تولیدات دامی
دوره ۲۳ ■ شماره ۳ ■ پاییز ۱۴۰۰
صفحه‌های ۳۹۴-۳۸۷
DOI: 10.22059/jap.2021.318579.623593

مقاله پژوهشی

اثر *لاکتوباسیلوس فرمنتوم* جداشده از ماست بر کیفیت تخمیر و پایداری هوازی سیلاژ ذرت با رطوبت بالا

لیلا طاهرآبادی[۱]، فرخ کفیل‌زاده[۲*]
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 مقاله: ۱۳۹۹/۱۲/۰۲ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۴۰۰/۰۳/۰۳

چکیده
مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر *لاکتوباسیلوس فرمنتوم* ۹۲۰۶۹ (*Lactobacillus fermentum*) جداسازی‌شده از ماست بر تخمیر شیمیایی، میکروبی و پایداری هوازی سیلاژ ذرت با رطوبت بالا انجام شد. به‌منظور انجام این آزمایش، *لاکتوباسیلوس فرمنتوم* پس از استانداردشدن، جهت تهیه تیمارهای آزمایشی به علوفه ذرت افزوده شد. تیمارهای آزمایشی شامل غلظت‌های صفر (شاهد، LF_0)، 1×10^6 cfu (LF_1) و 2×10^6 cfu (LF_2) به‌ازای هر گرم علوفه تازه در سه تکرار تهیه و سیلوهای آزمایشگاهی به‌مدت ۹۰ روز نگهداری شدند. نتایج آزمایش نشان داد که ترکیبات شیمیایی سیلاژها شامل ماده خشک، کربوهیدرات‌های محلول در آب، پروتئین خام و الیاف نامحلول در شوینده خنثی و شوینده اسیدی تحت تأثیر افزودن باکتری قرار نگرفت. pH سیلاژ تیمار LF_2 کم‌تر از تیمار شاهد بود ($P<0/05$). غلظت اسید لاکتیک در سیلاژهای LF_1 و LF_2 بالاتر از تیمار شاهد بود ($P<0/05$). غلظت اسید استیک و جمعیت کپک سیلاژ LF_2 به‌ترتیب بیش‌تر و کم‌تر از سیلاژهای دیگر بود ($P<0/05$). جمعیت باکتری‌های اسید لاکتیک و مخمر سیلاژها تحت تأثیر افزودن باکتری قرار نگرفت. پایداری هوازی سیلاژ LF_0 و LF_1 در مقایسه با سیلاژ LF_2 کاهش یافت ($P<0/05$). در مرحله هوازی، مقدار pH سیلاژ LF_2 کم‌تر از دیگر سیلاژها بود ($P<0/05$)، اما در جمعیت مخمر سیلاژها در این مرحله اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. نتایج این مطالعه نشان داد که *لاکتوباسیلوس فرمنتوم* ۹۲۰۶۹ قابلیت استفاده به‌عنوان تلقیح کننده سیلاژ را دارد.

کلیدواژه‌ها: پایداری هوازی، تخمیر، جمعیت میکروبی، سیلاژ ذرت، *لاکتوباسیلوس فرمنتوم*.

Effect of *Lactobacillus fermentum* isolated from yogurt on fermentation quality and aerobic stability of high moisture corn silage

Leila Taherabadi[1], Farokh Kafilzadeh[2*]
1. Ph.D. Candidate, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Razi University, Kermanshah, Iran.
2. Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Razi University, Kermanshah, Iran.
Received: February 20, 2021 Accepted: May 24, 2021

Abstract
The aim of this study was to investigate the effect of *Lactobacillus fermentum* 92069 (LF) isolated from yogurt on chemical and microbial fermentation and aerobic stability of high moisture corn silage. After propagation and concentration determination LF was used to prepare experimental treatments with concentrations of zero (control, LF_0), 1×10^6 cfu/g fresh forage (LF_1) and 2×10^6 cfu/g fresh forage (LF_2). Three replicates of each treatment were stored in laboratory silos for 90 days. The results showed that the chemical composition of silages (DM, NDF, ADF, CP, WSC) was not affected by addition of LF. LF_2 had a significant lower pH compared to the control ($P<0.05$). LF_1 and LF_2 silages showed a higher concentration of lactic acid ($P<0.05$). Concentration of acetic acid increased and mold population decreased in LF_2 compared to the other silages ($P<0.05$). There was no significant difference between population of lactic acid bacteria and yeast in silages. The aerobic stability of LF_0 and LF_1 silages decreased significantly compared to LF_2 ($P<0.05$). During the aerobic stage after opening the silos, LF_2 silage had the lowest pH ($P<0.05$). However, yeast population of silages during the aerobic stage was not affected by treatment. The results of this study showed that *Lactobacillus fermentum* 92069 has the potential to be used as a silage inoculant.

