریایی به ترتیب از ۱۰۰۰۰۰ و ۲۰۰۰۰۰ cfu/g از مخلوط لاکتوباسیلوس پلانتاروم و پدیدوکوکوس اسیدی لاکتیکی استفاده شد و تعداد این باکتری‌ها در سیلوی دوم ۲ برابر سیلوی اول بود. افزایش تعداد باکتری‌های لاکتوباسیلوس پلانتاروم و پدیدوکوکوس اسیدی لاکتیکی در توده سیلو شده با کاهش غلظت استات در محصول نهایی همراه بود (جدول ۳). زیرا لاکتوباسیلوس پلانتاروم در دسته باکتری‌های هتروفرمنتیتیو اختیاری دسته‌بندی می‌شود و معمولا برای افزایش تولید اسید لاکتیک و کاهش pH به علوفه سیلو شده افزوده می‌شود. به دنبال آن رشد و تکثیر باکتری‌های مضر مانند کلستریدیوم و اتلاف مواد مغذی را کاهش می‌دهد (Muck و همکاران، ۲۰۱۸). این باکتری قندهای ۶ کربنه از قبیل گلوکز را عمدتاً به اسید لاکتیک تبدیل می‌کند. از این رو، افزودن این باکتری به علوفه‌های سیلو شده با کاهش غلظت اسید استیک، اسید بوتیریک و نیتروژن آمونیاکی و افزایش غلظت اسید لاکتیک در محصول نهایی همراه است (Kung و Muck، ۱۹۹۷). بنابراین افزایش غلظت اسید لاکتیک و کاهش بوتیرات، نیتروژن آمونیاکی و استات در سیلوی آزمایشی حاوی ۲۰۰۰۰۰ cfu/g لاکتوباسیلوس پلانتاروم و پدیدوکوکوس اسیدیلاکتیکی در مقایسه با سیلوی حاوی ۱۰۰۰۰۰ cfu/g لاکتوباسیلوس پلانتاروم و پدیدوکوکوس اسیدیلاکتیکی در آزمایش حاضر را می‌توان به بالاتر بودن تعداد لاکتوباسیلوس پلانتاروم در آن ارتباط داد.

با در نظر گرفتن افزودنی اسیدی، در این آزمایش افزودن اسیدهای فورمیک و پروپیونیک به سیلوی نخود فرنگی باعث کاهش pH محصول نهایی شد اما غلظت کل اسیدهای چرب فرار و نیتروژن آمونیاکی آن تحت تاثیر قرار نگرفت. افزودن اسید مالیک و

اسید سیتریک به سیلوی گیاهان لگومینه باعث افزایش غلظت اسید لاکتیک و کاهش pH و غلظت اسید استیک، اسید پروپیونیک و نیتروژن آمونیاکی در محصول نهایی شد (Feng و همکاران، ۲۰۲۲). Gheller و همکاران (۲۰۲۱) با افزودن اسیدهای فورمیک و پروپیونیک به سیلاژ تفاوتی در pH و غلظت نیتروژن آمونیاکی محصول نهایی مشاهده نکردند اما افزودنی اسیدی باعث کاهش غلظت اسید لاکتیک و اسید استیک و افزایش غلظت اسید پروپیونیک و اسید بوتیریک در محصول نهایی شد (Gheller و همکاران، ۲۰۲۱). در آزمایش دیگر، افزودن اسیدهای فورمیک، استیک و پروپیونیک به سیلاژ بر pH و غلظت اسید لاکتیک، اسید بوتیریک و نیتروژن آمونیاکی محصول نهایی پس از ۹۰ روز سیلو کردن تاثیری نداشت اما غلظت اسید استیک و اسید پروپیونیک را افزایش داد (Jiang و همکاران، ۲۰۲۰). Mills و Kung (۲۰۰۲) عدم تاثیر افزودن اسید پروپیونیک به‌عنوان افزودنی اسیدی بر pH و غلظت اسیدهای لاکتیک، استیک، پروپیونیک و بوتیریک سیلوی علوفه جو را مشاهده کردند (Mills و Kung، ۲۰۰۲). استفاده از افزودنی اسیدی بر پایه اسید فورمیک به سیلوی علوفه گراس با کاهش pH، کاهش تخمیر کربوهیدرات‌های قابل حل در آب، کاهش پروتئولیز و کاهش غلظت اسید استیک همراه بود (Seppala و همکاران، ۲۰۱۶).

