

## خصوصیات شیمیایی، فراسنجه‌های تجزیه پذیری ماده خشک و پروتئین خام سیلاژ یونجه غنی شده با اسید کلریدریک و اوره و تاثیر آنها بر ویژگی‌های تولیدی گاوهای نازده زای هلشتاین

سید علی رضا وکیلی<sup>۱\*</sup>، محسن دانش مسگران<sup>۲</sup> و حسن نصیری مقدم<sup>۲</sup>

تاریخ دریافت: ۸۴/۴/۲۲

تاریخ پذیرش: ۸۶/۵/۲۰

۱- به ترتیب دانشجوی سابق دکترا و عضوی هیئت علمی گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

۲- استادان گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

E-mail: vakili\_ar@yahoo.com

\*مسئول مکاتبه

### چکیده

به منظور بررسی تاثیر اسید کلریدریک و اوره بر خصوصیات شیمیایی، تجزیه‌پذیری ماده خشک و پروتئین خام سیلاژ یونجه و همچنین مصرف آن در تغذیه گاوهای نازده زای هلشتاین، آزمایشی در سه مرحله انجام شد. در مرحله اول یونجه خرد شده با مقادیر متفاوت اسید کلریدریک (صفر، ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۰، ۱۲، ۱۴ و ۱۶ میلی لیتر به ازای یک کیلوگرم ماده خشک) و اوره (صفر، ۲/۵، ۵، ۷/۵ و ۱۰ گرم به ازای یک کیلوگرم ماده خشک) در کیسه‌های پلاستیکی سیلو شد. در مرحله دوم فراسنجه-های تجزیه‌پذیری ماده خشک و پروتئین خام سیلاژهای یونجه (تیمار ۱: سیلاژ یونجه بدون افزودنی، تیمار ۲: سیلاژ یونجه با ۵ گرم اوره + ۴ میلی لیتر اسید کلریدریک به ازای یک کیلوگرم ماده خشک، تیمار ۳: سیلاژ یونجه با ۵ گرم اوره + ۱۲ میلی لیتر اسید کلریدریک به ازای یک کیلوگرم ماده خشک) با استفاده از روش کیسه‌های نایلونی تعیین شد. مقایسه ضرایب تجزیه پذیری ماده خشک و پروتئین خام تحت تاثیر عمل آوری اسید و اوره قرار گرفت. در مرحله سوم تاثیر جایگزینی ۷۵٪ (بر مبنای ماده خشک) سیلاژ یونجه غنی شده (تیمارهای آزمایشی مرحله دوم) به جای یوچه خشک در خوراک ۱۵ راس از گاوهای نازده زای هلشتاین با میانگین روزهای شیردهی  $3 \pm 21$  روز در قالب طرح کاملاً تصادفی با روش تکرار در زمان به مدت ۴۹ روز مورد ارزیابی قرار گرفت. مصرف خوراک و تولید شیر به طور روزانه ثبت شد و نمونه گیری از شیر در طی ۴ مرحله (پایان هفته اول، سوم، پنجم و هفتم) انجام شد. علاوه بر این نمونه گیری خون در طی دو مرحله (هفته سوم و هفته آخر آزمایش) در سه زمان (قبل، ۲ و ۴ ساعت بعد از مصرف خوراک صبحگاهی) از طریق سیاهرگ گردن انجام شد. مصرف ماده خشک در گاوهایی که از تیمار سه استفاده می نمودند به طور معنی داری کمتر از سایر تیمارها بود ( $P < 0/05$ ). اثر زمان بر تولید و غلظت چربی شیر معنی دار شد ( $P < 0/05$ ). غلظت گلوکز خون (میلی گرم در دسی لیتر) در زمان های قبل (تیمار یک: ۷۱ در مقابل تیمار دو: ۷۳/۷) و ۲ ساعت (تیمار یک: ۷۰/۱ در مقابل تیمار دو: ۷۳/۶) بعد از مصرف خوراک صبحگاهی تحت تاثیر تیمارها قرار گرفت ( $P < 0/05$ ). به طور کلی نتایج این آزمایش نشان داد که استفاده از اسید کلریدریک به عنوان یک اسید معدنی و ارزان قیمت در غنی سازی سیلاژ یونجه می تواند همراه با اثرات مطلوب بر خصوصیات شیمیایی و تجزیه پذیری ماده خشک و پروتئین این علوفه تخمیری باشد.

واژه‌های کلیدی: اسید کلریدریک، اوره، تجزیه پذیری، ترکیب شیر، سیلاژ یونجه

## Chemical Composition, Dry Matter and Crud Protein Degradability Coefficients of Alfalfa Silage Treated with HCL and Urea and Their Effects on Production in Early Lactating Holstein Cows

AR Vakili<sup>1\*</sup>, M Danesh Mesgaran<sup>2</sup> and H Nassiri Moghadam<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Former Ph.D Student, Academic Member of Department of Animal Science, University of Ferdowsi, Mashad, Iran

<sup>2</sup>Professors, Department of Animal Science, University of Ferdowsi, Mashad, Iran

\*Corresponding author: [E-mail:vakili\\_ar@yahoo.com](mailto:E-mail:vakili_ar@yahoo.com)

### Abstract

The effect of chloridric acid and urea on chemical composition, dry matter (DM) and crud protein (CP) degradability coefficients of alfalfa silage and its effect on early lactating Holstein cows performance were evaluated in the one experiment with 3 trials. In the first trial, fresh alfalfa was chopped, mixed with different level of Hcl (0.0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14 and 16 ml/kg DM) and urea (0.0, 2.5, 5, 7.5, 10 g/kg DM) and ensiled in the laboratory silos. Crude protein content and pH of treated silages were not affected by the acid or urea application. In the second trial, ruminal degradability coefficients of crude protein and dry matter of some of silage were determined using nylon bag technique. The selected silages were alfalfa silage without acid and urea (T<sub>1</sub>), 4 ml/kg DM acid + 5 g/kg DM urea (T<sub>2</sub>), 5g/kg DMurea + 12 ml/kg DM acid (T<sub>3</sub>). Ruminal degradability coefficients of DM and CP influenced by the acid and urea treatment. In third trial, 15 early lactating cows (21 ± 3 dys in milk) were fed with diet containing T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub> or T<sub>3</sub> (experiment 2) that were substituted by 75% alfalfa hay in completely randomized design for seven weeks. Dry matter intake and milk yield were recorded daily. Milk samples were collected at the end of the first, 3<sup>th</sup>, 4<sup>th</sup>, 5<sup>th</sup> and 7<sup>th</sup> weeks of the experimental period. Blood samples were taken two times (on week 3 and week 7) at 0.0, 2 and 4 hours after morning feeding. The data were analyzed as repeated measures in time. Dry matter intake in cows fed T<sub>3</sub> was significantly lower than cows fed other treatments (P< 0.05). Milk yield and milk fat were affected by the time (P<0.05). Blood glucose (mg /dl) at 0.0 (T<sub>1</sub>: 71 vs. T<sub>2</sub>: 73.7 and two hours after feeding (T<sub>1</sub>: 70.1 vs. T<sub>2</sub>: 73.6) were significantly (p< 0.05) affected by the treatment. As whole the results showed that the chloridric acid as a inorganic acid and cheap in treating of alfalfa silage due to useful effects on chemical parameters and dry matter and protein degradability characteristics can be used.

