

## ترکیب شیمیایی، تجزیه پذیری 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 سبجانی‌راد<sup>۱</sup>

### 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 و ۲۰ میلی‌لیتر در کیلوگرم ماده خشک) و اسید سولفوریک (صفر و ۴ میلی‌لیتر در کیلوگرم ماده خشک) و دو مقدار ماده خشک (۲۲ و ۳۳ 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  $8 \pm 19$ ) 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 ( $P < 0/05$ ). 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 پایین تر بود (به ترتیب ۰/۴۶، ۰/۵۷ و ۰/۵۶). بخش (b) پروتئین خام در سیلاژ حاوی اسید در مقایسه با سیلاژ شاهد و علف 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 به صورت درجه دوم معنی‌دار شد ( $P < 0/01$ ). گلوکز خون در زمان قبل از خوراک‌دهی در هفته چهارم آزمایش در دام‌های تغذیه شده با تیمار دو بیشتر از تیمار یک بود ( $P < 0/01$ ).

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

### مقدمه

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

در مناطقی که به‌دلیل شرایط آب و هوایی امکان خشک کردن علف به‌فراهم نمی‌باشد، تهیه سیلو در مقایسه با خشک کردن علف‌ها به عنوان روشی مناسب شناخته شده است (۲۰). خشک کردن یونجه در مزرعه باعث از دست رفتن مواد مغذی

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 به صورت 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 شده یونجه باعث کاهش pH آن و در نتیجه بهبود شرایط سیلاژ می‌گردد. سیلاژ یونجه حاوی اسید فرمیک دارای pH پایین تر و هم‌چنین نیتروژن غیرپروتئینی کمتری نسبت به علف سیلاژ یونجه بدون اسید بود (۲۳، ۱۴ و ۲۴). 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 و ۲۳). 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

### مرحله اول

در این مرحله از آزمایش، یونجه چین سوم با میانگین ماده خشک ۲۲ درصد برداشت شده و به کمک چابر 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 و ۴ 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 ۰/۱ 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

هفته دوره عادت پذیری را سپری کردند و سپس به مدت ۷ هفته با خوراکی‌های 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 به صورت روزانه ثبت شد و از شیر برای تعیین ماده خشک، چربی، پروتئین، لاکتوز و مواد جامد فاقد چربی به صورت 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 میکرواسکن (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 - 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 اندازه‌گیری 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

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  $20 \pm 380$ ) 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  $9 \times 18/5$  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 و ۷۲ 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، ۸ و ۱۶ 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 آزمایش از ۱۱ راس گاو تازه‌زای هلشتاین (متوسط وزن  $20 \pm 690$ ) چند شکم زایش (متوسط ۳ شکم زایش) با متوسط روزهای شیردهی  $8 \pm 19$  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 و ۶ 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

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

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

۱. هر یک از سیلاژهای یونجه تیمار ۱ و ۲ به مقدار ۵۰ درصد 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:

$i = 1, 2, 3$

$A_i$  = اثر اسید فرمیک

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

$Y_{ijk}$  = مقدار مشاهده مورد نظر

$\mu$  = میانگین کل مشاهدات

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

$$Y_{ijk} = \text{عملکرد هر راس دام}$$

$$\mu = \text{میانگین کل مشاهدات اجتماع}$$

$$D_i = \text{اثر جیره} \quad i = 1, 2$$

$$W_j = \text{اثر هفته} \quad j = 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7$$

$$C_k(i) = \text{اثر دام در جیره مورد نظر} \quad k = 1, 2, 3, 4, 5, 6$$

$$D_i W_j = \text{اثر متقابل جیره و هفته}$$

$$B = \text{ضریب تابعیت کوورایت تولید و ترکیبات شیر در هفته}$$

$$\text{اول در برابر سایر هفته‌ها}$$

$$E_{ijk} = \text{واریانس باقی مانده}$$

$$B_j = \text{اثر اسید سولفوریک} \quad j = 1, 2$$

$$C_k = \text{اثر ماده خشک یونجه} \quad k = 1, 2$$

$$A_i \times B_j \times C_k = \text{اثر متقابل اسید فرمیک و اسید سولفوریک و}$$

$$\text{ماده خشک}$$

$$E_{ijk} = \text{واریانس باقی مانده}$$

## ۲. تجزیه داده‌های مرحله دوم

فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری ماده خشک و پروتئین خام با استفاده

از مدل ارسکف و مک‌دونالد تعیین شد (۱۸).