تفاوت در نتایج به دست آمده در آزمایش‌های مختلف در زمان استفاده از اسیدهای آلی به‌عنوان افزودنی اسیدی را می‌توان به نوع و ترکیب شیمیایی علوفه اولیه (مخصوصاً میزان رطوبت و کربوهیدرات-های قابل حل در آب) برای تهیه سیلو، نوع (نسبت اسیدهای آلی در محصول نهایی) و شکل (اسید خالص یا نمک آن) اسید آلی و غلظت استفاده شده و شرایط و مدت سیلو کردن ارتباط داد (Gheller و

زیرا کاهش pH توده سیلو شده باعث کاهش فعالیت پروتئولیز باکتری‌ها می‌شود (McDonald و همکاران، ۲۰۲۲). همچنین با توجه به عدم تفاوت در غلظت نیتروژن آمونیاکی سیلوی حاوی افزودنی اسیدی با رقت ۱ به ۶ در مقایسه با سیلوی حاوی افزودنی اسیدی با رقت ۱ به ۸ می‌توان نتیجه گرفت که افزایش غلظت افزودنی اسیدی نتوانسته از پروتئولیز جلوگیری کند.

تأثیر تیمارهای آزمایشی بر قابلیت هضم مواد مغذی، میزان پساب و نقطه فلیگ: سیلاژ حاوی افزودنی اسیدی به رقت ۱ به ۶ و سیلوی حاوی 200000 cfu/g لاکتوباسیلوس پلانتارم و پدیدکوکوس / اسیدیلکتیکی در مقایسه با سایر سیلوه‌ها قابلیت هضم ماده خشک بالاتری داشتند ($P < 0.01$). قابلیت هضم الیاف شوینده خنثی در سیلوی حاوی 200000 cfu/g لاکتوباسیلوس پلانتارم و پدیدکوکوس / اسیدیلکتیکی از سایر سیلوه‌های آزمایشی بیشتر بود ($P < 0.01$). با توجه به مقایسه‌های مستقل، استفاده از افزودنی‌های اسیدی و باکتریایی در مقایسه با عدم استفاده از آنها باعث افزایش قابلیت هضم الیاف شوینده خنثی در علوفه سیلو شده شد ($P < 0.01$). میزان تولید پساب در سیلوه‌های آزمایشی تحت تأثیر سطح افزودنی‌های اسیدی و باکتریایی قرار نگرفت ($P > 0.05$). سیلوی شاهد در مقایسه با سایر سیلوه‌ها دارای نقطه فلیگ بالاتری بود ($P < 0.01$). مشابه با نتایج آزمایش حاضر، Gheller و همکاران (۲۰۲۱) عدم تأثیر اسیدهای آلی (فورمیک و پروپیونیک) بر تولید پساب سیلاژ را گزارش کردند. افزودن اسیدهای فورمیک و پروپیونیک به سیلوی نخود فرنگی بر قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی آن در شرایط آزمایشگاه تأثیری نداشت (Gheller و همکاران، ۲۰۲۱).

