ترکیب شیمیایی، تجزیه‌پذیری ماده خشک و پروتئین خام سیلاژ یونجه عمل آوری شده با اسیدهای فرمیک و سولفوریک و تأثیر آن بر عملکرد گاوهای هلشتاین تازه‌زا

مهدی بهگر، محسن دانش مسگران، حسن نصیری مقدم و سعید سبحانی‌راد[1]

چکیده

اثر اسید فرمیک و اسید سولفوریک بر ترکیب شیمیایی، تجزیه پذیری ماده خشک و پروتئین خام سیلاژ یونجه و بررسی استفاده از آن در جیره گاوهای شیرده تازه‌زا در آزمایشی سه مرحله‌ای تعیین شد. در مرحله اول یونجه با اسید فرمیک (صفر، ۱۵ و۲۰ میلی‌لیتر در کیلوگرم ماده خشک) و اسید سولفوریک (صفر و ۴ میلی‌لیتر در کیلوگرم ماده خشک) و دو مقدار ماده خشک (۲۲ و۳۳ درصد) سیلو شد. در مرحله دوم فراسنجه‌های تجزیه پذیری ماده خشک و پروتئین خام سیلاژ شاهد (فاقد افزودنی، تیمار اول)، سیلاژ یونجه حاوی اسید فرمیک و اسید سولفوریک (به ترتیب ۱۵ و ۴ میلی‌لیتر در کیلوگرم ماده خشک، تیمار دوم) ، و یونجه خشک (تیمار سوم) با استفاده از روش کیسه‌های نایلونی اندازه‌گیری شدند. در مرحله سوم در جیره گاوهای تازه‌زای هلشتاین (۱۱ راس با میانگین روزهای شیردهی ۸± ۱۹) ۵۰ درصد از مقدار علف خشک یونجه در جیره پایه با سیلاژ یونجه (تیمار اول و دوم مرحله قبل) جایگزین شد. جیره‌ها به مدت ۴۹ روز در قالب طرح کاملاً تصادفی مورد تغذیه گاوها قرار گرفتند. افزایش ماده خشک باعث کاهش pH سیلاژ شد (P<۰/۰۵). بخش سریع تجزیه (a) ماده خشک در سیلاژها مشابه یکدیگر(۰/۳۵) و کمتر از علف خشک یونجه (۰/۵) بود. بخش (a) پروتئین خام در سیلاژ حاوی اسید در مقایسه با سیلاژ شاهد و علف یونجه پایین‌تر بود (به ترتیب ۰/۴۶، ۰/۵۷ و ۰/۵۶). بخش (b) پروتئین خام در سیلاژ حاوی اسید درمقایسه با سیلاژ شاهد و علوفه یونجه پایین تر بود (به ترتیب ۰/۲۸، ۰/۴۱، و ۰/۳۵). مصرف ماده خشک، تولید و ترکیب شیر تحت تأثیر تیمارها قرار نگرفت. اثر زمان بر چربی شیر و مواد جامد فاقد چربی شیر به‌صورت درجه دوم معنی‌دار شد (P<۰/۰۱). گلوکز خون در زمان قبل از خوراک‌دهی در هفته چهارم آزمایش در دام‌های تغذیه شده با تیمار دو بیشتر از تیمار یک بود (P< ۰/۰۱).

واژه‌های کلیدی: گاوهای تازه‌زا، سیلاژ یونجه، اسید فرمیک، اسید سولفوریک

مقدمه

در مناطقی که به‌دلیل شرایط آب و هوایی امکان خشک کردن علوفه فراهم نمی‌باشد، تهیه سیلو در مقایسه با خشک کردن علوفه‌ها به عنوان روشی مناسب شناخته شده است (۲۰). خشک کردن یونجه در مزرعه باعث از دست رفتن مواد مغذی به‌خاطر آسیب فیزیکی برگ‌ها و اکسیداسیون کاروتن می‌گردد، از طرف دیگر تهیه سیلوی یونجه به‌واسطه وجود کربوهیدرات‌های نامناسب و خاصیت بافری بالای آن مشکل می‌باشد (۱۳). بخش قابل ملاحظه‌ای از پروتئین یونجه در فرایند سیلوسازی تجزیه می‌شود و ۷۵ تا ۸۷ درصد از نیتروژن

۱. به ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، دانشیار، استاد و دانشجوی سابق کارشناسی ارشد علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

کل موجود در سیلاژ ممکن است به‌صورت نیتروژن غیر پروتئینی باشد (۱۴). نتایج اولیه استفاده از اسیدهای معدنی در فرایند سیلوسازی برای کاهش pH علوفه‌ها به پایین تر از ۴ نشان داد که تغذیه مقادیر زیاد این نوع سیلاژها سبب مشکلات متابولیسمی در گاوها می‌گردد. برای رفع این مشکل از مقادیر کمتری اسید و یا اسیدهای آلی مثل اسید فرمیک استفاده می‌شود (۱۶). افزودن اسید به علف تخمیر شدهٔ یونجه باعث کاهش pH آن و در نتیجه بهبود شرایط سیلاژ می‌گردد. سیلاژ یونجه حاوی اسید فرمیک دارای pH پایین‌تر و هم‌چنین نیتروژن غیرپروتئینی کمتری نسبت به علف سیلاژ یونجه بدون اسید بود (۲۳،۱۴ و۲۴). استفاده از پژمرده سازی قبل از سیلوسازی یونجه نیز باعث کاهش ظرفیت بافری، کاهش pH، کاهش نیتروژن آمونیاکی و نیتروژن غیر آمونیاکی در بسیاری از مطالعات شده است (۱۲). استفاده از اسید فرمیک و یا پژمرده سازی باعث کاهش بخش سریع تجزیه و افزایش بخش کند تجزیه می‌گردد (۱۲،۱۰ و۲۳). هم‌چنین اسید فرمیک بازیافت انرژی را افزایش داده و تجزیه پروتئین در سیلو را کاهش می‌دهد. گاوهای تغذیه شده از سیلاژهای پژمرده شده حاوی اسید فرمیک مقدار شیر بیشتری تولید می‌کنند (۲۶). این آزمایش به منظور بررسی تأثیر اسیدفرمیک و اسیدسولفوریک بر خصوصیات شیمیایی سیلاژ یونجه (با دو سطح ماده خشک)، تجزیه‌پذیری ماده خشک و پروتئین خام و هم‌چنین تأثیر آن بر خصوصیات تولیدی گاوهای تازه‌زای هلشتاین انجام شد.