**Keywords:** Alfalfa silage, Chloridric acid, Degradability, Milk composition

## مقدمه

تهیه علوفه خشک از قدیم الایام به عنوان روش سنتی نگهداری مواد علوفه‌ای مورد استفاده قرار گرفته است. اما ضرورت به تعویق انداختن برداشت علوفه تا مرحله بلوغ به منظور دستیابی به ماده خشک بیشتر، باعث پایین آمدن قابلیت هضم آن می شود. همچنین شرایط نامطلوب جوی ممکن است باعث از دست رفتن مواد مغذی و در مجموع کاهش ارزش غذایی علوفه خشک شود. یکی از روش هایی که تا حدودی وابستگی کمتری به شرایط جوی دارد و توسط دامداران برای نگهداری گیاهان به کار می رود، استفاده از فرآیند تخمیر طبیعی (سیلو کردن) علوفه است (مک دونالد 1997). تحقیق در باره سیلاژ بقولات از اهمیت ویژه ای برخوردار می باشد، چرا که سیلاژ این علوفه ها علاوه بر اینکه مقادیر بالایی از پروتئین گیاهی را برای دام فراهم می نماید (هریستو و همکاران 1996 و پیچارد و همکاران 1990)، خطر بروز نفخ را نیز کاهش می دهد (پیچارد و همکاران 1990). با وجود این، سیلو کردن بقولات به علت حجم کم کربوهیدرات های قابل تخمیر، ظرفیت بافوری بالا، رطوبت بالا و ساختار لوله ای و میان تهی آنها مشکل می باشد (مادر و همکاران 1985، ناجو و همکاران 1996، نلسون و همکاران 1996، ارسکوف و همکاران 1980 و تنی 1980) علاوه بر این سیلو کردن یونجه به تنهایی باعث تبدیل شدن 75 تا 85 درصد نیتروژن به نیتروژن غیر پروتئینی می شود. بنابراین برای رفع مشکل محافظت از علوفه های سیلو شده، استفاده از اسیدهای معدنی پیشنهاد شده است (نلسون و همکاران 1996). هدف از بکار بردن اسیدهای معدنی کاهش pH علوفه به سطحی است که از فعالیت آنزیم های گیاهی و میکروبی جلوگیری کند (مک دونالد 1997).

این پژوهش به منظور بررسی تاثیر اسید کلریدریک بر خصوصیات شیمیایی، فراسنجه های تجزیه

پذیری ماده خشک و پروتئین خام سیلاژ یونجه و همچنین استفاده از آن به جای یونجه خشک در خوراک گاوهای تازه زای هلشتاین انجام شد.

## مواد و روش ها

پژوهش حاضر در طی سه مرحله در واحد گاوداری دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد انجام گردید.

**مرحله اول:** در این مرحله، چین دوم یونجه رقم همدانی با میانگین 38 درصد ماده خشک برداشت و به کمک چاپر به قطعات 10 تا 15 سانتی متری خرد گردید. واحدهای (سیلاژها) آزمایشی (کیسه های پلاستیکی با وزن تقریبی 4/5 کیلوگرم) با مقادیر متفاوت اوره (صفر، 2/5، 5، 7/5 و 10 گرم به ازای یک کیلوگرم ماده خشک) و اسیدکلریدریک (صفر، 2، 4، 6، 8، 10، 12، 14 و 16 میلی لیتر به ازای یک کیلوگرم ماده خشک) تهیه گردیدند. برای این منظور ابتدا اوره و سپس اسید رقیق شده با آب (نسبت 1 به 4) به یونجه خرد شده اضافه شد و سپس مخلوط حاضر به صورت لایه لایه در داخل کیسه های پلاستیکی فشرده شدند. به منظور جلوگیری از نفوذ هوا به داخل کیسه، سر آن به وسیله کش و نخ بسته شد. پس از گذشت 45 روز سیلوهای آزمایشی باز شدند و محتویات هر یک از سیلاژها کاملاً با هم مخلوط شده و از هر سیلاژ تعداد 4 تکرار تهیه گردید. به منظور تعیین ماده خشک، از هر یک از سیلاژها 2 نمونه 50 گرمی تهیه شد. نمونه مورد نظر ابتدا برای مدت 24 ساعت در آون معمولی (دمای 60 درجه سانتیگراد) و سپس برای مدت 12 ساعت در آون تحت خلاء (45 تا 50 درجه سانتیگراد) قرار گرفت و سپس ماده خشک آن محاسبه گردید. علاوه بر این از هر سیلو دو نمونه 50 گرمی تهیه گردید و به هر نمونه 450 میلی لیتر آب مقطر اضافه شد. سپس به کمک مخلوطکن کاملاً خرد و با استفاده از پارچه متقال، عصاره آن تهیه شد

زنده  $10 \pm 400$  کیلوگرم) استفاده گردید. گوساله‌ها دارای فیستولای شکمبه‌ای در کیسه پشتی شکمبه بودند. هر یک از گوساله‌ها به صورت انفرادی در داخل باکس‌های ویژه نگهداری و در طول مدت آزمایش با جیره‌ای حاوی علوفه و کنسانتره به نسبت 1:1 و به صورت مخلوط دوبار در شبانه‌روز تغذیه شدند. ترکیب جیره مورد استفاده گوساله‌ها در جدول 1 آورده شده است. جیره استفاده شده حاوی 11/2 درصد پروتئین خام و 2/44 مگا کالری انرژی به ازاء هر کیلوگرم ماده خشک بود.