اسیدهای آلی با مهار میکروارگانیسم‌های مضر از قبیل مخمر و کپک به بهبود کیفیت سیلو و پایداری

همکاران، ۲۰۲۱). معمولاً از اسیدهای آلی مختلف از قبیل اسید استیک، اسید فورمیک، اسید پروپیونیک، اسید سوربیک و اسید بنزوئیک به‌عنوان افزودنی اسیدی برای تهیه سیلو استفاده می‌شود (Muck و همکاران، ۲۰۱۸). افزایش غلظت کل اسیدهای چرب فرار در سیلاژ حاوی اسیدهای آلی رقیق شده با نسبت ۱ به ۶ در مقایسه با سایر سیلوه‌های آزمایشی در آزمایش حاضر (جدول ۳) را می‌توان به‌خود افزودنی اسیدی ارتباط داد. زیرا افزودنی اسیدی در آزمایش حاضر حاوی اسیدهای آلی استیک، پروپیونیک و فورمیک بود که باعث افزایش غلظت کل اسیدهای چرب فرار در محصول نهایی شد. افزودنی‌های اسیدی مخصوصاً اسیدهای تفکیک نشده در مقایسه با نمک آنها اثر بهتری بر میکروارگانیسم‌های مضر دارند زیرا از غشاء سلول‌های باکتری عبور و باعث کاهش pH سیتوپلاسم آنها می‌شوند (Auerbach و همکاران، ۲۰۱۲؛ Muck و همکاران، ۲۰۱۸). با توجه به این که استفاده از اسیدهای آلی به‌عنوان افزودنی سیلو در بیشتر آزمایش‌های انجام شده با کاهش تجزیه پروتئین‌ها در طی فرآیند تخمیر همراه بوده است (Broderick و همکاران، ۲۰۰۷؛ Seppala و همکاران، ۲۰۱۶)، در آزمایش حاضر انتظار بر این بود که غلظت نیتروژن آمونیاکی در سیلوه‌های حاوی افزودنی اسیدی در مقایسه با سیلوی شاهد کمتر باشد. در آزمایش Broderick و همکاران (۲۰۰۷) فرآوری علوفه یونجه با اسید فورمیک باعث کاهش غلظت پروتئین قابل حل و نیتروژن آمونیاکی سیلو و افزایش مصرف ماده خشک، شیر تصحیح شده برای چربی و بازده استفاده از نیتروژن خوراک برای سنتز پروتئین شیر شد (Broderick و همکاران، ۲۰۰۷). پایین‌تر بودن غلظت نیتروژن آمونیاکی در سیلوی شاهد در مقایسه با سیلوه‌های حاوی افزودنی اسیدی و باکتریایی را می‌توان به pH پایین‌تر آن (جدول ۳) ارتباط داد.

اسید استیک در زمان استفاده از باکتری‌های اسید لاکتیک هتروفرمنتیتیو اختیاری ممکن است بر رشد بیشتر مخمرها و به دنبال آن کاهش پایداری هوازی علوفه سیلو شده اثر داشته باشد. در صورتی که لاکتوباسیلوس بوجنری که در دسته باکتری‌های اسید لاکتیک هتروفرمنتیتیو اجباری قرار دارد با افزایش تولید اسید استیک در علوفه سیلو شده باعث مهار مخمرها، کاهش تولید کپک و افزایش پایداری هوازی آن می‌شود (Muck و همکاران، ۲۰۱۸). بعضی از باکتری‌های اسید لاکتیک با ترشح فرولیک اسید استراز می‌توانند قابلیت هضم الیاف شوینده خنثی را افزایش دهند (Kang و همکاران، ۲۰۰۹).