مواد و روش‌ها

مرحلهٔ اول

در این مرحله از آزمایش، یونجه چین سوم با میانگین ماده خشک ۲۲ درصد برداشت شده و به کمک چاپر به قطعات ۱۰ تا ۱۵ سانتی‌متر خرد گردید. مقادیر مختلف اسید فرمیک (خلوص ۹۵٪ با چگالی ۱/۲۲، صفر، ۵ و ۱۵ میلی‌لیتر به ازای کیلوگرم ماده خشک) و اسید سولفوریک (خلوص ۹۸٪ با چگالی ۱/۸۴؛ صفر و۴ میلی‌لیتر به ازای کیلوگرم ماده خشک) با ۴ برابر حجم آب رقیق شده و بر روی علوفه یونجه در ظرفی بزرگ پاشیده شد و به خوبی مخلوط گردید. بلافاصله در کیسه‌های ضخیم پلاستیکی با ظرفیت ۵ کیلوگرم به صورت فشرده و تحت شرایط بی‌هوازی ذخیره شدند. مابقی یونجه‌ها برای طی کردن روند پژمرده‌سازی (تا رسیدن به ماده خشک حدوداً ۳۳ درصد) به مدت ۱۲ ساعت رها شدند. پس از پژمرده‌سازی دوباره نسبت‌های اسید فرمیک و اسید سولفوریک بر آنها اعمال شد. برای هر تیمار ۴ تکرار در نظر گرفته شد. پس از گذشت ۳۵ روز کیسه‌های پلاستیکی باز شدند و ماده خشک، پروتئین خام، نیتروژن آمونیاکی، پروتئین حقیقی، نیتروژن غیر پروتئینی و دیواره سلولی (NDF) سیلاژها تعیین شد. برای تعیین pH، از سیلاژها نمونه‌های ۵۰ گرمی تهیه شد و به هر نمونه ۴۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد و سپس مخلوط نمونه و آب مقطر به خوبی هم زده شد و با استفاده از پارچه متقال صاف گردید (۲۰). pH عصاره به‌دست آمده توسط pH متر (METROHM 691) اندازه‌گیری شد. نیتروژن آمونیاکی از عصاره تهیه شده در مرحله قبل که به نسبت برابر با اسید کلریدریک ۰/۲ نرمال مخلوط شده بود با ایجاد تغییراتی در روش کلدال تعیین شد، به این صورت که به جای استفاده از سود ۱ نرمال در مرحله تقطیر از محلول تترابورات (به غلظت ۳۳ گرم در حجم ۱ لیتر آب مقطر) و هم‌چنین برای تیتراسیون از اسید کلریدریک ۰/۰۱ نرمال در دستگاه کلدال (Kjeltec Auto, 1300) استفاده شد (۱۹). میزان پروتئین خام به روش کلدال تعیین شد (AOAC). میزان نیتروژن حقیقی و نیتروژن غیر پروتئینی ترکیبات فوق نیز به روش دانش مسگران و حیدریان (۱) که تغییراتی در روش لیسترا (Licitra et al.) و همکاران (۱۹۹۶) ایجاد کرده بودند، تعیین گردید. میزان دیواره سلولی سیلاژها توسط روش ون سوست تعیین شد (۲۱).

مرحله دوم

پس از بررسی خصوصیات شیمیایی و تجزیه آماری داده‌های حاصل از سیلاژهای آزمایشی در مرحله اول آزمایش، دو سیلاژ پژمرده شده فاقد افزودنی (شاهد) و سیلاژ پژمرده شده دارای اسید فرمیک و اسید سولفوریک (به ترتیب ۱۵ و ۴ میلی‌لیتر در

کیلوگرم ماده خشک) برای ساخت سیلاژهای بزرگ انتخاب شدند و سیلوها پس از ۳۵ روز گشوده شدند و از آنها نمونه‌گیری به عمل آمد. برای تعیین ضرایب تجزیه پذیری از دو راس گاو نر (وزن بدن ۲۰ ± ۳۸۰) دارای فیستولای شکمبه‌ای استفاده شد. نمونه‌های خشک شده سیلاژها با آسیاب دارای الک ۲ میلی‌متری آسیاب شده و به میزان ۵ گرم در کیسه‌هایی از جنس ابریشم مصنوعی ریخته شد و سر کیسه‌ها توسط نخ نایلونی بسته شد. کیسه‌ها دارای ابعاد ۱۸/۵ × ۹ سانتی‌متر مربع و منافذی به قطر ۴۸ میکرومتر بودند (۲۱). از تیمارهای مورد نظر ۴ تکرار (در هر گاو نر ۲ تکرار) در زمان‌های ۲، ۴، ۸ ، ۱۶، ۲۴، ۴۸ و۷۲ ساعت در شکمبه قرار گرفت. برای تعیین نسبت ناپدید شدن ماده خشک و پروتئین خام در زمان صفر، کیسه‌های حاوی نمونه در زیر شیر آب شسته شدند. برای زمان‌های ۲، ۴ و۸ ساعت، کیسه‌ها ابتدا حدود نیم ساعت در آب به منظور تقلید از عمل بزاق و کم شدن فاز تأخیر قرار گرفتند و سپس عمل آنکوباسیون در شکمبه انجام گرفت (۲۷). پس از خارج کردن کیسه‌ها از شکمبه، عمل شستشو تا هنگام خارج شدن آب زلال از کیسه‌ها توسط دست انجام شد. سپس کیسه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در آون در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد خشک شدند (۱۵) و مقدار ناپدید شدن ماده خشک و نیتروژن هر نمونه اندازه‌گیری شد.

مرحله سوم

در این مرحله ازآزمایش از ۱۱ راس گاو تازه‌زای هلشتاین (متوسط وزن ۲۰±۶۹۰) چند شکم زایش (متوسط ۳ شکم زایش) با متوسط روزهای شیردهی ۸ ± ۱۹ به صورت طرح کاملاً تصادفی به روش تکرار در زمان (Repeated measures) استفاده شد. به تیمار اول (سیلاژ پژمرده شده فاقد افزودنی) و تیمار دوم (سیلاژ پژمرده شده دارای اسید فرمیک و اسید سولفوریک؛ به ترتیب ۱۵ و ۴ میلی‌لیتر در کیلوگرم ماده خشک) به ترتیب ۵ و۶ راس دام اختصاص داده شد. دام‌ها در جایگاه‌های انفرادی نگه‌داری شدند و آب و نمک به‌طور آزاد در اختیار آنها قرار داشت. دام‌ها در طول آزمایش به مدت یک هفته دوره عادت پذیری را سپری کردند و سپس به مدت ۷ هفته با خوراک‌های آزمایشی (جدول ۱) تغذیه شدند (AFRC، ۱۹۹۳). سیلاژهای یونجه (تیمار اول و دوم) جایگزین ۵۰ درصد ماده خشک علف خشک یونجه در جیره پایه گردید. تولید شیر به‌صورت روزانه ثبت شد و از شیر برای تعیین ماده خشک، چربی، پروتئین، لاکتوز و مواد جامد فاقد چربی به‌صورت هفتگی نمونه‌گیری به عمل آمد. برای این منظور شیر سه نوبت دوشش روزانه با هم مخلوط و نمونه‌گیری انجام شد. ماده خشک شیر توسط قرار دادن ۵ میلی‌لیتر شیر در آون در دمای ۱۰۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت تعیین شد (۴). درصد چربی، پروتئین، لاکتوز و مواد جامد فاقد چربی شیر توسط دستگاه میلکواسکن (Foss Electric, conveyor 4000) تعیین شد. برای بررسی متابولیت‌های خون (نیتروژن غیر آمینی و گلوکز) در دو مرحله (هفته چهارم و هفته هشتم) در زمان‌های قبل از خوراک دهی، ۲ ساعت و ۴ ساعت بعد از مصرف خوراک وعده صبحگاهی از سیاهرگ گردنی نمونه‌های خون تهیه شد. پس از افزودن EDTA (۱۰٪) نمونه‌های پلاسمای خون با سانتریفوژ کردن نمونه‌ها در ۱۵۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه تهیه شد (۱۴). پلاسمای جدا شده در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شد و گلوکز و نیتروژن غیر آمینی خون با روش آنزیمی ـ نورسنجی توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (Jenway 6105) تعیین شد (کیت اوره و گلوکز، زیست شیمی، تهران، ایران). برای تعیین نیتروژن اوره ای شیر، ابتدا بخش پروتئین حقیقی شیر رسوب داده شد (۵) و از بخش محلول شفاف فوقانی برای اندازه گیری نیتروژن اوره‌ای شیر با روش آنزیمی – نورسنجی توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (Jenway 6105) استفاده شد (کیت اوره، زیست شیمی، تهران، ایران).