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

$$P = \text{پتانسیل تجزیه پذیری}$$

$$a = \text{بخش سریع تجزیه در زمان}$$

$$b = \text{بخش کند تجزیه در زمان}$$

$$c = \text{ثابت نرخ تجزیه پذیری}$$

$$t = \text{مدت زمان قرار دادن نمونه در شکمبه}$$

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 جمع آوری 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.

## 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 ( $P < 0.01$ ). این اثر احتمالاً به‌واسطه کاهش

ظرفیت بافری در خلال پژمرده‌سازی و کاهش آمونیاک و آمین‌ها

می‌باشد. با وجود این وریک 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 کاهش 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 (۱۶ و ۱۷). 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

(۱۱ و ۲۳). 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 بونجه با ماده خشک متفاوت و عمل آوری شده با اسید فرمیک و اسید سولفوریک

P	اسید سولفوریک (میلی لیتر در کیلوگرم ماده خشک)		اسید فرمیک (میلی لیتر در کیلوگرم ماده خشک)		ماده خشک (درصد)								
	SEM	۰/۴	صفر	SEM	۱۵	صفر	SEM	۲۲	۲۳	۲۲			
۰/۳۲	۰/۱۴	۵/۳۲	۵/۱۲	۰/۱۱	۰/۱۷	۴/۹۲	۵/۴۵	۵/۲۹	۰/۰۲	۰/۱۴	۴/۹۵	۵/۵۰	pH
۰/۶۲	۴/۷۸	۱/۸۲/۶	۱/۸۶/۰	۰/۵۶	۵/۸۵	۱/۸۹/۵	۱/۸۱/۱	۱/۸۲/۴	۰/۵۰	۴/۷۷	۱/۸۷	۱/۸۲	پروتئین خام (گرم در کیلوگرم)
۰/۲۷	۰/۴۲	۱/۵	۱/۷	۰/۵۸	۰/۵۲	۱/۷	۱/۶۴	۹/۹۰	۰/۱۵	۰/۴۲	۱/۷	۱/۵۷	نیترژن غیر پروتئینی (گرم در کیلوگرم)
۰/۸۶	۳/۳۹	۱۲/۰/۵	۱۱۹/۶	۰/۶۲	۴/۱۵	۱۲۲/۷	۱۱۶/۹	۱۲۰/۶	۰/۸۰	۳/۳۹	۱۱۹/۵	۱۲۰/۷	پروتئین حقیقی (گرم در کیلوگرم)
۰/۴۵	۰/۹۱	۱/۴/۱	۱۳/۱	۰/۱۸	۱/۱۲	۱۱/۸	۱۴/۷	۱۴/۳	۰/۷۲	۰/۹۱	۱۳/۴	۱۳/۹	نیترژن آمونیاکی (میلی گرم در دسی لیتر)
۰/۴۵	۴/۴۹	۴۴۳/۳	۴۳۸/۳	۰/۵۰	۵/۴۹	۴۳۷/۵	۴۴۶/۳	۴۳۸/۸	۰/۳۱	۴/۴۹	۴۳۷/۵	۴۴۴/۲	دیواره سلولی * (گرم در کیلوگرم)