Keywords*:* Aerobic stability, Corn silage, Fermentation, *Lactobacillus fermentum,* Microbial population.

* نویسنده مسئول
Email: Kafilzadeh@razi.ac.ir

مقدمه

یکی از روش‌های حفظ علوفه‌های مرطوب در شرایط بی‌هوازی، سیلوکردن می‌باشد. اساس این روش بر فعالیت باکتری‌های اسید لاکتیک استوار است. این باکتری‌ها در شرایط بی‌هوازی کربوهیدرات‌های محلول در آب را به اسیدهای آلی (به‌طور عمده اسید لاکتیک) تبدیل می‌کنند و با کاهش pH، علوفه دارای رطوبت را از تخمیر نامناسب توسط میکروارگانیسم‌ها محافظت می‌کنند [۹]. پس از بازکردن سیلو و قرارگرفتن سیلاژ در معرض هوا، فعالیت میکروارگانیسم‌هایی از قبیل مخمر و کپک افزایش می‌یابد. فعالیت این میکروارگانیسم‌ها باعث اتلاف کربوهیدرات‌های محلول و محصولات نهایی تخمیر از مرحله بی‌هوازی شده که منجر به کاهش کیفیت و قابلیت هضم سیلاژ خواهد شد [۱۵]. استفاده از افزودنی‌های میکروبی هم برای تخمیر مناسب سیلاژ در مرحله بی‌هوازی و هم برای افزایش پایداری هوازی سیلاژ پس از بازکردن سیلو می‌تواند مؤثر باشد.

از جمله افزودنی‌های میکروبی، باکتری‌های اسید لاکتیک تخمیرکننده همگن (Homofermentative LAB) می‌باشند که هنگام استفاده در سیلاژ با تبدیل کربوهیدرات‌های محلول به اسیدهای آلی کوتاه زنجیر، باعث کاهش سریع pH و جلوگیری از رشد و تکثیر میکروارگانیسم‌های نامطلوب می‌شود [٤]. استفاده از باکتری‌های اسیدلاکتیک تخمیرکننده همگن سبب کاهش اتلاف ماده خشک سیلاژ، بهبود قابلیت هضم و مصرف دام شده است [۲۰ و ٤]. اما در مرحله تخمیر بی‌هوازی این باکتری‌ها غالباً قادر به تولید اسید چرب فرّار کافی جهت ممانعت از رشد مخمرها و کپک‌ها نیستند. بنابراین، نمی‌توانند سبب افزایش پایداری هوازی شوند [۱۵]. به‌منظور غلبه بر این مشکل باکتری‌های اسیدلاکتیک تخمیرکننده ناهمگن (Hetrofermentative LAB) استفاده شده است. مطالعات انجام‌شده اثر مثبت استفاده از این باکتری‌ها را بر سیلاژهایی با ماده خشک متفاوت گزارش کرده‌اند [۹، ۱۳ و ۱۹]. برای مثال استفاده از باکتری‌های اسید لاکتیک تخمیرکننده ناهمگن، هم در سیلاژ ذرت با ماده خشک ۳۱/۵ درصد [۱۹] و هم در سیلاژ ذرت با ماده خشک ۲۱/٤ درصد، باعث افزایش پایداری هوازی سیلاژ شدند [۹]. باکتری‌های اسید لاکتیک تخمیرکننده ناهمگن می‌توانند از طریق افزایش غلظت اسیدهای چرب فرّار در طول تخمیر بی‌هوازی، از رشد مخمرها و قارچ‌ها پس از قرارگرفتن در معرض هوا جلوگیری کرده و باعث افزایش پایداری هوازی سیلاژ شوند [۱۹].

لاکتوباسیلوس فرمنتوم (*Lactobacillus fermentum*) با توانایی تولید اسید لاکتیک و کاهش pH به‌عنوان باکتری اسیدلاکتیک تخمیرکننده ناهمگن در سیلاژ مورد استفاده قرار می‌گیرد [۱، ۱۱ و ۱۳]. استفاده از این باکتری در سیلاژ یونجه و ذرت باعث افزایش پایداری هوازی شد [۱۱ و ۱۷]. افزایش پایداری هوازی به‌وسیله این باکتری از طریق تبدیل اسیدلاکتیک به اسیداستیک تحت شرایط بی‌هوازی صورت می‌گیرد [۱۷]. با این‌حال اطلاعات موجود در خصوص اثرات *لاکتوباسیلوس فرمنتوم* در مقایسه با سایر گونه‌های *لاکتوباسیلوس* بر کیفیت تخمیر سیلاژ کم‌تر است [۱۱].