تجزیه آماری

۱. تجزیه آماری داده‌های مرحله اول آزمایشی

برای تجزیه آماری داده‌های مرحله اول، طرح کاملاً تصادفی به روش فاکتوریل (۲×۳×۲) استفاده شد. برای تجزیه داده‌ها از نرم‌افزار SAS (۳) و از روش GLM استفاده گردید. مقایسه

جدول ۱. ترکیب مواد خوراکی و ترکیب مواد مغذی جیره پایه خوراک‌های آزمایشی

ماده خوراکی	کیلوگرم ماده خشک
سیلاژ ذرت	۳/۵
علف یونجه [1]	۷
جو	۲/۷
ذرت	۳/۶
کنجاله سویا	۳
کنجاله تخم پنبه	۰/۶
تخم پنبه	۲/۵
تفاله چغندر قند	۲
سبوس گندم	۱/۷
دی کلسیم فسفات	۰/۰۶
آهک	۰/۰۳
نمک	۰/۰۶
مکمل مواد معدنی و ویتامین	۰/۲
ترکیب مواد مغذی	
پروتئین خام (درصد)	۱۷
انرژی قابل متابولیسم (مگا کالری در کیلوگرم)	۲/۴۵
انرژی قابل تخمیر قابل متابولیسم (مگاکالری در کیلوگرم)	۲/۳
پروتئین قابل تجزیه موثر در شکمبه (گرم در کیلوگرم)	۹۸
پروتئین عبوری (گرم در کیلوگرم)	۱۰۱/۵
پروتئین قابل متابولیسم (گرم در کیلوگرم)	۱۱۳/۵
پروتئین قابل هضم غیر قابل تجزیه (گرم در کیلوگرم)	۶۲/۳
الیاف نامحلول در شوینده خنثی (درصد)	۳۶/۴
الیاف نامحلول در شوینده اسیدی (درصد)	۱۷
عصاره اتری (درصد)	۴/۸
کلسیم (گرم در کیلوگرم)	۶/۵
فسفر (گرم در کیلوگرم)	۵/۵

۱. هر یک از سیلاژهای یونجه تیمار ۱ و ۲ به مقدار ۵۰ رصد ماده خشک جایگزین علف یونجه شد.

میانگین‌ها در سطح ۵ درصد با روش توکی انجام شد. مدل ریاضی استفاده شده برای این منظور به صورت زیر می‌باشد:

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + B_j + C_k + A_i \times B_j \times C_k + E_{ijk}$$

Y_{ijk}= مقدار مشاهده مورد نظر

μ = میانگین کل مشاهدات

A_i = اثر اسید فرمیک $i = ۱ ، ۲ ، ۳$

B_j = اثر اسید سولفوریک $j = ۱ ، ۲$

C_k= اثر ماده خشک یونجه $k= ۱، ۲$

$A_i \times B_j \times C_k$= اثر متقابل اسید فرمیک و اسید سولفوریک و ماده خشک

E_{ijk} = واریانس باقی‌مانده

۲. تجزیه داده‌های مرحله دوم

فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری ماده خشک و پروتئین خام با استفاده از مدل ارسکف و مک‌دونالد تعیین شد (۱۸).

$$P = a + b\,(1 - e^{-ct})$$

P = پتانسیل تجزیه پذیری

a = بخش سریع تجزیه در زمان

b = بخش کند تجزیه در زمان

c = ثابت نرخ تجزیه پذیری

t = مدت زمان قرار دادن نمونه در شکمبه

برای این منظور، داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار Fig P (Biosoft corporation, Durham, NC USA) مورد تجزیه قرار گرفتند.

۳. تجزیه آماری مرحله سوم آزمایش

تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از تأثیر خوراک‌های حاوی سیلاژهای یونجه در تغذیه گاوهای تازه‌زای هلشتاین با روش اندازه‌گیری تکرار شده در واحد زمان صورت گرفت. برای تولید شیر و مصرف ماده خشک از میانگین هفتگی و برای ترکیب شیر از نمونه‌گیری‌های هفتگی استفاده شد. تمامی اطلاعات جمع‌آوری شده در هفته اول آزمایش که دام‌ها از جیره وفق پذیری تغذیه می‌نمودند به عنوان کوواریت در نظر گرفته شد. داده‌های به‌دست آمده در نرم‌افزار SAS به‌صورت روش تکرار در زمان با روش Mixed Model مورد تجزیه قرار گرفت. برای به‌دست آوردن اثر زمان از رگرسیون چند جمله‌ای استفاده شد و اثر زمان به‌صورت درجه اول (time) و درجه دوم (time×time) در تجزیه آماری به‌دست آمد (۲۷).