با توجه به نتایج آزمایش‌های قبل (Reich و Kung، همکاران، ۲۰۱۰) به نظر می‌رسد که قابلیت هضم ماده خشک و الیاف شوینده خنثی در سیلوی علوفه‌های فرآوری شده با باکتری‌های اسید لاکتیک به واریته علوفه استفاده شده نیز بستگی دارد. رابطه نزدیکی بین تعداد مخمر و کپک و اتلاف ماده خشک در علوفه‌های سیلو شده گزارش شده است. به گونه‌ای که با افزایش تعداد آنها اتلاف ماده خشک نیز بیشتر می‌باشد (Borreani و Tabacco، ۲۰۱۴؛ Lima و همکاران، ۲۰۱۷). افزایش تعداد مخمر و کپک در علوفه سیلو شده با کاهش میزان مواد مغذی آن بر عملکرد تولیدی گاوهای شیرده اثر منفی داشته است (Tabacco و همکاران، ۲۰۱۱). افزایش تعداد مخمر و کپک نه تنها با کاهش کیفیت علوفه سیلو شده همراه است خوشخوراکی، مصرف ماده خشک و عملکرد تولیدی حیوان را نیز کاهش می‌دهد و بر سلامت انسان و حیوان اثر منفی دارد (Kung و همکاران، ۱۹۹۸). بعضی از این اثرات به تکثیر میکروارگانیسم‌های مضر و بالقوه بیماری‌زا (Spadaro و همکاران، ۲۰۱۸) و سنتز مایکوتوکسین‌ها ارتباط دارد.

هوازی آن کمک می‌کنند (Auerbach و همکاران، ۲۰۱۲). از گذشته‌های دور از اسیدهای آلی برای مهار مخمرها و کپک در علوفه‌های سیلو شده استفاده شده است (Kung و همکاران، ۲۰۰۳) که می‌توان به اسید استیک، اسید پروپیونیک، اسید سورییک و اسید بنزوئیک و نمک‌های آنها اشاره کرد (Muck و همکاران، ۲۰۱۸). Kung و همکاران (۲۰۰۳) مقدار مناسب اسید پروپیونیک به منظور کاهش تعداد مخمر و کپک و افزایش پایداری هوازی سیلاژ را ۲ تا ۳ کیلوگرم در تن توصیه کردند (Kung و همکاران، ۲۰۰۳). Reich و Kung (۲۰۱۰) افزایش قابلیت هضم الیاف شوینده خنثی در علوفه سیلو شده فرآوری شده با گونه‌های مختلف پدیوکوکوس را گزارش کردند. اگرچه، آنها دلیلی برای افزایش قابلیت هضم الیاف شوینده خنثی را بیان نکردند (Reich و Kung، ۲۰۱۰). نتایج آنها نشان داد که استفاده همزمان انواع گونه‌های باکتری‌ها ممکن است با کسب نتایج غیر قابل انتظاری همراه باشد. یکی از مشکلات سیلوهای حاوی باکتری‌های اسید لاکتیک هتروفرمنتیتیو اختیاری مانند لاکتوباسیلوس پلاتاروم و گونه‌های پدیوکوکوس کاهش پایداری هوازی آنها می‌باشد (Muck و همکاران، ۲۰۱۸). به نظر می‌رسد که سیلاژ در مقایسه با سیلوی علوفه‌های گراس و لگومینه از این نظر حساسیت بیشتری به تخریب هوازی دارند (Muck و Kung، ۱۹۹۷). Oliviera و همکاران (۲۰۱۷) افزایش تعداد مخمر در سیلوهای حاوی افزودنی باکتریایی در مقایسه با سیلوهای بدون افزودنی باکتریایی را گزارش کردند. مخمرها در اتلاف هوازی مواد مغذی در علوفه سیلو شده نقش دارند (Pahlow و همکاران، ۲۰۰۳). از این رو، افزایش تعداد مخمر در علوفه سیلو شده حاوی باکتری‌های اسید لاکتیک هتروفرمنتیتیو اختیاری پایداری هوازی آن را کاهش می‌دهد. کاهش غلظت

جدول ۴- اثر افزودنی اسیدی و باکتریایی بر قابلیت هضم مواد مغذی، میزان پساب و نقطه فلیگ سیلوهای آزمایشی

Table 4. Effect of acid and bacterial additives on nutrient digestibility, effluent rate and Flieg point of experimental silos