(کانگو همکاران 2000، ماک و همکاران 1987). سپس pH آن اندازه‌گیری شد. نمونه‌های خشک شده با آسیاب حاوی الک دو میلی متری پودر شدند و نیتروژن کل آن مطابق با AOAC (1980) و نیتروژن حقیقی و نیتروژن غیرپروتئینی (NPN) مطابق با روش لیستیرا و همکاران (1990) تعیین شد. **مرحله دوم:** به منظور تعیین فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری ماده خشک و پروتئین خام برخی از سیلاژهای آزمایشی از روش کیسه‌های نایلونی استفاده گردید. برای این منظور از 2 راس گوساله نر هشتتاین در سن 24 ماهگی (با وزن

جدول ۱- ترکیب جیره مصرفی توسط گوساله‌های استفاده شده در روش کیسه‌های نایلونی متحرک

مصرف (کیلوگرم ماده خشک در روز به ازای هر گوساله)	مواد خوراکی
۲/۵	یونجه خشک
۵	سیلاژ ذرت
۰/۵	کاه
۱/۳۳	جو
۰/۹۱۵	ذرت
۰/۲۱۰	سبوس
۰/۴۰	مکمل

کیسه در نظر گرفته شد. زمان انکوباسیون تیمارها عبارت بود از صفر، 2، 4، 8، 16، 24، 48 و 72 ساعت. کیسه‌ها در فاصله 50 سانتی‌متری از دهانه فیستوله قرار می‌گرفتند (ارسکوف و همکاران 1980). برای زمان صفر تنها از شستشوی کیسه‌ها در زیر آب جاری استفاده شد (کمتون و همکاران 1980 و ارسکوف و همکاران 1980). پس از انکوباسیون کیسه‌ها در شکمبه، کلیه کیسه‌ها در زیر آب کاملاً شستشو داده می‌شدند تا هنگامیکه آب کاملاً زلال از کیسه‌ها خارج گردید. کیسه‌ها پس از شستشو به مدت 24 ساعت در آون با دمای 70 درجه سانتی‌گراد (ون هاتالو و همکاران 1995) قرار گرفتند، تا کاملاً خشک شدند. محتویات

در این مرحله تعداد سه نمونه سیلاژ یونجه شامل یک: سیلاژ یونجه بدون افزودنی، دو: سیلاژ یونجه غنی شده با 5 گرم اوره و 5 میلی لیتر اسید کلریدریک به ازای یک کیلوگرم ماده خشک و سه: سیلاژ یونجه غنی شده با 5 گرم اوره و 12 میلی لیتر اسید کلریدریک به ازای یک کیلوگرم ماده خشک) مورد بررسی قرار گرفتند. برای هر یک از نمونه‌ها میزان 5 گرم ماده خشک به داخل کیسه‌هایی از جنس ابریشم مصنوعی ریخته شد (ون هاتالو و همکاران 1995) و کیسه‌ها با نخ مسدود شدند. کیسه‌ها دارای ابعاد  $10 \times 17$  سانتی‌متر و منافذی به قطر 44 میکرومتر بودند. برای هر تیمار و هر زمان انکوباسیون 4

آزمایش اول تجزیه شیمیایی انجام شد. علاوه بر این میزان الیاف نامحلول در شوینده خنثی (NDF) هر یک از اقلام خوراکی با روش گورینگ و ون سوست (1970) تعیین شد. در طی آزمایش، حیوانات 3 بار در روز دوشیده شدند و نمونه های شیر در چهار مرحله (بعد از پایان مرحله اول (عادت پذیری)، پایان هفته اول، پایان هفته سوم، پایان هفته پنجم و پایان هفته هفتم) تهیه شد (کالسپر و همکاران 1999). ترکیب هر یک از نمونه های شیر شامل ماده خشک، چربی و پروتئین طبق روش های استاندارد تعیین گردید (کریمی و همکاران 1381). نمونه گیری از خون حیوانات در طی دو مرحله (پایان هفته سوم پس از اعمال تیمار و پایان دوره) در زمان های صفر، 2 و 4 ساعت بعد از مصرف خوراک صبحگاهی از طریق سیاهرگ گردن انجام شد. سپس سرم خون پس از سانتریفیوژ نمونه ها (3000 دور در دقیقه به مدت 10 دقیقه) تهیه شد. میزان گلوکز و نیتروژن غیر آمینی نمونه ها با روش آنزیمی نور سنجی تعیین شد.

برای تجزیه اطلاعات مربوط به سیلاژهای آزمایشی مرحله اول از یک آزمایش فاکتوریل 5×9 با طرح پایه کاملاً تصادفی با چهار تکرار استفاده گردید.

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + B_j + AB_{ij} + e_{ijk}$$

$Y_{ijk}$  = مقدار مشاهده مورد نظر

$\mu$  = میانگین کل مشاهدات

$A_i$  = اثر اسید کلریدریک (9 سطح)

$B_j$  = اثر اوره (5 سطح)

$AB_{ij}$  = اثر متقابل اسید کلریدریک و اوره

$e_{ijk}$  = خطای آزمایش

مقایسه میانگین ها با روش دانکن در سطح احتمال 0/05 درصد انجام شد.

برای تعیین فراسنجه های تجزیه پذیری ماده خشک و پروتئین خام از مدل نمایی ارسکوف و مک دونالد (1997) استفاده شد.

این کیسه ها توزین و سپس در داخل لوله های هضم ریخته شدند و مقدار پروتئین آن به وسیله دستگاه کلدال (Kjeltec Auto 1030 Analyzer Tecator) اندازه گیری شد. داده های مربوط به ناپدید شدن ماده خشک و پروتئین خام با استفاده از مدل نمایی ارسکوف و مک دونالد (1997) تجزیه و تحلیل گردیدند.