مدل ریاضی استفاده شده به صورت زیر بود.

$$Y_{ijk} = \mu + D_i + W_j + C_{k(i)} + D_iW_j + B(X_{ij}-X_{..}) + E_{ijk}$$

Y_{ijk}= عملکرد هر راس دام

μ = میانگین کل مشاهدات اجتماع

D_i = اثر جیره $i = ۱ ، ۲$

W_j = اثر هفته $j= ۱ ، ۲ ، ۳ ، ۴ ، ۵ ، ۶ ، ۷$

$C_{k(i)}$ = اثر دام در جیره مورد نظر $k= ۱ ، ۲ ، ۳ ، ۴ ، ۵ ، ۶$

D_iW_j = اثر متقابل جیره و هفته

B = ضریب تابعیت کوورایت تولید و ترکیبات شیر در هفته اول در برابر سایر هفته‌ها

E_{ijk} = واریانس باقی‌مانده

نتایج و بحث

مرحله اول

ترکیب شیمیایی سیلاژهای آزمایشی در جدول ۲ نشان داده شده است. پژمرده‌سازی به‌طور معنی‌داری باعث کاهش pH سیلاژ یونجه گردید ($P<۰/۰۱$). این اثر احتمالاً به‌واسطه کاهش ظرفیت بافری در خلال پژمرده‌سازی وکاهش آمونیاک و آمین‌ها می‌باشد. با وجود این وربیک و همکاران (۲۳) نشان دادند با استفاده از پژمرده‌سازی pH سیلو افزایش می‌یابد که این امر ممکن است به‌واسطه زمان‌های متفاوت مورد استفاده برای پژمرده‌سازی بین دو آزمایش باشد. مقدار تجزیه پروتئین خام نیز در اثر پژمرده‌سازی و محدود شدن تخمیر تمایل به افزایش داشت و اگرچه این اثر معنی دار نبود ولی با نتایج دیگر محققان که کاهشی مشابه در تجزیه پروتئین را نشان دادند مغایر بود (۱۸). استفاده از سطوح بالاتر اسیدفرمیک به واسطه کاهش pH علوفه در هنگام سیلوسازی باعث کاهش pH سیلاژهای آزمایشی شد (۱۶و۱۷). در این آزمایش مقدار NDF در سیلاژهای پژمرده شده نسبت به تیمار دیگر کمتر بود که نتایج قبلی به‌دست آمده توسط سایر محققین را تأیید می‌نماید (۱۱و۲۳). این محققین کاهش مقدار دیواره سلولی را به تجزیه همی سلولز در روند پژمرده سازی نسبت دادند. پروتئین خام احتمالاً به عنوان نتیجه‌ای از افزودن اسیدفرمیک به واسطه

جدول ۲. ترکیب شیمیایی سیلاژهای آزمایشی یونجه با ماده خشک متفاوت و عمل آوری شده با اسید فرمیک و اسید سولفوریک

	ماده خشک (درصد)				اسیدفرمیک (میلی لیتر در کیلوگرم ماده خشک)					اسید سولفوریک(میلی لیتر در کیلوگرم ماده خشک)			
	۲۲	۳۳	SEM	P	صفر	۱۵	۲۰	SEM	P	صفر	۰/۴	SEM	P
pH	۵/۵۰	۴/۹۵	۰/۱۴	۰/۰۲*	۵/۲۹	۵/۴۵	۴/۹۲	۰/۱۷	۰/۱۱	۵/۱۲	۵/۳۲	۰/۱۴	۰/۳۲
پروتئین خام (گرم درکیلوگرم)	۱۸۲	۱۸۷	۴/۷۷	۰/۵۰	۱۸۲/۴	۱۸۱/۱	۱۸۹/۵	۵/۸۵	۰/۵۶	۱۸۶/۰	۱۸۲/۶	۴/۷۸	۰/۶۲
نیتروژن غیر پروتئینی (گرم درکیلوگرم)	۱/۵۷	۱/۷	۰/۴۲	۰/۱۵	۹/۹۰	۱/۶۴	۱/۷	۰/۵۲	۰/۵۸	۱/۷	۱/۵	۰/۴۲	۰/۲۷
پروتئین حقیقی (گرم درکیلوگرم)	۱۲۰/۷	۱۱۹/۵	۳/۳۹	۰/۸۰	۱۲۰/۶	۱۱۶/۹	۱۲۲/۷	۴/۱۵	۰/۶۲	۱۱۹/۶	۱۲۰/۵	۳/۳۹	۰/۸۶
نیتروژن آمونیاکی (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	۱۳/۹	۱۳/۴	۰/۹۱	۰/۷۲	۱۴/۳	۱۴/۷	۱۱/۸	۱/۱۲	۰/۱۸	۱۳/۱	۱۴/۱	۰/۹۱	۰/۴۵
دیواره سلولی* (گرم در کیلوگرم)	۴۴۴/۲	۴۳۷/۵	۴/۴۹	۰/۳۱	۴۳۸/۸	۴۴۶/۳	۴۳۷/۵	۵/۴۹	۰/۵۰	۴۳۸/۳	۴۴۳/۳	۴/۴۹	۰/۴۵

SEM : میانگین انحراف معیار

P : سطح احتمال معنی‌دار شدن

* : الیاف نامحلول در شوینده خنثی

جدول ۳. ترکیب شیمیایی سیلاژهای تهیه شده برای مرحله دوم و سوم آزمایش

	تیمار*	
	۱	۲
ماده خشک	۲۶/۱۴	۲۷/۳
pH	۵/۳۸	۴/۵
پروتئین خام (درصد ماده خشک)	۱۶/۹۱	۱۹/۷۱
پروتئین حقیقی (درصد ماده خشک)	۱۰/۰۵	۱۱/۶
نیتروژن غیر پروتئینی (درصد ماده خشک)	۱/۲۸	۱/۲۸
نیتروژن آمونیاکی (میلی‌گرم در دسی‌لیتر عصاره سیلو)	۱۸/۱۲	۱۵/۹
الیاف نامحلول در شوینده خنثی (درصد ماده خشک)	۴۲	۴۰

* : ۱. سیلاژ یونجه شاهد، ۲. سیلاژ یونجه عمل آوری شده با اسیدفرمیک و اسید سولفوریک (به ترتیب ۱۵ و ۴ میلی‌لیتر در کیلوگرم ماده خشک).

کاهش تخمیر و توقف عمل آنزیم‌های گیاهی (به دلیل کاهش pH) تمایل به افزایش داشت. این نتایج داده‌های سایر پژوهشگران را تأیید می‌کند (۱۲). به‌واسطه اثر محدودکنندگی تخمیر توسط اسیدفرمیک و اسید سولفوریک کاهش تجزیه پروتئین خام مقدار نیتروژن نیتروژن آمونیاکی در این سیلاژها کمتر بود و هم‌چنین این سیلاژها دارای پروتئین حقیقی بیشتری بودند، که نتایج دیگر محققین را تأیید می‌نماید (۱۴و۱۶). با افزایش اسیدفرمیک مقدار دیواره سلولی سیلاژ یونجه تغییر معنی داری پیدا نکرد. ناجل و همکاران (۱۴) نیز دریافتند که استفاده از اسیدفرمیک و فرمالدئید دارای اثر اندکی بر دیواره سلولی و دیواره سلولی بدون همی سلولز (ADF) است. با این حال در آزمایش‌های بایتوک و مورز (۷) و هیرستوو و ساندو (۱۲) دیواره سلولی در سیلاژهای حاوی اسیدفرمیک کاهش یافت که این محققان اثر را به قدرت هیدرولیزی اسید فرمیک نسبت دادند.