SEM: میانگین انحراف معیار

P: سطح احتمال معنی دار شدن

\*: الیاف نامحلول در شوینده خنثی

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

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

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

در سیلاژها مشابه یکدیگر (۰/۳۵) و کمتر از علف خشک یونجه (۰/۵) بود. در حالی که بخش کند تجزیه (b) در سیلاژ حاوی اسیدفرمیک و اسید سولفوریک در مقایسه با سیلاژ شاهد و علوفه یونجه بالاتر بود (به ترتیب ۰/۳۹، ۰/۳۶ و ۰/۳۲). بخش سریع تجزیه (a) پروتئین خام در سیلاژ حاوی اسیدها در مقایسه با سیلاژ شاهد و علوفه یونجه پایین تر بود (به ترتیب ۰/۴۶، ۰/۵۷ و ۰/۵۶). در صورتی که بخش کند تجزیه (b) پروتئین خام در سیلاژ حاوی اسیدها در مقایسه 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). هم چنین پژمرده سازی باعث کاهش بخش a به اندازه ای مشابه دیگر گزارش ها در هر دو سیلوی پژمرده شده در مقایسه با علوفه یونجه گردید (۱۲). سیلاژ پژمرده شده حاوی اسیدفرمیک و اسید سولفوریک دارای ثابت نرخ تجزیه پذیری 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 تجزیه پذیری 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

کاهش تخمیر و توقف عمل آنزیم های گیاهی (به دلیل کاهش pH) تمایل به افزایش داشت. این نتایج داده های سایر پژوهشگران را تأیید می کند (۱۲). به واسطه اثر محدودکنندگی تخمیر توسط اسیدفرمیک و اسید سولفوریک کاهش تجزیه پروتئین خام مقدار نیترژن نیترژن آمونیاکی در این سیلاژها کمتر بود و هم چنین این سیلاژها دارای پروتئین حقیقی بیشتری بودند، که نتایج دیگر محققین را تأیید می نماید (۱۴ و ۱۶). با افزایش اسیدفرمیک مقدار دیواره سلولی سیلاژ یونجه تغییر معنی داری پیدا نکرد. ناچل 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 آزمایش های 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. فراسنجه های تجزیه پذیری ماده خشک و پروتئین خام در جدول ۴ نشان داده شده است. مقایسه ضرایب تجزیه پذیری ماده خشک نشان داد که بخش سریع تجزیه (a)

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 و ۴ میلی لیتر در کیلوگرم ماده خشک)

بخش سریع تجزیه (a±SEM)	بخش کند تجزیه (b±SEM)	ثابت نرخ تجزیه پذیری (c±SEM)
ماده خشک		
۰/۳۵ ± ۰/۰۱	۰/۳۶ ± ۰/۰۲	۰/۰۸ ± ۰/۰۱
۰/۳۵ ± ۰/۰۱	۰/۳۹ ± ۰/۰۲	۰/۱۲ ± ۰/۰۱
۰/۵۰ ± ۰/۰۱۴	۰/۳۲ ± ۰/۰۱۵	۰/۱۶ ± ۰/۰۱۹
پروتئین خام		
۰/۵۷ ± ۰/۰۲	۰/۲۸ ± ۰/۰۲	۰/۱ ± ۰/۰۲
۰/۴۶ ± ۰/۰۲	۰/۴۱ ± ۰/۰۲	۰/۱۴ ± ۰/۰۲
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 و ۴ میلی لیتر در کیلوگرم ماده خشک) و ۳. علوفه یونجه.

#### 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 میلی لیتر در کیلوگرم ماده خشک) و اسید سولفوریک (۴ میلی لیتر 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 معنی داری در تولید در آزمایش‌های قبلی نیز به دست آمده بود (۱۱ و ۲۵). هم‌چنین در ترکیب شیر نیز بین دو گروه تفاوت معنی داری

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 (۹ و ۱۲). 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 به دست آمد.

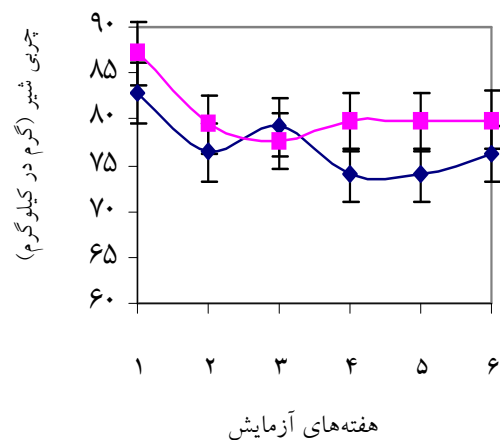
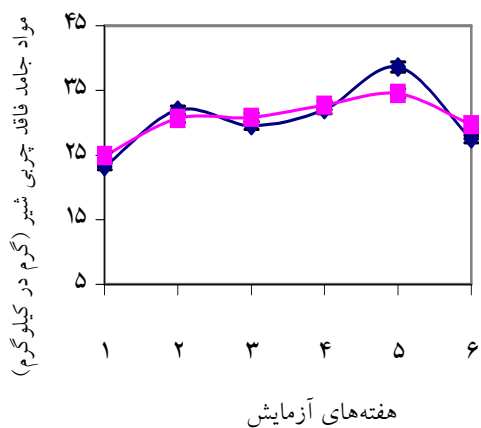