**مرحله سوم:** در این مرحله چین آخر یونجه با 38 درصد ماده خشک برداشت و به قطعات 10 تا 15 سانتی متری خرد گردیدند و بلافاصله نمونه برداری از آنها انجام شد. سپس سه سیلوی بزرگ 5 تنی تهیه گردید. تیمارهای آزمایشی در این مرحله عبارت بودند از:

تیمار یک: سیلاژ یونجه بدون افزودنی، تیمار دو: سیلاژ یونجه حاوی 5 گرم اوره و 4 میلی لیتر اسید کلریدریک به ازای یک کیلوگرم ماده خشک. تیمار سه: سیلاژ یونجه حاوی 5 گرم اوره و 12 میلی لیتر اسید کلریدریک به ازای یک کیلوگرم ماده خشک. سیلویا پس از 50 روز باز شدند و از آنها نمونه های لازم جهت تعیین ماده خشک و pH تهیه شد. در این مرحله از آزمایش از 15 راس گاو شیرده هلشتاین (زایش دوم و سوم) که در اوائل شیردهی قرار داشتند ( $3 \pm 21$  روز پس از زایش) استفاده شد. در این مرحله حیوانات جیره هایی را مصرف کردند که تفاوت آنها جایگزینی 75 درصد یونجه خشک با هر یک از سیلاژها (تیمارها) بود. جهت تهیه جیره از سیستم ARC (1995) استفاده گردید.

گاوها به مدت 7 روز با جیره قبلی و 42 روز با جیره های آزمایشی (جدول 2) تغذیه شدند. خوراک هر روز در دو نوبت به صورت مخلوط و در حد اشتها در داخل آخورهای انفرادی در اختیار دام ها قرار گرفت و باقیمانده آن هر روز وزن شد. آب نیز به صورت آزاد در اختیار دام ها قرار داشت. در طی دوره آزمایش از تک تک اجزاء خوراک نمونه گیری به عمل آمد. در این نمونه ها مشابه با

جدول ۲- ترکیب (کیلوگرم ماده خشک به ازای هر گاو در روز) و ارزش مواد مغذی جیره های استفاده شده در مرحله سوم آزمایش در گاوهای تازه زای هلشتاین

تیمار ۳	تیمار ۲	تیمار ۱	ماده خوراکی
۲/۰۷	۲/۰۷	۲/۰۷	یونجه خشک
-	-	۴/۳۵	سیلاژ یونجه بدون افزودنی
-	۴/۳۵	-	سیلاژ یونجه غنی شده با ۵ گرم اوره و ۴ میلی لیتر اسید کلریدریک، به ازای کیلوگرم ماده خشک
۴/۳۵	-	-	سیلاژ یونجه غنی شده با ۵ گرم اوره و ۱۲ میلی لیتر اسید کلریدریک، به ازای کیلوگرم ماده خشک
۳/۳	۳/۳	۳/۳	سیلاژ ذرت
۵/۶	۵/۶	۵/۶	جو
۲/۶	۲/۶	۲/۶	ذرت
۲/۱۶	۲/۱۶	۲/۱۶	کنجاله سویا
۱/۹	۱/۹	۱/۹	تخم پنبه
۱/۷	۱/۷	۱/۷	تفاله
۱/۶	۱/۶	۱/۶	سبوس
۰/۸	۰/۸	۰/۸	کنجاله تخم پنبه
۰/۰۵	۰/۰۵	۰/۰۵	دی کلسیم فسفات
۰/۰۳۵	۰/۰۳۵	۰/۰۳۵	آهک
۰/۰۶	۰/۰۶	۰/۰۶	نمک
۰/۱۷	۰/۱۷	۰/۱۷	مکمل مواد معدنی و ویتامینی*
			مواد مغذی
۱۸۲	۱۸۲	۱۸۲	پروتئین خام (گرم در کیلوگرم ماده خشک)
۱۱/۷	۱۱/۷	۱۱/۷	انرژی قابل متابولیسم (مگا ژول به ازای کیلو گرم ماده خشک)
۱۰/۱	۱۰/۱	۱۰/۱	انرژی قابل متابولیسم قابل تخمیر (مگا ژول به ازای کیلو گرم ماده خشک)
۲۴۹	۲۴۹	۲۴۹	نشاسته (گرم در کیلوگرم ماده خشک)
۳۳۴	۳۳۴	۳۳۴	الیاف نامحلول در شوینده خشی (گرم در کیلوگرم ماده خشک)
۱۶۰	۱۶۰	۱۶۰	الیاف نامحلول در شوینده اسیدی (گرم در کیلوگرم ماده خشک)
۰/۶	۰/۶	۰/۶	نسبت پروتئین تجزیه پذیر به کل پروتئین خام
۲۱۵۵	۲۱۵۵	۲۱۵۵	پروتئین مقابل تجزیه موثر در شکمبه (گرم در روز به ازای گاو)
۱۲۳۸	۱۲۳۸	۱۲۳۸	پروتئین عبوری قابل هضم (گرم در روز به ازای گاو)

\* ترکیب مکمل مواد معدنی و ویتامینی: کلسیم، ۱۹۶ گرم / کیلوگرم؛ فسفر، ۹۶ گرم / کیلوگرم؛ منیزیم، ۱۹ گرم / کیلوگرم؛ آهن، ۳ گرم / کیلوگرم؛ سدیم، ۷۱ گرم / کیلوگرم؛ مس، ۰/۳ گرم / کیلوگرم؛ منگنز، ۰/۲ گرم / کیلوگرم؛ روی، ۰/۳ گرم / کیلوگرم؛ کبالت، ۰/۱ گرم / کیلوگرم؛ ید، ۰/۱ گرم / کیلوگرم؛ سلنیوم، ۰/۱ گرم / کیلوگرم؛ ویتامین آ، ۵۰۰/۰۰۰ واحد بین المللی / کیلوگرم؛ ویتامین د، ۱۰۰/۰۰۰ واحد بین المللی / کیلوگرم؛ ویتامین ای، ۱۰۰ واحد بین المللی / کیلوگرم.

## تجزیه آماری داده ها

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

P = پتانسیل تجزیه پذیری

a = بخش سریع تجزیه

b = بخش کند تجزیه

c = نرخ ثابت تجزیه پذیری

t = مدت زمان قراردادن نمونه در شکمبه

تجزیه آماری فراسنجه های به دست آمده به صورت ذیل می باشد:

هرگاه میانگین  $\hat{\mu}$  معیار خطا یک تیمار از میانگین  $\hat{\mu}$  معیار خطا تیمار دیگر بزرگتر باشد اختلاف آنها معنی دار لحاظ گردید ( $P < 0/05$ ).