مرحله دوم

ترکیب دو سیلاژ استفاده شده در این مرحله در جدول ۳ موجود است. فراسنجه‌های تجزیه پذیری ماده خشک و پروتیین خام در جدول ۴ نشان داده شده است. مقایسه ضرایب تجزیه‌پذیری ماده خشک نشان داد که بخش سریع تجزیه (a) در سیلاژها مشابه یکدیگر (۰/۳۵) و کمتر از علف خشک یونجه (۰/۵) بود. در حالی که بخش‌کند تجزیه (b) در سیلاژ حاوی اسیدفرمیک و اسید سولفوریک در مقایسه با سیلاژ شاهد و علوفه یونجه بالاتر بود (به ترتیب۰/۳۹، ۰/۳۶ و ۰/۳۲). بخش سریع‌تجزیه (a) پروتئین خام در سیلاژ حاوی اسیدها در مقایسه با سیلاژ شاهد و علوفه یونجه پایین‌تر بود (به ترتیب ۰/۴۶، ۰/۵۷ و ۰/۵۶). در صورتی‌که بخش کند تجزیه (b) پروتئین خام در سیلاژ حاوی اسیدها درمقایسه با سیلاژ شاهد و علوفه یونجه بالاتر بود (به ترتیب ۰/۴۱، ۰/۲۸ و ۰/۳۵). در مقایسه با علوفه خشک یونجه، سیلوسازی باعث کاهش بخش سریع تجزیه (a) و افزایش بخش کند تجزیه (b) گردید که این اثر توسط دیگر محققین نیز گزارش شده است (۹). هم‌چنین پژمرده‌سازی باعث کاهش بخش a به اندازه‌ای مشابه دیگر گزارش‌ها در هر دو سیلوی پژمرده شده در مقایسه با علوفه یونجه گردید (۱۲). سیلاژ پژمرده شده حاوی اسیدفرمیک و اسید سولفوریک دارای ثابت نرخ تجزیه‌پذیری ماده خشک بیشتری در مقایسه با سیلاژ بدون افزودنی بود که این اثر توسط بایتوک و موراز (۷) نیز گزارش شده است که این محققین این اثر را به تجزیه‌پذیری بیشتر دیواره سلولی نسبت دادند. در مقایسه دو سیلاژ شاهد و سیلاژ حاوی اسیدفرمیک و اسید سولفوریک، سیلاژ حاوی اسیدها دارای ضرایب b و c

جدول ۴. فراسنجه‌های تجزیه پذیری ماده خشک و پروتئین خام سیلاژهای یونجه بدون افزودنی، حاوی اسید فرمیک و اسید سولفوریک و علوفه خشک یونجه (به ترتیب ۱۵ و۴ میلی‌لیتر در کیلوگرم ماده خشک)

	بخش سریع تجزیه (a±SEM)	بخش کند تجزیه (b±SEM)	ثابت نرخ تجزیه‌پذیری (c±SEM)
		ماده خشک	
۱	۰/۳۵ ± ۰/۰۱	۰/۳۶ ± ۰/۰۲	۰/۰۸ ± ۰/۰۱
۲	۰/۳۵ ± ۰/۰۱	۰/۳۹ ± ۰/۰۲	۰/۱۲ ± ۰/۰۱
۳	۰/۵۰± ۰/۰۱۴	۰/۳۲ ± ۰/۰۱۵	۰/۱۶ ± ۰/۰۱۹
		پروتئین خام	
۱	۰/۵۷ ± ۰/۰۲	۰/۲۸ ±۰/۰۲	۰/۱ ± ۰/۰۲
۲	۰/۴۶ ±۰/۰۲	۰/۴۱ ± ۰/۰۲	۰/۱۴ ± ۰/۰۲
۳	۰/۵۶ ± ۰/۰۱۲	۰/۳۵ ± ۰/۰۱۳	۰/۱۹ ± ۰/۰۱۷

۱. سیلاژ یونجه شاهد ، ۲. سیلاژ یونجه عمل آوری شده با اسیدفرمیک و اسید سولفوریک (به ترتیب ۱۵ و۴ میلی لیتر در کیلوگرم ماده خشک) و۳. علوفه یونجه.

بالاتری بود. چنین نتایجی توسط هریستوو و ساندو (۱۲) نیز گزارش شده است. در مورد تجزیه پذیری پروتئین خام سیلوسازی باعث کاهش بخش سریع تجزیه (a) و افزایش بخش کند تجزیه (b) پروتئین خام در مقایسه با علوفه خشک یونجه گردید که این اثر توسط دیگر محققین نیز گزارش شده است (۹و۱۲). در مقایسه دو سیلاژ شاهد و سیلاژ حاوی اسیدفرمیک و اسید سولفوریک، سیلاژ حاوی اسید دارای ضریب a پایین‌تر و ضرایب b و c در مورد تجزیه پذیری پروتئین خام بالاتری بود. چنین نتایجی توسط هریستوو و ساندو (۱۲) نیز گزارش شده است. در دیگر آزمایشات انجام شده توسط وربیک و همکاران (۲۳) پژمرده‌سازی و استفاده از اسید باعث کاهش بخش سریع تجزیه شده است. بخش دارای پتانسیل تجزیه (a+b) ماده خشک و پروتئین خام در سیلاژهای شاهد و حاوی اسیدها در مقایسه با علوفه یونجه پائین‌تر بود که این نتیجه نشان می‌دهد که هضم یونجه سیلو شده از شکمبه به قسمت‌های پس از شکمبه تغییر پیدا می‌کند، که این حالت در آزمایش‌های دلاور و همکاران (۲) که بر روی قابلیت هضمی شکمبه‌ای و پس از شکمبه‌ای سیلاژ و علوفه یونجه آزمایشاتی را انجام داده بودند نیز به‌دست آمد.

مرحله سوم

ترکیب دو سیلاژ استفاده شده در این مرحله در جدول ۳ موجود است. این دو سیلاژ جایگزین ۵۰٪ از علف یونجه در جیره پایه شد. هم‌چنین داده‌های مربوط به مصرف خوراک، تولید و ترکیب شیر گاوهای تازه‌زای هلشتاین تغذیه شده با خوراک‌های حاوی سیلاژ یونجه پژمرده شده فاقد افزودنی و سیلاژ یونجه پژمرده شده حاوی اسید فرمیک (۱۵ میلی‌لیتر در کیلوگرم ماده خشک) و اسید سولفوریک (۴ میلی‌لیتر در کیلوگرم ماده خشک) در جدول ۵ نشان داده شده است.