بنابراین، با توجه به عدم وجود هرگونه اطلاعاتی در مورد استفاده از این سویه *لاکتوباسیلوس فرمنتوم* (سویه ۹۲۰۶۹) به‌عنوان یک افزودنی باکتریایی در سیلاژ و با توجه به نتایج مثبت ناشی از استفاده از آن به‌عنوان یک پروبیوتیک خوراکی در تغذیه بره‌های شیرخوار و بره‌های پرواری [۱۰ و ۱٤] و هم‌چنین، به‌دلیل امکان استفاده از پروبیوتیک ها به‌عنوان افزودنی در سیلاژ [۲] این مطالعه با هدف بررسی اثر این سویه از *لاکتوباسیلوس فرمنتوم* جدا شده از ماست بر کیفیت تخمیر و پایداری هوازی سیلاژ ذرت با رطوبت بالا انجام شد.

مواد و روش‌ها

جهت انجام این آزمایش، علوفه ذرت در مرحله شیری با ماده خشک ۲۳/٤۷ درصد از مزارع پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه رازی برداشت و در ابعادی به طول دو سانتی‌متر خرد شد. علوفه خرد شده با سه تکرار جهت تهیه تیمارهای ۱- تلقیح‌نشده (کنترل، LF_0)؛ ۲- تلقیح‌شده با 1×10^{6} cfu *لاکتوباسیلوس فرمنتوم* ۹۲۰٦۹ به‌ازای هر گرم علوفه تازه (LF_1) و ۳- تلقیح‌شده با 2×10^{6} cfu *لاکتوباسیلوس فرمنتوم* ۹۲۰٦۹ به‌ازای هر گرم علوفه تازه (LF_2) استفاده شد. غلظت‌های مورداستفاده باکتری *لاکتوباسیلوس فرمنتوم* در این آزمایش، با استفاده از روش تکثیر در محیط MRS مایع (مرک، آلمان) و کدورت‌سنجی و اندازه‌گیری جذب نمونه‌ها با دستگاه اسپکروفتومتر (مدلCECIL, CE 3041، انگلستان) تهیه شد [۷]. سیلاژها در سیلوهای آزمایشگاهی با ابعاد ۱۸ سانتی‌متر قطر و ۳۵ سانتی‌متر ارتفاع تهیه شدند. سطح سیلوها بعد از پرشدن و در حین بستن درب با دی‌اکسیدکربن گازدهی و بعد از غیرقابل نفوذشدن نسبت به هوا تا زمان موردنظر در دمای اتاق نگهداری شدند.

بعد از بازکردن سیلوهای آزمایشگاهی در روز ۹۰، ماده خشک سیلاژ هریک از نمونه‌ها در آون دارای جریان هوا در دمای ٦۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ٤۸ ساعت تعیین شد. سپس نمونه‌ها جهت اندازه‌گیری ترکیبات شیمیایی با آسیاب دارای الک یک میلی‌متری آسیاب شد و اندازه‌گیری الیاف نامحلول در شوینده خنثی و اسیدی [۲٤]، کربوهیدرات‌های محلول در آب [۸] و پروتئین خام نمونه‌ها [۳] انجام شد. جهت تعیین pH بعد از عصاره‌گیری نمونه‌ها [۲] بلافاصله pH قرائت و عصاره موردنظر جهت اندازه‌گیری نیتروژن آمونیاکی [۱٦] و اسیدلاکتیک [۵] با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل CECIL, CE 3041، انگلستان) و اسید استیک [۲۲] با استفاده از دستگاه کروماتوگراف گازی (مدل GC-804، آلمان) استفاده شد.

برای شمارش جمعیت باکتری‌های لاکتیک اسید، مخمر و کپک سری رقت 10^{-1} تا 10^{-10} تهیه شد. به‌منظور کشت باکتری‌های لاکتیک اسید رقت‌های موردنظر به‌صورت پورپلیت در محیط کشت MRS آگار (مرک، آلمان) کشت و سپس در شرایط بی‌هوازی در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۷۲ ساعت انکوبه شد. نتایج بین ۳۰ تا ۳۰۰ کلنی شمارش و با تعدا کلنی در هر گرم علوفه تازه گزارش شد [٦]. مخمر و کپک در محیط PDA (مرک، آلمان) کشت و سپس در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید. جمعیت مخمر و قارچ به‌ترتیب یک و پنج روز بعد از انکوباسیون شمارش و با تعداد کلنی در هر گرم علوفه تازه گزارش شد [۱۸].