تجزیه آماری مربوط به مصرف خوراک، تولید و ترکیب شیر در مرحله سوم آزمایش (داده های به دست آمده از تغذیه گاو های شیرده) با روش تکرار در زمان (اسپلیت پلات در زمان) صورت گرفت (کالسچرو همکاران 1999). تمامی اطلاعات جمع آوری شده در هفته اول آزمایش که دام ها با خوراک قبل از آزمایش تغذیه می شدند در برابر سایر هفته ها به صورت کواریت تصحیح شد. مدل آماری این آزمایش به صورت زیر بود.

خطای باقیمانده + تیمار × هفته های شیردهی + تکرار در جیره (گاو(تیمار)) + جیره + کواریت = صفت مورد ارزیابی در این مدل تکرار در جیره به صورت تصادفی به عنوان منبع خطا برای تست جیره ها مورد استفاده قرار گرفت (کالسچرو همکاران 1999). داده های مربوط به متابولیت های خون در هر زمان نمونه برداری در قالب طرح کاملاً تصادفی تجزیه آماری گردید.

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + e_{ijk}$$

تجزیه تحلیل داده ها با استفاده از روش ترکیبی ( Mix procedure) نرم افزار SAS (1999) انجام گرفت. مقایسه

میانگین ها با روش دانکن در سطح احتمال 5 درصد انجام شد.

## نتایج و بحث

**مرحله اول:** اثرات اصلی اوره و اسید کلریدریک بر خصوصیات شیمیایی سیلاژ یونجه به ترتیب در جداول 3 و 4 آورده شده است.

بررسی اثر اصلی اوره (جدول 3) نشان می دهد که افزایش مقادیر اوره از 5 به 10 گرم باعث افزایش pH شده است ( $P < 0/05$ ). نتایج این آزمایش یافته های قبلی مبنی بر افزایش pH در اثر کاربرد اوره در عمل آوری سیلاژ یونجه را تایید می نماید (تنی و همکاران 1980). علاوه بر این نتایج حاصل از این آزمایش، با یافته های دلاور و دانش مسگران (1380) مطابقت دارد. دلیل اصلی کاهش pH در استفاده از 5 گرم اوره در مقایسه با صفر گرم مشخص نشد اما تفاوت در ماده خشک، نوع و میزان کربوهیدرات های محلول می تواند در بروز این نتیجه موثر باشد (مک دونالد و همکاران 1997 و تنی و همکاران 1980). اسید کلریدریک تاثیر معنی داری بر pH سیلاژهای آزمایشی نداشت ( $P > 0/05$ ). استفاده از اسیدهای معدنی به عنوان موادی که از شدت تخمیر در سیلاژها ممانعت می نمایند و باعث کاهش pH می گردند توسط سایر محققان پذیرفته شده است (مک دونالد و همکاران 1997 و نگل و همکاران 1996). شاید دلیل معنی دار نشدن نتایج حاصل از این آزمایش در مقایسه با نتایج دیگر در میزان ماده خشک یونجه سیلو شده باشد. چرا که افزایش سطح ماده خشک علوفه باعث افزایش pH سیلاژ می گردد (مک دونالد و همکاران 1997). علاوه بر این عدم مخلوط شدن صحیح اسید و اوره با یونجه و یا از دست رفتن آنها در طول سیلو شدن می تواند در نتایج تاثیر بگذارد. تفاوت معنی داری بین پروتئین خام سیلاژهای آزمایشی در ارتباط با

مقادیر مختلف اوره مشاهده نشد ( $P > 0/05$ ). به طور کلی عمل آوری علوفه‌هایی با کیفیت پائین با اوره موجب افزایش غلظت پروتئین خام آنها می‌گردد. ولی در مورد علوفه‌های با کیفیت، همانند یونجه، این مساله اهمیت کمتری دارد ولی به هر حال میزان پروتئین خام را افزایش می‌دهد (لاینز و همکاران 1996).

جدول ۳- اثرات اصلی اوره بر ترکیب سیلاژ یونجه در مرحله اول آزمایش

مولفه‌های شیمیایی	سطوح اوره (گرم در کیلو گرم ماده خشک)			
	SEM*	۱۰	۵	صفر
pH	۰/۴۹	۵/۴۳ <sup>a</sup>	۴/۶۸ <sup>b</sup>	۵/۶ <sup>a</sup>
پروتئین خام (گرم در کیلوگرم)	۳۸	۲۲۴	۲۰۰	۱۶۸/۲
نسبت نیتروژن غیر پروتئینی به پروتئین خام	۰/۱۰	۰/۵۵	۰/۵۸	۰/۳۹
الیاف نامحلول در شوینده خنثی (درصد)	۱/۷۱ <sup>b</sup>	۴۳/۲ <sup>a</sup>	۳۹/۳	-**

SEM\*: معیار خطای میانگین

a, b, c: در هر ردیف میانگین‌هایی که حروف متفاوت دارند دارای اختلاف معنی داری هستند.

\*\* : داده‌های مربوط به این بخش موجود نمی‌باشد.

جدول ۴- اثرات اصلی اسید کلریدریک بر ترکیب شیمیایی سیلاژ یونجه در مرحله اول آزمایش

مولفه‌های شیمیایی	سطوح اسید کلریدریک (میلی لیتر در کیلو گرم ماده خشک)					
	SEM*	۱۶	۱۲	۸	۴	صفر
pH	۰/۳۳	۵/۴	۴/۹	۵	۴/۹	۵/۶
پروتئین خام (گرم در کیلوگرم)	۱۷/۱۶	۱۶۷	۱۹۹	۲۰۱	۱۹۶	۱۶۸
نسبت نیتروژن غیر پروتئینی به پروتئین خام	۰/۱۲	۰/۴۲	۰/۵۸	۰/۶۲	۰/۶۴	۰/۳۹
الیاف نامحلول در شوینده خنثی (درصد)	۱/۰۹	-	۴۲	۴۲	۴۰	-**

SEM\*: معیار خطای میانگین

\*\* : داده‌های مربوط به این بخش موجود نمی‌باشد.