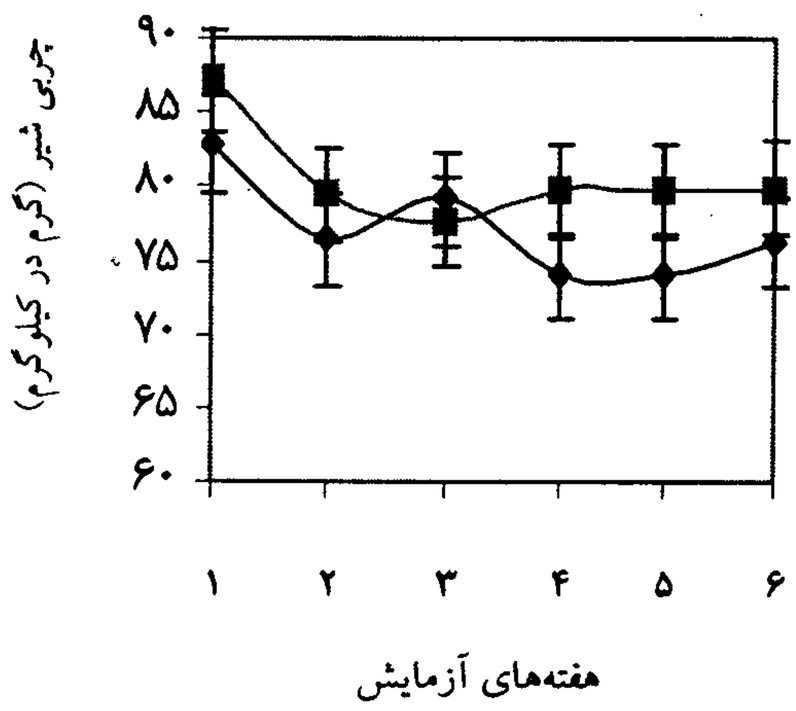
مصرف ماده خشک در گاوهای تغذیه شده با تیمار آزمایشی دارای سیلاژ حاوی اسیدها بیشتر از دام‌های تغذیه شده با تیمار آزمایشی حاوی سیلاژ فاقد اسید بود، اما این تفاوت از نظر آماری معنی دار نبود. هم‌چنین در خصوص تولید شیر با وجود این که تولید در دام‌های تغذیه شده با تیمار آزمایشی دارای اسید به مقدار ۳/۴ درصد بیشتر نسبت به دام‌های تغذیه شده با تیمار آزمایشی فاقد اسید بود، با این حال تفاوت معنی‌داری در این خصوص مشاهده نشد. نتیجه‌ای مشابه در خصوص افزایش تولید در آزمایش‌های قبلی نیز به‌دست آمده بود (۱۱و۲۵). هم‌چنین در ترکیب شیر نیز بین دو گروه تفاوت معنی‌داری

جدول ۵. مصرف ماده خشک، تولید و ترکیب شیر در گاوهای هلشتاین تازه‌زا تغذیه شده با تیمارهای حاوی سیلاژ یونجه فاقد افزودنی و سیلاژ یونجه عمل آوری شده با اسید فرمیک و اسید سولفوریک (به ترتیب ۱۵ و ۴ میلی‌لیتر در کیلوگرم ماده خشک)

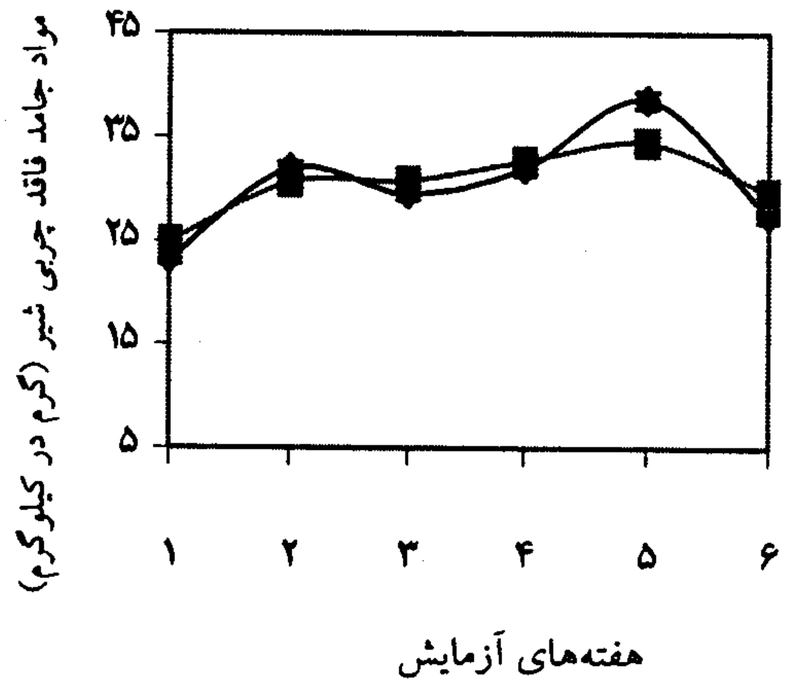
	تیمار		اثر تیمار		اثر زمان		
	۱	۲	SEM	P	SEM	درجه ۱	درجه ۲
مصرف ماده خشک (کیلوگرم در روز)	۲۱/۰۷	۲۱/۵۷	۰/۹۹	۰/۶۵	۱/۳۳	۰/۲۴	۰/۲۱
شیر (کیلوگرم در روز)	۳۳/۱۴	۳۴/۳۱	۱/۱۵	۰/۳۴	۱/۲۵	۰/۶۱	۰/۵۹
ترکیب شیر							
ماده خشک (گرم در کیلوگرم)	۱۰۷/۶۸	۱۱۰/۳	۱/۳۳	۰/۱	۱/۹۸	۰/۳۶	۰/۳۳
چربی (گرم در کیلوگرم)	۳۰/۴۷	۳۰/۵۵	۰/۹	۱/۱۱	۱/۸۹	< ۰/۰۱	< ۰/۰۱
پروتیین (گرم در کیلوگرم)	۲۹/۹۱	۳۱/۳۱	۰/۵۸	۰/۰۶	۱/۱۱	۰/۵۸	۰/۵۹
لاکتوز (گرم در کیلوگرم)	۴۵/۴۹	۴۵/۴۱	۰/۴۳	۰/۹۷	۰/۷۰	۰/۸۹	۰/۴۰
مواد جامد فاقد چربی(گرم در کیلوگرم)	۷۷/۱	۷۹/۸۵	۱/۱۷	۰/۰۹	۱/۹۱	< ۰/۰۱	۰/۰۴
نیتروژن اوره ای شیر (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	۱۲/۱۵	۱۱/۲۴	۲/۹۲	۰/۵۲	۲/۰۲	۰/۰۹	-

۱. تیمار حاوی سیلاژ یونجه شاهد و ۲. تیمار حاوی سیلاژ یونجه عمل آوری شده با اسیدفرمیک و اسید سولفوریک (به ترتیب ۱۵ و۴ میلی‌لیتر در کیلوگرم ماده خشک)

SEM: میانگین انحراف معیار P: سطح احتمال معنی‌دار شدن



شکل ۱. میانگین حداقل مربعات چربی شیر در هفته های آزمایش در گاوهای تغذیه شده با خوراک حاوی سیلاژ یونجه فاقد افزودنی (♦) و سیلاژ حاوی اسید فرمیک و سولفوریک (به ترتیب ۱۵ و ۴ میلی‌لیتر در کیلوگرم) (■).