به‌منظور تعیین پایداری هوازی بعد از بازکردن سیلوها مقدار ٦۰۰ گرم سیلاژ از هر تکرار در سطل‌های پلاستیکی قرار داده و درب آن‌ها با پارچه پنیر دولایه پوشانده شد. دمای سیلاژ با استفاده از دماسنج به فاصله پنج ساعت یک‌بار خوانده و ثبت شد و ساعات قبل از رسیدن دمای سیلاژ به دو درجه سانتی‌گراد بالاتر از دمای محیط به‌عنوان پایداری هوازی در نظر گرفته شد [۱۹]. در چهار مرحله (ساعت‌های صفر، ۸۰، ۱٦۰ و پایان مرحله هوازی) بعد از قرارگرفتن سیلاژها در معرض هوا، pH و جمعیت مخمر و کپک اندازه‌گیری شد.

داده های مربوط به ترکیبات شیمیایی، محصولات تخمیر و جمعیت میکروبی سیلاژها بعد از بازگشایی سیلو و پایداری هوازی سیلاژها با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS (نسخه ۹/٤) رویه خطی GLM با مدل (۱) و جمعیت میکروب‌ها و pH سیلاژها در طول پایداری هوازی با استفاده از رویه MIXED و به‌صورت

اندازه‌گیری‌های تکرارشونده با مدل (۲) تجزیه و مقایسه میانگین‌ها به‌کمک آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۰/۰۵ انجام شد.

مدل ۱) $Y_{ij}=\mu+T_i+ e_{ij}$

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

در این مدل‌ها، Y_{ij}، مشاهده به‌دست‌آمده مربوط به صفت (متغیر وابسته)؛ μ، میانگین کل؛ T_i، اثر i امین تیمار؛ e_{ij}، اثر خطای آزمایشی؛ W_j، اثر زمان؛ $T_i \times W_j$، اثر برهم‌کنش تیمار در زمان می‌باشد.

نتایج و بحث

ترکیبات شیمیایی و میکروبی علوفه ذرت قبل از سیلوکردن در جدول (۱) گزارش شده است. بعد از بازکردن سیلوها، تفاوتی در میزان ماده خشک، درصد الیاف نامحلول در شوینده خنثی، درصد فیبر نامحلول در شوینده اسیدی و هم‌چنین، درصد پروتئین خام بین سیلاژها مشاهده نشد (جدول ۲). غلظت کربوهیدرات‌های محلول در آب در همه سیلاژها در طی تخمیر کاهش یافت. غلظت کربوهیدرات محلول در سیلاژهای تلقیح‌شده با *لاکتوباسیلوس فرمنتوم* به‌طور غیر معنی‌داری کاهش یافت.

جدول ۱. ترکیبات شیمیایی و جمعیت میکروبی علوفه ذرت قبل از سیلوکردن

ترکیبات شیمیایی	میانگین± خطای معیار
ماده خشک (درصد)	۲۳/۱±٤۷/۳۲
الیاف نامحلول در شوینده خنثی (درصد ماده خشک)	۵۱/۱۰±۱/۲٦
الیاف نامحلول در شوینده اسیدی (درصد ماده خشک)	۲۳/۹٦±۱/٤۱
پروتئین خام (درصد ماده خشک)	۷/۱۲±۰/۸۷
کربوهیدرات محلول در آب (درصد ماده خشک)	۷/۰٤±۰/۵٤
جمعیت میکروبی[1]	
باکتری‌های اسید لاکتیک	۳/۱۵±۰/۳۹
مخمر	٤/۷۱±۰/۲٤
کپک	۳/۹۰±۰/۱۸

۱. جمعیت باکتری‌های اسید لاکتیک، مخمر و کپک بر حسب $\log_{10}$ واحد کلنی فرمینگ به‌ازای هر گرم علوفه تازه گزارش شد.