پروتئین سیلاژ افزایش می‌یابد. نتایج این آزمایش (جدول 3) نشان داد که با افزایش مقدار اوره، نسبت نیتروژن غیر پروتئینی به پروتئین خام افزایش می‌یابد، اما این اثر معنی دار نیست. نتایج این آزمایش (جدول 4) نشان داد که افزودن اسید، بر نسبت نیتروژن غیر پروتئینی به پروتئین خام سیلاژهای آزمایشی اثر معنی داری نداشته است

بررسی اثرات اسید کلریدریک (جدول 4) بر میزان پروتئین خام سیلاژها، بیانگر عدم تاثیر معنی‌دار اسید بر پروتئین خام سیلاژهای آزمایشی بود. در سایر تحقیقات نشان داده شده است که افزودن اسید از طریق کاهش pH، از تجزیه پروتئین به ترکیبات نیتروژنه غیر پروتئینی جلوگیری می‌نماید (لاینز و همکاران 1996). در نتیجه بازدهی استفاده از

افزایش مقدار اوره باعث افزایش معنی دار ( $P > 0/05$ ). فراسنجه های تجزیه پذیری ماده خشک و پروتئین خام سیلاژهای یونجه در جدول 5 نشان داده شده است.

جدول ۵- فراسنجه های تجزیه پذیری ماده خشک و پروتئین خام سیلاژهای یونجه (میانگین  $\pm$  معیار خطا)

شماره تیمار <sup>۱</sup>	فراسنجه های تجزیه پذیری ماده خشک <sup>۲</sup>			فراسنجه های تجزیه پذیری پروتئین خام <sup>۲</sup>		
	a	b	c	a	b	c
یک	۰/۳۲±۰/۱۸	۰/۳۷±۰/۳۹	۰/۰۵±۰/۰۱	۰/۵۵±۰/۰۲	۰/۲۵±۰/۰۴	۰/۰۵±۰/۰۲
دو	۰/۳۷±۰/۲۲	۰/۲۹±۰/۰۳	۰/۰۷±۰/۰۲	۰/۶۴±۰/۰۲	۰/۱۲±۰/۰۲	۰/۰۸±۰/۰۴
سه	۰/۴۳±۰/۰۲	۰/۳۹±۰/۰۴	۰/۰۶±۰/۰۱	۰/۶۷±۰/۰۱	۰/۲۳±۰/۰۳	۰/۰۵±۰/۰۲

<sup>۱</sup> تیمار یک: سیلاژ یونجه بدون افزودنی

تیمار دو: سیلاژ یونجه حاوی ۵ گرم اوره و ۴ میلی لیتر اسید کلریدریک، به ازای کیلوگرم ماده خشک.

تیمار سه: سیلاژ یونجه حاوی ۵ گرم اوره و ۱۲ میلی لیتر اسید کلریدریک، به ازای کیلوگرم ماده خشک.

<sup>a</sup>: بخش سریع تجزیه

b: بخش کند تجزیه

c: نرخ ثابت تجزیه پذیری

سیلاژ فاقد اسید و اوره (تیمار 1) است، ولی ضریب b در سیلاژ بدون اسید و اوره بیشتر است. از طرفی ضریب c در تیمار دارای اسید و اوره بیشتر است. ضریب a (بخش سریع تجزیه) در سیلاژهای حاوی اسید کلریدریک بیشتر بود که شاید بتوان آن را مربوط به اثر ممانعت کنندگی اسید بر تداوم تخمیر هوازی و مضر دانست (مک دونالد و همکاران 1997).

مرحله سوم: نتایج حاصل از تاثیر جیره های آزمایشی بر مصرف خوراک، تولید و ترکیب شیر و متابولیت های خون گاوهای شیرده در جدول های 6 و 7 نشان داده شده است. میزان ماده خشک مصرفی (جدول 6) به طور معنی داری تحت تاثیر تیمارها قرار گرفت و در تیمار 2 بیشترین مقدار بود ( $P < 0/05$ ). علت آنرا می توان بهبود کیفیت خوراک دانست که توانسته است مواد مغذی را به اندازه کافی تامین نماید. با وجود این در تیمار 3 کاهش معنی داری در

از مقایسه ضرائب تجزیه پذیری ماده خشک (میانگین  $\hat{1}$  معیار خطا) چنین بر می آید که بخش سریع تجزیه (a) در سیلاژهای حاوی اسید و اوره (تیمارهای 2 و 3) بیشتر از تیمار بدون اسید و اوره (تیمار 1) است، ولی ضریب کند تجزیه (b) در سیلاژ فاقد اسید و اوره (تیمار 1) نسبت به تیمار 2 بیشتر بود. از طرفی ثابت نرخ تجزیه پذیری (c) ماده خشک در تیمارهای دارای اسید و اوره (تیمارهای 2 و 3) بیشتر بود که شاید این امر به خاطر خاصیت تجزیه کنندگی اسید باشد. به طور کلی نتایج بدست آمده نشان داد که ماده خشک سیلاژ یونجه عمل آوری شده با اسید و اوره در مقایسه با سیلاژ یونجه بدون اسید و اوره دارای قابلیت تجزیه پذیری بیشتری است. شاید دلیل این امر مربوط به نقش اسید در حفظ مواد سهل التخمیر و نقش اوره در افزایش ازت آمونیاکی باشد. از مقایسه ضرایب تجزیه پذیری پروتئین خام چنین بر می آید که ضریب a در سیلاژ دارای اسید و اوره (تیمارهای 2 و 3) بیشتر از

جدول ۶- تولید و ترکیب شیر گاوهای تازه زای هلشتاین تغذیه شده با خوراک های حاوی مخلوط یونجه خشک و سیلاژ یونجه در مرحله سوم آزمایش

موضوع	تیمارها <sup>*</sup> (میانگین کل دوره)	اثر تیمار	اثر زمان
	یک	دو	سه
	SEM**	سطح احتمال معنی دار شدن	SEM
	سطح احتمال معنی دار شدن	سطح احتمال معنی دار شدن	سطح احتمال معنی دار شدن
ماده خشک مصرفی (کیلوگرم در روز)	۲۱/۲۷ <sup>b</sup>	۲۲/۲۵ <sup>a</sup>	۲۰/۱۴ <sup>c</sup>
تولید شیر (کیلوگرم در روز)	۳۸/۸۲ <sup>b</sup>	۴۱/۲۵ <sup>a</sup>	۴۱/۳۲ <sup>a</sup>
چربی شیر (کیلوگرم در روز)	۳۵/۰۶ <sup>b</sup>	۳۴/۳۲ <sup>c</sup>	۳۷/۷۴ <sup>a</sup>
پروتئین شیر (کیلوگرم در روز)	۳۵/۳۹	۳۴/۳۸	۳۲/۶۳
ماده خشک شیر (کیلوگرم در روز)	۱۱۹/۸۳	۱۱۵/۱۴	۱۱۵/۰۶
	۲/۷۳	۰/۹۵	۰/۲۸
	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۱۴
	۰/۰۴	۰/۹۵	۰/۰۹
	۰/۰۰۵	۰/۶۹	۰/۱۳
	۰/۱۴	۰/۳۵	۰/۰۷
	۰/۴۴	۰/۹۵	۰/۳۴