مقایسه مستقل (Orthogonal contrasts)	سیلوی آزمایشی (Experimental silo)					فراسنجه (Parameter)
	1	2	3	4	5	
4						قابلیت هضم (Digestibility) (%)
0.07	0.39	0.45	0.95	0.01	0.14	66.81 ^a
<0.01	<0.01	0.82	<0.01	<0.01	0.43	50.12 ^b
0.51	0.94	0.64	0.83	0.83	0.34	9.76
<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	1.39	85.35 ^a

#: ۱- Control silage (ensilaged corn forage without additives), 2- Ensilaged corn forage containing organic acids diluted at a ratio of 1 to 8, 4- Ensilaged corn forage containing 100,000 cfu/g of *Lactobacillus plantarum* and *Pedidiococcus acidilacticus*, 5- Ensilaged corn forage containing 200,000 cfu/g of *Lactobacillus plantarum* and *Pedidiococcus acidilacticus*.

\$: ۱- مقایسه سیلوی شاهد (سیلوی شماره ۱) در مقابل سیلوهای حاوی افزودنی های اسیدی و باکتریایی (سیلوهای شماره ۲ تا ۵)، ۲- علفه ذرت سیلو شده حاوی اسیدهای آلی رقیق شده با نسبت ۱ به ۸، ۳- علفه ذرت سیلو شده حاوی *Lactobacillus plantarum* و *Pedidiococcus acidilacticus* با ۱۰۰۰۰۰ cfu/g، ۴- مقایسه سیلوی شاهد (سیلوی شماره ۱) در مقابل سیلوهای حاوی افزودنی سیلوی شماره ۲ و ۳، ۵- مقایسه سیلوی شاهد (سیلوی شماره ۱) در مقابل سیلوهای حاوی افزودنی باکتریایی (سیلوهای شماره ۴ و ۵) و ۶- مقایسه سیلوی شاهد (سیلوی شماره ۱) در مقابل سیلوهای حاوی افزودنی های اسیدی و باکتریایی (سیلوهای شماره ۲ تا ۵).

#: 1- Control silage (ensilaged corn forage without additives), 2- Ensilaged corn forage containing organic acids diluted at a ratio of 1 to 8, 4- Ensilaged corn forage containing 100,000 cfu/g of *Lactobacillus plantarum* and *Pedidiococcus acidilacticus*, and 5- Ensilaged corn forage containing 200,000 cfu/g of *Lactobacillus plantarum* and *Pedidiococcus acidilacticus*.

#: 1- Comparison of control silo (silo number 1) versus silos containing acidic and bacterial additives (silos numbers 2 to 5), 2- Comparison of control silo (silo number 1) versus silos containing acidic additive (silos numbers 2 and 3), 3- Comparison of control silo (silo number 1) versus silos containing bacterial additive (silos numbers 4 and 5) and 4- Comparison of silos containing acidic additive (silos numbers 2 and 3) versus silos containing bacterial additive (silos numbers 4 and 5).

الیاف و شکستن ساختمان طبیعی دیواره سلولی به وسیله این میکروارگانیسم‌ها ارتباط داد (Muck و همکاران، ۲۰۱۸). بالاتر بودن نقطه فلیگ در سیلوی شاهد در مقایسه با سیلوهای حاوی افزودنی‌های اسیدی و باکتریایی در آزمایش حاضر را می‌توان به بالاتر بودن ماده خشک (جدول ۲) و پایین‌تر بودن pH (جدول ۳) آن ارتباط داد.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این تحقیق نشان داد که استفاده از اسیدهای آلی و افزودنی‌های میکروبی تأثیری بر بهبود ماده خشک سیلاژ ذرت ندارند، و حتی باعث کاهش درصد ماده خشک سیلاژ ذرت می‌شوند. علاوه بر این، سیلوی حاوی اسیدهای آلی با رقت ۱ به ۶ در مقایسه با سایر سیلوها دارای غلظت کل اسیدهای چرب فرار و لاکتات بیشتر و اسات کمتر بود. اسیدهای آلی و افزودنی‌های باکتریایی با تأثیر بر کاهش غلظت اسیدلاکتیک سبب افزایش pH در تیمارهای آزمایشی شدند و باعث تغییر در پروفایل اسیدهای چرب سیلاژ شدند. اسیدهای آلی به نسبت ۱ به ۶ (تیمار سوم) و افزودنی باکتریایی با غلظت ۲۰۰۰۰۰ (تیمار پنجم) تأثیرات معنی‌داری بر بهبود قابلیت هضم الیاف شوینده خنثی داشت. همچنین بیشترین قابلیت هضم ماده خشک در سیلوی حاوی ۲۰۰۰۰۰ cfu/g لاکتوباسیلوس پلانتروم و پدیدکوکوس اسیدیلکتیکی دیده شد.