جدول ۲. ترکیبات شیمیایی سیلاژ ذرت تلقیح‌شده با سطوح مختلف *لاکتوباسیلوس فرمنتوم* ۹۲۰٦۹

ترکیب شیمیایی	تیمار[1]			SEM	P-value
	LF_0	LF_1	LF_2		
ماده خشک (درصد)	۲۳/۵۵	۲٤/۱٦	۲٤/٤٤	۰/۲٦	۰/۱۲
الیاف نامحلول در شوینده خنثی (درصد ماده خشک)	٤۹/۳۱	٤٦/۱٤	٤۹/۷٦	۰/۸۷	۰/۱۳
الیاف نامحلول در شوینده اسیدی (درصد ماده خشک)	۲٦/۹٦	۲٤/٤۵	۲۳/٤۷	۱/۰۹	۰/۱٦
پروتئین خام (درصد ماده خشک)	۷/۳۰	۷/۰۱	۷/۷٦	۰/٦۹	۰/۸۱
کربوهیدرات محلول در آب (درصد ماده خشک)	۲/۲۱	۱/۷۳	۱/۵۲	۰/٤٦	۰/۵۸

۱. LF_0 (سیلاژ ذرت تلقیح‌نشده، کنترل)، LF_1 (10^6 cfu ×۱ لاکتوباسیلوس فرمنتوم ۹۲۰٦۹ به‌ازای گرم علوفه تازه)، LF_2 (10^6 cfu×۱ لاکتوباسیلوس فرمنتوم ۹۲۰٦۹ به‌ازای گرم علوفه تازه).

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها.

مقادیر pH سیلاژها در دامنه ۳/۹۲ تا ٤/۰۹ قرار داشت (جدول ۳)، که بیانگر تخمیر مناسب برای جلوگیری از رشد میکروارگانیسم‌های نامطلوب بود [۹]. تفاوتی در pH سیلاژهای LF_1 و LF_2 مشاهده نشد، اما pH سیلاژ LF_2 نسبت به کنترل به‌طور معنی‌داری پایین‌تر بود (P<۰/۰۵). غلظت اسید لاکتیک در سیلاژهای LF_1 و LF_2 بالاتر از سیلاژ شاهد بود (P<۰/۰۵). تفاوتی در غلظت اسیداستیک در سیلاژهای LF_1 و LF_2 مشاهده نشد. اگرچه غلظت اسید استیک در سیلاژ LF_2 نسبت به کنترل به‌طور معنی‌داری بیش‌تر بود (P<۰/۰۵). نتایج متفاوتی از اثر افزودن باکتری *لاکتو باسیلوس فرمنتوم* بر محصولات تخمیری گزارش شده است [۱۱، ۱۳ و ۱۷]. در تطابق با آزمایش حاضر استفاده از *لاکتوباسیلوس فرمنتوم* سبب کاهش pH و افزایش غلظت اسیدلاکتیک و اسیداستیک شد [۱۳]. کاهش معنی‌دار pH در سیلاژ حاصل از تیمار LF_2 را می‌توان به افزایش غلظت اسیدلاکتیک و اسیداستیک نسبت داد. مکانیسم دقیق تولید اسید استیک نامشخص است، ولی ازآنجایی‌که *لاکتوباسیلوس فرمنتوم* تخمیر را به‌صورت ناهمگن انجام می‌دهد افزایش در غلظت اسید استیک می‌تواند ناشی از تبدیل اسیدلاکتیک به اسیداستیک در مرحله بی‌هوازی باشد [۲۳].

غلظت نیتروژن آمونیاکی سیلاژها به‌عنوان شاخصی از تجزیه پروتئین تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت. جمعیت باکتری‌های اسید لاکتیک و مخمر در سیلاژهای آزمایشی اختلاف معنی‌داری نشان نداد. جمعیت کپک تحت تأثیر *لاکتوباسیلوس فرمنتوم* قرار گرفت، به‌طوری‌که سیلاژ LF_2جمعیت کپک کم‌تری نسبت به سایر سیلاژها داشت (P<۰/۰۵). جمعیت مخمر و کپک موجود در سیلاژهای این آزمایش کم‌تر از تعداد لازم گزارش‌شده (10^5) جهت ایجاد فساد در سیلاژ بود [٤]. نتایج این آزمایش با آزمایش‌هایی که در آن‌ها از باکتری تخمیرکننده ناهمگن در تهیه سیلاژ علوفه‌هایی با رطوبت بالا استفاده شده است، همخوانی دارد [۹ و ۲۱]. بالابودن رطوبت سیلاژ امکان افت سریع pH را کاهش می‌دهد و در نتیجه احتمال رشد میکروارگانیسم‌های نامطلوب افزایش می‌یابد [۱۲].