جدول ۵. مصرف ماده خشک، تولید و ترکیب شیر در گاوهای هلشتاین تازه‌زا تغذیه شده با تیمارهای حاوی سیلاژ یونجه فاقد افزودنی و سیلاژ یونجه عمل آوری شده با اسید فرمیک و اسید سولفوریک (به ترتیب ۱۵ و ۴ میلی لیتر در کیلوگرم ماده خشک)

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

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

SEM: میانگین انحراف معیار P: سطح احتمال معنی دار شدن



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 میلی لیتر در کیلوگرم) (■).

شکل ۱. میانگین حداقل مربعات 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 میلی لیتر در کیلوگرم) (■).

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 ترتیب ۱۵ و ۴ میلی لیتر در کیلوگرم ماده

ملاحظه نشد. اثر زمان بر چربی شیر به صورت درجه دوم در طول هفته‌های نمونه‌گیری معنی‌دار بود ( $P < 0/01$ ) (شکل ۱). هم‌چنین اثر زمان بر مواد جامد فاقد چربی به صورت خطی معنی‌دار شد ( $P < 0/01$ ) (شکل ۲).

جدول ۶. غلظت گلوکز و نیتروژن اوره‌ای پلاسمای خون گاوهای تازه‌زای هلشتاین تغذیه شده با خوراک‌های حاوی سیلاژ یونجه فاقد افزودنی و سیلاژ یونجه عمل‌آوری شده با اسید فرمیک و اسید سولفوریک (به ترتیب ۱۵ و ۴ میلی‌لیتر در کیلوگرم ماده خشک)

نمونه‌گیری دوم				نمونه‌گیری اول				
P	SEM	تیمار		P	SEM	تیمار <sup>۱</sup>		
		۲	۱			۲	۱	
۰/۷۷	۱/۸۹	۵۴/۱۷	۵۲/۹۶	< ۰/۰۱	۱/۴۱	۵۲/۴۶	۴۲/۷۲	۲۰
۰/۷۲	۲/۶۵	۴۷/۹	۴۵/۹۵	۰/۹۱	۴/۱۸	۵۰/۴۷	۴۹/۴۴	۲ گلوکز
۰/۵۴	۳/۱	۵۷/۶۲	۵۳/۶۴	۰/۳۷	۲/۷۲	۵۶/۱۶	۵۰/۹۶	۴
۰/۲۳	۱/۳۵	۱۱/۱۱	۹/۴۹	۰/۶۶	۱/۴۲	۱۰/۲۵	۹/۶۶	۲۰
۰/۹۳	۱/۲۸	۱۱/۰۴	۱۰/۹۳	۰/۴۴	۱/۴۱	۱۲/۴۴	۱۱/۰۷	۲ نیتروژن غیر آمینی
۰/۶۸	۰/۹۸	۱۰/۸۴	۱۱/۲۴	۰/۴۰	۱/۹۲	۱۱/۶۵	۱۳/۲۲	۴

۱. جیره حاوی سیلاژ یونجه شاهد و ۲. جیره حاوی سیلاژ یونجه عمل‌آوری شده با اسیدفرمیک و سولفوریک (به ترتیب ۱۵ و ۴ میلی‌لیتر 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.

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 نمودند. 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.

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 ( $P < 0/01$ ). 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)

### 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 عمل‌آوری 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. انتشارات 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. گلپان. 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.
6. Association of Official Analytical Chemists. 1984. Official Methods of Analysis. 14<sup>th</sup> ed., AOAC, Washington, 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. Ruminant 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. Salter. 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 lines 2. 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. Wolfinger, R. and M. Chang. 1996. Comparing the SAS GLM and MIXED procedures for repeated measures. SAS Institute Inc., Cary, NC.