عوامل زیادی از قبیل میزان مصرف روزانه سیلو، استفاده از افزودنی‌های سیلو و الگوی تخمیر، روش پوشاندن و نوع پلاستیک استفاده شده برای این منظور، ماده خشک علوفه در زمان سیلو کردن، اندازه قطعات، سرعت پر کردن سیلو و شدت فشرده کردن علوفه در سیلو بر اتلاف ماده خشک و مواد مغذی در علوفه سیلو شده تأثیر دارند (Borreani و همکاران، ۲۰۱۸). در کل، با در نظر گرفتن تأثیر افزودنی‌ها بر فرآیندهای تخمیری و هزینه‌های استفاده از آنها برای کاهش تعداد مخمر و کپک و افزایش پایداری هوازی علوفه‌های سیلو شده استفاده از باکتری‌های هتروفرمنتیتیو اجباری مانند لاکتوباسیلوس بوجنری در مقایسه با اسیدهای آلی مقرون به صرفه‌تر می‌باشد البته در واحدهای پرورش دام که به استفاده سریع از علوفه سیلو شده نیاز است استفاده از این نوع افزودنی‌های باکتریایی با مشکل مواجه است زیرا برای موثر بودن به حداقل ۴۵ تا ۶۰ روز زمان سیلو کردن نیاز می‌باشد.

از طرفی، استفاده از افزودنی‌های باکتریایی همیشه با کسب نتایج موفقیت آمیز همراه نیست زیرا ممکن است بین آنها و باکتری‌های موجود در علوفه تازه به صورت طبیعی رقابت وجود داشته باشد (Borreani و همکاران، ۲۰۱۸). افزایش قابلیت هضم الیاف شوینده خنثی در سیلوی حاوی ۲۰۰۰۰۰ cfu/g لاکتوباسیلوس پلانتروم و پدیدکوکوس اسیدیلکتیکی در آزمایش حاضر را می‌توان به ترشح آنزیم‌های تجزیه کننده

منابع

- AOAC. (2002). *Official methods of analysis* (17th ed.). Association of Official Analytical Chemists.
- Auerbach, H., Weiss, K., & Nadeau, E. (2012). Benefits of using silage additives. In H. Auerbach, C. Luckstadt, & F. Weissbach (Eds.), *Proceedings of the 1st International Silage Summit* (pp. 75–144). Anytime Publishing Services.
- Bandla, N., Südekum, K. H., & Gerlach, K. (2024). Review: Role of silage volatile organic compounds in influencing forage choice behavior and intake in ruminants. *Animal Feed Science and Technology*, 307:115853.