\* تیمار یک: سیلاژ یونجه بدون افزودنی

تیمار دو: سیلاژ یونجه حاوی ۵ گرم اوره و ۴ میلی لیتر اسید کلزیدریک، به ازای کیلو گرم ماده خشک.

تیمار سه: سیلاژ یونجه حاوی ۵ گرم اوره و ۱۲ میلی لیتر اسید کلزیدریک، به ازای کیلو گرم ماده خشک.

a, b, c: در هر ردیف میانگین هایی که حروف متفاوت دارند دارای اختلاف معنی داری هستند.

جدول ۷- غلظت گلوکز خون (میلی گرم در دسی لیتر) و غلظت نیتروژن غیر آمینی خون (میلی گرم در دسی لیتر) گاوهای تازه زای هلشتاین تغذیه شده با خوراک های حاوی مخلوط یونجه خشک و سیلاژ یونجه در مرحله سوم آزمایش

زمان نمونه برداری پس از خوراک صبحگاهی (ساعت)	متابولیت خون	تیمارها <sup>*</sup> (میانگین کل دوره)	اثر تیمار
	گلوکز	یک	دو
		سه	SEM**
		سطح احتمال معنی دار شدن	سطح احتمال معنی دار شدن
صفر	۷۱ <sup>b</sup>	۶۷/۸ <sup>c</sup>	۷۳/۷ <sup>a</sup>
دو	۷۰/۱ <sup>b</sup>	۶۹/۸ <sup>c</sup>	۷۳/۶ <sup>a</sup>
چهار	۶۹/۹	۶۹/۱	۷۱/۸
صفر	نیتروژن غیر آمینی خون	۱۶	۱۵/۴
دو		۱۶/۷	۱۵/۵
چهار		۱۵/۳	۱۵/۲
		۱۵/۲	۰/۸۳
		۱۵/۱	۰/۷۵
		۱۵/۲	۰/۷۹
		۱۵/۱	۰/۱۵۸
		۱۵/۲	۰/۱۳۷
		۱۵/۳	۰/۴۵۱۵
		۱۵/۴	۰/۷۴۴۶
		۱۵/۵	۰/۲۹۸۹
		۱۵/۳	۰/۹۹۴۷

تیمار یک: سیلاژ یونجه بدون افزودنی

تیمار دو: سیلاژ یونجه حاوی ۵ گرم اوره و ۴ میلی لیتر اسید کلزیدریک، به ازای کیلو گرم ماده خشک.

تیمار سه: سیلاژ یونجه حاوی ۵ گرم اوره و ۱۲ میلی لیتر اسید کلزیدریک، به ازای کیلو گرم ماده خشک.

SEM\*\*: معیار خطای میانگین

a, b, c: در هر ردیف میانگین هایی که حروف متفاوت دارند دارای اختلاف معنی داری هستند.

داری مشاهده نشد. اثر زمان بر تولید شیر معنی دار بود ( $P < 0/05$ ). غلظت چربی شیر (گرم بر کیلوگرم) به طور معنی داری تحت تاثیر تیمارها قرار نگرفت. چربی شیر تحت تاثیر معنی دار زمان نمونه گیری قرار گرفت ( $P < 0/05$ ). غلظت پروتئین خام شیر (گرم بر کیلوگرم)

استفاده از ماده خشک مشاهده شد. اثر زمان بر میزان ماده خشک مصرفی معنی دار بود ( $P < 0/05$ ) که احتمالاً علت آن نزدیک شدن گاوها به اوج مصرف ماده خشک است. بین تیمارهای مختلف از نظر تاثیر بر تولید شیر روزانه گاوها (کیلوگرم در روز) (جدول 6) اختلاف معنی

شده است. این نتایج نشان داد که استفاده از سیلاژ یونجه هیچگونه اثر سویی بر سلامت فیزیولوژیکی حیوان به لحاظ مهمترین متابولیت خون (نیتروژن غیر آمینی) ندارد. میزان گلوکز خون گاوهایی که از تیمار 3 استفاده می نمودند در زمان صفر و دو ساعت بعد از خوراک صبحگاهی به طور معنی داری ( $P < 0/05$ ) بیش از سایر حیوانات بود. به نظر می رسد که استفاده از مقادیر زیاد اسید کلریدریک برای غنی سازی سیلاژ یونجه باعث بهبود کیفیت و کمیت کربوهیدراتهای این علوفه های تخمیری به لحاظ تامین پیش ساز گلوکز در بدن حیوان می گردد. به طور کلی نتایج این آزمایش نشان داد که استفاده از اسیدکلریدریک به عنوان یک اسید معدنی و ارزان قیمت در غنی سازی سیلاژ یونجه می تواند همراه با اثرات مطلوب بر خصوصیات شیمیایی و تجزیه پذیری ماده خشک و پروتئین این علوفه تخمیری باشد. از سوی دیگر از آنجائیکه هیچ گونه اختلاف معنی داری بین تولید و ترکیب شیر گاوها در مرحله سوم آزمایش ملاحظه نگردید، می توان از سیلاژ یونجه مطابق با مقادیر استفاده شده در این آزمایش بدون هیچ تاثیر مضر آن بر تولید و ترکیب شیر استفاده نمود.