جدول ۳. تأثیر تلقیح *لاکتوباسیلوس فرمنتوم* ۹۲۰٦۹ به سیلاژ ذرت بر محصولات تخمیر و جمعیت میکروبی

فراسنجه	تیمار[1]			SEM	P-value
	LF_0	LF_1	LF_2		
pH	٤/۰۹^{a}	٤/۰۲^{ab}	۳/۹۲^{b}	۰/۰۳	۰/۰٤
اسید لاکتیک (درصد ماده خشک)	۱/٤۹^{b}	۲/۰۷^{a}	۲/۱۹^{a}	۰/۰۵	۰/۰۰۱
اسید استیک (درصد ماده خشک)	۱/۱٦^{b}	۱/٦۲^{ab}	۲/۰۵^{a}	۰/۱٦	۰/۰۲
نیتروژن آمونیاکی (درصد ماده خشک)	۰/٤۵	۰/۳٤	۰/۳۷	۰/۰۳	۰/٤۱
جمعیت میکروبی[2]					
باکتری‌های اسید لاکتیک	۵/۸٤	۵/٦٦	۵/٦۲	۰/۰۸	۰/۳۱
مخمر	۱/۷۰	۱/٦۳	۱/۷۱	۰/۰۹	۰/۸۰
کپک	۱/۳٦^{a}	۱/٤۲^{a}	۰/۷٦^{b}	۰/۱۵	۰/۰٤

۱. LF_0 (سیلاژ ذرت تلقیح‌نشده، کنترل)، LF_1 (10^6 cfu ×۱ *لاکتوباسیلوس فرمنتوم* ۹۲۰٦۹ به‌ازای گرم علوفه تازه)، LF_2 (10^6cfu×۱ *لاکتوباسیلوس فرمنتوم*۹۲۰٦۹ به‌ازای گرم علوفه تازه).

۲. جمعیت باکتری‌های اسید لاکتیک، مخمر و کپک برحسب log ۱۰ واحد کلنی فرمینگ به‌ازای هرگرم علوفه تازه می‌باشد.

a-b: تفاوت میانگین‌ها با حروف غیرمشابه در هر ردیف معنی‌دار است (P<۰/۰۵). SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها.

گزارش‌های مختلف اثر ضدقارچی باکتری‌های مولد اسیدلاکتیک را گزارش کردند. اسیدهای آلی موجود در سیلاژ مانند اسید لاکتیک، اسید استیک، اسید پروپیونیک و ... از جمله مواد ضدمیکروبی و ضدقارچی هستند که به‌طور طبیعی توسط باکتری‌های اسیدلاکتیک تولید می‌شوند [٤ و ١٥]. در آزمایش حاضر احتمال می‌رود غلظت cfu ^{٦}۱۰×۲ *لاکتوباسیلوس فرمنتوم*در سیلاژ از طریق افزایش غلظت اسیدهای آلی باعث کاهش جمعیت کپک‌ها شده باشد.

پایداری هوازی، pH و جمعیت میکروبی سیلاژها بعد از قرارگرفتن در معرض هوا و طی دوره پایداری هوازی در جدول (٤) گزارش شده است. پایداری هوازی سیلاژهای LF_0 و LF_1 به‌ترتیب ٢٦٠ و ٢٤٥ ساعت بود که در مقایسه با آن‌ها پایداری هوازی سیلاژ LF_2 تا ٢٨٩ ساعت به طول انجامید (P<٠/٠٥). طی دوره پایداری هوازی، pH سیلاژها تحت تأثیر تیمار قرار گرفت، به‌طوری‌که سیلاژ LF_2 دارای pH پایین‌تری در مقایسه با سایر تیمارها بود (P<٠/٠٥). جمعیت مخمر تحت تأثیر تیمار قرار نگرفت و جمعیت کپک‌های سیلاژ LF_2 در مدت زمان قرارگرفتن در معرض هوا کاهش معنی‌داری را نشان داد. هم‌چنین، اثر متقابل بین تیمار و زمان معنی‌دار بود (P<٠/٠٥).

مطالعات، افزایش پایداری هوازی و کاهش pH سیلاژ را با استفاده از باکتری‌های اسیدلاکتیک تخمیرکننده ناهمگن در سیلاژهایی با رطوبت بالا، بعد از قرارگرفتن در معرض هوا نشان داده‌اند [٩، ١٥و ٢١]. در واقع این باکتری‌ها از طریق تجمع محصولات حاصل از تخمیر سیلاژ مانند اسید استیک و اسید پروپیونیک باعث افزایش پایداری هوازی سیلاژ شدند [٢١]. با این‌حال، گزارش‌های موجود نتایج متفاوتی را از تأثیر باکتری *لاکتوباسیلوس فرمنتوم* بر پایداری هوازی سیلاژ نشان می‌دهند [١٣ و ١١].