- Barmaki, S., Asadi Alamouti, A., Khadem, A. A., & Afzalzadeh, A. (2017). Effectiveness of chopped Lucerne hay as a moisture absorbent for low dry-matter maize silage: Effluent reduction, fermentation quality and intake by sheep. *Grass and Forage Science*, 73(3):406–412.
- Blajman, J. E., Páez, R. B., Vinderola, C. G., Lingua, M. S., & Signorini, M. L. (2018). A meta-analysis on the effectiveness of homofermentative and heterofermentative lactic acid bacteria for corn silage. *Journal of Applied Microbiology*, 125(6):1655–1669.
- Borreani, G., Tabacco, E., Schmidt, R. J., Holmes, B. J., & Muck, R. E. (2018). Silage review: Factors affecting dry matter and quality losses in silages. *Journal of Dairy Science*, 101(5):3952–3979.
- Broderick, G. A., Brito, A. F., & Olmos Colmenero, J. J. (2007). Effects of feeding formate-treated alfalfa silage or red clover silage on the production of lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 90(3):1378–1391.
- Broderick, G. A., & Kang, J. H. (1980). Automated simultaneous determination of ammonia and total amino acids in ruminal fluid and in vitro media. *Journal of Dairy Science*, 63(1):64–75.
- da Silva, É. B., Costa, D. M., Santos, E. M., Moyer, K., Hellings, E., & Kung, L., Jr. (2021). The effects of *Lactobacillus hilgardii* 4785 and *Lactobacillus buchneri* 40788 on the microbiome, fermentation, and aerobic stability of corn silage ensiled for various times. *Journal of Dairy Science*, 104(10):10678–10698.
- da Silva, É. B., Liu, X., Mellinger, C., Gressley, T. F., Stypinski, J. D., Moyer, N. A., & Kung, L., Jr. (2024). Effect of dry matter content on the microbial community and on the effectiveness of a microbial inoculant to improve the aerobic stability of corn silage. *Journal of Dairy Science*, 105(6):5024–5043.
- Denek, N., & Can, A. (2006). Feeding value of wet tomato pomace ensiled with wheat straw and wheat grain for Awassi sheep. *Small Ruminant Research*, 65(3):260–265.
- Feng, Q., Shi, W., Chen, S., Degen, A. A., Qi, Y., Yang, F., & Zhou, J. (2022). Addition of organic acids and *Lactobacillus acidophilus* to the leguminous forage *Chamaecrista rotundifolia* improved the quality and decreased harmful bacteria of the silage. *Animals*, 12(17):2260.
- Gheller, L. S., Ghizzi, L. G., Takiya, C. S., Grigoletto, N. T. S., Silva, T. B. P., Marques, J. A., Dias, M. S. S., Freu, G., & Renno, F. P. (2021). Different organic acid preparations on fermentation and microbiological profile, chemical composition, and aerobic stability of whole-plant corn silage. *Animal Feed Science and Technology*, 281:115083.
- Goering, H. K., & Van Soest, P. J. (1970). *Forage fiber analyses (Apparatus, reagents, procedures, and some applications)*. Agricultural Handbook No. 379. USDA Agricultural Research Service.
- Hall, M. B. (2009). Determination of starch, including maltooligosaccharides, in animal feeds: Comparison of methods and a method recommended for AOAC collaborative study. *Journal of AOAC International*, 92(1):42–49.
- Higginbotham, G. E., Mueller, S. C., Bolsen, K. K., & Depeters, E. J. (1998). Effect of inoculants containing propionic acid bacteria on fermentation and aerobic stability of corn silage. *Journal of Dairy Science*, 81(8):2185–2191.
- Jiang, F., Cheng, H., Liu, D., Wei, C., An, W., Wang, Y., Sun, H., & Song, E. (2020). Treatment of whole-plant corn silage with lactic acid bacteria and organic acid enhances quality by elevating acid content, reducing pH, and inhibiting undesirable microorganisms. *Frontiers in Microbiology*, 11:593088.
- Kang, T. W., Adesogan, A. T., Kim, S. C., & Lee, S. S. (2009). Effects of an esterase-producing inoculant on fermentation, aerobic stability, and neutral detergent fiber digestibility of corn silage. *Journal of Dairy Science*, 92(2):732–738.
- Kung, L., Shaver, R. D., Grant, R. J., & Schmidt, R. J. (2018). Silage review: Interpretation of chemical, microbial, and organoleptic components of silages. *Journal of Dairy Science*, 101(5):4020–4033.