(جدول 6) به طور معنی دار تحت تاثیر تیمارها قرار نگرفت. اگر چه افزودن اسید با جلوگیری از تجزیه منابع پروتئینی باعث افزایش و بهبود کیفیت پروتئین خام سیلاژ گردید، اما هیچگونه اثر معنی داری بر تولید پروتئین شیر گاوها نداشت. یکی از عوامل موثر بر غلظت پروتئین شیر، میزان کربوهیدراتهای قابل تخمیر خوراک است (دلاور و دانش مسگران 1380). به نظر می رسد که سیلو کردن یونجه با اوره و اسید کلریدریک باعث حفظ کربوهیدرات های آن در مقایسه با یونجه خشک می شود. از آنجایی که در این آزمایش جیره ها یکسان بودند و تنها اختلاف آنها نوع سیلاژ یونجه مورد استفاده از نظر مقدار اسید و اوره بود، از این رو عدم تفاوت معنی دار پروتئین شیر بین تیمارهای آزمایشی امری طبیعی است. علاوه بر این غلظت پروتئین شیر به طور معنی دار تحت تاثیر زمان نمونه گیری هم قرار نگرفت. غلظت ماده خشک شیر (گرم بر کیلوگرم) به طور معنی داری تحت تاثیر تیمارها و زمان نمونه گیری قرار نگرفت.

غلظت نیتروژن غیر آمینی خون (میلی گرم در دسی لیتر) در نمونه های گرفته شده در زمان های قبل، 2 و 4 ساعت بعد از خوراک صبحگاهی در جدول 7 نشان داده

#### منابع مورد استفاده

دلاور م و دانش مسگران م، 1380. تعیین مولفه های شیمیایی، گوارشی (شکمبه ای و روده ای) سیلاژ یونجه عمل آوری شده با اوره و اسیدسولفوریک و تأثیر آن بر تولید و ترکیب شیر گاوهای شیرده. مجله علمی - پژوهشی علوم و صنایع کشاورزی. دانشگاه فردوسی مشهد. جلد 17، شماره 2، صفحه های 219 تا 231.

کریمی ن، دانش مسگران م و گلین الف، 1381. تعیین ضرائب تجزیه پذیری مواد خوراکی و مقایسه آنها با ضرائب جداول استاندارد AFRC در تغذیه گاوهای شیرده هلشتاین. مجله علمی - پژوهشی علوم و صنایع کشاورزی. دانشگاه فردوسی مشهد. جلد 16، شماره 1، صفحه های 35 تا 44.

AFRC, 1995. Energy and protein requirements of ruminants. An Advisory Manual Prepared by the AFRC Technical Committee on Response to Nutrients. G. Alderman, in Collaboration with BR Cottrill. CAB International, Wallingford, UK.

- Association of Official Analytical Chemists. 1980. Official Methods of Analysis. 13th ed. AOAC, Washington, DC.
- Goering HK and Van Soest PJ, 1970. Forage fiber analysis.(Apparatus, Reagents. Procedures and some Application). Agric. Handbook. No. 379. USDA-ARS, Washington, DC.
- Hristov AN and Broderick GA, 1996. Synthesis of microbial protein in ruminally cannulated cows fed alfalfa silage, alfalfa hay or corn silage. J Dairy Sci 79: 1627-1637.
- Kalscheur KF, Vandersall JH, Erdman RA, Kohn RA and Russel K-cohen E, 1999. Effect of dietary crude protein concentration and degradability on milk production response to early, mid and late lactation dairy cows. J Dairy Sci 82: 545-554.
- Kemton TJ, 1980. The use of nylon bag to characterize the potential degradability of feeds for ruminants. Tropical Anim Prod 5: 107-116.
- Kung, LJr, Robinson JR, Ranjit NK, Chen JH, Golt CM and Pesek JD, 2000. Microbial populations, fermentation end-products, based preservative. J Dairy Sci 83: 1479-1486.
- Licitra G, Hernandez TM and Van soest PJ, 1990. Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feed. J Anim Feed Sci Technol 57: 347-358.
- Lines, LW, Koch ME and Weiss WP, 1996. Effect of ammoniation on the chemical composition of alfalfa hay baled with varying concentrations of moisture. J Dairy Sci 19: 2000-2004.
- Mader TL, Britton RA, Krause VE and Pankaskie DE, 1985. Effect of additive on alfalfa silage fermentation characteristic and feedlot performance of steers. J Dairy Sci 68: 1744-1747.
- McDonald P, Henderson AR and Heron SJE, 1997. The biochemistry of silage. Second edition. Chalcombe Publications. UK.
- Muck RE, 1987. Dry matter effect on alfalfa silage quality. I. Nitrogen transformations. Transaction of the ASAE 30 (1): 4-7.
- Nadeau EMG, Buxton DR, Linogreh E and Lingvall P, 1996. Kinetics of cell-wall digestion of orchardgrass and alfalfa silages treated with cellulase and formic acid. J Dairy Sci 79: 2207-2216.
- Nagel SA and Broadric GA, 1992. Effect of formic acid or formaldehyde treatment alfalfa silage on nutrient utilization by dairy cows. J Dairy Sci 75: 140-154.
- Nelson ML and Bozich MJ, 1996. Effect of storage temperature on fiber content of fresh and ensiled alfalfa. J Dairy Sci 79: 1689-1693.
- Ørskov ER, Praser C and McDonald P, 1979. 1. Digestion of concentration in sheep. 2. The effect of urea or fish meal supplementation of barely diet on the apparent digestion of protein, fat,

starch, and ash in the rumen, small intestinal and large intestine, and calculation of volatile fatty acid production. *British J Nutr* 25: 243.

Ørskov ER, Deb hoveell FD and Mould F, 1980. The use of the nylon bag technique for the evolution of feed stuffs. *J Tropical Anim Prod* 5:195-213.

Pichard G, Bas F, Theoporou M, Hagreaves A, Scarpa J, Bianco A and Bruni MA, 1990. Effects of silage conservation on the protein status of forages and ruminal fermentation kinetics. [www.conicyt.cl/cgi-bin/AT-bibfonsearch.cgi](http://www.conicyt.cl/cgi-bin/AT-bibfonsearch.cgi).

SAS Institute, 1999. *SAS /STAT Users Guide (Release 8.2)*. SAS Inst, Inc., Cary, NC,

Thenney ML, Duhaime DJ, Jenkins and Ruppel CA, 1980. Microbial and chemical additives in alfalfa-timothy silage. *J Dairy Sci* 63: 587-593.

Van Hatalo A, Aronen I, Varvikko T, 1995. Intestinal nitrogen digestibility of heat-moisture treated means as assessed by the mobile bag method in cows. *Anim Feed Sci Technol* 55: 139-152.