شکل ۲. میانگین حداقل مربعات مواد جامد فاقد چربی شیر در هفته‌های آزمایش در گاوهای تغذیه شده با خوراک حاوی سیلاژ یونجه فاقد افزودنی (♦) و سیلاژ حاوی اسید فرمیک و سولفوریک (به ترتیب ۱۵ و ۴ میلی‌لیتر در کیلوگرم) (■).

ملاحظه نشد. اثر زمان بر چربی شیر به‌صورت درجه دوم در طول هفته‌های نمونه‌گیری معنی‌دار بود (P<۰/۰۱) (شکل۱). هم‌چنین اثر زمان بر مواد جامد فاقد چربی به‌صورت خطی معنی دار شد (P<۰/۰۱) (شکل۲).

داده‌های مربوط به ترکیب خون گاوهای تازه‌زای هلشتاین تغذیه شده با خوراک‌های حاوی سیلاژ یونجه بدون افزودنی و سیلاژ یونجه حاوی اسیدفرمیک و اسید سولفوریک (به ترتیب۱۵ و ۴ میلی‌لیتر در کیلوگرم ماده

جدول۶. غلظت گلوکز و نیتروژن اوره‌ای پلاسمای خون گاوهای تازه‌زای هلشتاین تغذیه شده با خوراک‌های حاوی سیلاژ یونجه فاقد افزودنی و سیلاژ یونجه عمل آوری شده با اسید فرمیک و اسید سولفوریک (به ترتیب ۱۵ و ۴ میلی‌لیتر در کیلوگرم ماده خشک)

		نمونه‌گیری اول				نمونه‌گیری دوم			
		تیمار[1]				تیمار			
		۱	۲	SEM	P	۱	۲	SEM	P
گلوکز	۰[2]	۴۲/۷۲	۵۲/۴۶	۱/۴۱	< ۰/۰۱	۵۲/۹۶	۵۴/۱۷	۱/۸۹	۰/۷۷
	۲	۴۹/۴۴	۵۰/۴۷	۴/۱۸	۰/۹۱	۴۵/۹۵	۴۷/۹	۲/۶۵	۰/۷۲
	۴	۵۰/۹۶	۵۶/۱۶	۲/۷۲	۰/۳۷	۵۳/۶۴	۵۷/۶۲	۳/۱	۰/۵۴
نیتروژن غیر آمینی	۰[2]	۹/۶۶	۱۰/۲۵	۱/۴۲	۰/۶۶	۹/۴۹	۱۱/۱۱	۱/۳۵	۰/۲۳
	۲	۱۱/۰۷	۱۲/۴۴	۱/۴۱	۰/۴۴	۱۰/۹۳	۱۱/۰۴	۱/۲۸	۰/۹۳
	۴	۱۳/۲۲	۱۱/۶۵	۱/۹۲	۰/۴۰	۱۱/۲۴	۱۰/۸۴	۰/۹۸	۰/۶۸

۱. جیره حاوی سیلاژ یونجه شاهد و ۲. جیره حاوی سیلاژ یونجه عمل آوری شده با اسیدفرمیک و سولفوریک (به ترتیب ۱۵ و ۴ میلی لیتر در کیلوگرم ماده خشک).

۲. به ترتیب قبل، ۲ و ۴ ساعت پس از خوراک دهی. SEM : میانگین انحراف معیار. P : سطح احتمال معنی‌دار شدن.

خشک) در جدول ۶ نشان داده شده است. بین نیتروژن اوره‌ای پلاسمای خون بین تیمارها تفاوت معنی‌داری دیده نشد. در هر دو هفته نمونه‌گیری گلوکز خون در نمونه‌های قبل از خوراک، ۲ و ۴ ساعت پس از خوراک در دام‌های تغذیه شده با تیمار حاوی اسیدها بالاتر بود. با این حال تنها در زمان قبل از خوراک دهی در نمونه‌گیری اول این تفاوت معنی‌دار بود (P<۰/۰۱). نتیجه مشابهی توسط ناجل و برودریک (۱۴) نیز گزارش شده است. این محققین این اثر را به بالاتر بودن انرژی در خوراک‌های حاوی یونجه تیمار شده با اسید فرمیک نسبت دادند. هم‌چنین برودریک و همکاران (۸) تفاوت معنی‌داری را در گلوکز خون بین دام‌های تغذیه شده از علوفه یونجه و سیلاژ یونجه مشاهده نکردند. با وجود این در آزمایش‌های دلاور و همکاران (۲) که از جیره‌های حاوی سیلاژ یونجه حاوی اسید سولفوریک و اوره که به نسبت ۵۰:۵۰ با علوفه یونجه جایگزین شده بود و به تغذیه دام‌ها رسیده بود، تفاوت معنی‌داری در گلوکز و نیتروژن اوره‌ای خون در زمان‌های مشابه با تحقیق حاضر مشاهده ننمودند. در پایان بر اساس نتایج به‌دست آمده در این پژوهش می‌توان بیان کرد که:

۱. پژمرده سازی علوفه یونجه قبل از سیلوسازی باعث کاهش pH و بهبود ترکیب شیمیایی سیلاژ شد.
۲. استفاده از اسیدفرمیک در سیلاژ یونجه باعث کاهش تجزیه پروتئین به نیتروژن غیر پروتئینی شد.
۳. می‌توان سیلاژ یونجه پژمرده شده حاوی اسیدفرمیک و اسید سولفوریک را جایگزین ۵۰ درصد علف خشک یونجه در جیره گاوهای تازه‌زای هلشتاین نمود.

منابع مورد استفاده

۱. دانش مسگران، م. و ن. حیدریان. ۱۳۷۹. تعیین بخش‌های مختلف نیتروژن دار مواد خوراکی مورد استفاده نشخوارکنندگان در استان خراسان. مجله علوم و صنایع کشاورزی ۱۴: (۲): ۷۹-۹۱.

۲. دلاور، م. ح. و م. دانش مسگران. ۱۳۸۲. مولفه‌های شیمیایی و گوارشی (شکمبه‌ای و روده‌ای) سیلاژ یونجه عمل آوری شده با

اوره و اسید سولفوریک و تأثیر آن بر تولید و ترکیب شیر گاوهای شیرده. مجله علوم و صنایع کشاورزی ۱۷ (۲): ۲۱۹-۲۳۱

۳. سلطانی، ا. ۱۳۷۷. *کاربرد نرم افزار SAS در تجزیه‌های آماری*. انتشارت جهاد دانشگاهی مشهد.

۴. کریم، گ.، ا. د. دردشتی، و ا. ح. خلجی. ۱۳۸۰. *شیر و کیفیت آن*. انتشارات دانشگاه تهران.

۵. کریمی، ن.، م. دانش مسگران و ا. گلیان. ۱۳۸۱. تعیین ضرایب تجزیه‌پذیری مواد خوراکی و مقایسه آنها با ضرایب جداول استاندارد ARC در جیره‌نویسی گاوهای شیرده. مجله علمی و پژوهشی علوم و صنایع کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد. ۱۶ (۱): ۳۵-۴۵.