- Kung, L., Jr., Stokes, M. R., & Lin, C. J. (2003). Silage additives. In D. R. Buxton, R. E. Muck, & J. H. Harrison (Eds.), *Silage science and technology* (pp. 305–360). American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, Soil Science Society of America.
- McDonald, P., Edwards, R. A., Greenhalgh, T. F. D., Morgan, C. A., Sinclair, L. A., & Wilkinson, R. G. (1996). *Animal nutrition* (8th ed.). Longman.
- Mills, J. A., & Kung, L., Jr. (2002). The effect of delayed ensiling and application of a propionic acid-based additive on the fermentation of barley silage. *Journal of Dairy Science*, 85(8):1969–1975.
- Moore, C. A., & Kennedy, S. J. (1994). The effect of sugar beet pulp-based silage additives on effluent production, fermentation, in-silo losses, silage intake and animal performance. *Grass and Forage Science*, 49(1):54–64.
- Muck, R. E., & Pitt, R. E. (1993). Ensiling and its effect on crop quality. In *Proceedings of the National Silage Production Conference* (p. 57). NRAES Cooperative Extension.
- Muck, R. E., Nadeau, E. M. G., McAllister, T. A., Contreras-Govea, F. E., Santos, M. C., & Kung, L., Jr. (2018). Silage review: Recent advances and future uses of silage additives. *Journal of Dairy Science*, 101(5):3980–4000.
- Muck, R. E., & Kung, L., Jr. (1997). Effects of silage additives on ensiling. In *Proceedings of Silage: Field to Feedbunk* (pp. 187–199). NRAES-99. Natural Resource, Agriculture, and Engineering Service.
- National Research Council (NRC). (2021). *Nutrient requirements of dairy cattle* (8th rev. ed.). National Academies Press.
- Ottensin, D. M., & Batler, D. A. (1971). Improved gas chromatography separation of feed acids C₂–C₅ in dilute solution. *Analytical Chemistry*, 43(7):952–955.
- Pahlow, G., Muck, R. E., Driehuis, F., Elferink, S. J. O., & Spoelstra, S. F. (2003). Microbiology of ensiling. In D. R. Buxton, R. E. Muck, & J. H. Harrison (Eds.), *Silage science and technology* (pp. 31–93). American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, Soil Science Society of America.
- Reich, L. J., & Kung, L., Jr. (2010). Effects of combining *Lactobacillus buchneri* 40788 with various lactic acid bacteria on the fermentation and aerobic stability of corn silage. *Animal Feed Science and Technology*, 159(3):105–109.
- Schmidt, R. J., Hu, W., Mills, J. A., & Kung, L., Jr. (2009). The development of lactic acid bacteria and their effects on silage fermentation. *Journal of Dairy Science*, 92(9):3950–3961.
- Seppälä, A., Heikkilä, T., Mäki, M., & Rinne, M. (2016). Effects of additives on the fermentation and aerobic stability of grass silages and total mixed rations. *Grass and Forage Science*, 71(3):458–471.
- Tabacco, E., Righi, F., Quarantelli, A., & Borreani, G. (2011). Dry matter and nutritional losses during aerobic deterioration of corn and sorghum silages as influenced by different lactic acid bacteria inocula. *Journal of Dairy Science*, 94(3):1409–1419.
- Van Soest, P. J., Robertson, J. B., & Lewis, B. A. (1991). Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, 74(10):3583–3597.
- Yari, M., Valizadeh, R., Naserian, A. A., Ghorbani, G. R., Rezvani Moghadam, P., Jonker, A., & Yu, P. (2012). Botanical traits, protein and carbohydrate fractions, ruminal degradability and energy contents of alfalfa hay harvested at three stages of maturity and in the afternoon and morning. *Animal Feed Science and Technology*, 172(3):162–170.
- Yi, Q., Yu, M., Wang, P., Du, J., Zhao, T., Jin, Y., Tang, H., & Yuan, B. (2023). Effects of moisture content and silage starter on the fermentation quality and in vitro digestibility of waxy corn processing byproduct silage. *Fermentation*, 9(12):1025.