هنگامی‌که سیلاژ در معرض هوا قرار می‌گیرد مخمرهای تجزیه‌کننده لاکتات باعث تولید گرما و کاهش مواد مغذی سیلاژ می‌شوند و احتمال می‌رود با توجه به اثر ضدقارچی اسیداستیک، استفاده از غلظت cfu/g ^{٦}۱۰×۲ *لاکتوباسیلوس فرمنتوم* (LF_2) منجر به پایداری هوازی طولانی‌تری در مقایسه با دیگر سیلاژها شده است.

جدول ٤. تأثیر تلقیح *لاکتوباسیلوس فرمنتوم* ٩٢٠٦٩ به سیلاژ ذرت بر پایداری هوازی، تغییرات pH و جمعیت میکروبی بعد از قرارگرفتن در معرض هوا

فراسنجه	تیمار[1]			SEM	P-value		
	LF_0	LF_1	LF_2		تیمار	زمان	تیمار در زمان
پایداری هوازی (ساعت)	٢٦٠ ^{b}	٢٤٥^{b}	٢٨٩ ^{a}	٤/٩٧	–	–	–
pH	٤/٢٤ ^{a}	٤/٢٣ ^{a}	٤/١٥ ^{b}	٠/٠١	٠<٠/٠١	٠<٠/٠٠٣	٠<٠/٠٧
جمعیت میکروبی[2]							
مخمر	٤/٩٦	٤/٧٥	٤/٨٠	٠/٠٤	٠/٨٣	٠<٠/٠١	٠/٩٠
کپک	٣/٦٤	٣/٠٠	٢/٨٤	٠/١٥	٠<٠/٠١	٠<٠/٠٠٢	٠<٠/٠١

١. LF_0 (سیلاژ ذرت تلقیح‌نشده، کنترل)، LF_1 (cfu ^{٦}۱۰×۱ *لاکتوباسیلوس فرمنتوم* ٩٢٠٦٩ به‌ازای گرم علوفه تازه)، LF_2 (cfu^{٦}۱۰×۱ *لاکتوباسیلوس فرمنتوم*٩٢٠٦٩ به‌ازای گرم علوفه تازه).

٢. جمعیت مخمر و کپک برحسب log$_{١٠}$ واحد کلنی فرمینگ به‌ازای هرگرم علوفه تازه می‌باشد.

میانگین‌ها با حروف غیرمشابه در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی‌دار می‌باشد (P<٠/٠٥).

در رابطه با پایداری هوازی کم‌تر سیلاژ تلقیح‌شده با غلظت 1×10^{6} cfu/g *لاکتوباسیلوس فرمنتوم* می‌توان بیان نمود که افزودن غلظت پایین‌تر این باکتری به سیلاژ می‌تواند با کاهش غلظت اسیداستیک، افزایش سوبسترای در دسترس برای مخمرهای متابولیزه‌کننده لاکتات را فراهم کرده و/ یا از طریق تولید غلظت‌های پایین‌تر اسیدهایی مانند پروپیونیک (با اثرات ضدمیکروبی قوی) باعث کاهش پایداری هوازی سیلاژ شده باشد [٤ و ١٥].

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که افزودن *لاکتوباسیلوس فرمنتوم* ٩٢٠٦٩ جدا شده از ماست به سیلاژ ذرت با رطوبت بالا، سبب کاهش pH و جمعیت کپک‌ها و افزایش پایداری هوازی و کیفیت سیلاژ می‌شود. بنابراین، می‌توان از آن به‌عنوان یک افزودنی برای تهیه سیلاژ استفاده کرد.

تشکر و قدردانی

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

تعارض منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان وجود ندارد.