۱۶ (۱): ۳۵-۴۵.

6. Association of Official Analytical Chemists. 1984. Official Methods of Analysis. 14th ed., AOAC, Washingtown, DC.
7. Baytok, E. and H. Muriz. 2003. The effect of formic acid or formic acid plus molass additives on the fermentation quality and DM and ADF degradability of grass silage. Turkish J. Vet. and Anim. Sci. 27:425-431.
8. Broderick, G. A. 1995. Performance of lactating dairy cows fed either alfalfa silage or alfalfa hay as a sole forage. J. Dairy Sci. 78:320-329.
9. Cajarville, C., J. D'Alessandro, C. Soto, A. Curbelo and J. L. Repetto. 2003. Ruminal N degradability of fresh wilted and ensiled temperate forages. Proceeding of Br. Soc. of Anim. Science.
10. Derbyshire, J. C., C. H. Gordon and D. R.Waldo.1976. Formic acid as a silage preservative for milking cows. J. Dairy Sci. 59:278-287.
11. Derbyshire, J. C., D. R. Waldo and C. H. Gordon.1976. Performance of dairy cattle on wilted formic acid silage. J. Dairy Sci. 59:1278-1285.
12. Hristov, A. H. and S. G. Sandev. 1998. Proteolysis and rumen degradability of protein in alfalfa preserved as silage, wilted silage or hay. Anim. Feed Sci. Technol. 72:175-181.
13. Kalac, p., K. R. Price and G. R. Fenwick. 1996. Change in saponin content and composition during the ensilage of alfalfa. Food Chem. 56:377-382.
14. Nagel, S. A. and G. A. Broderick.1992. Effect of formic acid or formaldehyde treatment of alfalfa silage on nutritive utilization by dairy cows. J. Dairy Sci. 75:140-154.
15. Nelson, W. F. and L. D. Saltter. 1992. Impact of state of maturity and method of preservation of alfalfa on digestion in lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 75:1571-1580.
16. O'Keily, P., A. V. Flynn and D. B. R. Polle. 1989a. Sulphuric acid as silage preservative. 1. Silage preservation, animal performance and copper status. Irish. J. Agric. Res. 28:1-11.
17. O'Keily, P., A. V. Flynn and D. B. R. Polle. 1989b. Sulphuric acid as silage preservative. 2. Application rate, silage composition, animal performance and copper status. Irish. J. Agric. Res. 28:11.
18. Petit H. V. 1992. In situ degradability of fresh grass and grass conserved under different harvesting methods. J. Dairy Sci. 75:774-781.
19. Preston, T.R.1986. Better utilization of crop residues and by-products in animal feeding: research guide lines2. A practical manual for research workers. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), via delle Terme di Caracalla, 00100 Rome, Italy.
20. Stalling, C. C., R. Townes, B. W. Jesse and J. W. Thomass. 1981. Changes in alfalfa haylage during wilting and ensiling with and without additives. J. Anim. Sci. 53:765-773.
21. Van soest, P. J., J. B. Robertson and B. A. Lewis. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and non-starch polysaccharides in ration to animal nutrition. J. Dairy Sci. 74:3583-3597.
22. Vansant, E. S., R. C. Cohran and E. C. Titgemeyer.1998. Standardization of in situ techniques for ruminal feedstuff evaluation. J. Dairy Sci. 76:2717-2729.
23. Verbic, J., E. R. Orskov, J. Zgajnar, X. B. Chen and V. Zindrsic-Pongrac. 1999. The effect of method of forage preservation on the protein synthesis in the rumen. Anim. Feed Sci. Technol. 82:195-212.
24. Waldo, D. R. 1977. Potential of chemical preservation and improvement of forage. J. Dairy Sci. 60:306-326.
25. Waldo, D. R., J. E. Keys, J. R. and C. H. Gordon.1974. Preservation efficiency and dairy heifer response from unwilted formic and wilted untreated silage. J. Dairy Sci. 59:129-136.
26. Waldo, D. R., J. E. Keys, J. R. and C. H. Gordon.1979. Formaldehyde and formic acid as a silage additive. J. Dairy Sci. 59:229-232.
27. Wilkerson, V. A., T. J. Klopfenstein and W. W. Stroup. 1995. A collaborative study of in situ forage protein degradation. J. Anim. Sci. 73:583-588.
28. Wolfinnger, R. and M. Chang. 1996. Comparing the SAS GLM and MIXED procedures for repeated measures. SAS Institute Inc., Cary, NC.

Chemical Composition, Dry Matter and Crude Protein Degradability of Alfalfa Silage Treated With Formic and Sulphuric Acids and its Effect on Performance of Early Lactating Holstein Cows

M. Behgar, M. Danesh Mesgaran, H. Nasiri Moghadam and S. Sobhani Rad [1]

Abstract

This study was conducted to investigate the effect of formic and sulphuric acids on chemical composition, dry matter (DM) and crude protein (CP) degradability of alfalfa silage and its effect on early lactating Holstein cow as three trials. In the first trial, chopped alfalfa (22 and 33% DM) was ensiled with three levels of formic acid (0.0, 15 and 20 ml/kg DM) and two levels of sulphuric acid (0 and 4 ml/kg DM). In the second trial, DM and CP degradability coefficients of silages (Treatment 1: without acid; Treatment 2: 15 ml formic acid + 4 ml sulphuric acid per kg DM) and alfalfa hay (Treatment 3) were determined using nylon bag technique in two cannulated steers. In the third trial, silages (treatments 1 and 2) were replaced with 50% of alfalfa hay in the early lactation Holstein cow diet (11 cows, 19 ± 8 days in milk). Diets were fed for 49 days. Dry matter intake, milk production and milk composition were evaluated. Blood metabolites were determined in weeks 4 and 6. Effect of wilting on pH was significant ($p<0.05$). Quickly degradable fraction (a) of DM was similar in both silages (0.35) but was higher (0.5) for hay rather than the silages. Slowly degradable fraction (b) of DM of the acid - treated silage was higher compared with the hay (0.39 and 0.32, respectively). Fraction (a) of CP in acid treated silage was less than the control silage and hay (0.46, 0.57 and 0.57, respectively). Fraction (b) of CP in acid - treated silage was less compared with the control silage and hay (0.41, 0.28 and 0.35, respectively). There were no significant differences between the treatments on the cow's performance. However, time effect on milk fat and solid non-fat was significant ($p<0.01$). Blood glucose concentration before feeding with treatment 2 was significantly higher ($p<0.01$) than cows feeding with treatment 1.

Keywords: Fresh cows, Alfalfa silage, Formic acid, Sulphuric acid.

1. Former MSc. Student, Assoc. Prof., Prof. and Former MSc. Student of Anim Sci., Respectively, Colleg of Agric., Ferdowsi Univ., Mashhad, Iran.