منابع مورداستفاده

1. Adesogan AT, Salawu MB, Ross AB, Davies DR and Brooks AE (2003) Effect of *Lactobacillus buchneri, Lactobacillus fermentum, Leuconostoc mesenteroides* inoculants, or a chemical additive on the fermentation, aerobic stability, and nutritive value of crimped wheat grains. Journal of Dairy Science, 86(5): 1789-1796.
2. Amado IR, Fuciños C, Fajardo P, Guerra NP 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.
3. AOAC (2000) Official methods of analysis, 15th Edition. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, USA.
4. Arriola KG, Kim SC and Adesogan AT (2011) Effect of applying inoculants with heterolactic or homolactic and heterolactic bacteria on the fermentation and quality of corn silage. Journal of Dairy Science, 94(3): 1511-1516.
5. Borker SB and Sumerson WH (1947) The colorimetric determination of lactic acid in biological material. Journal of Biological Chemistry, 138: 535-554.
6. 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.
7. Calicchia ML, Wang CI, Nomura T, Yotsuzuka F and Osato DW (1993) Selective enumeration of *Bifidobacterium bifidum, Enterococcus faecium*, and streptomycin resistant *Lactobacillus acidophilus* from a mixed probiotic product. Journal of Food Protection, 56(11): 954-957.
8. Dubois M, Gilles KA, Hamilton JK, Rebers PT and Smith F (1956) Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Analytical Chemistry, 28(3): 350-356.
9. Filya I (2003) The effect of *Lactobacillus buchneri* and *Lactobacillus plantarum* on the fermentation, aerobic stability, and ruminal degradability of low dry matter corn and sorghum silages. Journal of Dairy Science 86(11): 3575-3581.
10. Ghaedi Z (2018) Effect of feeding a bacterial probiotic on rumen parameters, blood metabolites and performance of finishing lambs. Razi University, M.Sc. Thesis. (In Persian)
11. Guo L, Yao D, Li D, Lin Y, Bureenok S, Ni K and Yang F (2020) Effects of lactic acid bacteria isolated from rumen fluid and feces of dairy cows on fermentation quality, microbial community, and in vitro digestibility of alfalfa silage. Frontiers in Microbiology, 10: 2998-3009.
12. He L, Wang C, Xing Y, Zhou W, Pian R, Chen X and Zhang Q (2020) Ensiling characteristics, proteolysis and bacterial community of high-moisture corn stalk and stylo silage prepared with Bauhinia variegate flower. Bioresource Technology, 296: 122336-122344.
13. Jalč D, Lauková A, Simonová M, Váradyová Z and Homolka P (2009) The use of bacterial inoculants for grass silage: their effects on nutrient composition and fermentation parameters in grass silages. Czech Journal of Animal Science, 54(2): 84-91.

14. Jalili A (2020) Effect of feeding *Lactobacillus fermentum* on health and growth performance of suckling lambs. Razi University, M.Sc. Thesis. (In Persian)
15. Kleinschmit DH, Schmidt RJ and Kung JL (2005) The effects of various antifungal additives on the fermentation and aerobic stability of corn silage. Journal of Dairy Science, 88(6): 2130-2139.
16. McCullough H (1967) The determination of ammonia in whole blood by a direct colorimetric method. Clínica Chimica acta 17(2): 297-304.
17. Puntillo M, Gaggiotti M, Oteiza JM, Binetti A, Massera A and Vinderola G (2020) Potential of lactic acid bacteria isolated from different forages as silage inoculants for improving fermentation quality and aerobic stability. Frontiers in Microbiology, 11: 3091-3108.
18. Rabie CJ, Lübben A, Marais GJ and Van Vuuren HJ (1997) Enumeration of fungi in barley. International Journal of Food Microbiology, 35(2): 117-127.
19. Ranjit NK and Kung JR (2000) The effect of *Lactobacillus buchneri, Lactobacillus plantarum*, or a chemical preservative on the fermentation and aerobic stability of corn silage. Journal of Dairy Science, 83(3): 526-535.
20. Rooke JA and Kafilzadeh F (1994) The effect upon fermentation and nutritive value of silages produced after treatment by three different inoculants of lactic acid bacteria applied alone or in combination. Grass and Forage Science, 49(3): 324-333.
21. Silva NC, Nascimento CF, Campos VM, Alves MA, Resende FD, Daniel JL and Siqueira GR (2019) Influence of storage length and inoculation with *Lactobacillus buchneri* on the fermentation, aerobic stability, and ruminal degradability of high-moisture corn and rehydrated corn grain silage. Animal Feed Science and Technology, 251: 124-133.
22. Stewart CS and Duncan SH (1985) The effect of avoparcin on cellulolytic bacteria of the ovine rumen. Journal of General Microbiology, 131: 427-435.
23. Taylor CC, Ranjit NJ, Mills JA, Neylon JM and Kung JrL (2002) The effect of treating whole-plant barley with *Lactobacillus buchner*i 40788 on silage fermentation, aerobic stability, and nutritive value for dairy cows. Journal of Dairy Science, 85(7): 1793-1800.
24. Van Soest PY, Robertson J and Lewis B (1991) Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and non starch polysaccharides in relation to animal nutrition. Journal of Dairy Science, 74: 3583-3597.